



**Multivalente Präsentation potenzieller Inhibitoren
der Selektin-Ligand-Wechselwirkungen durch
biokompatible Nanopartikel**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

des Fachbereichs Biologie und Chemie

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Isabella Karin Tavernaro

aus Gießen

Gießen 2014

Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Gießen, den 30.10.2014 _____

Isabella Tavernaro

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Mai 2011 bis September 2014 am Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Justus-Liebig-Universität Gießen im Arbeitskreis von Prof. Dr. Sabine Schlecht angefertigt.

1. Gutachterin: Prof. Dr. Sabine Schlecht

2. Gutachter: Prof. Dr. Bernd Smarsly

Vorbemerkung

Einige Ergebnisse dieser Dissertation wurden in Rahmen von Kooperationsprojekten erhalten.

So wurden die in Kapitel 3.3 beschriebenen Glycopeptide von Dr. Sebastian Hartmann aus dem Institut für Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz synthetisiert und sind in seiner Dissertationsschrift enthalten.

Bei den in Kapitel 3.5 beschriebenen Kohlenhydratmimetika-funktionalisierten Nanopartikeln handelte es sich um ein Kooperationsprojekt zwischen dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Sabine Schlecht und dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Hans-Ulrich Reißig. Die Immobilisierung der Aminooxepane auf der Goldnanopartikeloberfläche ist somit ebenfalls in der Dissertation von Dr. Léa Bouché enthalten. Die Ergebnisse der Aminopyran-koordinierten Nanopartikel werden voraussichtlich auch in den geplanten Dissertationen von Maja Kandziora und Joana Salta veröffentlicht werden.

Die Durchführung aller in dieser Dissertation verwendeten Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests an *HUVEC*-Zellen erfolgte von Dr. Sabine Kuntz aus dem Institut für Ernährungswissenschaften der Justus-Liebig-Universität Gießen. Die *in vitro* Tests an mesenchymale Stammzellen wurden von Dr. Katja Trinkaus und Olga Dakischew aus dem Labor für experimentelle Unfallchirurgie der Justus-Liebig-Universität durchgeführt.

Danksagung

Am Ende einer Doktorarbeit kommt der Zeitpunkt, an dem man über all die Personen und Geschehnisse nachdenkt, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben und denen ich an dieser Stelle danken möchte.

Besonders möchte ich Prof. Dr. Sabine Schlecht danken für die Vergabe und Betreuung dieses spannenden Themas und für die viele Unterstützung, die ich erhalten durfte. Des Weiteren möchte ich mich dafür bedanken, dass sie mir die Möglichkeit geboten hat, auf mehreren Konferenzen vorzutragen. Dadurch konnte ich interessante Einblicke auch in andere Bereiche der Wissenschaft erhalten.

Prof. Dr. Bernd Smarsly danke ich für die freundliche Übernahme der Begutachtung meiner Arbeit.

Helfende Hände hatte ich in meiner ehemaligen Masterstudentin Anne Schulze, meinem ehemaligen Bachelorstudenten Jan Peilstöcker, den ehemaligen Vertiefungsstudenten Christoph Wiegand, Martina Saling, und unserer ehemaligen Auszubildenden Mona Arnold, die mich durch Nachkochen von Synthesen mit „frischen“ Nanopartikeln versorgt haben und ohne die ich die eine oder andere meiner Syntheseideen selbst hätte ausprobieren müssen. Danke für euren Einsatz, eurem Interesse und euren Fragen.

Dem „Analytikteam“ um Frau Dr. Hausmann, Herrn Dr. Reisenauer und Herrn Dr. Röcker des Instituts für Organische Chemie danke ich für die zahlreichen NMR- und IR-Messungen, der Durchführung der Elementaranalysen und der MS-Analytik. Hubert Wörner möchte ich für die TGA-Messungen danken. Zusätzlich danke ich den „guten Seelen“ aus der Glas- und Chemikalienausgabe für den ständigen Nachschub an Chemikalien und Glasgeräten aller Art. Besonders erwähnen und danken möchte ich Christian Rohner und Günter Koch, die lange Nachmittage im Keller verbracht haben, um die zahlreichen TEM-Aufnahmen meiner Proben anzufertigen und dabei nie die Geduld verloren haben auch die kleinsten Partikel zu finden.

Während der letzten 3,5 Jahre durfte ich mit verschiedenen Arbeitskreisen zusammenarbeiten wofür ich mich hiermit für die guten und konstruktiven Kooperationen bedanken möchte.

So gilt mein Dank Prof. Dr. Hans-Ulrich Reißig und seinen Mitarbeiterinnen Dr. Léa Bouché, Maja Kandziora und Joana Salta vom Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin für ihre Tipps, die Synthese und Bereitstellung der verschiedenen Aminopyrane und Aminoxopane im Kohlenhydratmimetika-Projekt.

Dr. Jens Dervedde und seinen Mitarbeitern Dr. Figen Beceren-Braun und Christian Kühne aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie der Charité Berlin möchte ich für die Einführung in die SPR-Technik und der Problemsuche bei der Messung einiger meiner Proben danken.

Dr. Sebastian Hartmann aus dem Institut für Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz danke ich für die Synthese der Glycopeptide und die Zusammenarbeit im Mucin-Projekt. Prof. Dr. Martin Rühl und Laura Sommer aus dem Institut für Lebensmittelchemie und Lebensmittelbiotechnologie bin ich ebenfalls sehr dankbar für die Ideen, Diskussionen und die langen Abende und Wochenenden die zur gemeinsamen Entwicklung des Immunoblots geführt haben.

Ein großer Dank gilt, Prof. Dr. Silvia Rudloff und Dr. Sabine Kuntz aus dem Institut für Ernährungswissenschaften für die Bereitstellung der *HUVEC*-Zellen und die kurzfristigen Anfertigungen der Biokompatibilitätstests. Olga Dakischew und Dr. Katja Trinkaus aus dem Labor für experimentelle Unfallchirurgie möchte ich für die Durchführung der Zelltests an den mesenchymalen Stammzellen danken.

Ein ganz herzliches Dankeschön geht an die ehemaligen und aktuellen Mitglieder des Arbeitskreises (Anne Schulze, Dr. Bernadette Landschreiber, Friederike Gasiorek, Jan Peilstöcker, Christoph Wiegand, Marc Loeh, Olga Uhrich, Oliver Falkenbach, Dr. Michael Serafin, Dr. Wolfgang Herrendorf, Gwyneth Schulz, Christina Schreiner, Günter Koch, Hubert Wörner, Michaela Jäckel, Petra Grundmann, Alexej Matweenko, Mona Arnold, Dr. Christoph Erk) für die schönen und unterhaltsamen Kaffeepausen und das angenehme Arbeitsklima. Besonders bedanken möchte ich mich bei meinen Labornachbarn Dr. Biswa Nath Gosh, Darío Gonzáles Abradelo, Christian Uhlig und Ekrem Güneş für den mir gewährten Platz und den lustigen Abenden. Euch allen wünsche ich von Herzen viel Erfolg bei den noch ausstehenden Doktorarbeiten und alles Gute für die Zukunft.

Weiter möchte ich den einzelnen Arbeitskreisen Schindler, Göttlich und Maison danken für den einen oder anderen Tipp bei den Kupplungsmethoden und ihrer Bereitschaft auszuhelfen wenn Not an Chemikalien und Geräten war. Allen Mitgliedern des Arbeitskreises Schindler danke ich zusätzlich für ihre Geduld, wenn ich mit meinen Proben das UV / Vis-Gerät oder mit meinem DMF-Kolben den Rotationsverdampfer blockiert habe.

Für die Hilfe beim Korrekturlesen dieser Arbeit danke ich Dr. Bernadette Landschreiber, Katharina Loew, Friederike Gasiorek, Anne Schulze und Dr. Sabine Becker. Ohne euch hätte ich einige Fehlerleufel nicht gefunden. Vielen Dank!

Ich danke meinen Freunden für ihre Geduld, ihre aufbauenden Worte und ihr Daumendrücken.

Meiner Familie schließlich danke ich von Herzen für alles Gute, was sie mir mit auf den Weg gegeben haben sowie für die Unterstützung, die ständige Ermutigung und den starken Rückhalt, mit denen sie mich während dieser Arbeit (wie auch an allen anderen Stationen meines Lebens) begleitet haben.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND MOTIVATION	1
2	THEORETISCHE GRUNDLAGEN	5
2.1	Einführung in das Themengebiet	5
2.1.1	Historischer Hintergrund	5
2.2	Eigenschaften von Nanopartikeln	7
2.2.1	Metallische Edelmetallnanopartikel	10
2.2.2	Halbleiternanopartikel	11
2.2.3	Magnetische Eisenoxidnanopartikel	12
2.3	Die medizinische Anwendungen von Nanopartikeln und ihre Toxizität	14
2.4	Synthese und Funktionalisierung von Nanopartikeln	16
2.4.1	Monodisperse Nanopartikel	18
2.4.2	Stabilisierung der Kolloide	19
2.4.3	Synthese von Edelmetallnanopartikeln	20
2.4.4	Synthese von Halbleiternanopartikeln	24
2.4.5	Synthese von magnetischen Eisenoxidnanopartikeln	26
2.4.6	Funktionalisierung von Nanopartikeln	28
2.5	Charakterisierungsmethoden	30
2.5.1	Charakterisierung der Ligandenhülle	34
2.5.2	Bestimmung der Ligandenzahl pro Nanopartikel	36
2.6	Der Entzündungsprozess und mögliche Ansatzpunkte für die antiinflammatorische Therapie	37
2.6.1	Bedeutung von Entzündungsprozessen im Körper und der Verlauf der Adhäsionskaskade	37
2.6.2	Die Familie der Selektine	40
2.6.3	Mucine und ihre Verwendung als Vakzine für die Immuntherapie	43
2.6.4	Inhibitoren der Selektin-Ligand Bindung	45
3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	48
3.1	Synthese und Charakterisierung der Nanopartikel	48
3.1.1	Synthese und Charakterisierung von monodispersen Edelmetallnanopartikeln	48
3.1.2	Synthese von CdSe- und CdTe-Halbleiternanopartikeln (QDots)	64
3.1.3	Synthese magnetischer Eisenoxidnanopartikel	77

3.1.4	Fazit	83
3.2	Funktionalisierung der Nanopartikel	84
3.2.1	Ligandenaustauschreaktion mit sulfatierten oder heterobifunktionellen Liganden.....	85
3.2.2	Darstellung NHS-Aktivester koordinierter Edelmetallnanopartikel	88
3.2.3	Ligandenaustauschreaktionen mit Quantum Dots.....	91
3.2.4	Darstellung von Thiosulfonsäure-koordinierten Nanopartikeln	95
3.2.5	Ligandenaustauschreaktionen an magnetischen Eisenoxidnanopartikeln	96
3.2.6	Fazit	99
3.3	Multivalente Präsentation von MUC1-Glycopeptid-Vakzinen auf Goldnanopartikeln	100
3.3.1	Multivalente Präsentation von synthetischen Vakzinen für die Verwendung in der aktiven Immunotherapie	100
3.3.2	Synthese und Immobilisierung der Glycopeptide	101
3.3.3	Immunologische Testung der Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate	107
3.3.4	Fazit	112
3.4	Multivalente Präsentation von Cyclodextrin und Adamantan auf Goldnanopartikeln	114
3.4.1	Synthese β -Cyclodextrin-koordinierter Goldnanopartikel	115
3.4.2	Aufbau von mehrdimensionalen Strukturen mit Hilfe der synthetisierten β -CD- funktionalisierten Goldkolloide.....	121
3.4.3	Fazit	128
3.5	Multivalente Präsentation von Kohlenhydratmimetika als mögliche Epitope für die Selektin-Bindung.....	129
3.5.1	Immobilisierung potenzieller selektininhibierender Kohlenhydratmimetika auf Goldnanopartikel	130
3.5.2	Variation des Partikelkerns	143
3.5.3	Untersuchungen zur Biokompatibilität der funktionalisierten Nanopartikel.....	150
3.5.4	Fazit	158
3.6	Multivalente Präsentation von azyklischen Aminoalkoholen zur mögliche Selektin-Bindung.....	160
3.6.1	Untersuchungen zur Biokompatibilität der Aminoalkohol-funktionalisierten Edelmetallnanopartikel	161
3.6.2	Untersuchungen zum Einfluss des Kernmaterials auf die Biokompatibilität	173
3.6.3	Untersuchungen zur Zellaufnahme der funktionalisierten Nanopartikel	181
3.6.4	Fazit	184
3.7	Multivalente Präsentation von Clovamid-inspirierten Liganden zur mögliche Selektin-Bindung.....	185

3.7.1	Clovamide.....	185
3.7.2	Immobilisierung von Clovamid inspirierten Liganden auf Edelmetallnanopartikel	187
3.7.3	Variation der Partikelgröße und Linkerlänge der Edelmetallnanopartikel.....	191
3.7.4	Variation des Partikelkerns	196
3.7.5	Fazit	201
4	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	202
5	SUMMARY AND OUTLOOK.....	206
6	EXPERIMENTELLER TEIL	210
6.1	Allgemeines.....	210
6.1.1	Arbeitstechniken	210
6.1.2	Verwendete Chemikalien	210
6.1.3	Mikrowellensynthese	211
6.1.4	Aufreinigung der Nanopartikel.....	212
6.1.5	Charakterisierung der Nanopartikel.....	214
6.1.6	Berechnung der Partikelkonzentrationl	218
6.1.7	Bestimmung der Anzahl der Liganden auf der Partikeloberfläche (Thermogravimetrische Analyse)	219
6.1.8	Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute.....	220
6.1.9	Biokompatibilitätstests.....	220
6.2	Experimente.....	226
6.2.1	Synthese der Goldnanopartikel.....	226
6.2.2	Synthese von Silbernanopartikeln.....	234
6.2.3	Synthese nanoskaliger Gold-/Silber-Legierungen (d = 20 nm).....	235
6.2.4	Synthese der fluoreszierenden Halbleiternanopartikel (QDots)	236
6.2.5	Synthese magnetischer Eisenoxidnanopartikel.....	251
6.2.6	Ligandenaustauschreaktionen zur Immobilisierung verschiedener Liganden auf der Nanopartikeloberfläche	253
6.2.7	Synthese von Glycopeptid-koordinierten Goldnanopartikeln	266
6.2.8	Multivalente Präsentation von Cyclodextrin- und Adamantan-koordinierten Nanopartikeln	268
6.2.9	Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika auf die Goldoberfläche.....	278
6.2.10	Immobilisierung von azyklischen Aminen auf die Nanopartikeloberfläche	302
6.2.11	Synthese von Clovamid inspirierten Liganden und deren multivalente Präsentation durch verschiedene Nanopartikel.....	331

7	LITERATURVERZEICHNIS	368
8	ANHANG	383
8.1	ergänzende Spektren und TEM-Aufnahmen	383
8.2	ergänzende Ergebnisse der Biokompatibilitätstests	391
8.3	Überblick der Bindungsaffinitäten der funktionalisierten Nanopartikel an L-Selektin	397

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Zeichen

Δ	unter Rückfluss erhitzen	Gluca	Glucosamin
\emptyset	Durchmesser	h	Stunde
δ	chemische Verschiebung (NMR); Deformations-schwingung (IR)	HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexa-Fluorophosphat
ν	Valenzschwingung (IR)	HDA	Hexadecylamin
λ	Wellenlänge	HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
Å	Ångström	HSQC	Heteronuclear Single Quantum
Abb.	Abbildung	IONP	Eisenoxidnanopartikel
abs.	Absolut	IPA	Amino-2-propanol
Ac	Acetyl-	IR	Infrarot
Ada	Adamantan	L-DOPA	Levodopa, <i>L</i> -3,4-Dihydroxy-phenylalanin
Alan	<i>DL</i> -Alaninol	m	Multiplett (NMR)
AMPD	Ammediol	Manna	Mannosamin
Äq.	Äquivalent(e)	MBA	Mercaptobutansäure
ca.	Circa	MHA	Mercaptohexansäure
CD	Cyclodextrin	min	Minute(n)
COSY	Correlated-Spectroscopy	MPETA	Mercaptopentansäure
d	Durchmesser; Duplett (NMR)	MPA	Mercaptopropionsäure
d_h	hydrodynamischer Durchmesser	MUDA	Mercaptoundecansäure
Da	Dalton	MWCO	Molekulare Weight Cut Off
DC	Dünnschichtchromatografie	NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid	NMR	nuclear magnetic resonance, Kernspinresonanz
dest.	Destilliert	NP	Nanopartikel
d.h.	das heißt	ppm	parts per million
DHLA	Dihydroliponsäure	PSGL-1	P-Selektin-Glycoprotein-Ligand 1
DIPEA	Diisopropylethylamin	OA	Ölsäure
DLS	Dynamische Lichtstreuung	q	Quartett (NMR)
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin	quant.	quantitativ
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	QDot	Quantum Dot
DMSA	Dimercaptobernsteinsäure	quin	Quintett (NMR)
DMSO	Dimethylsulfoxid	R	Rest
DP	Dopamin	rpm	rounds per minute
DQF	Double Quantum Filter	RT	Raumtemperatur
EA	Ethanolamin	s	Singulett (NMR)
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)carbodiimid	Ser	Serinol
<i>et al.</i>	<i>et alii</i>	sLe ^x	Sialyl-Lewis X

t	Triplett (NMR)	TRIS	Trometamol
TEM	Transmissionselektronen- mikroskopie	Tyr	<i>L</i> -Tyrosin
TGA	Thioglykolsäure, Mercaptoessigsäure	Tyra	Tyramin
Threo	L-Threoninol	Tyrol	<i>L</i> -Tyrosinol
TMAH	Tetramethylammonium- hydroxid	u.a.	unter anderem
TOAB	Tetraoctylammonium bromid	v. Chr.	vor Christus
TOP	Trioctylphosphin	z.B.	zum Beispiel
TOPO	Trioctylphosphinoxid		

1 Einleitung und Motivation

Akute und chronische Entzündungen treten in vielen Krankheitsbildern auf. Neben den klassischen Erkrankungen wie z.B. rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Diabetes, chronische Bronchitis, oder Hepatitis zeigen weitere Erkrankungen des Nervensystems, des Herz-Kreislaufsystems und die Morbus-Crohn-Erkrankung solche Entzündungsprozesse.^[1,2] Zusätzlich konnten neuste Studien nachweisen, dass einige Krebserkrankungen auf der Basis einer chronischen Entzündung entstehen.^[3] In den letzten zwei Jahrzehnten ist aus diesem Grund das Interesse an der Erforschung der Entstehung von Entzündungen rasant gestiegen und die Entwicklung neuer Behandlungsmethoden wird stetig vorangetrieben.

Das Grundmuster der chronischen Erkrankungen ist dabei oft ähnlich. Durch die schwellende Entzündung im Körper wird eine Kaskade von Reaktionen in Gang gesetzt, die zu einer Extravasation (Auswanderung) der Leukozyten aus dem Blutstrom in das entzündete Gewebe führt. Im Normalfall ist die Extravasation der Leukozyten gewünscht, aber im Falle einer akuten bzw. chronischen Entzündung kommt es durch Bakterien, Viren, Toxine oder entgleisten Enzymen zu einer überschießenden Immunantwort mit erhöhter Auswanderung der Leukozyten.^[4] In der Folge kann es durch unterschiedliche Mechanismen zu einer Zerstörung des Gewebes bis hin zu Organversagen kommen. Durch die Aufklärung der einzelnen Schritte der Leukozytenextravasation konnten eine Vielzahl involvierter Adhäsionsrezeptoren und ihre entsprechenden Liganden nachgewiesen werden. Aufgrund ihrer zentralen Stellung im Rahmen des Entzündungsgeschehens durch die Vermittlung des initialen Kontaktes der Leukozyten mit dem Endothel hebt sich die Familie der Selektine deutlich von den anderen Adhäsionsrezeptoren ab.^[5] Deshalb gilt seit ihrer Entdeckung 1989 die gezielte Beeinflussung der Wechselwirkungen zwischen Selektinen und ihren Kohlenhydrat-Liganden als vielversprechenden Ansatzpunkt für eine gerichtete Anreicherung antiinflammatorischer Wirkstoffe im entzündeten Gewebe.

Obwohl die Struktur-Wirkungs-Beziehung der natürlichen Selektinliganden bis heute noch nicht vollständig verstanden ist, konnten in den letzten Jahren einige potenzielle Selektin-

1 Einleitung und Motivation

inhibitoren, wie z. B. Heparin oder verschiedene Kohlenhydratmimetika gefunden werden.^[6] Für die Suche nach weiteren effektiveren Selektininhibitoren muss dabei berücksichtigt werden, dass die Familie der Selektine als Kohlenhydratbindende Glycoproteine nur mit einer geringen Affinität an ihre Liganden bindet. Dem Vorbild der Natur folgend, die zur Überwindung der geringen Affinität eine große Anzahl von Liganden auf der Zelloberfläche präsentiert, kann das Prinzip der Multivalenz ebenfalls für die synthetisierten Inhibitoren Anwendung finden, indem diese auf der Oberfläche von biokompatiblen Nanopartikeln immobilisiert werden.

In den letzten Jahren konnte das Potenzial bioaktiver Nanopartikel in einige Anwendungen in der medizinischen Diagnostik und Therapeutik gezeigt werden.^[7] Wegen ihrer einzigartigen Eigenschaften in Kombination mit ihrer Stabilität, Größe und ihrem hohen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnisses stellen die Nanopartikel ideale Template für die multivalente Präsentation potenzieller Selektin-Liganden dar. Vielversprechende größenabhängige Eigenschaften^[8] wie z. B. der Superparamagnetismus von Eisenoxidnanopartikeln, die Oberflächenplasmonenresonanz bei Edelmetallnanopartikeln oder die größenabhängige Lichtemission und der Größenquantisierungseffekte bei Halbleiternanopartikeln könnten zum *in vitro* oder *in vivo* Nachweis der Interaktion zwischen Inhibitor und Selektin eingesetzt werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die multivalente Präsentation verschiedener potenzieller Inhibitoren der Selektin-Ligand-Interaktion durch die Verwendung von bioaktiven Nanopartikeln und deren anschließende immunologische Testung.

Für diese Aufgabe bedarf es Nanopartikel, die über eine hohe Stabilität, geringe Dispersität und geeignete Oberflächenfunktionalitäten verfügen. Deshalb bestand das erste Ziel der vorliegenden Arbeit in der Synthese monodisperser Nanopartikel mit unterschiedlichen organischen Hüllen und / oder unterschiedlichen Größen und deren ausführlicher Charakterisierung. Zur Einführung unterschiedlicher Eigenschaften wurde das Kernmaterial variiert (Abb. 1 D). Neben Edelmetallnanopartikeln (Gold und Silber) sollten Eisenoxid-nanopartikel und Halbleiternanopartikel (CdTe- und CdSe-Nanopartikel) verwendet werden.

1 Einleitung und Motivation

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit jedoch lag auf der Funktionalisierung der aus der Synthese erhaltenen, monodispersen Nanopartikeln. Anhand von Ligandenaustauschreaktionen und Reaktionen an der Ligandenperipherie sollten die Nanopartikel in das biologisch relevante wässrige Medium überführt und mit den potenziellen Selektin-inhibitoren ausgestattet werden. Diese leiteten sich dabei durch Strukturvereinfachung von dem natürlichen Bindungsepitop Sialyl-Lewis X (sLe^x) ab. Zur Variation der Beweglichkeit und der Präsentation der funktionellen Gruppen sollte ebenfalls der Linker (Abb. 1 B) und die Ankergruppe auf der Partikeloberfläche (Abb. 1 C) ausgetauscht werden.

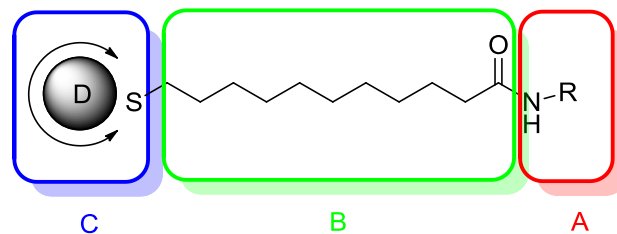


Abb. 1: Schematische Darstellung der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten synthetischen Veränderungen der funktionalisierten Nanopartikel: Austausch der Epitope (A); Variation des Linkers und seiner Länge (B); Variation der Ankergruppe (C) und die Variation des Kernmaterials (D).

Ein weiterer Bereich der vorliegenden Arbeit war durch die Frage motiviert, inwieweit die einzelnen Variationen der funktionalisierten Nanopartikel die biologische Aktivität beeinflussen. Deshalb sollte die Bindungsaffinität an die Selektine bestimmt und erste *in vitro* Studien durchgeführt werden. Neben der Untersuchung der Zellaufnahme sollte ein umfassendes toxikologisches Screening der funktionalisierten Nanopartikel an unterschiedlichen Zelltypen durchgeführt werden.

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in mehrere Teile: Nach der kurzen Einführung in das Thema und der Formulierung der Zielsetzung (dieses Kapitel) wird im nachfolgenden Kapitel ein Überblick über die theoretischen Grundlagen gegeben. Neben der historischen Einordnung zur Bedeutung der Anwendung von Nanomaterialien im Alltag und der Medizin, erfolgt eine eingehendere Vorstellung der wichtigsten nanoskaligen Eigenschaften, der literaturbekannten Nanopartikelsynthesen sowie deren

1 Einleitung und Motivation

Funktionalisierung und Charakterisierung. Abgeschlossen wird das Kapitel durch einen allgemeinen Überblick des für die Arbeit relevanten medizinischen Gebiets des Entzündungsprozesses und dem Bereich der Toxikologie von Nanopartikeln. Im dritten Kapitel (3. Ergebnisse und Diskussion) werden dann die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche diskutiert, wobei in den einzelnen Unterkapiteln die Synthese der Nanopartikel, deren Charakterisierung und deren Funktionalisierung mit unterschiedlichen potenziell an Selektin-bindenden Liganden aus den Bereichen der Glycoproteine, zyklischen Oligosacchariden, Kohlenhydratmimetika, azyklischen Aminoalkoholen und Vertretern der Polyphenole vorgestellt werden. Zusätzlich wird näher auf die Zellaufnahme der Partikel und die Beeinflussung der biologischen Aktivität durch die Ligand-Nanopartikel Konjugate anhand von Immunoassays, Selektin-Bindungsassays und *in vitro* Zellproliferations- und Zytotoxizitätstests eingegangen. Daran schließen sich eine Zusammenfassung und der experimentelle Teil an.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Einführung in das Themengebiet

In diesem einführenden Kapitel soll zunächst eine kurze Einführung in das Themengebiet gegeben werden. Beginnend mit der historischen Einordnung, wird danach näher auf die Struktur und Eigenschaften von Nanopartikeln, gefolgt von deren Synthese-, Funktionalisierungs- und Charakterisierungsmethoden eingegangen. Im abschließenden Teil dieses Kapitels werden einige für die vorliegende Arbeit wichtigen biologischen und medizinischen Grundlagen vorgestellt.

2.1.1 Historischer Hintergrund

In den letzten Jahren wurde in sämtlichen Medien, wissenschaftlich oder populär, eine Reihe von Arbeiten über die Begriffe Nanotechnologie, Nanowissenschaften und Nanomaterialien veröffentlicht und diskutiert. Darin wird dieses Themengebiet mit seinen Ideen und Konzepten meist als die zukunftsorientierteste und innovativste Schlüsseltechnologie des noch jungen 21. Jahrhunderts angesehen. Doch in Wirklichkeit handelt es sich dabei um keine Entwicklung der letzten zwanzig Jahre, denn ohne das Wissen um ihre Existenz wurden Nanomaterialien schon seit mehreren Jahrhunderten in verschiedenen Anwendungen genutzt.^[8,9] Erste Hinweise darauf können bereits in der Antike gefunden werden, als unbewusst Edelmetallkolloide zum Anfärben von Gläsern verwendet wurden.^[10] Eines der prominentesten Beispiele ist der im British Museum in London ausgestellte römische *Lycurgus Kelch* (Abb. 2 links unten), der aus dem 4. Jhr. v. Chr. stammt und je nach Lichteinfall eine andere Farbe zeigt. Wird der Kelch von innen beleuchtet, so scheint er rot. Befindet sich die Lichtquelle aber außerhalb des Kelches, so erhält er eine opalgrüne Färbung.^[11,12] Diese Farbänderung in Abhängigkeit der Beleuchtung kann heute durch die Wechselwirkungen des Lichts mit beigemengten Gold- und Silbrenanopartikeln erklärt werden.^[11] Diese frühen Kenntnisse der Glasfärbung fanden ebenfalls in vielen mittelalterlichen Kirchenfenstern Anwendung. So war es den

2 Theoretische Grundlagen

Glasmalern durch Zugabe kleiner Mengen Gold und Silber möglich verschiedene Farbeffekte zu erhalten. Natürlich war ihnen dabei nicht bewusst, dass diese Farbeffekte auf der Größe und Form von Nanopartikeln beruhen.

Ebenfalls seit der Antike ist der aus dem Orient stammende Damaszenerstahl bekannt, der hauptsächlich zur Herstellung von Schwertern genutzt wurde. Diese Schwerter besaßen besondere Eigenschaften, sie waren einerseits sehr hart und scharf, aber andererseits auch sehr leicht. Mit heutigen elektronenmikroskopischen Untersuchungsmethoden konnte nachgewiesen werden, dass der Damaszenerstahl aus Stahl und einer von Kohlenstoff-Nanoröhrchen eingeschlossenen Zementit-Phase besteht und dieses Zusammenspiel von metallischem Eisen, Eisencarbid und Kohlenstoff-Nanoröhrchen den Schwertern ihre besonderen Eigenschaften verleiht.^[13]

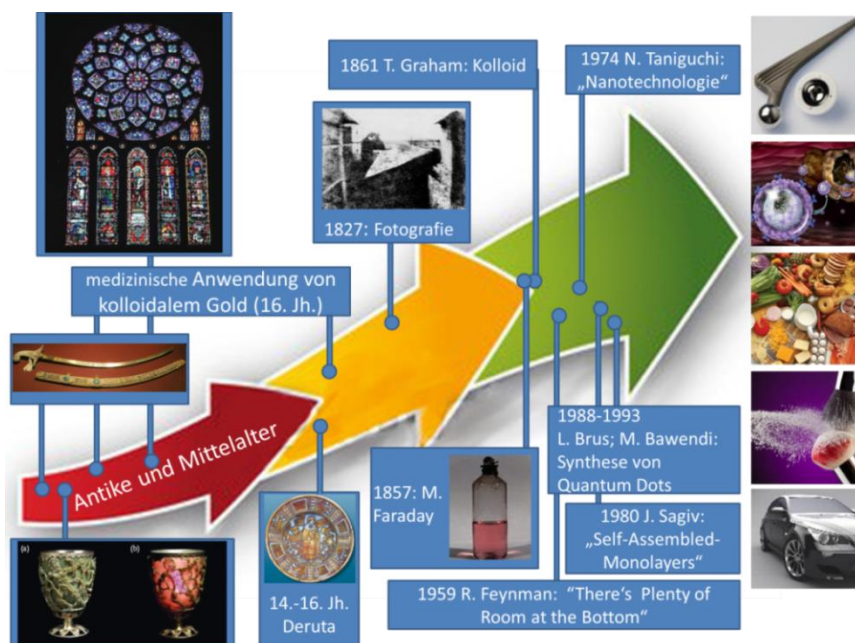


Abb. 2: Überblick der historischen Entwicklung der Nanopartikel.

Auch eine medizinische Anwendung der Nanopartikel ist seit Längerem bekannt. So wurde „lösliches Gold“ bereits ab 2500 v. Chr. in Ägypten und China zu medizinischen Zwecken verwendet,^[14] bevor es dank seiner möglichen heilenden Kräfte im Mittelalter als medizinisches Wundermittel zur Behandlung der Syphilis, Epilepsie oder Herzerkrankungen angepriesen wurde. Alchimisten sahen in ihm sogar das Elixier des Lebens.^[9]

2 Theoretische Grundlagen

Als einer der ersten Pioniere auf dem Gebiet der Nanopartikelsynthese gilt heute *Michael Faraday*. 1857 legte er mit ersten wissenschaftlichen Untersuchungen zu den optischen Eigenschaften von kolloidalen Goldfilmen den Grundstein für die modernen Kolloidwissenschaften.^[15] Durch Reduktion einer wässrigen Tetrachlorogoldsäure mit Phosphor in Kohlenstoffdisulfid stellte *Faraday* kolloidales Gold her. Aufgrund der roten Färbung der Lösung schloss *Faraday*, dass „fein verteiltes Gold“ vorliegen müsse. Etwa hundert Jahre später konnte die Anwesenheit von Nanopartikeln mit einer Größe von 3 – 30 nm in seinen Proben durch Elektronenmikroskopie bestätigt werden.^[16,17] Kurz nach den Beobachtungen von *Faraday* wurde 1861 der Begriff Kolloid von *Thomas Graham* eingeführt.^[18] Er beschrieb damit die Beobachtung, dass Metalle wie Gold oder Silber in der Lage sind, wässrige Lösungen auszubilden, ohne dass es zur Bildung eines metallischen Niederschlags kommt. Einer allgemeineren Definition zufolge beschreibt der Begriff den Zustand einer Dispersion eines festen oder flüssigen Stoffes in einer anderen Phase, wobei keine Phasenseparation auftritt.

Die technologischen Fortschritte hinsichtlich der Synthese und der exakten Charakterisierung haben in den letzten drei Jahrzehnten ein multidisziplinäres Interesse an Nanomaterialien ausgelöst. Neben der Verwendung in der medizinischen Diagnostik und Therapeutik,^[19] ist der Einsatz von nanostrukturierten Partikeln inzwischen in Bereichen wie der Optoelektronik, Biosensoren und der Katalyse sowie in der Produktion von Konsumgütern, z.B. in der Lebensmittel-, Automobil- und Kosmetikindustrie, weit verbreitet und zum Teil zur Routine geworden.^[8,20]

2.2 Eigenschaften von Nanopartikeln

Warum das Interesse für die Anwendung von Nanomaterialien in Forschung und Alltag in den letzten Jahren rasant angestiegen ist, lässt sich vereinfacht auf ihre Größe zurückführen. So sind Nanopartikel in ihrer Größe auf die Nanometerskala (1 – 100 nm) begrenzt, wobei in manchen wissenschaftlichen Zweigen, wie z.B. dem pharmazeutischen Bereich, dieser Größenbereich auch auf 1 – 1000 nm ausgedehnt wird.^[21] Eigentlich sollten sich die chemischen und physikalischen Eigenschaften eines Feststoffes

2 Theoretische Grundlagen

unabhängig von seiner Größe konstant verhalten, aber im Nanometerbereich ist dies nicht der Fall, was größenabhängige Eigenschaften wie die Oberflächenplasmonenresonanz bei Metall-nanopartikeln^[22] oder die größenabhängige Lichtemission und Größenquantisierungseffekte bei Halbleiternanopartikeln^[23] zeigen. Dadurch lassen sich Nanomaterialien mit ihren einzigartigen Eigenschaften weder dem atomaren Verhalten noch dem makroskopischen Verhalten zuordnen und stellen somit eine Brücke zwischen den Welten der molekularen Strukturen und dem „Bulk-“ Material dar.^[9,24]

Die größenabhängige Veränderung der Eigenschaften lässt sich hauptsächlich durch das äußerst hohe Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis der Partikel und somit größeren Anzahl an beeinflussenden Oberflächenatomen begründen.^[25] So sind bei 10 nm großen Partikeln bereits 20% der Atome an der Partikeloberfläche gebunden. Wird hingegen der Partikeldurchmesser auf 2 nm verkleinert, befinden sich 80% der Atome an der Oberfläche. Diese Oberflächenatome unterscheiden sich von den „Bulk-“ Atomen insofern, dass sie eine höhere Energie besitzen und sich wesentlich leichter bewegen oder entfernen lassen.

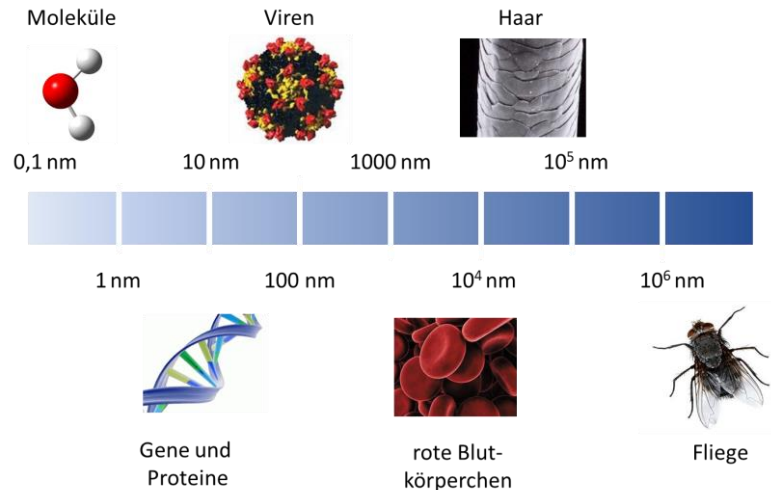


Abb. 3: Größenvergleich natürlicher Systeme.

Ein weiterer interessanter Punkt in Bezug auf die mögliche Anwendung von Materialien im Nanometerbereich besteht in der ähnlichen Größe zu biologischen Systemen (Abb. 3). Da Zellkompartimente (10 – 100 μm), Proteine (5 – 50 nm), Gene (1 - 100 nm) und Viren (20 – 450 nm) sich in einer ähnlichen Größenskala bewegen, können biofunktionalisierte

2 Theoretische Grundlagen

Nanopartikel biologische Barrieren (z.B. Blut-Hirn-Schranke oder Blut-Lungen-Schranke) überwinden und in Zellen eindringen. Dies ist beispielsweise im Bereich der medizinischen Therapeutik und Diagnostik von großer Bedeutung, wo daran gearbeitet wird, Wirkstoffe mithilfe nanoskaliger Transporter gezielt zu bestimmten Orten im Körper zu transportieren.^[7,26,27]

Die ähnliche Größe zu biologischen Systemen und das gleichzeitig äußerst hohe Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis bieten die Möglichkeit der Immobilisierung einer Vielzahl von Molekülen auf einer verhältnismäßig kleinen Menge Kolloid. Dies in Kombination mit der einfachen Synthese und der hohen chemischen Beständigkeit machen Nanopartikel zu einem idealen Templat für die multivalente Präsentation bioaktiver Liganden.^[28] Dabei versteht man unter dem Begriff der Multivalenz, die chemische Wechselwirkung von mehreren Liganden einer biologischen Einheit (eines Moleküls, einer Oberfläche) mit mehreren Rezeptoren einer anderen biologischen Einheit. Die dabei entstehende Bindung ist in vielen Fällen deutlich stärker als die reine Addition der Einzelbeträge. Diese multivalenten Wechselwirkungen kommen überall in biologischen Schlüsselprozessen wie dem Zellwachstum, der Zelldifferenzierung und der Zellkommunikation vor.

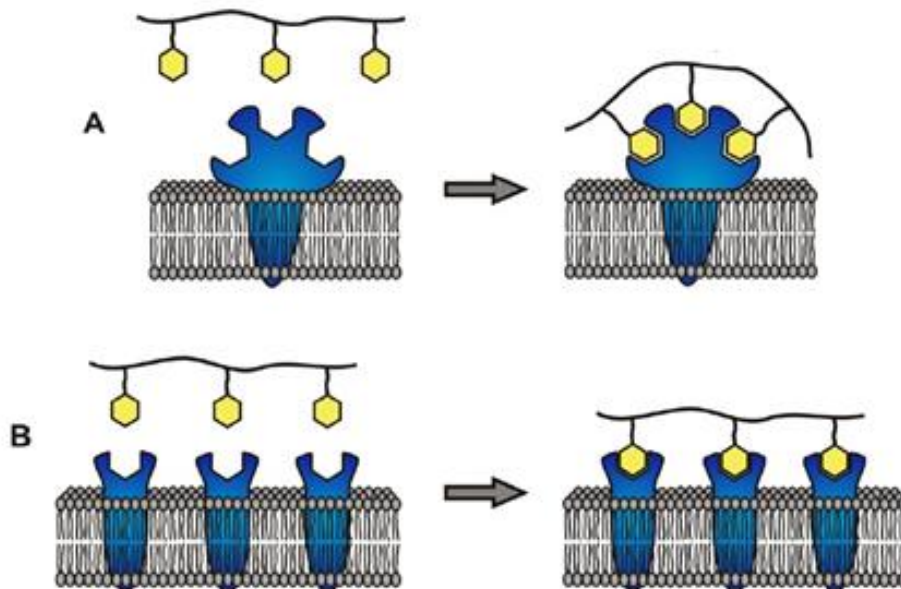


Abb. 4: Schematische Darstellung des Prinzips der Multivalenz: A) Bindung eines polyvalenten Liganden an mehrere Bindungsstellen eines membranständigen Rezeptors, B) gleichzeitige Bindung eines polyvalenten Liganden an mehrere membranständige Rezeptoren (entnommen aus ^[29])

Deshalb könnte die multivalente Präsentation von bioaktiven Liganden ein interessanter Ansatz für die Verwendung von Nanopartikeln in der medizinischen Diagnostik und Therapeutik darstellen.^[30] Neben den bereits vorgestellten, für alle Nanopartikelarten gültigen Eigenschaften könnten noch weiterer einzigartiger Eigenschaften der Nanomaterialien genannt werden. Da dies aber deutlich den vorgesehenen Rahmen sprengen würde, wird in den folgenden Unterkapiteln nur auf die wichtigsten Eigenschaften der für die vorliegende Arbeit relevanten Nanopartikeltypen eingegangen und an dieser Stelle auf die weiterführende Literatur verwiesen.^[9,22,23,31]

2.2.1 Metallische Edelmetallnanopartikel

Metallische Edelmetallnanopartikel besitzen materialspezifische, einzigartige, optische Eigenschaften und lassen sich durch ihre einfache Synthese und ihre hohe chemische und thermische Stabilität gut handhaben. Dabei nehmen Gold- und Silberkolloide unter den Edelmetallnanopartikeln eine besondere Rolle ein.^[22,32] Während Goldnanopartikel in der Katalyse, der Medizin und der Optik zur Anwendung kommen,^[9] werden Silbernanopartikel aufgrund ihres antibakteriellen Charakters und ihrer antiseptischen Wirkung heute in einige Alltagsbereichen als Beschichtung eingesetzt. Man findet sie z.B. in Kleidung, elektrischen Haushaltsgeräten, biomedizinischen Implantaten und elektronischen Geräten.^[33] Die wohl bekannteste Eigenschaft der Gold- bzw. Silbernanopartikel dürfte aber ihre Rot- und Gelbfärbung sein. Diese wird durch die sogenannte Oberflächenplasmonenresonanz hervorgerufen, welche im Folgenden kurz erläutert werden soll. Wenn der Partikeldurchmesser gegenüber der Eindringtiefe einer elektromagnetischen Welle nicht zu groß ist, kann diese den Partikel annähernd vollständig durchdringen und eine kollektive Oszillation der freien Leitungsbandelektronen im Goldnanopartikel anregen. Dadurch erfolgt eine Auslenkung der Elektronen gegenüber dem Gitter der positiv geladenen Atomrümpfe. Diese Polarisierung des Nanopartikels bewirkt eine rückstellende Coulombkraft, sodass sich der gesamte Nanopartikel wie ein durch die elektromagnetische Welle getriebener Oszillator verhält. Dabei wird die spektrale Lage des Resonanzmaximums von der Stärke der Rückstellkraft des

oszillierenden Systems beeinflusst, die von der Form und der Größe des Partikels und dessen Umgebung abhängt.

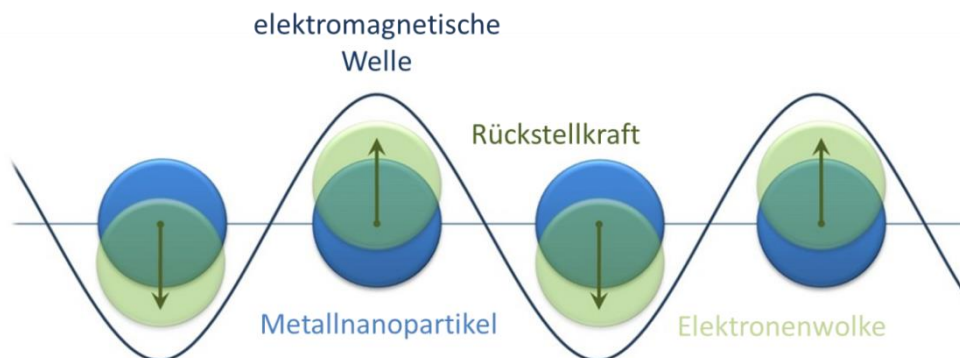


Abb. 5: Schematische Darstellung der Plasmonanregung in einem sphärischen Nanopartikel. Die Leitungsbandelektronen werden durch die einfallende elektromagnetische Welle verschoben, so dass sich ein Elektronenüberschuss an einer Oberfläche des Nanopartikels ausbildet. Aufgrund der Coulombwechselwirkung wirkt eine Rückstellkraft auf die Elektronen.

2.2.2 Halbleiternanopartikel

Seit den ersten Beobachtungen von *Alexei Ekimov* und *Louis Brus* zur Größenabhängigkeit der optischen Eigenschaften von CdS-Partikeln in den frühen 1980er, haben kolloidale Halbleiternanopartikel ein stetig wachsendes Interesse hervorgerufen.^[34,35] Es handelt sich bei ihnen um quasi nulldimensionale sphärische Einzelkristalle mit einem definierten Durchmesser 2 - 10 nm, weswegen sie häufig auch als Quantum Dots (QDots) bezeichnet werden. Heute gelten sie als eine vielversprechende neue Klasse von Fluorophoren für diagnostische und sensorische Anwendungen.^[36] Dabei besitzen sie gegenüber üblichen organischen Farbstoffen deutliche Vorteile (Abb. 6 A+B), wie z.B. eine starke und stabile Fluoreszenz, eine höhere Fotostabilität, breite Anregungsspektren mit hohen Absorptionskoeffizienten und eine einstellbare Emissionswellenlänge. Diese einzigartigen optischen Eigenschaften, die durch eine Veränderung der Partikelzusammensetzung oder der Teilchengröße variiert werden können, werden durch den größenabhängigen *quantum confinement effect* (Größenquantisierungseffekt) hervorgerufen, der im Folgendem kurz erläutert werden soll.^[37-39] Während die Atom- und Molekülorbitale im makrokristallinen Halbleiter zu kontinuierlichen Energiebändern verschmolzen sind, führt eine Verkleinerung des Durchmessers zur Vergrößerung der Bandlücke und Diskretisierung

2 Theoretische Grundlagen

der quasikontinuierlichen Energiebänder (Abb. 6 C). Dieser Größenquantisierungseffekt wird dabei durch die räumliche Beschränkung eines durch Lichtabsorption entstandenen Elektron-Loch-Paares (Exciton) bedingt. Weil QDots in ihrer räumlichen Dimension kleiner als der Bohrsche Radius sind, nehmen die Elektronen-Loch-Paare einen Zustand höherer Energie an. Aus diesem Grund hängt die Wellenlänge des emittierten Lichtes von der Zusammensetzung und der Größe des Nanokristalls ab. Je kleiner der Kristall, desto energiereicher ist das emittierte Licht.^[37]

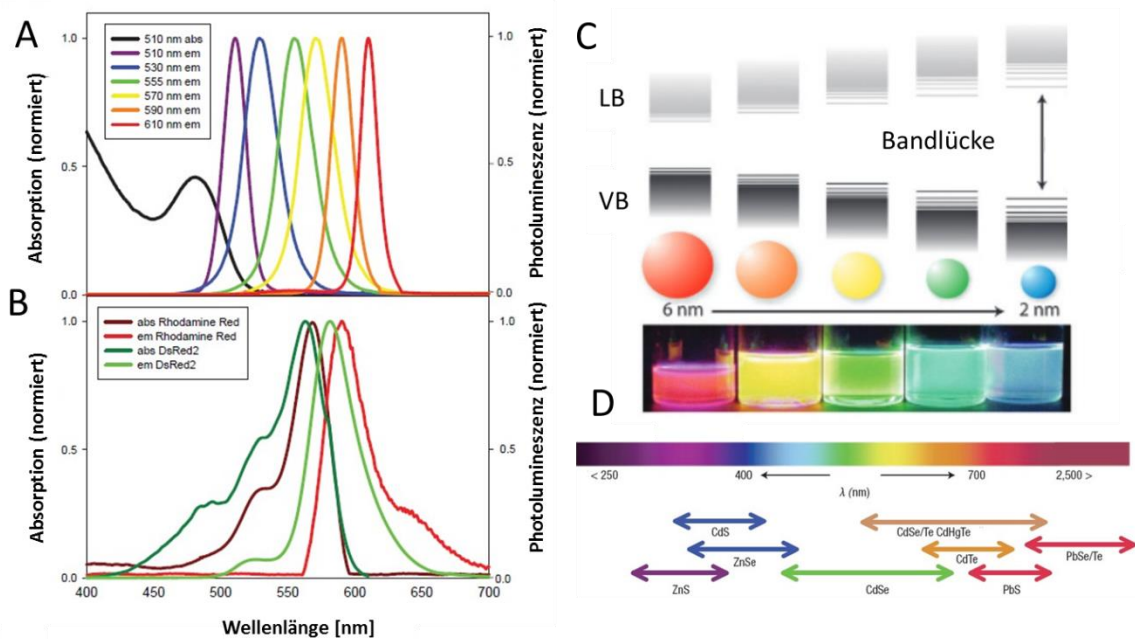


Abb. 6: A+B: Vergleich der Absorptions- und Emissionsspektren herkömmlicher Fluorophore (Rhodamine Red, DsRed2); A) mit denen repräsentativer QDot-Proben (B) (entnommen aus ^[38]); C: Schematische Darstellung des Größenquantisierungseffekts anhand der Energieniveaus von Halbleiternanopartikeln. Das Foto zeigt kolloidale CdSe-Suspensionen verschiedener Größen unter UV-Anregung (entnommen aus ^[39]); D: Repräsentative QDot-Kernmaterialien in Abhängigkeit von ihrer Emissionswellenlänge (entnommen aus ^[37]).

2.2.3 Magnetische Eisenoxidnanopartikel

Eisenoxidnanopartikel werden wegen ihrer speziellen magnetischen Eigenschaften, in der Katalyse, bei der magnetischen Datenspeicherung, in der Umweltsanierung und der Wasseraufbereitung verwendet.^[40,41] Die zwischen 5 - 50 nm großen γ - Fe_2O_3 (Maghemit) oder Fe_3O_4 (Magnetit) Nanopartikel haben wegen ihrer hohen Stabilität, guten Bioabbaubarkeit und ihrer hohen Biokompatibilität auch das Interesse für die Anwendung

2 Theoretische Grundlagen

in biologischen Systemen und der Medizin geweckt. Als erste FDA-zugelassene Nanopartikel werden sie als Kontrastmittel in der Magnetresonanztomografie (MRT), zur magnetischen Zellseparation, als Vehikel für den Wirkstofftransport und zur Bekämpfung von Tumorzellen in der Wärmetherapie (Hyperthermie) eingesetzt.^[42] Das magnetische Verhalten der Eisenoxidnanopartikel unterscheidet sich stark von ihren „Bulk“-Gegenstücke und wird hauptsächlich ab einer bestimmten Größe durch ihre superparamagnetischen Eigenschaften hervorgerufen. Als Superparamagnetismus wird die Eigenschaft von sehr kleinen Eisenpartikeln in Pulvern oder Suspension bezeichnet, die sich im Magnetfeld stark magnetisieren lassen aber im Unterschied zu Ferromagneten nach dem Entfernen des Feldes keine Restmagnetisierung mehr aufweisen.^[43]

In Abb. 7 sind die Grundlagen der magnetischen Eigenschaften der Eisenoxidnanopartikel schematisch gezeigt. Ferromagnetische Bulk-Materialien besitzen eine Multidomänenstruktur, in der die Weiß'schen-Bezirke durch Domänenwände getrennt sind. Unterhalb der Curie-Temperatur (T_C) richten sich die magnetischen Momente innerhalb dieser einzelnen Weiß'schen Bezirke parallel aus und resultieren in einem magnetischen Gesamtmoment von Null.^[40]

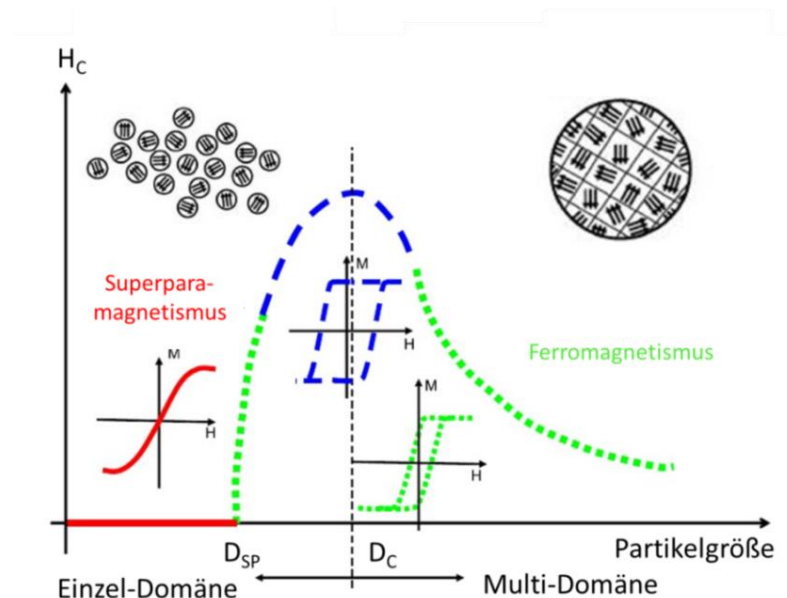


Abb. 7: Schematische Darstellung der magnetischen Eigenschaften von Eisenoxidnanopartikeln. Die Koerzitivfeldstärke (H_C) hängt vom Partikeldurchmesser ab. Ab einem kritischen Durchmesser (D_C) liegen die Nanopartikel als Einzeldomänen vor, die sich beim Anlegen eines Magnetfeldes einzeln im Feld ausrichten und zu einer vernachlässigbaren Remanenz und Koerzitivkraft führen.

Nach Anlegen eines äußeren Magnetfeldes werden die Bezirke gleichgerichtet, und führen zum Auftreten einer spezifischen Hystereseschleife mit einer spezifischen remanenten Magnetisierung (M_R), einer Sättigungsmagnetisierung (M_S) und Koerzitivfeldstärke (H_C) (grüne Hystereseschleife in Abb. 7).^[44] Wird die Größe eines ferromagnetischen Stoffes reduziert, so kommt es bei einer bestimmten Größe (kritischer Durchmesser D_C) zu dem Punkt, dass keine Weiß'schen Bezirke mehr ausgebildet werden und die Partikel als Einzeldomänen vorliegen (verbreiterte Hystereseurve, Maximum H_C , blauer Bereich Abb. 7). Als Folge zeigen sphärische Eisenoxidnanopartikel mit Partikeldurchmessern < 20 nm superparamagnetisches Verhalten (sigmoidale Magnetisierungskurve ohne Hysterese, $H_C = 0$, roter Bereich Abb. 7), wobei sich das magnetische Moment der Partikel durch die thermische Energie frei bewegen kann. In Abwesenheit eines Magnetfeldes führt die freie Orientierung dieser magnetischen Momente zu einer mittleren Magnetisierung von Null.^[44-46]

2.3 Die medizinische Anwendungen von Nanopartikeln und ihre Toxizität

Die einzigartigen Eigenschaften und die Tatsache, dass Nanopartikel durch Modifikation der organischen Ligandenhülle eine Vielzahl von bioaktiven Molekülen auf ihrer Partikeloberfläche binden können, hat in den letzten Jahren zu einem regen Interesse an der Erforschung zur medizinischen Nutzung von synthetischen Nanopartikeln in biologischen Systemen geführt.^[26] So versprechen funktionalisierte Nanopartikel durch die Entwicklung neuer Ansätze eine deutliche Verbesserung bestehender Methodiken in der Diagnose und Therapie. Während Nanomaterialien zur Behandlung von Krebserkrankungen, als Biodetektoren von Erkrankungsmakern, in der Pharmakotherapie, in der Implantattechnologie und in der molekularen Bildgebung bereits in den klinischen Alltag übernommen wurden, konnten in den letzten Jahren immer neue medizinische Einsatzmöglichkeiten für Nanomaterialien in experimentellen Systemen nachgewiesen werden.^[47]

Dabei weckt die stetig wachsende Anzahl der Anwendungsmöglichkeiten gleichzeitig die Frage nach ihrer potenziellen Wirkung auf den Menschen und die Umwelt.^[48,49] Wegen

2 Theoretische Grundlagen

ihrer Größe, dem großen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis und der daraus resultierenden hohen chemischen Aktivität wird dabei häufig die fälschliche Annahme getroffen, dass sich Nanopartikel *per se* schädlich auf die Gesundheit auswirken. Diese Besorgnis leitet sich von früheren Erfahrungen mit Asbestfasern und Feinstaubpartikel ab, die aber wegen unterschiedlicher Größen und Materialien nicht grundsätzlich auf Nanopartikel angewendet werden können.^[48,50] Weiter können auch keine Rückschlüsse auf die toxische Wirkung von Nanopartikeln anhand ihrer Eigenschaften im „Bulk“-Material getroffen werden. So ist zwar z.B. Gold als „Bulk“-Material chemisch inert und somit nicht-toxisch, aber eine toxische Wirkung von Goldnanopartikel wird wegen unterschiedlicher Studienergebnisse weiterhin heiß diskutiert.^[51,52] Es ist deshalb äußerst wichtig, die grundlegenden Fragen nach der Aufnahme von Nanopartikeln in das biologische System und ihre Auswirkungen auf Gewebe und Zellen zu untersuchen. Dazu wurden in den letzten Jahren eine Vielzahl von *in vitro* und *in vivo* Tests mit akuter und chronischer Exposition sowie mit toxikologischen und pharmakologischen Dosen durchgeführt.^[53,54] Diese Studien kamen zu dem Ergebnis, dass es sich bei Nanopartikeln um komplexe Strukturen handelt, die durch viele unterschiedliche Parameter einen Einfluss auf die toxikologische Wirkung haben.^[55] Für eine umfassende toxikologische Risikobewertung müssen deshalb neben den bekannten Kriterien der Toxikologie wie Material, Konzentration und Dauer der Exposition, weitere Parameter berücksichtigt werden. Ebenfalls besitzt die Partikelgröße, die Dispersität der Größe, der Agglomerationsgrad, die Form, die Oberflächen-funktionalisierung, die Oberflächenladung und auch der für *in vitro Tests* verwendete Zelltyp einen erheblichen Einfluss auf die Wirkung der Partikel im biologischen System.^[48,51]

Trotz dieser intensiven Forschung auf dem Gebiet der Nanotoxikologie und der ständigen Zunahme an Publikationen sind nur wenige Studien für eine bisherige Risikobewertung von Nanopartikeln geeignet. Dies liegt daran, dass die meisten Studien nur wenige der beschriebenen Faktoren eines bestimmten Nanopartikeltyps auf einem bestimmten Zelltyp anhand eines bestimmten Inkubationsprotokolls beschreiben und somit ein Vergleich zwischen den Studien unmöglich ist. Zusätzlich erschwerend für Vergleiche der unterschiedlichen Studien sind eine meist fehlende umfassende Charakterisierung der eingesetzten Nanopartikel und die fehlende Verwendung von Referenzmaterialien.

Für ein umfassendes Gesamtbild der Toxizität von Nanopartikeln müssten deshalb Studien auf Grundlage fundierter Analysen unter Berücksichtigung aller Kriterien anhand standardisierter Protokolle erfolgen. Erst wenn durch diese Tests mögliche Risiken, die von den einzelnen biofunktionalisierten Nanopartikeln ausgehen, nachgewiesen wurden, kann eine Bewertung dieser Materialien erfolgen.

2.4 Synthese und Funktionalisierung von Nanopartikeln

Alle bisher angesprochenen Eigenschaften und die damit verbundenen Anwendungsmöglichkeiten der Nanopartikel hängen stark von ihrer Größe und Form ab, weswegen für die Synthese und Funktionalisierung von Nanopartikeln einige grundlegende Anforderungen berücksichtigt werden müssen, die im nachfolgenden Abschnitt näher besprochen werden.

Seit den eingehenden Untersuchungen an Goldnanopartikeln von *Michael Faraday*^[17] und den damit verbundenen Anfängen der Kolloidchemie Mitte des 19. Jahrhunderts wurde eine Vielzahl von Syntheserouten für die Darstellung von Nanomaterialien entwickelt, die auf ihre vielfältigen Materialeigenschaften und den daraus entstehenden Anwendungsmöglichkeiten zurückzuführen sind. Alle Synthesemethoden haben gemein, dass ihre zentrale Aufgabenstellung in der Herstellung von Nanostrukturen mit genau definierten Partikelgrößen, Partikelformen und Oberflächenstrukturen liegt. Dabei werden in der Fachliteratur die verschiedenen Synthesemethoden grundsätzlich in zwei Verfahrensansätze den „Top-down“- und den „Bottom-up“-Ansatz eingeteilt (Abb. 8).

Der durch physikalische und mechanische Methoden dominierte „Top-down“-Ansatz lässt sich im Alltag mit der Herstellung einer Statue aus Stein vergleichen und beruht auf der gezielten Miniaturisierung von makroskopischen Ausgangsmaterialien bis zur gewünschten Größe im Nanometerbereich. Beispiele für „Top-down“-Techniken sind Ätzverfahren, wie die Elektronenstrahl- und Laserlithografie, sowie das Mahlen von Mikropartikeln in Kugelmøhlen.^[56] Diese Methoden haben zwar den industriellen Vorteil, dass große Mengen an Nanomaterialien zugänglich sind, doch ist ein erheblicher zeitlicher, technischer und ökonomischer Aufwand von Nöten.

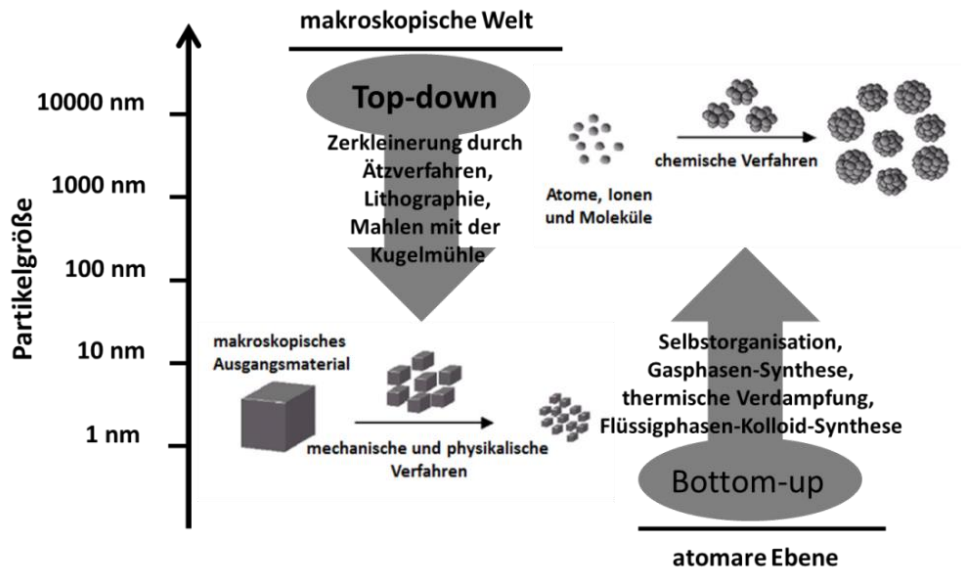


Abb. 8: Schematische Darstellung der prinzipiellen Verfahrensansätze zur Synthese nanoskaliger Materialien durch den „Top-down“-Ansatz und den „Bottom-up“-Ansatz.

Die verwendeten Methoden bewirken auch einen hohen Anteil an Defekten auf der Partikeloberfläche, die für die Verwendung in biologischen Systemen von Nachteil sind. Zusätzlich besitzen die verwendeten technischen Geräte und Bearbeitungsmethoden selbst gewisse physikalische Dimensionen, die es schwierig machen mit ihnen Nanomaterialien einer definierten Größe herzustellen. Wegen dieser hohen Dispersität der Partikelgröße und der fehlenden Kontrolle über die Form der synthetisierten Nanopartikel aus dem „Top-down“-Ansatz kommt heutzutage der Entwicklung neuer Nanomaterialien nach dem Prinzip der belebten Natur ein großer Stellenwert in der Forschung zu. Dabei beruht der sogenannte „Bottom-up“-Ansatz auf dem physikalisch-chemischen Prinzip der Selbstorganisation von kleineren Einheiten wie z.B. Atomen, Ionen und Molekülen, welche sich gezielt zu größeren Partikeln und Clustern zusammenlagern. Hierzu zählen neben der Herstellung der Nanomaterialien aus der Gasphase, elektrochemischen Verfahren, das Templatverfahren und dem Sol-Gel-Prozess auch die im Rahmen dieser Arbeit verwendete Methode der Reduktion von Metallsalzen in wässrigen und organischen Lösungsmitteln.^[24,57]

2.4.1 Monodisperse Nanopartikel

Für die meisten Anwendungen werden Nanopartikel mit einer engen Größenverteilung benötigt, weswegen das Augenmerk bei der Nanopartikelsynthese auf dem Erhalt relativ monodisperser Nanopartikeln liegt.^[58,59] Nach dem klassischen Modell zum Partikelwachstum von *LaMer und Dinega*^[60] wird dafür eine Trennung der Nukleations- und Wachstumsphase in zwei Stufen benötigt.

In Abb. 9 ist der Nukleations- und Wachstumsmechanismus nach *LaMer* anhand des zeitlichen Verlaufs der Monomerkonzentration (Konzentration der „freien“ Metallatome) schematisch dargestellt. Dieser Mechanismus lässt sich dabei in drei Phasen unterteilen. Zu Beginn sind noch keine freien Monomere in der Reaktionslösung vorhanden. In Phase I führt die Reduktion der in der Lösung enthaltenen Metallionen oder die Injektion der Präkursorlösung zu einer Erhöhung der Monomerkonzentration, bis eine Sättigungskonzentration erreicht wird. Dabei findet noch keine Nukleation in der Lösung statt. Die weitere Erhöhung der Monomerkonzentration führt dann zu einer Übersättigung der Lösung und es kommt spontan zur Aggregation der Monomere. In der anschließenden Nukleationsphase wachsen so innerhalb kurzer Zeit viele Nukleationskeime unter Verbrauch der Monomere. Dadurch sinkt die Anzahl der Monomere unter die Nukleationsgrenze. Die zuvor entstandenen Keime wachsen nun in der Wachstumsphase durch weitere Anlagerung von Monomeren, bis sich zwischen der Anlagerung und der Abgabe der Monomere ein Gleichgewicht einstellt. Für die Ausbildung von monodispersen Nanopartikeln müssen wie in der Abbildung gezeigt, die Nukleation schnell und der Wachstumsprozess langsam verlaufen.^[61,62] In der anschließenden Reifungsphase können die Partikel weiter wachsen. Dabei unterscheiden sich die Synthese der Halbleiternanopartikeln und die Synthese der metallischen Nanopartikel voneinander. Im Gegensatz zur Synthese der Halbleiternanopartikel findet bei der Synthese der metallischen Nanopartikel keine Ostwald-Reifung statt, d.h., es erfolgt kein Wachstum der großen Partikel durch Aufnahme der kleinen Partikel.^[61,63] Hingegen hängen bei der Synthese von metallischen Nanopartikeln die resultierenden Partikelgrößen von der temperaturabhängigen Nukleationsgeschwindigkeit ab.

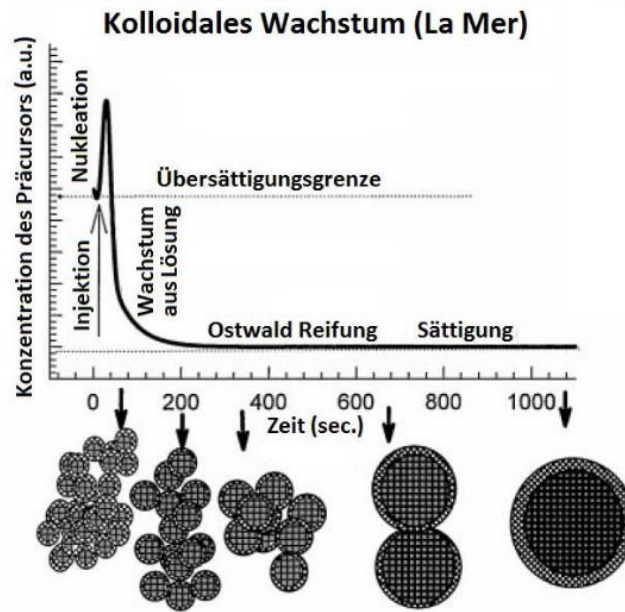


Abb. 9: Nukleation und Wachstum nach *LaMer* mit anschließender Reifungsphase (entnommen aus ^[59]).

So werden bei einer schnellen Nukleationsgeschwindigkeit (hohe Temperaturen) viele Nukleationskeime gebildet, die zur Entstehung kleiner Partikel führen. Eine langsame Nukleationsgeschwindigkeit (niedrige Temperaturen) führt nur zur Bildung weniger Keime, die zu großen Partikeln wachsen.^[61] Auch mit Hilfe von Stabilisatoren kann ein Einfluss auf die Partikelgröße ausgeübt werden.

2.4.2 Stabilisierung der Kolloide

Grundsätzlich besitzen alle synthetisierten Nanopartikel die Tendenz zur Aggregation, um auf diese Weise die große Oberfläche, die mit einer entsprechenden Oberflächenenergie verbunden ist, zu verringern. Deshalb lagern sie sich ohne eine stabilisierende Schutzhülle zu größeren und damit thermodynamisch günstigeren Partikeln zusammen. Durch den Einsatz von geeigneten stabilisierenden Liganden kann die Aggregation verhindert werden. Dabei unterscheidet man prinzipiell zwei Arten der Stabilisierung, die auf sterischen bzw. auf elektrostatischen Wechselwirkungen beruhen. Bei der sterischen Stabilisierung wird der Kontakt der Kolloidkerne durch sterisch anspruchsvolle Schutzhüllenliganden unterbunden.^[64]

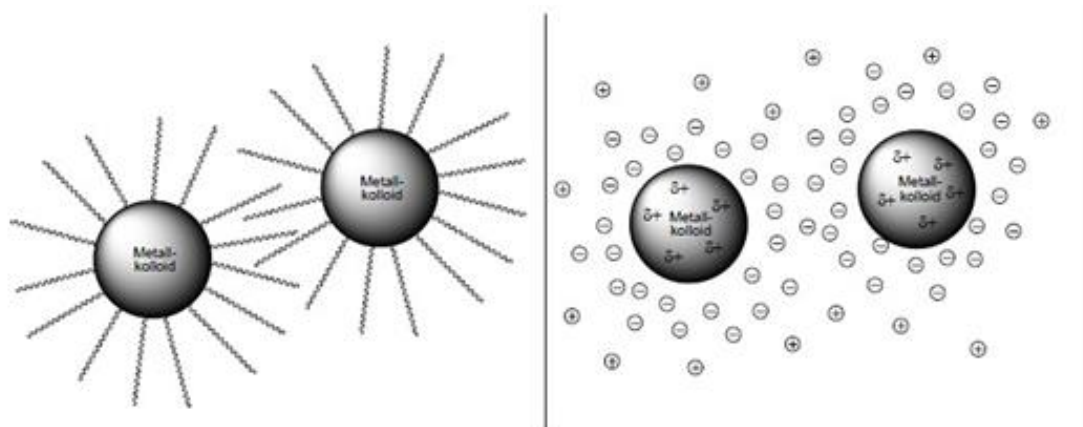


Abb. 10: Schematische Darstellung der sterischen (links) und der elektrostatischen (rechts) Stabilisierung der Nanopartikel.

Dazu können neben Polymeren und Tensiden auch langkettige Alkanthiole verwendet werden. Die andere Möglichkeit der Abschirmung ist die elektrostatische Stabilisierung. Sie basiert auf der Coulomb-Abstoßung zwischen zwei benachbarten Partikeln, die durch eine elektrische Doppelschicht, welche von adsorbierten Ionen und ihren Gegenionen ausgebildet wird, hervorgerufen wird.^[65] Diese Methode wird häufig bei metallischen Partikeln angewandt und arbeitet typischerweise mit Citraten oder Donormolekülen wie z.B. Phosphinen und Aminen. Allerdings ist die ausgebildete Doppelschicht gegenüber äußeren Parametern wie der Temperatur und der Ionenstärke empfindlich, sodass äußere Einflüsse zur Agglomeration der Partikel führen können.

2.4.3 Synthese von Edelmetallnanopartikeln

In diesem Unterkapitel soll die Synthese der in der vorliegenden Arbeit als Ausgangsmaterialien für weitere Oberflächenfunktionalisierungen verwendeten Edelmetallnanopartikel genauer vorgestellt werden. Die durch unterschiedliche Syntheserouten synthetisierten Gold- und Silbernanopartikel unterscheiden sich in ihrer Größe und ihrer Ligandenhülle. Dabei beruhen alle Synthesen auf demselben Prinzip, nämlich der Reduktion eines Metallsalzes durch ein adäquates Reduktionsmittel in Gegenwart eines Stabilisators in organischen oder wässrigen Lösungsmitteln. Der resultierende Partikeldurchmesser wird durch die geeignete Ligandenwahl, der Lösungsmittelpolarität,

2 Theoretische Grundlagen

der Reaktionstemperatur und –dauer sowie der Konzentration und Stöchiometrie der Edukte eingestellt.

In Tabelle 1 sind die bekanntesten Synthesen zur Darstellung von Goldnanopartikeln nach dem „Bottom-up“-Prinzip aufgeführt.^[22] Dabei ist die 1994 veröffentlichte *Brust-Schiffrin*-Methode eine der bedeutendsten Synthese-Methoden zur Darstellung kleiner Goldnanopartikel.^[66] Diese von *Faraday* inspirierte Methode beruht auf der Reaktion eines in Wasser gelösten Goldsalzes mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel im Zwei-Phasen-System. Durch Zugabe eines Phasentransferreagenz wie Tetraoctylammoniumbromid (TOAB) wird das Goldsalz als Kontaktionenpaar in die Toluolphase transferiert und an der Phasengrenze in Anwesenheit eines Alkanthiols reduziert.^[67] Die Verwendung von Methanol als Lösungsmittel ermöglicht zusätzlich die Synthese im Einphasensystem. Auf diese Weise stellt die *Brust-Schiffrin-Methode* eine einfache Synthese für thermische und luftstabile Goldnanopartikel mit einer Größe von 1,5 – 5 nm dar. Die Vorteile der Methode bestehen in der einfachen Einstellung der Partikelgröße durch das Gold / Ligand-Verhältnis^[24,68] und in der Möglichkeit, eine große Zahl von Liganden mit unterschiedlichen Funktionalitäten zu verwenden.^[25] Hingegen zeigt sich der Nachteil der Methode in einer breiten Größenverteilung der erhaltenen Partikel. Um diese für verschiedene Anwendungen nachteilige Größenverteilung zu umgehen, publizierten 2006 *Stucky et al.* eine Methode im Einphasensystem, mit der in einem Schritt kleine monodisperse Partikel mit einer Abweichung < 5% erhalten werden konnten.^[69]

Tabelle 1: Übersicht der bekanntesten Synthesemethoden für Goldnanopartikel.^[22]

Partikelgröße (nm)	Methode	stabilisierender Ligand
1-2	Schmid-Cluster: Reduktion von AuCl(PPh ₃) durch Diboran oder NaBH ₄	Phosphin ^[70]
1,5-6	Reduktion von HAuCl ₄ durch NaBH ₄ in Anwesenheit von Thiolliganden	Alkylthiol ^[66]
5-8	Reduktion von HAuCl ₄ durch NaBH ₄ in Anwesenheit von TOAB	TOAB ^[67]
8-20	Synthese von Amin koord. AuNP	Oleylamin ^[71]
2-200	Citrat-Methode: Reduktion von HAuCl ₄ durch Natriumcitrat in H ₂ O	Citrat ^[72-74]

2 Theoretische Grundlagen

Ausschlaggebend für diese enge Größenverteilung ist der als Reduktionsmittel verwendete Boran-Komplex, der im Vergleich zu anderen Reduktionsmitteln wie z.B. NaBH_4 oder LiBH_4 eine schwächere Reduktionsfähigkeit besitzt und durch die daraus folgende langsamere Reduktionsgeschwindigkeit eine gewisse Kontrolle über das Wachstum der Nanopartikel erlaubt. 2011 veröffentlichten *Song et al.*^[75] eine Studie zur Synthese von 1 - 6 nm großen Thiol-stabilisierten Goldnanopartikeln nach der *Stucky-Methode*. Darin konnten Sie zeigen, dass für die Synthese monodisperser Goldnanopartikel auch das Goldsalz Triphenylphosphingoldchlorid mit seinen Phosphinliganden zwingend notwendig ist, da die Durchführung der Synthese mit Tetrachlorogoldsäure zu 1,5 nm großen polydispersen Partikeln führte. Neben dem eingesetzten Goldsalz und dem Reduktionsmittel spielen auch die Reaktionstemperatur, die Reaktionszeit, das organische Lösungsmittel und die Konzentration der Reaktanten bei diesem Syntheseweg eine wichtige Rolle. Je höher die Reaktionstemperatur und die Konzentration der Reaktanten sind, umso schneller verläuft die Reduktion und somit das Wachstum der Partikel. So können z.B. Nanopartikel bei 55 °C in 5 min hergestellt werden, während die Synthese bei Raumtemperatur 1 h benötigen würde.^[69] Gleichzeitig begünstigt eine hohe Reaktionstemperatur die Bildung größerer Partikel.^[75] Das verwendete organische Lösungsmittel beeinflusst die Größe der Partikel insofern, dass umso kleinere Partikel entstehen, je polarer das Lösungsmittel ist (Tabelle 2). Generell können auch andere Thiole zur Stabilisierung der Goldnanopartikel verwendet werden. Neben Monothiolen sind Di- und Trithiole wegen möglicher Chelateffekte von großem Interesse.^[76,77]

Tabelle 2: Variation der Reaktionsparameter für die Partikelsynthese nach *Stucky et. al.* zur Erzeugung unterschiedlicher Partikelgröße.

Partikelgröße (nm)	Verhältnis Ligand / Goldsalz	Lösungsmittel	Reaktionszeit (h)	Reaktionstemperatur (°C)
7	2:1	Benzol	1	55
5	2:1	Benzol	1	RT
3,5	3:1	Chloroform	5	65
1,5	3:1	Ethanol / Chloroform	5	RT

2 Theoretische Grundlagen

Unter einer Vielzahl an mehrzähligen Thioliganden ist die Dihydroliponsäure (DHLS) eine der am häufigsten untersuchten und zeichnet sich durch eine hohe Stabilität und Aggregationshemmung der erhaltenen Goldkolloide in wässrigem Medium aus.^[78,79]

Neben der Immobilisierung von Thiolen ist auch die Stabilisierung von Goldkolloiden mit schwächeren Liganden wie Selenole, Phosphine und Amine möglich, wobei die Bindungsaffinität der Liganden auf die Partikeloberfläche dem HSAB-Konzept von *Pearson* folgend von $S > P > N > O$ abnimmt.^[80] *Leff et al.* publizierten 1997 eine Modifizierung der *Brust-Schiffrin*-Methode zur Synthese von Amin-koodinierten Goldkolloiden durch Reduktion von Tetrachlorogoldsäure mit Natriumborhydrid in Anwesenheit von Oleylamin oder Dodecylamin als Stabilisator.^[71] Nach Untersuchungen von *Gandubert und Lennox*^[81] erfolgt die Stabilisierung der funktionalisierter Goldnanopartikel durch Ausbildung eines labilen Donor-Akzeptor-Komplexes des 4-Dimethylaminopyridins mit der Goldoberfläche. Somit bindet der DMAP-Ligand im Unterschied zu den Dodecanthiol-funktionalisierten Goldkolloiden nicht-kovalent an die Partikeloberfläche und besitzt dadurch im Vergleich zu Thiolen eine geringere Bindungsaffinität, die einen quantitativen Austausch der Ligandenhülle auch gegen schwach stabilisierende Liganden ermöglicht. Dies, die Löslichkeit in Wasser und die Stabilität über einen weiten pH-Bereich (5 - 12,8) machen 4-Dimethylaminopyridin-funktionalisierte Goldkolloide zu einem hervorragenden Präkursor für Anwendungen, bei denen wasserlösliche Nanopartikel benötigt werden.^[82]

Die bekannteste Methode zur Synthese von Goldnanopartikeln im wässrigen Medium stellt jedoch die von *Turkevitch et al.*^[72,73] 1951 ausführlich beschriebene und von *Frens et al.*^[74] 1973 weiterentwickelte Citrat-Methode dar. Dabei wird Tetrachlorogoldsäure in Wasser gelöst und bis zum Sieden erhitzt, bevor eine Natriumcitrat-Lösung hinzugegeben wird. Das Natriumcitrat übernimmt dabei die Funktion des Reduktionsmittels wie auch die Rolle als Ligand, der durch Coloumb-Wechselwirkungen an die Partikeloberfläche gebunden wird und dadurch die Partikel stabilisiert. Durch Änderung des Citrat / Goldsalz-Stoffmengenverhältnisses und durch Ersetzen eines Teils des Citrats durch Zitronensäure zur Variation des pH-Wertes können Partikeldurchmesser von 15 – 150 nm eingestellt werden.^[22]

Ähnlich wie Goldnanopartikel können Silbernanopartikel mit verschiedenen Größen, Formen, Ladungen und unterschiedlicher Oberflächenfunktionalisierung nach den bereits beschriebenen Methoden hergestellt werden.^[32,83] Wegen seiner guten Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln werden als Silbervorstufe meistens Silbernitrat^[84] oder Silberacetat^[85] verwendet und als Stabilisatoren werden Citrat, Oleylamin oder Dodecanthiol eingesetzt. Die weitverbreitetste Methode zur Herstellung von Silbernanopartikeln ist aber die *Lee-Meisel-Methode*. In der von der *Turkevich-Methode* abgeleiteten Synthese wird Silbernitrat durch NaBH_4 und Natriumcitrat reduziert.^[86]

2.4.4 Synthese von Halbleiternanopartikeln

Die Beobachtung des Einflusses der Partikelgröße auf die optischen Eigenschaften der Halbleiternanopartikel gab den Anstoß zur Entwicklung verschiedener Synthesemethoden. Die ersten Synthesen erfolgten dabei durch „Top-down“-Prozesse (z.B. Lithografie), durch Fällungsreaktionen in wässrigen Medien, aus ionischen Vorstufen in Gegenwart von strukturierten Mizellen oder in organischen hoch siedenden Lösungsmitteln.^[35] Allerdings zeigten die so hergestellten Nanopartikel oft eine schlechte Kristallinität und eine hohe Polydispersität. Deshalb stellte 1993 die Gruppe um *Bawendi* eine Methode zur Herstellung von monodispersen CdS-, CdSe-, und CdTe-Nanopartikeln mit einer Größenverteilung von 8-11% vor.^[87] Diese organometallische Synthese erfolgt bei 250 - 350 °C im hoch siedenden Lösungsmittel Trioctylphosphinoxid (TOPO) durch Umsetzung von Dimethylcadmium mit einer Chalkogenid / Trioctylphosphin (TOP)-Vorstufe und wird deshalb auch als Heißinjektionsverfahrens („Hot-Injection“) bezeichnet. In den letzten Jahren wurde diese Methode optimiert. Z.B. gelang es *Alivisatos et al.* durch einen einfachen Austausch von TOP gegen Tributylphosphinoxid die Ostwald-Reifung bei der Synthese kolloidaler CdSe-QDots besser zu kontrollieren.^[88] Durch geeignete Wahl der Reaktionstemperatur ist zudem die Synthese bestimmter Partikelgrößen ohne anschließende größenabhängiger Abtrennung von anderen Partikelgrößen erstmals möglich. 2001 verbesserten *Peng et al.* die Methode weiter, indem die Gruppe das giftige Dimethylcadmium gegen das weniger giftige Cadmiumoxid oder Cadmiumacetat ersetzten.^[89] Zusätzlich kann durch den Einsatz von Alkylaminen wie Hexadecylamin (HDA)

2 Theoretische Grundlagen

als weiterer Liganden neben den langkettigen Alkylphosphinoxid TOPO und den Alkylphosphin TOP eine Verbesserung der Partikelgrößenverteilung erzielt werden.^[90] Die Zugabe der sterisch weniger anspruchsvollen Amine führte dabei zu einer höheren Bedeckungsdichte und einer besseren Stabilisierung der Partikel. Weiterhin kann durch die Zugabe von nicht koordinierenden Lösungsmitteln, wie z.B. Octadecen die Reaktionsgeschwindigkeit gesenkt und somit eine engere Partikelgrößenverteilung erhalten werden.^[91]

Diese Hochtemperatursynthese in Kombination mit der Verwendung der Schlenktechnik gilt noch heute die beste Methode zur Herstellung von 1,2-11 nm großen Halbleiternanopartikeln mit einer hohen Qualität und hohen Reproduzierbarkeit in Bezug auf die Monodispersität, Kristallgröße, Quantenausbeute und Form. Den vielen Vorteilen steht der Nachteil gegenüber, dass die erhaltenen QDots wegen ihrer hydrophoben Liganden nicht wasserlöslich sind. Für mögliche Anwendungen in biologischen Systemen müssen die Nanopartikel deswegen durch aufwendige Ligandenaustauschreaktionen mit Mercapto-carbonsäuren, amphiphilen Polymeren oder durch Beschichtung mit einer Silikahülle ins wässrige Medium überführt werden. Neben einer möglichen Agglomeration der QDots und der Zunahme des hydrodynamischen Durchmessers haben Ligandenaustauschreaktionen den Nachteil, dass es meist zur Abnahme der Quantenausbeute kommt.^[92] Deswegen hat sich in den letzten Jahren eine weitere Synthesestrategie etabliert, die eine direkte Umsetzung der Cadmium-Vorstufe mit der im wässrigen Medium in Gegenwart von kurzkettigen Mercapto-carbonsäuren vorsieht.^[93] Für die auf *Weller et al.*^[94] zurückgehende und von *Zang et al.*^[95] verbesserte Synthesestrategie werden meist H₂X-Gas oder NaHX (X = Te, Se, S) als Chalkogenid-Vorstufe verwendet, die bei 100 °C und einem pH-Wert von > 10 mit der Cadmium-Vorstufe und dem Stabilisator zur Reaktion gebracht werden.^[96,97] Die Qualität, die Fotolumineszenz und die Quantenausbeute der Nanopartikel werden bei der Reaktion vom pH-Wert, den absoluten Konzentrationen und den Verhältnissen zwischen Cd:X und Cd:Thiol bestimmt. Durch die Optimierung dieser Werte können Mercapto-carbonsäure stabilisierte QDdots mit einem Partikeldurchmesser < 6 nm hergestellt werden, die den ganzen sichtbaren Bereich des Lichts abdecken und eine Quantenausbeute von 70% besitzen. Diese können somit mit den Besten aus der organometallischen Synthese erhaltenen QDdots konkurrieren.^[96] Im

2 Theoretische Grundlagen

Vergleich zur organischen Synthesestrategie ist die Synthese im wässrigen Medium zusätzlich einfacher, günstiger, weniger toxisch und kann auch für große Ansätze verwendet werden.^[98] Die aus der direkten Synthese im wässrigen Medium erhaltenen QDots zeigen zusätzlich eine exzellente Wasserlöslichkeit, Biokompatibilität und Langzeitstabilität.^[98]

Durch eine postsynthetische Beschichtung der QDots können mögliche toxikologische Aspekte beeinflusst und die Quantenausbeute weiter erhöht werden.^[96] Der Aufbau solcher Kern-Schale-Partikel erfolgt meist durch die Verwendung eines Materials mit größerer Bandlücke (z.B. ZnS). Neben dem Schutz des Kerns vor Oxidation ermöglichen solche Schalen eine Reduktion der strahlungsfreien Relaxation an Oberflächendefekten mit der Folge einer Erhöhung der Lumineszenz. Darüber hinaus, zeigen insbesondere Zn-haltigen Schalen eine größere Affinität zu Thiolgruppen, die für eine Funktionalisierung der Partikel von hoher Bedeutung ist.^[96]

2.4.5 Synthese von magnetischen Eisenoxidnanopartikeln

Die einzigartigen Eigenschaften der Eisenoxidnanopartikel hängen entscheidend von der Partikelgröße, der Stabilität und der Oberflächenliganden ab, weshalb diese in der Synthese exakt einstellbar sein müssen. Aus diesem Grund wurden zur Herstellung von magnetischen Eisenoxidnanopartikeln in den letzten Jahren einige geeignete Methoden entwickelt, die grundsätzlich in vier Kategorien eingeteilt werden können. Neben der Synthese in Mizellen und durch Hydrothermalsynthese können Eisenoxidnanopartikel durch Co-Präzipitation im wässrigen Medium oder durch Reduktion und thermische Zersetzung aus metallischen Präkursoren in einem hoch siedenden organischem Lösungsmittel dargestellt werden (Abb. 11).^[43,99] Dabei stellt die seit Langem bekannte Co-Präzipitationsmethode die weitverbreitetste Technik zur Herstellung von magnetischen Eisenoxidnanopartikeln dar und beruht auf der Ausfällung von Fe(II)- und Fe(III)-Salzen in wässrigen Lösungen durch Zugabe einer Base (NaOH, NH₄OH, N(CH₃)₄OH) bei Raum- oder leicht erhöhter Temperatur. Durch Zugabe von stabilisierenden Oberflächenliganden wie z.B. Dextranen, Stärke und Polymere werden die erhaltenen Nanopartikel vor Agglomeration geschützt.

2 Theoretische Grundlagen

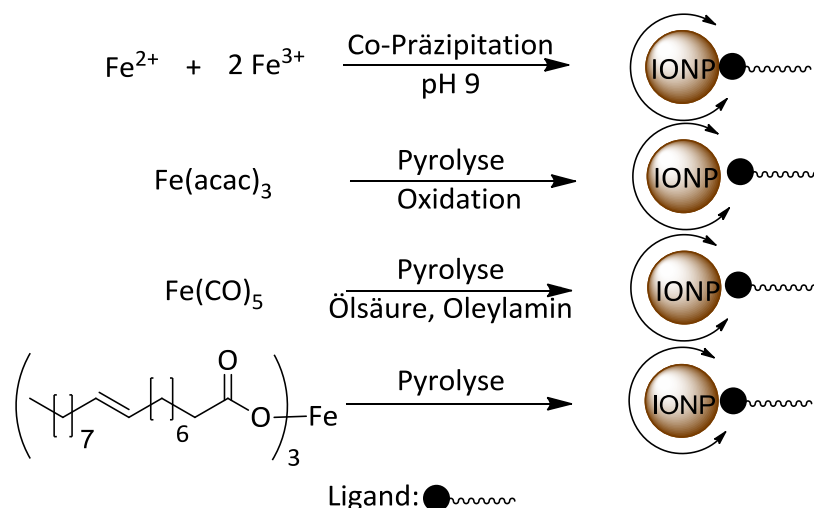


Abb. 11: Übersicht der Co-Präzipitation und der organische Hochtemperatursynthese zur Herstellung von Eisenoxidnanopartikeln (IONP). Zum Schutz vor Agglomeration werden die Partikel mit Liganden funktionalisiert. Pfeile um den Partikelkern geben an, dass der Ligand auf der kompletten Oberfläche immobilisiert wird.

Analog der Synthesen von Edelmetall- und Halbleiternanopartikeln bestimmen die verschiedenen Reaktionsbedingungen, wie die Temperatur, der pH-Wert, die Ionenstärke des Mediums und die Art der Eisensalze (z.B. Chloride, Sulfate, Nitrate) und ihr stöchiometrisches Verhältnis die Partikelform und -größe. So können Eisenoxidnanopartikel im Größenbereich von 10 bis 200 nm mit dieser Methode erhalten werden.

Ein großer Vorteil dieser Methode besteht neben der einfachen und kostengünstigen Synthese, in einer guten Reproduzierbarkeit auch bei der Durchführung im großen Maßstab. Allerdings kann die Größenverteilung der erhaltenen Partikel nur schwierig kontrolliert werden. Durch die sehr schwierige Steuerung der Größenverteilung in Kombination mit dem hohen pH-Wert der Lösungen schließt diese Methode für die Verwendung in einigen Anwendungsbereichen aus. Deshalb wurde in den letzten Jahren eine weitere, durch die Synthese qualitativ hochwertiger Halbleiternanopartikel inspirierte Methode, zur Herstellung magnetischer Eisenoxidnanopartikel entwickelt.^[100] Diese ermöglicht durch die thermische Zersetzung von Eisenpräkursoren in hoch siedenden organischen Lösungsmitteln eine Darstellung mit steuerbaren Partikelgrößen und -form. Als Präkursoren eignen sich Eisenacetylacetonat, Eisenpentacarbonyl und Eisenchlorid, während als Liganden Fettsäuren, oder Hexadecylamin zum Einsatz kommen. Dabei ist das Verhältnis der Startmaterialien, d.h. der metallorganischen Verbindungen, der Liganden

und des Lösungsmittels, entscheidend für die Steuerung der Größe und Morphologie der Eisenoxidnanopartikel. Auch die Reaktionstemperatur, Reaktionszeit und Dauer des Alterungsprozesses beeinflussen das Partikelwachstum. Bei geeigneter Wahl der Reaktionsparameter können mit dieser Methode nahezu monodisperse Magnetit-Nanopartikel mit Größen von 3 - 50 nm und sphärische oder Quaderform hergestellt werden. *Hyeon et al.* publizierten eine weitere zweistufige Variante der thermischen Zersetzung zur Herstellung von 5 - 22 nm großen, monodispersen Eisenoxidnanopartikeln. Dazu verwendeten sie als Eisenvorstufe Eisen(III)-chlorid, welches mit Natriumoleat *in situ* zu einem Eisenoleatkomplex umgesetzt wird.^[101] Bei Temperaturen zwischen 240 °C und 320 °C erfolgt dann die Zersetzung zu den Eisenoxidnanopartikeln. Die erhaltenen Eisennanopartikel können durch unterschiedliche Umfunktionalisierungen wie z.B. Polymeren, Coating usw. neu funktionalisiert werden.

2.4.6 Funktionalisierung von Nanopartikeln

Wie bereits bei der Vorstellung der unterschiedlichen Partikelsynthesen gezeigt werden konnte, werden die einzigartigen Eigenschaften der Nanopartikel nicht nur durch das Kernmaterial sondern zu einem großen Teil auch durch die gebundenen Oberflächenliganden bestimmt. So beeinflussen die Ligandenmoleküle nicht nur das Wachstum während der Synthese, sondern verhindern auch die Aggregation der Nanopartikel und bestimmen ihr Löslichkeitsverhalten. Durch die Immobilisierung auf der Kolloidoberfläche können aber auch neue Eigenschaften entstehen, welche die immobilisierten Moleküle im ungebundenen Zustand nicht aufweisen.

Neben der Ausstattung der Nanopartikel mit Oberflächenfunktionalitäten während der Synthese kann aber auch eine Funktionalisierung nach der Synthese erfolgen. Diese Möglichkeit wird häufig für die Synthese bioaktiver Nanopartikel verwendet und hat eine Modifikation der gebundenen funktionellen Gruppen an der Partikeloberfläche oder dem lösungsmittlexponierten Ligandenteil zum Ziel.

Die wichtigste Möglichkeit der post-synthetischen Oberflächenfunktionalisierung beruht auf einem Austausch des während der Synthese immobilisierten Ligands durch einen

2 Theoretische Grundlagen

Neuen. Dabei kann durch die Einführung eines neuen Ligands die Stabilität der Partikel erhöht, ein Phasentransfer erfolgen und neue Funktionalitäten präsentiert werden.^[54,102] Für diese Art von Umfunktionalisierung eignet sich besonders der Austausch von Liganden mit einer geringen Affinität zur Oberfläche. Typische Beispiele dafür sind Citrat-^[103,104], Oleylamin^[105] oder 4-(Dimethylamino)pyridin-koordinierte Goldnanopartikel^[81] die durch Thiole ausgetauscht werden können. Mit der starken kovalenten Gold-Schwefel-Bindung können die durch elektrostatische Wechselwirkungen immobilisierten Citrat-, Amin- oder DMAP- Liganden nicht konkurrieren und werden deshalb von der Oberfläche verdrängt. Durch die Zugabe des Zielligands im großen Überschuss können aber auch stärkere Liganden von der Oberfläche quantitativ verdrängt werden, sodass auch Alkanthiol-koordinierte Goldnanopartikel durch andere Thiole ersetzt werden können.^[106] Die gleichen Grundsätze gelten auch für Halbleiter-QDots und magnetische Nanopartikel. So können TOP, TOPO und HDA durch stärkere bindende Liganden mit einer oder mehrerer Thiolgruppen von der Partikeloberfläche verdrängt werden,^[107] während Ölsäure-koordinierte Eisenoxidnanopartikel z.B. durch einen Ligandenaustausch mit Polymeren wasserlöslich werden.^[100] Wie bereits bei der Synthese der Nanopartikel schon erwähnt, hängt die Stabilität der Nanopartikel zusätzlich auch von der Länge und Verzweigung des Liganden ab und muss beim Ligandenaustausch mit berücksichtigt werden.

An den Ligandenaustausch schließt sich oft eine weitere Möglichkeit der Oberflächenfunktionalisierung an. Bei dieser Methode reagieren die funktionellen Gruppen an der lösungsmittel-exponierten Ligandperipherie mit den funktionellen Gruppen der zu immobilisierenden Moleküle. Durch Ausbildung einer kovalenten Bindung können so z.B. Proteinen, Peptiden, Zucker, Aminosäuren, Antikörper, DNA oder organische Fluorophore funktionalisiert werden.^[108] Neben der kovalenten Bindung kann die Umfunktionalisierung durch nicht-kovalente Wechselwirkungen an der Ligandenhülle erfolgen. Die Anbindung erfolgt dabei meist durch elektrostatische Adsorption von positiv geladenen Biomolekülen an negativ geladene Nanopartikel (oder umgekehrt). So kann z.B. Immunglobulin G (*IgG*) mit negativ geladenen Citrat-funktionalisierten Gold- und Silbernanopartikeln wechselwirken.^[109] Ein weiteres interessantes Beispiel stellten kürzlich *Vismara et al.* mit der multivalenten Präsentation von Heparin durch nicht-kovalente Wechselwirkung mit magnetischen Nanopartikeln vor, die wegen der biologischen Aktivität des Heparins

vielversprechende Werkzeuge für die Krebstheranostik sein könnten.^[110] Neben elektrostatische Wechselwirkungen können zusätzlich hydrophobe Wechselwirkungen und die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zur Oberflächenmodifikation verwendet werden. Bekannte Beispiele für diese Art von Oberflächenmodifikation ist die Wechselwirkung von Cyclodextrin-koordinierten Nanopartikeln mit Adamantan-funktionalisierten Liganden.^[111]

Die direkte Immobilisierung von Biomolekülen besitzt gegenüber anderen Modifikationsmethoden mit mehreren aufwendigen Funktionalisierungsschritten den Vorteil einer einfachen Durchführung.^[112] Sie weist aber auch einige entscheidende Nachteile auf, die sie für viele Anwendungen unbrauchbar macht.^[113] So ist die resultierende Stabilität der Biomolekül-Nanopartikel Konjugate meist stark von der Ionenstärke, dem pH-Wert und der Polarität des Lösungsmittels abhängig. Zudem variieren die Anzahl der gebundenen Moleküle und deren Orientierung auf der Partikeloberfläche aufgrund fehlender homogener Anbindung. Dies kann zu einer deutlichen Reduktion der Aktivität oder gänzlichen Inaktivität führen.^[114] Durch eine Kombination der unterschiedlichen Methoden der Oberflächenfunktionalisierung können Nanopartikel mit einer Vielzahl von Funktionalitäten ausgestattet werden, was ein zusätzlicher Grund für das große Interesse der Verwendung von Nanopartikeln in biologischen Systemen darstellt.^[115]

2.5 Charakterisierungsmethoden

Nicht nur die Eigenschaften der funktionalisierten Nanopartikeln sondern auch ihr Verhalten in biologischen Systemen hängen stark von der Form, Größe und Oberflächenbeschaffenheit der Nanopartikel ab. Deswegen muss vor einer Anwendung *in vitro*, und vor allem *in vivo*, die synthetisierten Nanopartikel genau charakterisiert werden, um aussagekräftige und vor allem reproduzierbare Resultaten zu erhalten.

Grundsätzlich können für die Charakterisierung von Nanopartikeln alle Methoden der Festkörperanalyse, wie z.B. die Elektronenmikroskopie oder die Röntgenbeugung, verwendet werden, welche die Untersuchung des Partikelkerns zum Ziel haben. Darüber

2 Theoretische Grundlagen

hinaus sind Nanopartikel mit funktionalisierten, organischen Liganden auch den traditionellen Charakterisierungsmethoden der organischen Chemie, als Beispiele dafür wären die NMR- und IR-Spektroskopie zu nennen, zugänglich. Somit können je nach Art der Untersuchungsmethode Informationen über den anorganischen Kern oder die organische Hülle des Nanopartikels erhalten werden. Wegen der großen Anzahl der Charakterisierungsmethoden ist eine ausführliche Vorstellung aller Methoden nicht möglich, weswegen an dieser Stelle auf einige in den letzten Jahren veröffentlichten Übersichtsartikeln verwiesen wird.^[116]

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Schwerpunkt der Charakterisierung des Kerns auf die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM), die Dynamische Lichtstreuung (DLS), die Emissionsspektroskopie und die Absorptionsspektroskopie (UV / Vis) gelegt, während die Analyse der Ligandenhülle hauptsächlich durch Kernresonanzspektroskopie (NMR) und Infrarotspektroskopie (IR) erfolgte. Zusätzlich wurden weitere Informationen über die Partikelkerne aus der energiedispersiven Röntgenanalyse (EDX), sowie über die Ligandenhülle mit thermogravimetrischer Analyse (TGA) erhalten.

Tabelle 3: Übersicht der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Charakterisierungsmethoden.

Charakterisierungsmethode	erhaltene Informationen
TEM	Partikelgröße und -form, Dispersität, Aggregationsgrad
EDX	Partikelzusammensetzung
TGA	Ligandenanzahl auf der Partikeloberfläche
DLS	Partikelgröße, Aggregationsgrad
Fluoreszenzspektroskopie	Partikelgröße und -form, Aggregationsgrad
Absorptionsspektroskopie	Partikelgröße und -form, Aggregationsgrad
NMR	Adsorbate (Ligandenhülle)
IR	Adsorbate (Ligandenhülle)

2 Theoretische Grundlagen

Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der verwendeten Charakterisierungsmethoden, die in diesem Unterkapitel kurz vorgestellt werden sollen. Eine genaue Bestimmung der Partikelgröße, der Partikelform, der Dispersität und des Aggregationsgrades ist von entscheidender Bedeutung für die meisten Nanopartikelanwendungen. Zur Bestimmung dieser Eigenschaften eignet sich besonders die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM).^[117] Neben diesen Informationen können mit Hilfe von hoch aufgelösten TEM-Aufnahmen auch Netzebenen beobachtet werden. Diese zeigen an, dass es sich bei der Probe um kristallines Material handelt, und können zusätzlich zur Bestimmung der Gitterkonstanten verwendet werden.^[118] Wie bereits angedeutet, gestaltet sich die Charakterisierung der Ligandenhülle mit TEM-Aufnahmen problematisch, da organische Moleküle eine zu geringe Elektronendichte besitzen, sodass diese im TEM selbst nicht oder nur schwer dargestellt werden können.^[119] Ein weiteres Problem der Charakterisierung mit TEM-Aufnahmen ist, dass üblicherweise nur feste Proben untersucht werden können. Bei Proben in Lösungen muss das Lösungsmittel entfernt werden und durch das Eintrocknen können sich die in Lösung vorliegenden Strukturen verändern. Eine Erweiterung der Transmissionselektronenmikroskopie stellt die energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) dar, mit deren Hilfe man die Elementzusammensetzung der Probe bestimmen kann. Dabei können sowohl einzelne Nanopartikel als auch größere Bereiche untersucht werden.

Eine Aussage über die Größe, Dispersität und den Aggregationsgrad einer Probe kann auch anhand der Methode der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) erfolgen. Die DLS ermöglicht die Bestimmung des hydrodynamischen Radius von Nanopartikeln, ohne dabei die Probe zu zerstören. Der hydrodynamische Radius ermöglicht eine Aussage über das Volumen des gesamten Nanopartikels, also des Metallkerns zusammen mit der Ligandenhülle. Deshalb zeigen DLS-Messungen im Vergleich zu TEM-Aufnahmen einen größeren Durchmesser an.^[120] Zusätzlich besteht der Nachteil der Methode in einer Überbewertung des Anteils großer Partikel in einer Lösung, wodurch die mittlere Partikelgröße in einer Größenverteilung meist überschätzt wird. Aus diesem Grund eignet sich die Größenbestimmung mit Hilfe der DLS nur für monodisperse Proben.

2 Theoretische Grundlagen

Wie bereits bei der Vorstellung der einzelnen Partikelarten kurz angesprochen besitzen Edelmetallnanopartikel und Halbleiter-QDots einzigartige optische Eigenschaften, die sich zur Charakterisierung der Partikel eignen. So können die Oberflächenplasmonenbanden der Edelmetallnanopartikel mittels UV/Vis-Absorptionsspektroskopie analysiert werden. Dabei kann mit Hilfe des UV/Vis-Spektrums eine Aussage über die Größe der Partikel, deren Form und Aggregationsgrad gemacht werden. So besitzen z.B. Goldnanopartikel ab einem Durchmesser von 2 nm eine rote Farbe, die durch die Absorption von grünem Licht mit niedriger Wellenlänge (ca. 520 nm) erhalten wird. Mit steigendem Partikeldurchmesser verschiebt sich das Absorptionsmaximum zu niedrigeren Energien und somit zu größeren Wellenlängen.^[121] Für eine gute Abschätzung der Partikelgröße werden allerdings gute Vergleichsspektren der zu untersuchenden Nanopartikel benötigt, welche man einer Reihe von Arbeiten entnehmen kann. So untersuchten *Njoki et al.* z.B. den Zusammenhang zwischen der Lage des Absorptionsmaximums und der Größe von Goldnanopartikeln im Größenbereich von 10 - 100 nm (Abb. 12).^[122] Zusätzlich erlaubt die Anzahl der Oberflächenplasmonenbanden Rückschlüsse auf die Form der Partikel. So liegen sphärische Partikel vor, wenn das Spektrum nur eine Bande besitzt. Sind mehrere Banden sichtbar, ist die Morphologie anisotrop, d.h. es könnten sich z.B. Stäbchen gebildet haben. Auch lassen sich mit Hilfe von Referenzspektren über die Intensität der Absorption Konzentrationen bestimmen.

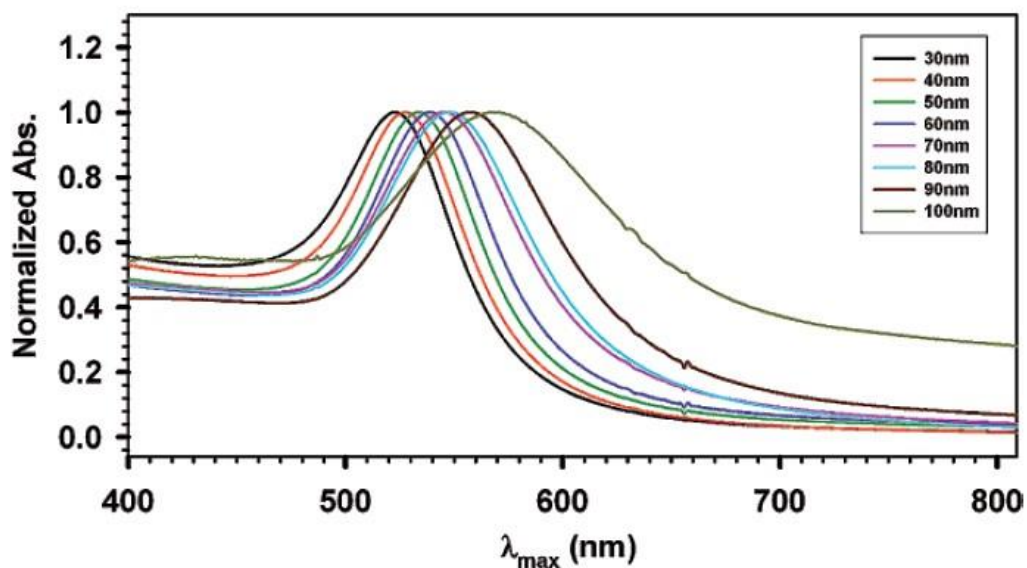


Abb. 12: UV/Vis-Spektren (normiert) von Au-Nanopartikeln verschiedener Größe (entnommen aus ^[122]).

Auch die Absorptions- und Emissionsmaxima der QDots hängen sehr stark von der Größe, Form, und chemischer Umgebung der Nanopartikel ab, weswegen die UV / Vis-Absorptionsspektroskopie und die Fluoreszenzspektroskopie zwei der wichtigsten Methoden für die Charakterisierung darstellen.^[123] Ein typisches Absorptionsspektrum eines QDots besteht aus einer breiten Absorptionsbande, bei der das erste Absorptionsmaximum den ersten exzitonischen Übergang darstellt.^[124] Dieses Maximum ist typisch für II-VI-Halbleiternanopartikel und kann deshalb genutzt werden, um die Größe der Nanopartikel in Lösung zu bestimmen. Die Größe kann mit Hilfe von empirischen Formeln (Gleichungen 2.5 A und 2.5 B) von *Yu et al.*^[123] ermittelt werden, wobei die Formeln den Zusammenhang zwischen Teilchendurchmesser D (in nm) und Lage des ersten elektronischen Übergangs λ (in nm) beschreiben.

$$D_{\text{CdSe}} = (1,6122 \cdot 10^{-9})\lambda^4 - (2,6575 \cdot 10^{-6})\lambda^3 + (1,6242 \cdot 10^{-3})\lambda^2 - (0,4277)\lambda + 41,57 \quad (2.5 A)$$

$$D_{\text{CdTe}} = (9,8127 \cdot 10^{-7})\lambda^3 - (1,7147 \cdot 10^{-3})\lambda^2 + (1,0064)\lambda - 194,84 \quad (2.5 B)$$

Mithilfe der Fluoreszenzspektroskopie können zusätzlich durch charakteristischen Merkmale wie die Emissionswellenlänge, Linienbreite und Intensität Informationen über die Partikelgröße und -form erhalten werden.^[125] Aus der Halbwertsbreite der Absorptionsbande der Edelmetallnanopartikel bzw. der Emissionsbande der QDots kann zusätzlich die Größenverteilung der Probe ermittelt werden. Dabei gilt die Faustregel, je schmaler die Bande desto kleiner die Größenverteilung, wobei man innerhalb von 20 - 40 nm von einer engen Größenverteilung spricht.

2.5.1 Charakterisierung der Ligandenhülle

Während die Charakterisierung von Nanopartikeln mit Hilfe z.B. der Transmissionselektronenmikroskopie, der Röntgenbeugung, der Dynamischen Lichtstreuung und der Fluoreszenz- und Absorptionsspektroskopie Informationen über die Beschaffenheit des Partikelkerns liefert, kann durch die Anwendung der magnetischen Kernresonanzspektroskopie die Ligandenhülle des Partikels untersucht werden.^[126] Dies ist von großer Bedeutung, da der passivierende Ligand meist für die Kontrolle der Partikelgröße und des Partikelwachstums verantwortlich ist. Auch kann man anhand von

NMR-Spektren Oberflächenumfunktionalisierungen, wie Ligandenaustauschreaktionen, kontrollieren.^[127] Typische Effekte in Nanopartikel-NMR-Spektren sind die deutliche Linienverbreiterung und Tieffeldverschiebung der Resonanzen der gebundenen Liganden im Vergleich zu ungebundenen Liganden.^[128] Ungebundene Verunreinigungen und Liganden behalten ihre scharfen Resonanzen und können so von gebundenen Liganden unterschieden und identifiziert werden (Abb. 13). Die Linienverbreiterung kann auf eine Heterogenität der chemischen Verschiebung zurückgeführt werden. Diese Heterogenität wird durch nichtsphärische Partikelformen, Wechselwirkungen an der Metall-Ligand-Grenzfläche, dielektrische Relaxation und Spin-Spin-Relaxation hervorgerufen. Zusätzlich spielen sowohl die Partikelgröße als auch die chemische Umgebung eine entscheidende Rolle.^[129,130] Murray *et al.*^[131] konnten z.B. anhand ihrer Untersuchungen mit Alkanthiol-funktionalisierten Goldnanopartikeln zeigen, dass es bei einer CH₂-Gruppe, die sich näher am Kern befindet, zu einer stärkeren Linienverbreiterung kommt. Dies wird dadurch begründet, dass diese CH₂-Gruppe am dichtesten gepackt ist und dadurch stärkere dipolare Wechselwirkungen erfährt, wohingegen sich die weiterentfernten CH₂-Gruppen freier bewegen können und ähnliche Spinrelaxationen, wie im nicht gebundenen Zustand erfahren. Neben diesen Effekten erschwert die geringe Konzentration an Nanopartikeln in der Probe, die meist im nanomolaren Bereich liegt, die Charakterisierung zusätzlich.

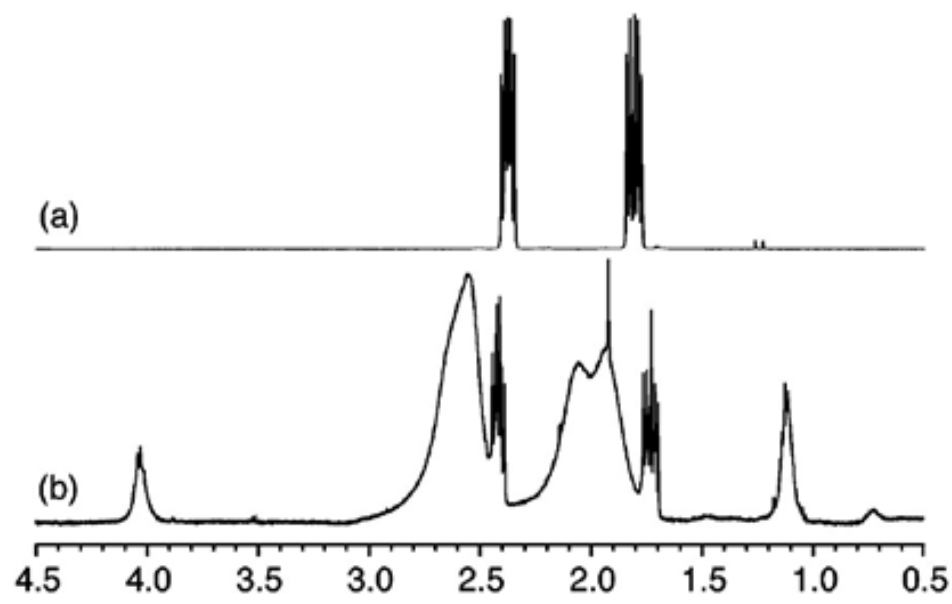


Abb. 13 Protonenspektren von (a) freiem CEPA und (b) CEPA-funktionalisierten SnO₂-Nanopartikeln gelöst in D₂O (entnommen aus ^[130]).

In manchen Fällen kann die Aufnahme von IR-Spektren, sofern funktionelle Gruppen mit charakteristischen, intensiven Banden vorhanden sind, sinnvoll sein. So ist es möglich die Anbindung von Thiol-Gruppen an der Goldoberfläche nachzuweisen, weil die S-H-Schwingung des freien Ligands durch die Anbindung im funktionalisierten Goldnanopartikel-Spektrum verschwindet.^[132] Dabei hängt das Massenverhältnis von Ligand zu Kern, und somit die Menge Ligand in einer Probe zur Aufnahme eines IR-Spektrums, vom Durchmesser des Kerns ab. Es ist daher zu erwarten, dass bei sehr großen Kernen relativ intensive Banden notwendig sind, um eine eindeutige Identifizierung einer funktionellen Gruppe vornehmen zu können. Ebenfalls tritt auch bei den IR-Spektren das Problem der Signalverbreiterung auf und kann dadurch die Identifikation von schwachen Banden im IR-Spektrum behindern.

2.5.2 Bestimmung der Ligandenzahl pro Nanopartikel

Mit Hilfe der thermogravimetrischen Analyse (TGA) kann über den Gewichtsverlust in Abhängigkeit von der Temperatur der Anteil der organischen Ligandenhülle an einer Probe bestimmt werden. Dabei desorbieren bei geeigneter Wahl des Temperaturprofils alle Liganden von der Partikeloberfläche und im Idealfall bleibt nur das Kernmaterial zurück. Bei Kenntnis der durchschnittlichen Partikelgröße (z.B. aus TEM-Aufnahmen oder Absorptionsspektren) kann aus den erhaltenen Daten des Gewichtsverlusts die Anzahl der Liganden pro Nanopartikel berechnet werden. Eine weitere Möglichkeit zur Bestimmung der Anzahl der Liganden pro Nanopartikel besteht ebenfalls in der Verwendung der NMR-Spektroskopie. Durch Zugabe einer bekannten Referenzsubstanz bei der NMR-Messung kann durch den Vergleich der Referenz-Integrale mit denen der Liganden eine Aussage über die Anzahl getroffen werden. Während im Vergleich zur TGA-Messung eine geringere Probenmenge benötigt wird und keine störenden Lösungsmittelreste vorhanden sind, besitzt diese Methode den Nachteil, dass sehr genau darauf geachtet werden muss, dass keine Wechselwirkungen zwischen Referenz und Ligand-Nanopartikel Konjugat auftreten, welche die Messung verfälschen könnten. Auch bleibt das Problem der geringen Konzentration an Nanopartikeln in der Probe vorhanden, so dass Vor- und Nachteile beider Methoden genau abgewogen werden müssen.

2.6 Der Entzündungsprozess und mögliche Ansatzpunkte für die antiinflammatorische Therapie

Im folgenden Unterkapitel soll näher auf das für diese Arbeit interessante medizinische Gebiet der Entzündungsreaktion eingegangen werden. Dazu wird zunächst ein kurzer Überblick über die Ursachen von Entzündungen und deren Verlauf gegeben, bevor näher auf mögliche Wirkstofftargets für die antiinflammatorische Therapie eingegangen wird. Danach werden die auf diesem Gebiet bereits vorhandenen Kenntnisse zu Minimal-Liganden und Mimetika kurz zusammengefasst.

2.6.1 Bedeutung von Entzündungsprozessen im Körper und der Verlauf der Adhäsionskaskade

Die Entzündungsreaktion ist ein sichtbares Kennzeichen einer örtlich begrenzten Immunantwort des Organismus auf exogene oder endogene Noxen, wie z.B. eindringende Mikroorganismen oder Fremdpartikel aber auch entartete körpereigene Zellen (z.B. Tumorzellen). Es handelt sich bei einer Entzündung um eine Mobilisierung und Aktivierung verschiedener Zellen des Immunsystems (z.B. Leukozyten) und deren Infiltration des betroffenen Gewebes. Dieser entscheidende Schritt der zellulären Immunabwehr wird durch ein kaskadenartiges Zusammenwirken verschiedener Adhäsionsmolekülen (Cadherine, Integrine, Mitglieder der Immunglobulinsuperfamilie, Selektine), ihren entsprechenden Liganden und Zytokinen vermittelt. Man bezeichnet dieses Zusammenwirken deshalb auch als Inflammationskaskade bzw. Adhäsionskaskade der Leukozyten. Das erstmals von *Butcher et al.*^[133] vorgestellte und von *Springer et al.*^[134] weiterentwickelte Modell der Adhäsionskaskade teilt diese in drei Schritte ein (1. Reversible Adhäsion 2. Leukozytenaktivierung 3. Aktivierungsabhängige feste Bindung). 2007 konnten *Ley et al.* nach neu erlangten Erkenntnissen diese klassische Adhäsionskaskade weiter verfeinern, sodass nach heutigem Stand der Forschung die Extravasation der Leukozyten aus der Blutbahn zum Entzündungsherd in sieben Schritten (1. initialer Kontakt, 2. Rollen, 3. langsames Rollen, 4. feste Adhäsion, 5. Verstärkung der

2 Theoretische Grundlagen

Adhäsion und Abflachen der Leukozyten, 6. intravaskuläres Kriechen, 7. parazelluläre oder transzelluläre Transmigration) erfolgt (Abb. 14).^[4] Beim Verlauf der Adhäsionskaskade der Leukozytenextravasation kommt es zu Wechselwirkungen von Leukozyten mit dem Endothel, die mit deren Einfangen aus dem Blutstrom und dem initialen Kontakt beginnt.

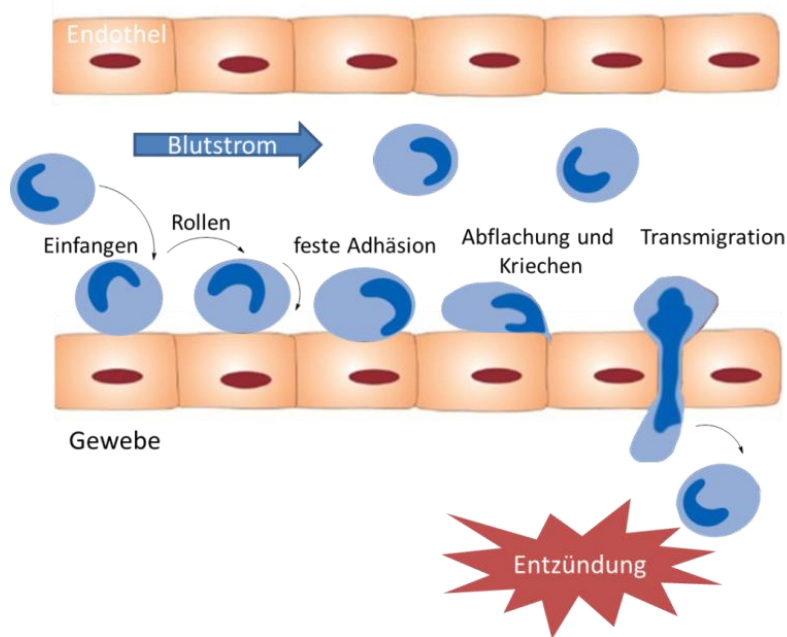


Abb. 14: Schematische Darstellung der Adhäsionskaskade der Extravasation der Leukozyten aus der Blutbahn in das entzündete Gewebe nach dem heute gültigen Modell von *Ley et al.*

Dabei stimulieren die vom Entzündungsherd ausgeschütteten Signalmoleküle, wie z.B. $\text{TNF-}\alpha$ (Tumornekrose-faktor- α) oder Interleukin-1, im ersten Schritt der inflammatorischen Kaskade die Endothelzellen Selektine auf ihre Oberfläche zu präsentieren (Abb. 15). Diese Selektine treten daraufhin in Wechselwirkung mit den im Blutstrom zirkulierenden Leukozyten, die auf ihrer Oberfläche kohlenhydrathaltige Selektinliganden, wie z.B. PSGL-1 (P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1), tragen. Durch diese Wechselwirkungen werden die Leukozyten abgebremst und beginnen entlang des vaskulären Endothels zu „rollen“.^[135] Sobald die ersten Leukozyten auf dem Endothel rollen, können weitere Leukozyten sekundär an die rollenden Zellen binden, so dass die Leukozyten am Ort der Entzündung akkumulieren. Durch das Rollen bewegen sich die Leukozyten langsam am Endothel entlang und werden von weiteren Selektin vermittelten Wechselwirkungen aktiviert (langsame Rollen).

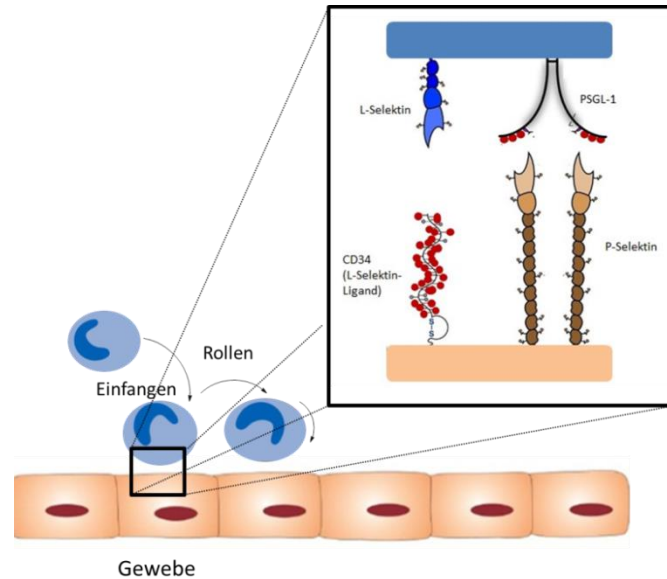


Abb. 15: Der initiale Kontakt stellt den ersten Schritt der Adhäsionskaskade dar. Dabei binden die Mitglieder der Selektin-Familie an ihre Liganden. Selektine werden dabei sowohl auf den Leukozyten (L-Selektin), als auch auf dem Endothel (E- und P-Selektin) exprimiert.

Als Ergebnis der Aktivierung exprimieren die Leukozyten Rezeptoren der Integrinfamilie, die dann durch Bindung ihrer korrespondierenden Liganden aus der Immunglobulin-Superfamilie die nachfolgende feste Adhäsion der Leukozyten am Endothel und deren Emigration durch interzelluläre Zwischenräume (Transmigration, Diapedese) in das entzündete Gewebe vermitteln. Bei einer Disregulierung der Inflammationskaskade kommt es zu einer übermäßigen Leukozytenrekrutierung am Entzündungsort und führt zu einer ständigen und unkontrollierten Immunantwort, die zu einer chronischen Erkrankung führen kann. Als Folge der anhaltenden Extravasation der Leukozyten bei chronischen Entzündungen kommt es häufig zu irreversiblen Schäden des Gewebes bis hin zum Absterben der gewebbildenden Zellen. Eine solche Disregulierung der Inflammationskaskade ist z.B. bei der rheumatoiden Arthritis oder Morbus Crohn beobachtet worden. Sie wurde aber auch bei Atherosklerose, diabetischen Gefäßschäden und bei der Alzheimer Erkrankung nachgewiesen.^[136] Außerdem wird eine Selektinbeteiligung bei der Metastasierung von Tumorzellen diskutiert.^[137]

Aus diesem Grund und weil der Selektin-vermittelte initiale Kontakt der Leukozyten den ersten entscheidenden Schritt des komplexen Entzündungsprozesses darstellt, sind Selektine folglich von großer Bedeutung für die antiinflammatorische Forschung.^[138]

2.6.2 Die Familie der Selektine

Nach heutigem Stand der Forschung unterscheiden sich die Selektine vor allem in ihrer Selektivität hinsichtlich der Zell-Zell-Wechselwirkungen von den Cadherinen, den Integrinen und der Immunglobulin-Superfamilie. So sind Selektine im Gegensatz zu den anderen an der Leukozytenextravasation beteiligten Adhäsionsmolekülen auf die Steuerung der Inter-aktionen zwischen Leukozyten, Endothelzellen und Thrombozyten und somit auf das vaskuläre System beschränkt. Dies spiegelt sich auch im Namen der Familie wieder, der sich aus *Sel* für „selektiv“ und *Lektin*, der Bezeichnung für natürliche Kohlenhydrat-bindende Glycoproteine, zusammensetzt. Man findet sie in immobilisierter Form sowohl auf allen Zelltypen als auch auf Bakterien und Viren. Bisher sind drei verschiedene Selektine bekannt [L(Leukozyten)-, E(Endothel)- und P(Platelet)-Selektin], die nach dem Zelltyp benannt sind, auf dem sie zuerst beschrieben wurden.^[6]

Alle Selektine sind lang gestreckte, membrangebundene Glykoproteine, die eine ähnliche Struktur aufweisen, welche in Abb. 16 schematisch gezeigt ist. Der extrazelluläre Teil aller Selektin-Typen ist aus drei Arten von Proteindomänen aufgebaut. Sie besitzen alle eine calciumabhängige Lektin homologe CRD-Einheit (Carbohydrate Recognition Domain), die eine globuläre Struktur mit einer Bindungstasche für die Zuckerliganden bildet und den Amino-Terminus für die eigentliche Erkennung der Liganden enthält.^[139] Diese Lektin-Domäne besteht aus 120 Aminosäuren und weist innerhalb der drei Selektine eine ca. 65% Sequenzhomologie auf.^[140] Daran schließt sich eine Sequenz aus 35-40 Aminosäuren an, die erstmals im epidermalen Wachstumsfaktor (EGF) gefunden wurde und der ebenfalls eine wichtige Rolle im Bindungsprozess zugesprochen wird.^[6] Um die Liganden-erkennende Domäne räumlich ausreichend von der Zellmembran zu trennen, schließt sich an die EGF-Domäne wiederum eine strukturelle Domäne an, die aus einer variablen Anzahl von wiederholenden Elementen (Short Consensus Repeats, SCR) mit je 60 Aminosäuren aufgebaut ist.^[139] Alle Selektine sind mit einer einzigen Transmembran-Region, gefolgt von einem kurzen zytoplasmatischem Ende in der Zellmembran verankert. Das zytoplasmatische Ende enthält den Carboxyl-Terminus und spielt eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion.

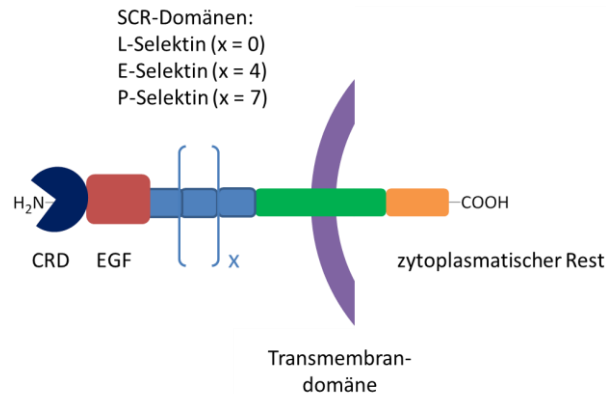


Abb. 16: Schematischer Aufbau der drei unterschiedlichen Selektin-Typen.

Der strukturelle Unterschied zwischen den einzelnen Selektin-Typen besteht hauptsächlich in der Anzahl ihrer SCR-Einheiten. So weist L-Selektin den kürzesten Abstand zwischen Zellmembran und Erkennungseinheit mit nur zwei SCR-Einheiten auf, während E-Selektin sechs und P-Selektin neun SCR-Einheiten eine deutlich ausgedehntere Struktur besitzen. Dies hat zur Folge, dass sich die Bindungseigenschaften der Selektine nicht nur bedingt durch ihre zeitliche Expression, sondern auch durch ihre Struktur unterscheiden. So vermittelt das P-Selektin in Kombination mit L-Selektin das Rollen in der frühen Phase der Entzündung, während E-Selektin für die Überleitung zur festen Adhäsion der Leukozyten am Endothel verantwortlich ist.^[5]

2.6.2.1 Selektin-Liganden

Seit der ersten Entdeckung der Familie der Selektine im Jahr 1989 wurde eine Reihe von natürlichen Liganden identifiziert, deren genaue Charakterisierung zur Entwicklung möglicher Mimetika beigetragen hat.^[141] Einen Überblick über natürliche Selektinliganden, sowie Mimetika geben einige umfassende Übersichtsartikel, auf die an dieser Stelle ebenfalls verwiesen wird.^[6,139-141] Hier soll nur am Beispiel des natürlichen P-Selektin Liganden (P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1, PSGL-1) die essenziellen Wechselwirkungen zwischen den Selektinen und ihren Liganden näher vorgestellt werden. Bei PSGL-1 handelt es sich vermutlich um den physiologisch genutzten Hauptliganden, der alle drei Selektin-Typen erkennen kann.

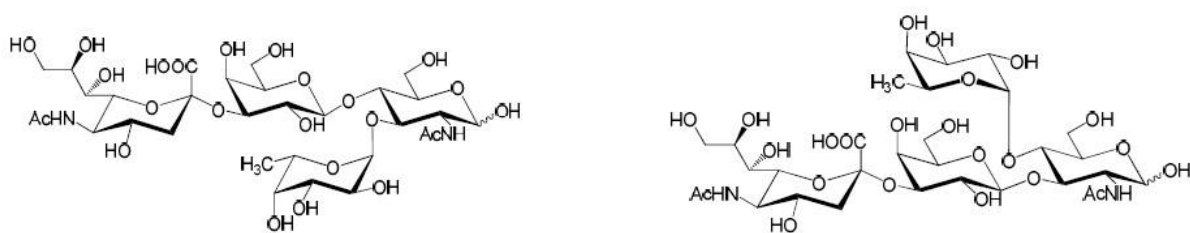


Abb. 17: Schematische Darstellung der Minimalliganden der Selektine. links: das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis X (sLe^x) und rechts sein Regioisomer Sialyl-Lewis a (sLe^a).

Alle drei Selektin-Typen haben die Fähigkeit das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis X (sLe^x) und sein Regioisomer Sialyl-Lewis a (sLe^a) mit einer Bindungsaffinität in der Größenordnung von 1 mM zu binden, was dieses somit zum Minimalliganden der Selektine macht.^[140] Dabei konnten durch eine Reihe von Arbeiten anhand von Kristallstrukturen die genauen Bindungsstellen von sLe^x identifiziert werden (Abb. 18). So sind die Hydroxylgruppen in 2-, 3- und 4-Position der Fucose, die Hydroxylgruppen in 4- und 6-Position der Galactose und die Carboxylgruppe der Sialinsäure für eine Bindung an die Selektine unerlässlich.^[140]

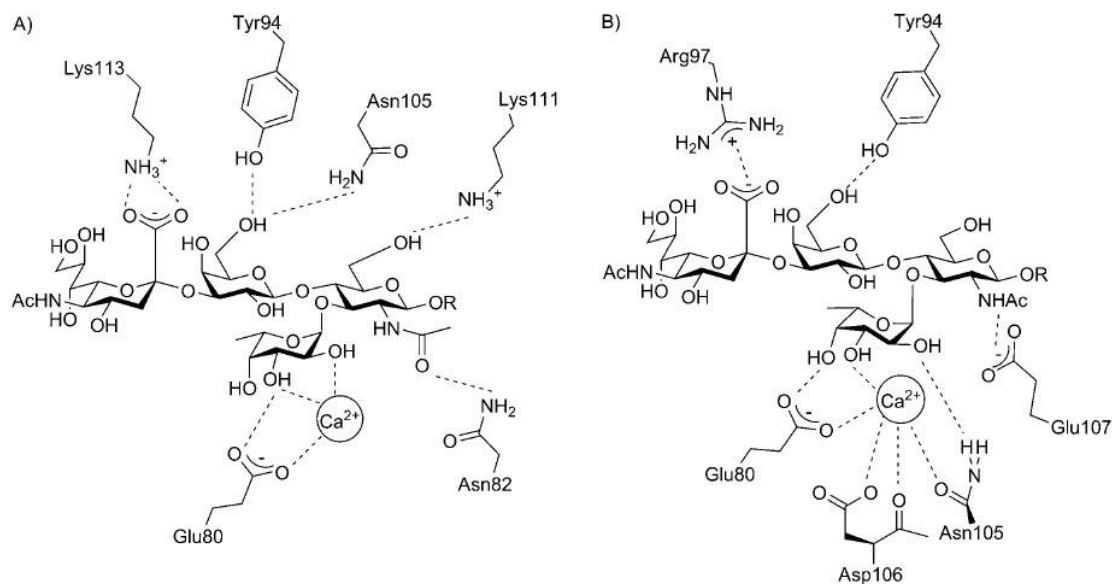


Abb. 18: Postulierte Modelle der P-Selektin-Bindung (A) und der E-Selektin-Bindung (B) an sLe^x. An der Bindung ist die negative Ladung der Sialinsäure, sowie die Hydroxylgruppen an Position 2, 3 und 4 der Fucose und die Hydroxylgruppe an Position 6 der Galactose beteiligt. Die Bindung wird über Ca²⁺ koordiniert. (entnommen aus^[140]).

2 Theoretische Grundlagen

Im Organismus kommt sLe^x nicht in monovalenter Form vor, sondern es ist immer an ein lang gestrecktes, stark verzweigtes Glykoprotein geknüpft, die als Selektin-Liganden bezeichnet werden.^[142] Im sogenannten Proteinerückgrat findet man vor allem die Aminosäuren Serin, Threonin und Prolin. An das Proteingrundgerüst sind die Zuckerreste, bei denen vor allem fucosylierte Laktosaminoglykane eine Rolle spielen, über O-glykosidische Bindungen gebunden.^[143]

Der am besten charakterisierte Selektin-Ligand ist PSGL-1, bei dem es sich um ein lang gestrecktes über Disulfidbrücken verknüpftes Dimer handelt. Detaillierte Studien zur Struktur des PSGL-1 konnten zeigen, dass ebenfalls verzweigte Kohlenhydrat-Seitenketten vorherrschen. Zusätzlich zu diesen Kohlenhydrateigenschaften besitzt PSGL-1 drei sulfatierte Tyrosinreste, die für die Bindung an P- und L-Selektin entscheidend sind.^[144] Hingegen ist für die Bindung von E-Selektin keine Sulfatierung nötig.

2.6.3 Mucine und ihre Verwendung als Vakzine für die Immuntherapie

Das Tetrasaccharid sLe^x spielt nicht nur als essenzieller Bestandteil von Selektinliganden beim Entzündungsprozess eine wichtige Rolle, sondern kann auch in stark erhöhter Zahl exprimiert auf der Oberfläche von metastasierenden Tumoren nachgewiesen werden.^[145,146] So ist sein Vorkommen bei tumorartigen Erkrankungen der Lunge, der Eierstöcke, der Niere und der Leber durch klinische Studien ausreichend belegt. Dabei konnte eine Überexpression der sLe^x-Struktur mit einer verstärkten Metastasenbildung korreliert werden, was die Vermutung nahe legt, dass die Metastasierung von Tumoren (metastatische Kaskade) einem ähnlichen Mechanismus unterliegt, wie die Leukozytenextravasation aus dem Blutstrom.^[147] Eine Tumorzelle, die nach dem Herauslösen aus dem ursprünglichen Tumorgewebe im Blutstrom schwimmt, kann sich demnach mittels ihrer auf der Oberfläche exprimierten sLe^x-Strukturen an Selektinen auf Endothelzellen anheften und so an einer anderen Stelle im Körper die Blutbahn verlassen.^[145] Somit bietet ähnlich wie im Fall des chronischen Entzündungsprozesses die kompetitive sLe^x-Selektin Bindung einen Ansatzpunkt für die selektive Immuntherapie. Diese Alternative zur herkömmlichen Krebstherapie, beruht dabei auf der Möglichkeit das menschliche Immunsystem gegen Tumorzellen gezielt und effektiv zu aktivieren und diese delokalisiert durch die Immunantwort zu bekämpfen (eine eingehendere Beschreibung erfolgt in

2 Theoretische Grundlagen

Kapitel 3.3.).^[148] Neben sLe^x existieren weitere charakteristische Kohlenhydratstrukturen auf der Oberfläche von Tumorzellen. So wurden auch Mucine, eine Gruppe hochmolekularer, exzessiv O-glykosilierter Oberflächenproteine, in stark erhöhtem Maße auf der Zelloberfläche von Tumoren nachgewiesen.^[149] Das bekannteste Beispiel dieser Gruppe ist das Mucin MUC1, welches als erstes Mucin isoliert wurde und im Gegensatz zu anderen Glycoproteinen dieser Gruppe keine gewebsspezifische Verteilung aufweist, sondern ubiquitär auf Epithelzellen vorkommt.^[150] Es besteht aus einem als VNTR (*variable number of tandem repeats*) Domäne bezeichnetem Zentrum, das von kurzen N- und C-terminalen Domänen flankiert wird. Jede dieser Wiederholungseinheiten (*tandem repeats*) ist aus 20 Aminosäuren mit der Sequenz HGVTSAPDTRPAGSTAPPA aufgebaut und beinhaltet fünf potenzielle O-Glykosylierungsstellen.^[151] Neben der erhöhten MUC1-Expression können weitere Veränderungen dieser Glycoproteine in Tumorzellen vorliegen. Es geht die Polarisierung der Zellen verloren, sodass MUC1 nicht mehr ausschließlich an der apikalen Seite lokalisiert, sondern über die gesamte Zelloberfläche verteilt wird.^[152] Bedingt durch eine veränderte Enzymaktivität liegt auch eine Variation des Glykosylierungsmusters vor.^[153] Dazu gehören verkürzte Glycan-Seitenketten und freiliegende Peptidepitope, die durch die fehlende Abschirmung des Peptidrückgrats dem Immunsystem zur Erkennung zugänglich werden (Abb. 19).

Es ist literaturbekannt, dass mehrere Selektine über diese sialylierten Saccharidstrukturen mit den Mucinen gleichzeitig interagieren können und somit Mucine ebenfalls an der Adhäsion der metastasierenden Tumorzellen an Endothellzellen beteiligt sind.^[147,154] Aus diesem Grund sind Mucine ein weiterer interessanter Ansatzpunkt für die Krebs-Immuntherapie. Dabei werden häufig synthetisch hergestellte tumorassoziierte Antigene des malignen MUC1-Glykopeptids für die Immunisierung verwendet. Durch eine multivalente Präsentation auf Nanopartikeln könnte die natürliche Toleranz gegenüber der veränderten Glycopeptidstruktur überwunden und das Immunsystem zur Produktion von Antikörpern angeregt werden.

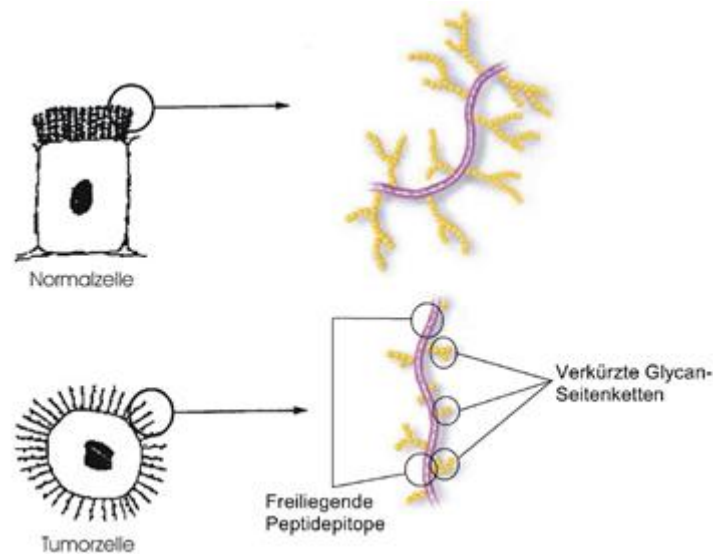


Abb. 19: Schematische Darstellung der Mucinstruktur auf gesunden und auf Tumorzellen (entnommen aus [155]).

2.6.4 Inhibitoren der Selektin-Ligand Bindung

In den letzten 20 - 25 Jahren seit ihrer Entdeckung wurden einige Inhibitoren auf Basis von Kohlenhydraten für die Bindung der Selektine und ihren Liganden entwickelt. Diese sehen eine direkte Inhibierung der Selektine durch Selektin-Antikörper oder kompetitiven Selektininhibitoren vor, die meist auf der Verwendung von sLe^x oder seinen Derivaten als Leitstrukturen beruhen.^[135,156] Wie bereits beschrieben, wird sLe^x von allen drei Selektinen erkannt und ist somit für die Selektin-Funktion *in vivo* erforderlich.^[6] Auf der anderen Seite besitzt es aber einige typische Nachteile der Kohlenhydrate, wodurch es für mögliche Wirkstoffkandidaten eigentlich ungeeignet ist. So ist es z.B. schwer zu synthetisieren, bindet nur schwach an seine Liganden und weist bedingt durch die labilen Glycosidbindungen und schlechte Zell-Aufnahme nur eine geringe Bioverfügbarkeit auf.^[141,156] Aus diesem Grund wird die Suche nach Selektin-inhibierenden Wirkstoffen oft durch eine Reduktion und Modifikation der sLe^x-Leitstruktur begleitet, deren Ergebnisse oft als „small molecule“-Inhibitoren bezeichnet werden.^[6,156,157] Dabei konnten durch Abwandlung des Tetrasaccharids bereits einige Inhibitoren mit ähnlicher, vereinzelt sogar höherer Bindungsaffinität im Vergleich zu sLe^x erhalten werden (Abb. 20).

2 Theoretische Grundlagen

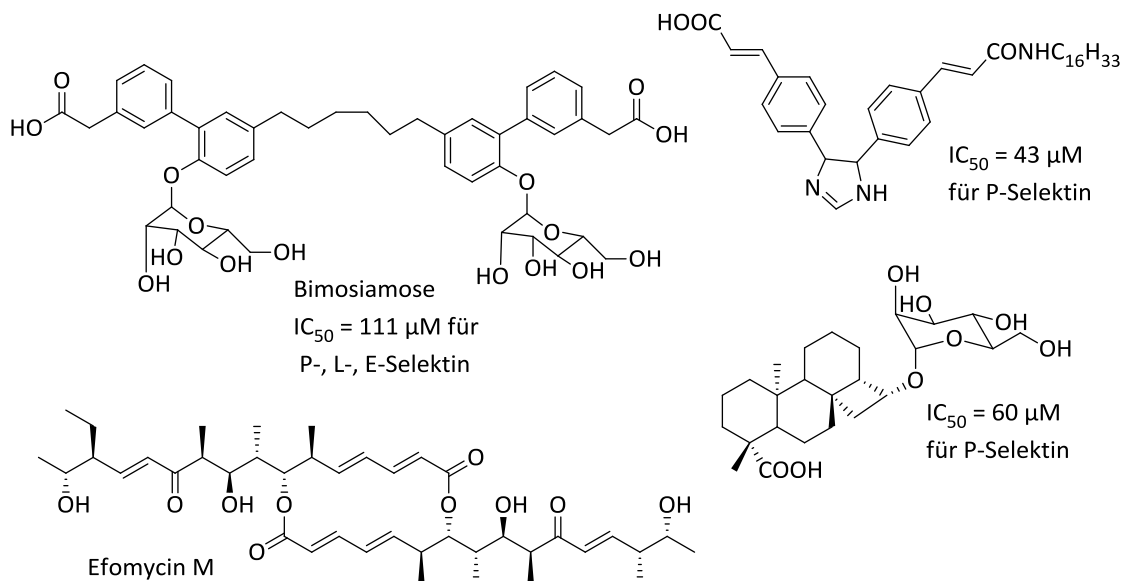


Abb. 20: Ausgewählte Vertreter der „small molecule“-Selektin-Inhibitoren.^[6,141]

Zu den bekanntesten Vertretern der sLe^x-Mimetika gehören *Efomycin M*, welches eine zentrale Ringstruktur mit zwei Seitenketten besitzt, sowie das sLe^x-Dimer-Mimetikum *Bimosiamose*.^[6] Beide befinden sich bereits in klinischen Tests und sind vielversprechende Kandidaten für die Therapie von Asthma und Psoriasis.

Eine weitere Möglichkeit zur Erhöhung der Bindungsaffinität besteht in der multivalenten Präsentation der Bindungsepitope. Dabei nutzt man die Tatsache aus, dass die Bindungsaffinität der Lektine durch mehrere Bindungen an den Kohlenhydrat-Liganden deutlich ansteigt.^[141,158] Auf dieser Basis wurden in den letzten Jahren verschiedene multimere Derivate synthetisiert, in denen mehrere sLe^x-Einheiten bzw. deren strukturell vereinfachte Glycoside über unterschiedliche Trägermoleküle räumlich eng in Verbindung stehen. So gelang z.B. *Brühl et al.* durch multivalente Präsentation von sLe^x-Einheiten mit Dendrimern eine deutliche Steigerung der Bindungsaffinität.^[159] *Banquy et al.*^[160] und *Jubeli et al.*^[161,162] konnten ebenfalls durch Immobilisierung von sLe^x-Analoga auf die Oberfläche von Nanopartikeln, deren positiven Einfluss auf die Selektin-vermittelte Anbindung an *HUVEC*-Zellen zeigen.

Eines der bekanntesten Beispiele für einen effektiven Selektin-Inhibitor ist Heparin, ein stark sulfatiertes, polydisperses Polysaccharid aus der Gruppe der Glycoaminoglykane, das

2 Theoretische Grundlagen

zusätzlich zu seiner antikoagulatorischen Wirkung eine Vielzahl von weiteren Anwendungsmöglichkeiten im biologischen System aufweist. So konnten einige Studien in den letzten Jahren zeigen, dass Heparin und sein Derivat Heparinsulfat von L-Selektin und P-Selektin erkannt werden und diese deshalb die Bindung zu den natürlichen Liganden inhibieren können. Im Unterschied zu sLe^x erfolgt die Bindung durch multivalente Präsentation von Sulfatgruppen, was zusätzlich zu einer stärkeren Bindungsaffinität führt.^[163] Auch konnten *König et al.* in Versuchen zeigen, dass die Bindungseigenschaften von Heparin mit Selektin stark von der Anzahl der präsentierten Bindungsstellen pro Molekül abhängen.^[164] Dies liegt daran, dass die Affinität von Selektinen gegenüber Sacchariden in aller Regel gering ist und erst durch Multimerisierung mehrerer Bindungsepitope entstehen hohe Affinitäten und Spezifitäten. Neben diesem Multivalenzeffekt spielt die Anordnung und die Dichte der Glycotope auf der Zelloberfläche und somit die Geometrie der Erkennungseinheiten in Selektinen eine wichtige Rolle.

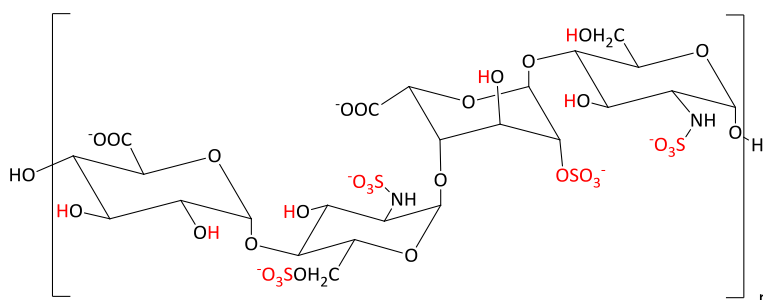


Abb. 21: Vereinfachte schematische Darstellung der Strukturformel von Heparin (nach ^[165]).

Aufbauend auf den Wechselwirkungen von Heparin mit Selektinen konnte in weiteren Studien gezeigt werden, dass die sLe^x -Struktur für eine starke Bindung an Selektinen nicht zwingend notwendig ist, solange eine hohe Anzahl an Sulfatgruppen durch den potenziellen Inhibitor präsentiert werden.^[166,167] Deshalb könnten Nanopartikel aufgrund ihrer einfachen Synthese, der hohen Biokompatibilität und des großen Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnisses möglicherweise gut geeignet für die multivalente Präsentation der benötigten Sulfatgruppen zur Bindung an Selektine sein.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Synthese und Charakterisierung der Nanopartikel

Für die im Rahmen dieser Arbeit angestrebten Ziele ist die Synthese monodisperser Nanopartikel in verschiedenen Größen und aus unterschiedlichen Materialien erforderlich, um eine breite Anwendbarkeit der zu entwickelnden Architekturen und Oberflächenfunktionalitäten zu zeigen. Die Bezeichnung monodispers beschreibt in diesem Zusammenhang eine enge Größenverteilung, bei der die Partikelgröße weniger als 10% vom Mittelwert abweicht. Zur Darstellung der monodispersen Kolloide wurde der Syntheseschwerpunkt in der vorliegenden Arbeit auf die Verbesserung bekannter und die Entwicklung neuer Synthesewege der drei bereits angesprochenen Partikelarten gelegt.

3.1.1 Synthese und Charakterisierung von monodispersen Edelmetallnanopartikeln

In der vorliegenden Arbeit wurden sphärische Edelmetallnanopartikel mit unterschiedlichen Zusammensetzungen, Partikelgrößen und Oberflächenfunktionalitäten in organischen Lösungsmitteln oder im wässrigen Milieu nach der „Bottom up“-Methode hergestellt.

3.1.1.1 Synthese von Goldnanopartikeln nach der *Stucky*-Methode

So wurden Dodecanthiol (DT)-funktionalisierte Goldnanopartikel mit unterschiedlichen mittleren Partikeldurchmessern nach der bereits im einleitenden Kapitel vorgestellten Synthese von *Stucky et al.*^[69] (siehe Kapitel 2.4.3), die eine Reduktion des Goldsalzes durch *tert*-Butylamin-Boran-Komplex in Gegenwart von DT in Benzol vorsieht, hergestellt. Versuche das Lösungsmittel Benzol durch das weniger toxische Lösungsmittel Toluol zu ersetzen, führten zu einer Zunahme der Dispersität, sodass die Synthese ohne Variationen des Lösungsmittels nach der Originalliteratur durchgeführt wurde. Dazu wurden 0,25 mmol Triphenylphosphingoldchlorid in Benzol gelöst und anschließend mit 2 Äq. DT

3 Ergebnisse und Diskussion

versetzt. Nach Zugabe des Reduktionsmittels (10 Äq.) färbte sich die Reaktionslösung zunächst braun, bevor nach einigen Minuten bei 55 °C Rühren ein Farbwechsel zu dunkelrot auftrat, der sich bis zum Ende der Reaktion nicht mehr änderte. Die anfängliche Braunfärbung kann durch die Bildung kleinerer Goldnanopartikel mit einem Durchmesser < 2 nm erklärt werden. Der anschließende Farbwechsel zu dunkelrot deutet auf die Bildung größerer Partikel mit einem Durchmesser > 2 nm hin. Dieser langsame Farbwechsel der Lösung von farblos zu rot wird durch die Verwendung des ^{tert}Butylamin-Boran-Komplex hervorgerufen, der eine vergleichsweise schwächere Reduktionsfähigkeit besitzt und somit die Reduktions-geschwindigkeit der Gold-Kationen verlangsamt.^[69] Nach dem Ende der Reaktion wurden die erhaltenen Nanopartikel zunächst durch Zugabe einer dem Benzol äquivalenten Menge Ethanol gefällt, durch Zentrifugation von der überstehenden Lösung getrennt, der schwarze Rückstand mit Ethanol gewaschen und abschließend in Chloroform resuspendiert. Durch Variation der Reaktionsparameter unter Berücksichtigung der bereits im einleitenden Kapitel (Tabelle 2) angesprochenen Punkte konnten weitere DT-funktionalisierte Goldnanopartikel mit unterschiedlichen Partikeldurchmessern erhalten werden.

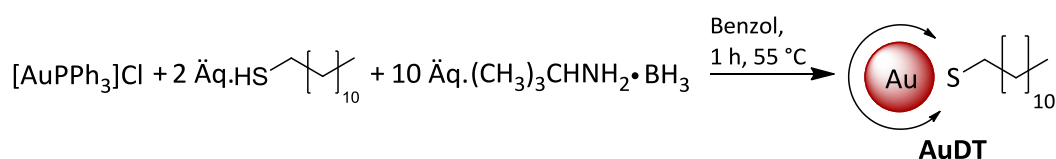


Abb. 22: Schematische Darstellung der Synthese DT-funktionalisierter Goldnanopartikel mit einem mittleren Durchmesser von 7 nm nach einer literaturbekannten Synthesevorschrift.^[69] Doppelpfeil um den Nanopartikel bedeutet, dass die Ligandenhülle den Partikel komplett umgibt.

Die Charakterisierung der erhaltenen DT-funktionalisierten Goldnanopartikel erfolgte durch ¹H-NMR- und IR-Spektren für die Ligandenhülle und zur Bestimmung der Größe und Dispersität der Partikel wurden TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen und Absorptionsspektren verwendet. Die TEM-Aufnahmen zeigen sphärische Partikel mit einer geringen Dispersität (3,6%) und einem durchschnittlichen Partikeldurchmesser von $6,8 \pm 0,2$ nm (Abb. 23 A) für die Standardsynthese bei 55 °C und einer Reaktionszeit von einer Stunde. Dies wurde durch die DLS-Messungen, die einen hydrodynamischen Durchmesser von $d_h = 7 \pm 1$ nm ergaben, bestätigt. Die Anordnung der Partikel auf dem TEM-Grid in hexagonale Muster deutet auf einen hohen Reinheitsgrad der Partikel hin. In allen anderen Fällen der durch Variation der Reaktionsparameter erhaltenen Goldkolloide sind

3 Ergebnisse und Diskussion

die Partikel ebenfalls sphärisch mit abnehmenden mittleren Partikeldurchmessern von $5,7 \pm 0,3$ nm (Abb. 23 B), $3,9 \pm 0,4$ nm (Abb. 23 C) und $1,4 \pm 0,2$ nm (Abb. 23 D). Dabei nimmt die Größenverteilung von 6% auf 12% für die kleineren Durchmesser zu. So variiert der Partikeldurchmesser für die kleineren Kolloide, die mit Chloroform als Lösungsmittel synthetisiert wurden, zwischen 3,2 und 4,8 nm, sehr vereinzelt sind etwas größere Partikel (zwischen 6 und 7 nm im Durchmesser) zu sehen. Eine exakte Größenbestimmung fällt allerdings aufgrund des schlechten Kontrasts der TEM-Aufnahmen besonders für die kleineren Partikeldurchmesser bis 3 nm schwer.

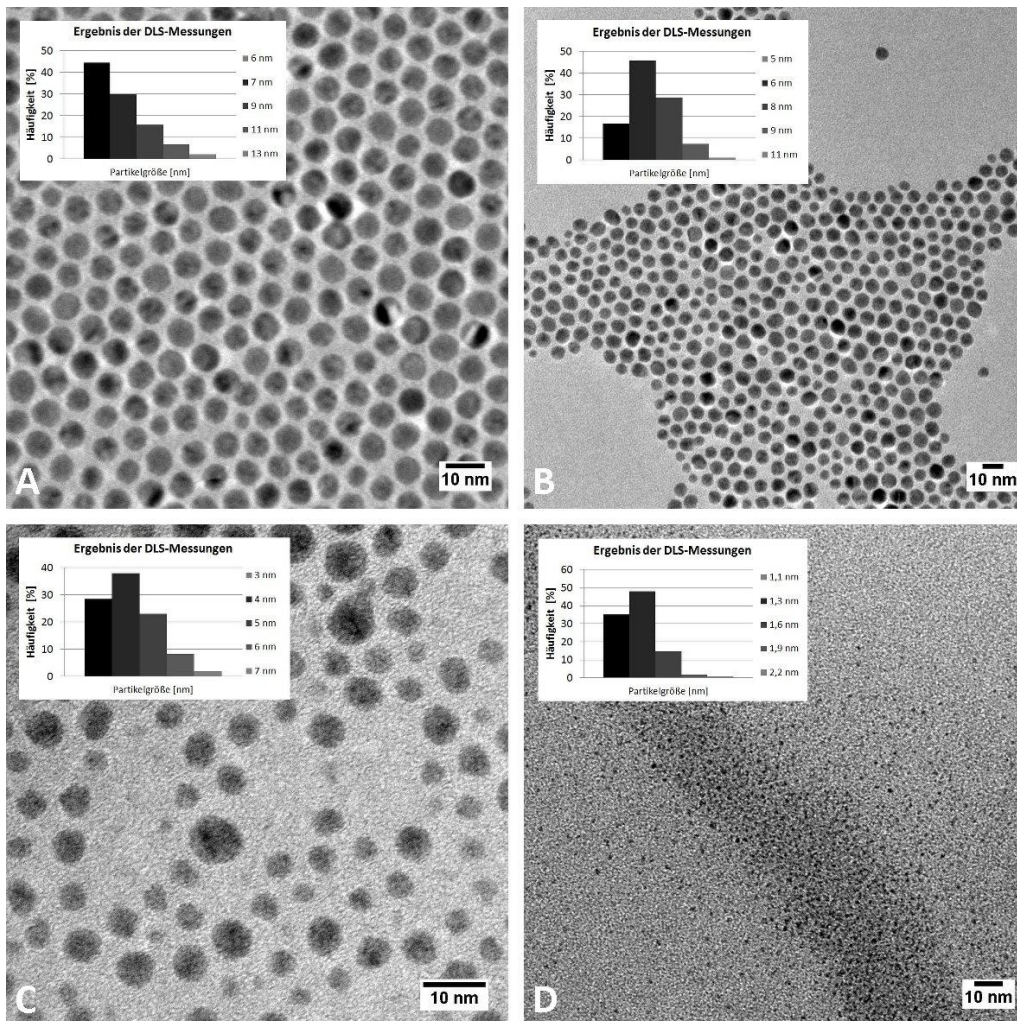


Abb. 23: TEM-Aufnahmen der für diese Arbeit synthetisierten DT-kordinierten Goldkolloide mit unterschiedlichen mittleren Partikeldurchmessern: $6,8 \pm 0,2$ nm (A); $5,7 \pm 0,3$ nm (B); $3,9 \pm 0,4$ nm (C) und $1,4 \pm 0,2$ nm (D).

Neben den zuvor angesprochenen Reaktionsparametern wurde in dieser Arbeit zusätzlich auch der Ligand DT durch unterschiedliche Mercaptocarbonsäuren ersetzt. Gegenüber dem DT-Liganden besitzen die Mercaptocarbonsäuren mit ihrer Carboxylgruppe den Vorteil, dass direkt im Anschluss an die Synthese Kupplungsreaktionen an der

3 Ergebnisse und Diskussion

Ligandenhülle ohne weitere Zwischenstufen durchführbar sind. Zur Untersuchung des Einflusses der Kettenlänge auf die Partikelsynthese wurden als Liganden die käuflich erworbenen langkettige Mercaptoundecansäure (MUDA) und die kurzkettigen Mercaptopropionsäure (MPA) und Mercaptobernsteinsäure (MSA) gewählt. Zusätzlich wurde durch Umsetzung von ϵ -Caprolactam mit Thioharnstoff und Bromwasserstoff durch Ringöffnung und S_N2 -Reaktion Mercaptohexansäure (MHA) synthetisiert (Abb. 24), die als Bindeglied für die Untersuchung der Kettenlänge zwischen den langen und kurzen Ketten dienen sollte.

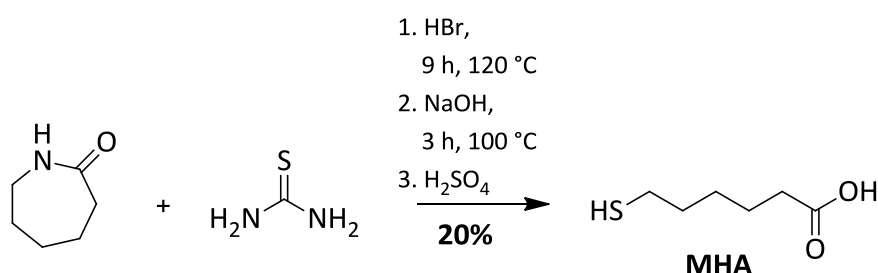


Abb. 24: Schematische Darstellung der Synthese von Mercaptohexansäure (MHA).

Wegen der schlechten Löslichkeit in Benzol erfolgte die Synthese der Mercaptocarbonsäure-koordinierten Goldkolloide in Dimethylsulfoxid (DMSO). Dazu wurde analog zur vorher beschriebenen Durchführung das Goldsalz mit 2 Äq. Mercaptocarbonsäure in DMSO vorgelegt und auf 65 C erhitzt. Anschließend wurden schnell 10 Äq. des Reduktionsmittels zugegeben und weitere 3,5 h bei dieser Temperatur gerührt (Abb. 25). Dabei färbte sich in der ersten Stunde die Reaktionslösung langsam dunkelrot. Die Aufreinigung der Partikel erfolgte durch Fällung mit Acetonitril. Der dabei entstehende schwarze Niederschlag, wurde im Vakuum getrocknet und erneut in DMSO aufgenommen.

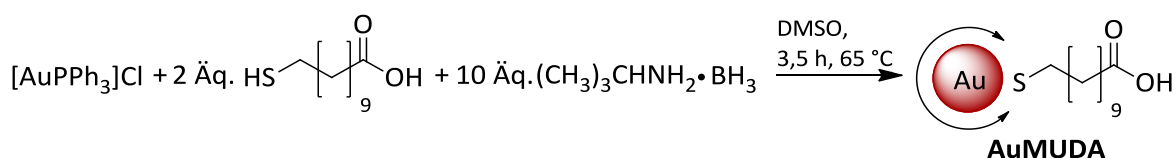


Abb. 25: Schematische Darstellung der Synthese Mercaptocarbonsäure-funktionalisierter Goldnanopartikel am Beispiel von Mercaptoundecansäure-koordinierten Goldkolloiden.

Zur Charakterisierung der Partikel wurde die Kolloidlösung gegen Dimethylformamid (DMF) dialysiert. Eine direkte Überführung der Partikel ins wässrige Medium durch Dialyse war nicht möglich, da diese auch bei einem pH-Wert im alkalischen Bereich nicht

3 Ergebnisse und Diskussion

ausreichend stabilisiert wurden und agglomerierten. Dies wurde durch die Änderung der Farbe von dunkelrot zu blau sichtbar. Die Agglomeration der Partikel kann durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen der freien Carboxylgruppen der Partikel untereinander erklärt werden. Anhand der IR- und Absorptionsspektren wird diese Annahme bestätigt. So zeigen die IR-Spektren keine S-H-Valenzschwingung bei ca. 2500 cm^{-1} durch die Ausbildung der kovalenten S-Au-Bindung, dafür aber eine Verschiebung der C-O-Valenzschwingung zu niedrigeren Wellenzahlen, was ein Indiz für die Ausbildung von Wasserstoffbrücken darstellt (siehe 6.2.1.2).^[168] Die erhaltenen Mercaptocarbonsäure-kordinierten Goldkolloide zeigen zusätzlich das literaturbekannte Problem, dass kürzere Alkylketten die Partikel nicht so gut stabilisieren wie längere Ketten.^{[169][170]} So ist eine Synthese von MSA-kordinierten Goldkolloiden ohne Agglomeration der Partikel nicht möglich, während die Stabilität der anderen Mercaptocarbonsäure-kordinierten Nanopartikeln von einigen Tagen (MPA) zu einigen Monaten (MUDA) zunimmt. Neben der Stabilität konnten anhand von TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen und Absorptionsspektren weitere Einflüsse der Kettenlänge auf die Partikelsynthese bestimmt werden. In Abb. 26 sind normierte Absorptionsspektren der verschiedenen Mercaptocarbonsäure-kordinierten Goldnanopartikel im Vergleich zu den DT-kordinierten Partikeln nach der Standardmethode gezeigt. In allen Fällen werden sphärische Partikel erhalten, was durch die für Goldkolloide typische einfache Absorptionsbande im Bereich zwischen 510 - 530 nm gezeigt wird. Allerdings unterscheiden sich die Größendispersität und der Aggregationsgrad der Partikel voneinander. So zeigen die kurzkettingen MPA-kordinierten Goldkolloide eine höhere Dispersität als die langkettigen MUDA- bzw. MHA-kordinierten Kolloide, die in ihrer Größendispersität den nach der Standardmethode synthetisierten Partikeln ähneln. Auch die erhaltene Partikelgröße variiert mit der Kettenlänge der eingesetzten Mercaptocarbonsäuren. So werden bei unveränderter Reaktionszeit und -temperatur für MPA-kordinierte Goldkolloide kleinere Partikeldurchmesser erhalten, während mit Mercaptoundecansäure bis zu 10 nm große Partikel möglich sind. Somit stellt die Verwendung von Mercaptocarbonsäuren nicht nur einen vielversprechenden Ansatz für die Synthese von kleinen Goldnanopartikeln mit mittleren Partikeldurchmessern zwischen 5 - 10 nm dar, sondern es sollten mit geeigneter Wahl der Reaktionsbedingungen auch Partikelgrößen > 10 nm möglich sein.

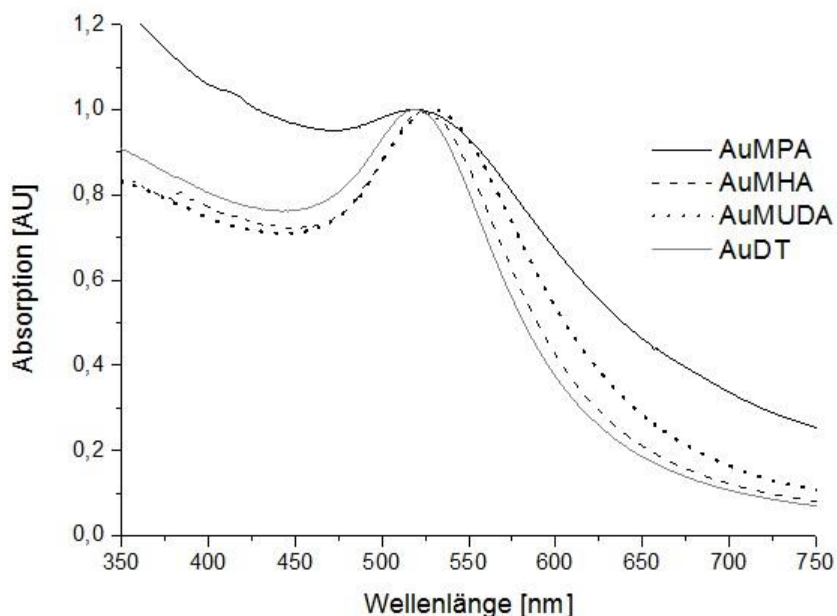


Abb. 26: Normierte Absorptionsspektren der unterschiedlichen Mercaptocarbonsäure-kooordinierten Goldkolloide im Vergleich zu AuDT ($d = 7$ nm) synthetisiert nach der Standardmethode.

Die Resuspendierung der erhaltenen Partikel in Chloroform oder DMSO nach der Aufarbeitung zeigt zudem einen Vorteil der Thiol-Ligandenhülle. Sie stabilisiert die Partikel so gut, dass auch nach vollständiger Entfernung des Lösungsmittels eine rückstandsfreie Dispergierung in einem neuen Lösungsmittel möglich ist. Die Verwendung von Alkanthiolen zur Stabilisierung von Goldnanopartikeln hat sich dadurch zu einer Standardmethode entwickelt, da man die Nanopartikel fast wie stabile organische Molekularverbindungen funktionalisieren und verwenden kann. Die Ligandenhülle von Alkanthiolen auf der Oberfläche der Goldnanopartikel steuert hierbei die Wechselwirkung zwischen den Nanopartikeln und ihrer Umgebung. Dabei binden die Alkanthiole über die Ausbildung einer kovalenten Gold-Schwefel-Bindung an die Oberfläche der Nanopartikel.^[9]

3.1.1.2 Synthese von Dihydroxyliponsäure- und 4-Dimethylaminopyridin-funktionalisierten Goldnanopartikeln nach der Brust-Schiffrin-Methode

Aus den in der Einleitung genannten Gründen wurde DHLA in dieser Arbeit als Vertreter der mehrzähligen Liganden für die Goldpartikel-Synthese verwendet. Dazu wurde zunächst nach einer literaturbekannten Synthese^[171] in einer ersten Stufe nach der *Brust-*

3 Ergebnisse und Diskussion

Schiffrin-Methode Tetraoctylammoniumbromid-funktionalisierte Goldnanopartikel hergestellt, indem Tetrachlorogoldsäure in Wasser gelöst und mit einer Lösung von Tetraoctylammoniumbromid (TOAB) in Toluol gemischt wurde. Nach kurzer Zeit fand ein vollständiger Phasentransfer des Gold-Salzes in das organische Lösungsmittel statt, welcher durch den Farbwechsel der organischen Phase von farblos zu violett sichtbar wurde. Zu dieser zweiphasigen Reaktionsmischung wurde anschließend unter starkem Rühren eine frisch hergestellte wässrige Natriumborhydrid-Lösung hinzugegeben. Nachdem die Reaktionslösung für weitere 18 h gerührt wurde, wurde die organische Phase von der wässrigen Phase getrennt und nacheinander mit verdünnter Schwefelsäure, verdünnter Natronlauge und destilliertem Wasser gewaschen. Die so erhaltenen TOAB-koodinierten Goldkolloide wurden in einem zweiten Schritt mit einer 0,1 M Liponsäurelösung in Toluol versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die in Toluol unlöslichen funktionalisierten Goldkolloide wurden durch Zentrifugation abgetrennt und in wässriger Lösung (pH-Wert = 10) wieder aufgenommen.

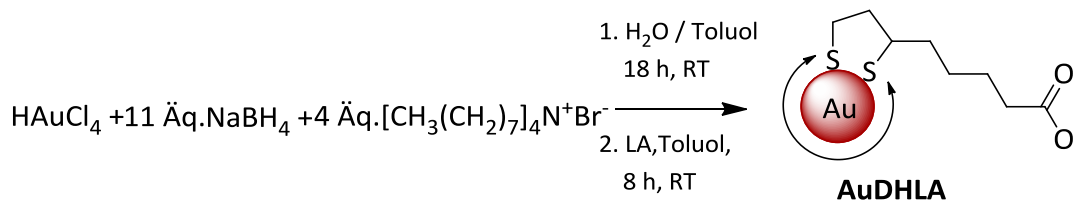


Abb. 27: Schematische Darstellung der Synthese von DHLA-koodinierten Goldnanopartikeln nach der *Brust-Schiffrin*-Methode ^[171].

Weitere Goldnanopartikel wurden in dieser Arbeit durch die 2001 von *Gittins* und *Caruso* vorgestellte Methode durch Funktionalisierung von Goldnanopartikeln mit 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) synthetisiert. ^[172] Es handelt sich dabei um eine zweistufige Synthese, bei der ebenfalls zunächst TOAB-funktionalisierte Goldnanopartikel nach der *Brust-Schiffrin*-Methode hergestellt werden (Abb. 28). Danach schließt sich eine Ligandenaustauschreaktion mit Phasentransfer von der organischen in die wässrige Phase durch Zugabe einer wässrigen 0,1 M DMAP-Lösung an. Der vollständige Phasentransfer kann erneut anhand des Farbwechsels der Phasen beobachtet werden.

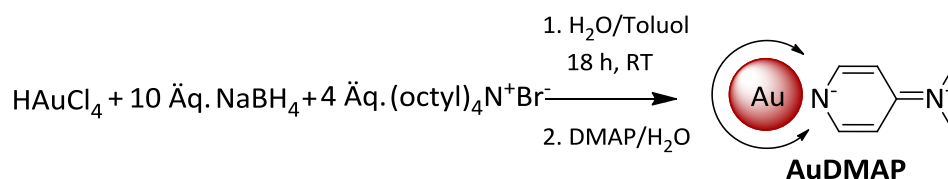


Abb. 28: Schematische Darstellung der Synthese von DMAP-koodinierten Goldnanopartikeln.

3 Ergebnisse und Diskussion

Die aus der *Brust-Schiffrin*-Methode erhaltenen DHLA- und DMAP-kooordinierten Goldnanopartikel wurden mit TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen und Absorptionsspektren charakterisiert. Alle Absorptionsspektren zeigen ein Absorptionsmaximum im zu erwartenden Bereich von 520 - 525 nm. Vergleicht man die Synthesemethoden untereinander, nimmt die Größendispersität bei der *Brust-Schiffrin*-Methode zu. Dies wird anhand der breiteren Absorptionsbande sichtbar. Einen signifikanten Einfluss der anschließend auf die Partikeloberfläche immobilisierten Liganden auf die Größendispersität und den Aggregationsgrad kann durch Vergleich des Absorptionsspektrums der TOAB-kooordinierten Partikel mit dem Absorptionsspektrum der DMAP-kooordinierten Partikel ausgeschlossen werden.

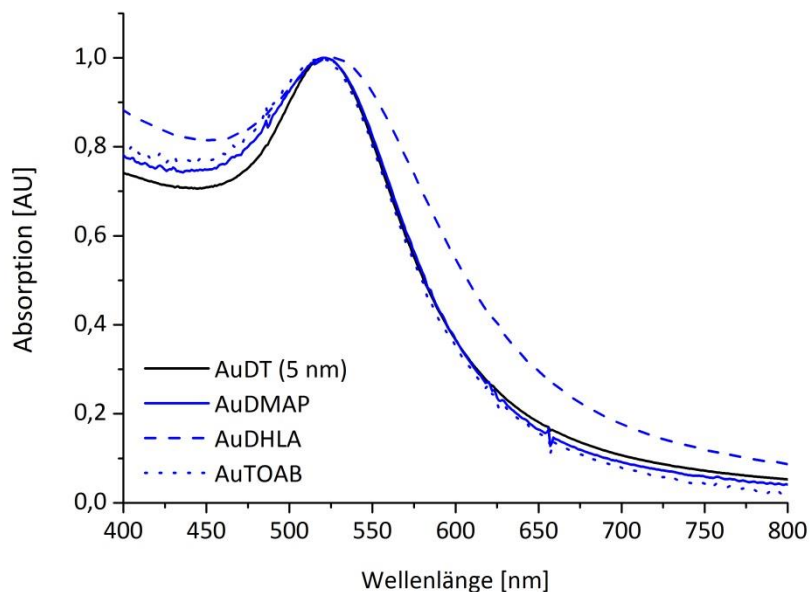


Abb. 29: Vergleich der normierten Absorptionsspektren der synthetisierten Goldkolloide nach der *Brust-Schiffrin*-Methode mit dem normierten Absorptionsspektrum der 5 nm großen AuDT aus der *Stucky*-Methode.

Auch die TEM-Aufnahmen zeigen, dass die Partikel zwar sphärisch, aber im Vergleich zu den ähnlich großen Dodecanthiol-funktionalisierten Goldnanopartikeln in ihrer Größe deutlich disperser sind. Dies wird auch durch die DLS-Messung bestätigt. So zeigen die TEM-Aufnahmen der DHLA-kooordinierten Goldkolloide (Abb. 30 A) neben sphärischen Partikeln mit einem mittleren Durchmesser von $d = 5,8 \pm 0,6$ nm auch vereinzelt größere Partikel mit Größen zwischen 7 -11 nm, die zu einer Dispersität von 11% beitragen. Im

3 Ergebnisse und Diskussion

Vergleich stabilisiert DMAP die Partikel während der Synthese besser und ermöglicht Goldkolloide mit einer geringen Dispersität von 7% und einem Durchmesser $d = 5,1 \pm 0,4$ nm (Abb. 30 B). Aus der Analyse der erhaltenen koordinierten Goldnanopartikel lässt sich somit schließen, dass man eine größere Dispersität in Kauf nehmen muss, wenn man die zuvor angesprochenen positiven Eigenschaften der Partikel (die Wasserlöslichkeit, die Stabilität und die geringere Affinität) in nachfolgenden Reaktionen nutzen möchte.

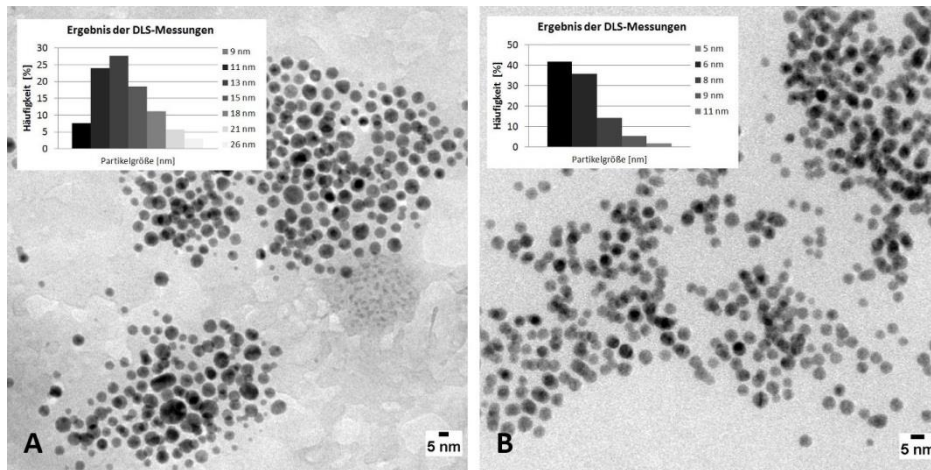


Abb. 30: TEM-Aufnahmen der nach der *Brust-Schiffrin* Methode synthetisierten Goldkolloide. A: Dihydroxyliponsäure-koordinierte Goldnanopartikel mit einem mittleren Durchmesser von $d = 5,8 \pm 0,6$ nm ($d_h = 13 \pm 4$ nm); B: DMAP-koordinierte Goldnanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $d = 5,1 \pm 0,4$ nm ($d_h = 6 \pm 1$ nm).

3.1.1.3 Synthese von Citrat-funktionalisierten Goldnanopartikeln

Neben den DT-, Mercaptocarbonsäure-, DHLA- und DMAP- Goldnanopartikeln mit mittleren Durchmesser < 10 nm, wurden in dieser Arbeit auch größere Partikel nach der Citrat-Methode mit Partikeldurchmessern von 14 nm und 25 nm hergestellt. Durch eine Variation der Eduktzugabe während der Synthese konnten zusätzlich 5 nm große Citrat-koordinierte Partikel erhalten werden.

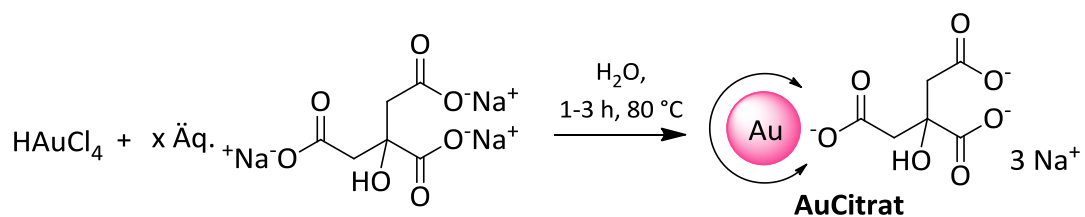


Abb. 31: Schematische Darstellung der Citrat-Partikelsynthese für Goldnanopartikel. Durch Variation der Reaktionsbedingungen konnten mittleren Partikeldurchmesser von 5 nm, 14 nm und 25 nm erhalten werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden 14 nm große Citrat-koordinierte Goldkolloide nach einer Vorschrift von *Porta et al.*^[103] hergestellt, indem zunächst eine stark verdünnte (ca. 0,30 mmol / L) wässrige Tetrachlorogoldsäure-Lösung vorgelegt und anschließend unter starkem Rühren bei 80 °C eine wässrige Natriumcitrat-Lösung hinzugegeben wurde. Die Reaktionslösung wurde weitere 3 h bei 80 °C gerührt. Dabei färbte sich die Reaktionslösung langsam rot, was auf die Bildung der Partikel hindeutete. Durch Verringerung der zugegebenen Natriumcitrat-Äquivalente und der Reaktionsdauer auf 1 h, wurden Citrat-koordinierte Goldnanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser von 25 nm erhalten.^[173] Zur Synthese Citrat-koordinierter Goldnanopartikel mit einem Partikel-durchmesser < 10 nm, wurde die Durchführung so variiert, dass zunächst eine 1,75 mM Natriumcitrat-Lösung unter Rückfluss bis zum Sieden erhitzt und unter starkem Rühren dann schnell eine 2,6 mM Tetrachlorogoldsäure-Lösung hinzugegeben wurde.^[174] Die Charakterisierung der Citrat-koordinierten Goldnanopartikel erfolgte analog der bereits beschriebenen Goldkolloide. Weder in den Ergebnissen der DLS-Messungen und der TEM-Aufnahmen noch in den Absorptionsspektren der 14 nm und 25 nm großen Goldkolloide lassen sich Hinweise auf eine Aggregation finden. Die TEM-Aufnahmen (Abb. 32) der Citrat-funktionalisierten Goldnanopartikel zeigen, dass die Partikel größtenteils sphärisch sind. Nur sehr vereinzelt sind trigonale Plättchen und andere Formen zu sehen. Der mittlere Durchmesser der Partikel beträgt $d = 14,4 \pm 0,7$ nm bzw. $d = 25,3 \pm 1,2$ nm und ihre Dispersität ist gering. Der hydrodynamische Durchmesser, der mithilfe der DLS-Messungen ermittelt wurde, besitzt einen Wert von $d_h = 18 \pm 4$ nm bzw. $d_h = 30 \pm 8$ nm. Im Unterschied dazu zeigen die Citrat-koordinierten Goldnanopartikel nach der Methode von *Sivaraman et al.*^[174] eine höhere Größenverteilung und sind stärker agglomeriert. Dies wird auch im Absorptionsspektrum mit der Verbreiterung der Bande deutlich. Neben kleinen sphärischen Partikeln mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $d = 4,3 \pm 0,4$ nm sind eine Vielzahl von größeren Partikeln mit ungleichmäßigen Formen sichtbar.

Anhand der Charakterisierung der Citrat-koordinierten Goldkolloide lassen sich erneut die literaturbekannten Nachteile der Synthese von Goldkolloiden im wässrigen Medium nach der Turkevich-Methode feststellen. Der einfachen Synthese zur Darstellung größerer Nanopartikel ($d > 10$ nm) stehen die Zunahme der Größendispersität und Variation der Partikelform mit zunehmender Partikelgröße gegenüber.

3 Ergebnisse und Diskussion

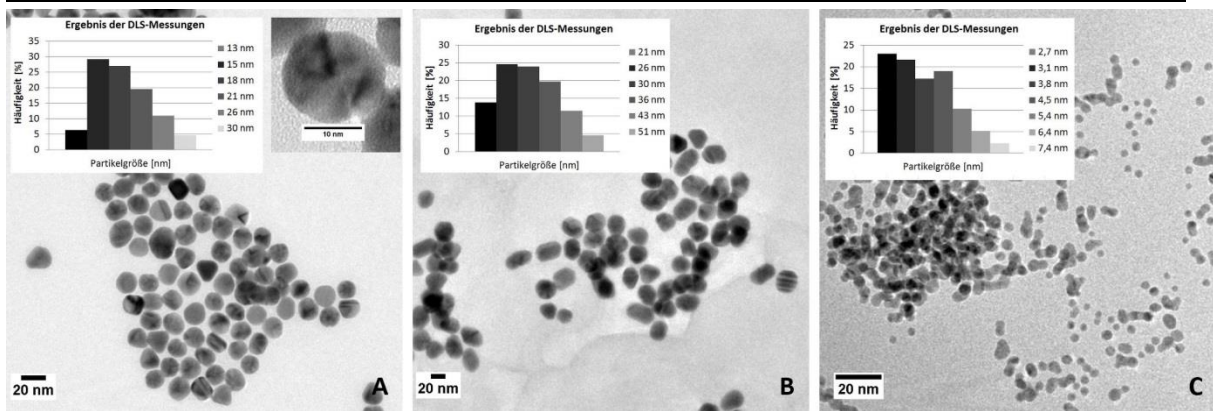


Abb. 32: TEM-Aufnahmen mit Ergebnissen der DLS-Messungen der Citrat-koodinierten Goldkolloide mit mittleren Partikeldurchmessern von 14 nm (A); 25 nm (B) und 4 nm (C).

Trotz neuer Ansätze gestaltet sich die Synthese monodisperser kleiner Citrat-koodinierter Goldnanopartikel schwierig. Zusätzlich können aufgrund der ionischen Wechselwirkungen der wachsenden Partikel während der Synthese nur sehr verdünnte Goldkolloidlösungen hergestellt werden.^[175]

3.1.1.4 Vergleich der synthetisierten Nanopartikel

Ein Vergleich aller Absorptionsspektren der in dieser Arbeit synthetisierten Goldnanopartikel (Anhang Abb. 1 und Anhang Abb. 2) zeigt, dass mit steigendem Partikeldurchmesser das Absorptionsmaximum sich erwartungsgemäß zu höheren Wellenlängen verschiebt und somit sich Partikel gezielt mit einem bestimmten Absorptionsmaximum im Bereich von 510-530 nm herstellen lassen. Zusätzlich ermöglicht ein qualitativer Vergleich der Halbwertsbreiten der Absorptionsbanden Rückschlüsse auf die Dispersität der Partikel, die mit den erhaltenen Ergebnissen aus den TEM-Aufnahmen übereinstimmen. So ist die Halbwertsbreite bei den Thiol-stabilisierten Partikeln nach der Methode von *Stucky et al.* besonders schmal, welche auch die geringste Größenverteilung aufweisen. Aber auch die im wässrigen Medium synthetisierten Partikel zeigen eine relativ enge Größenverteilung und besitzen mit der Möglichkeit einen quantitativen Austausch der Ligandenhülle auch gegen schwach stabilisierende Liganden, einen großen Vorteil gegenüber den Thiol-stabilisierten Partikeln. Für eine mögliche Anwendung der Goldkolloide zur multivalenten Präsentation potenzieller Selektin-bindender Nanopartikel ist zusätzlich die Anzahl der auf der Oberfläche funktionalisierten Liganden von Interesse. Dazu wurde die Anzahl der durchschnittlich auf einem Kolloid gebundenen Liganden

3 Ergebnisse und Diskussion

mittels TGA-Messung bestimmt. Aus den berechneten Gewichtsverlusten (Anhang Abb. 3) ergibt sich für AuDT eine Ligandenzahl von 1200, und für AuMUDA 1550 gebundener Liganden auf der Partikeloberfläche. Eine exakte Bestimmung der immobilisierten Liganden auf den Citrat-koordinierten Goldnanopartikeln gestaltet sich wegen der geringen Substanzmenge von 3,5 mg schwierig, weswegen der Gewichtsverlust von 13% stark fehlerbehaftet sein kann.

In Abb. 33 sind alle in dieser Arbeit synthetisierten Goldnanopartikel abgebildet. Durch verschiedene Syntheserouten wurden Partikel mit unterschiedlichen Größen (1,5 -25 nm) und Ligandenhüllen erhalten, die als Edukte für Umfunktionalisierung in den verschiedenen Projekten, die in den nachfolgenden Kapiteln beschrieben werden, Anwendung fanden.



Abb. 33: Foto der verschiedenen in dieser Arbeit synthetisierten Goldkolloide.

3.1.1.5 Synthese und Charakterisierung von Silbernanopartikeln

Als zweite Gruppe der Edelmetallnanopartikel wurden in dieser Arbeit Silbernanopartikel mit zwei unterschiedlichen Größen und Oberflächenliganden synthetisiert. Ähnlich wie bei den Goldnanopartikeln erfolgte die Synthese großer (mittlerer Partikeldurchmesser > 10 nm) funktionalisierter Silbernanopartikel durch Reduktion des Silbersalzes in wässriger Lösung mit Natriumcitrat. Analog zu der Vorgehensweise bei den Citrat-funktionalisierten Goldnanopartikeln wurden 0,04 mmol Silbernitrat in 150 mL Wasser gelöst und bei 80 °C unter starkem Rühren mit 5,5 Äq. Natriumcitrat versetzt. Nach der Reaktionsdauer von 3 h wurde die Reaktion durch schnelles Abkühlen mit einem Eisbad auf Raumtemperatur abgebrochen.

3 Ergebnisse und Diskussion

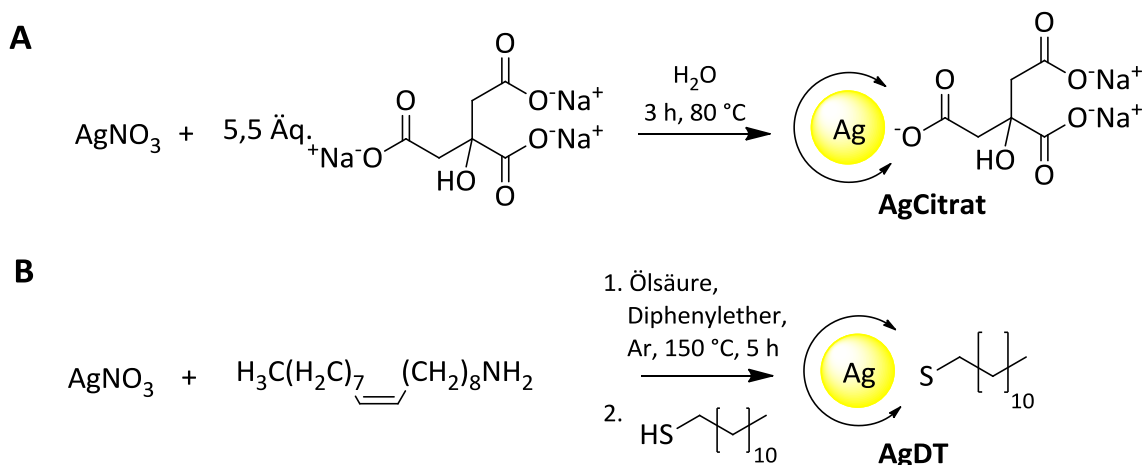


Abb. 34: Schematische Darstellung der in dieser Arbeit synthetisierten Silbernanopartikel mit Citrat-Ligand (A) und Dodecanthiol-Ligand (B).

Zur Synthese kleiner Silbernanopartikel (mittlerer Partikeldurchmesser < 10 nm) wurde in Anlehnung eines literaturbekannten Syntheseweges 0.3 mmol Silbernitrat mit 20 Äq. Oleylamin und 10 Äq. Ölsäure in Benzylether unter Rückfluss auf 150 °C erhitzt und 5 h bei dieser Temperatur gerührt.^[176] Dabei färbte sich die Reaktionslösung mit fortschreitender Keimbildung und anschließendem Partikelwachstum von gelb langsam braun. Im Anschluss daran wurde die Reaktionslösung mit 1,3 Äq. DT versetzt und schnell mithilfe eines Eisbads auf Raumtemperatur abgekühlt. Zur Aufreinigung wurden die Partikel mit Ethanol gefällt und der Rückstand am Ölpumpenvakuum getrocknet. Abschließend wurden die Partikel in Hexan resuspendiert. Die erhaltenen Partikel wurden mittels TEM-Aufnahmen, UV/Vis-Spektroskopie und DLS-Messungen charakterisiert. Bei den gewählten Reaktionsbedingungen entstanden ca. 15 nm große Citrat-funktionalisierte Silbernanopartikel und 3 - 5 nm große Oleylamin / DT-funktionalisierte Silbernanopartikel. Beide Partikelarten sind annähernd sphärisch mit vereinzelt vorkommenden kurzen Stäbchen und trigonalen Partikeln bei den großen Silberkolloiden. Die Schwierigkeiten bei der Synthese von monodispersen quasi-sphärischen Citrat-koordinierten Silbernanopartikeln können anhand der im Vergleich zur Tetrachlorogoldsäure langsameren Citrat-Reduktion der Ag^+ -Ionen, deren einfache Hydrolyse, sowie der graduellen Oxidation und Dekomposition kleiner Nanopartikel erklärt werden.^[177] Die Dispersität der Partikel ist zudem im Vergleich zu den Goldkolloiden für Silbernanopartikel mit 11% (AgDT) und 19% (AgCitrat) relativ hoch.

3 Ergebnisse und Diskussion

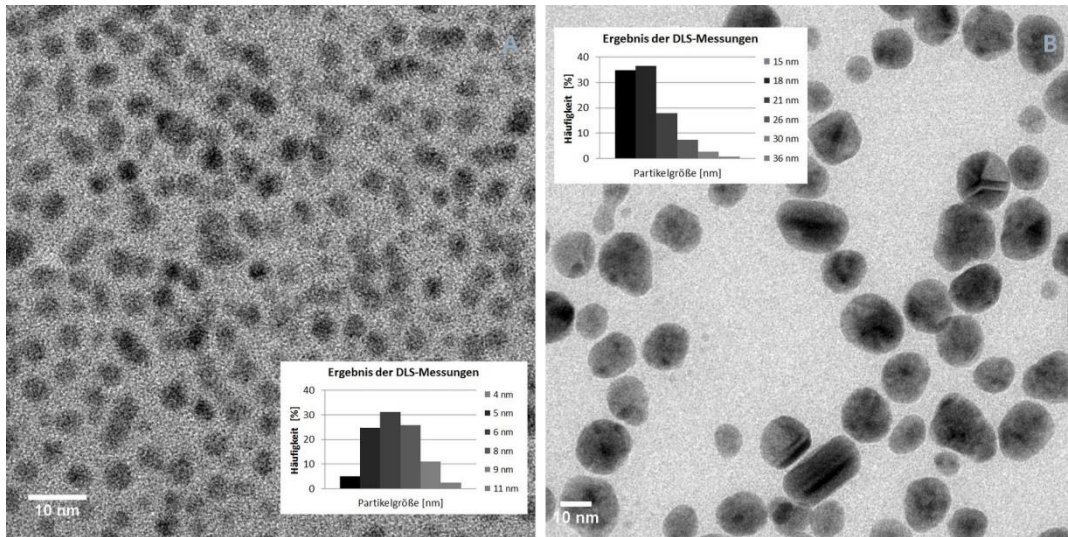


Abb. 35: TEM-Aufnahmen und Ergebnisse der DLS Messungen für DT-koord. (A) und Citrat-koordinierte (B) Silbernanopartikel; AgDT mit einem mittleren Partikeldurchmesser $d = 4,4 \pm 0,5$ nm (links) und AgCitrat mit einem mittleren Durchmesser von $d = 16,7 \pm 3,2$ nm (rechts).

Die Absorptionsspektren der beiden synthetisierten Silberkolloide sind in Abb. 36 gezeigt. Bedingt durch die hohe Dispersität der Partikel sind die Absorptionen verbreitert. Die Absorptionsmaxima liegen bei 417 nm für AgDT bzw. 420 nm für AgCitrat. Durch Variation der Reaktionsbedingungen konnten in dieser Arbeit Silberpartikel mit einem Absorptionsmaximum zwischen 402 nm und 435 nm synthetisiert werden. Diese wurden für postpräparative Umfunktionalisierungen in den folgenden Kapiteln beschriebenen Projekten verwendet.

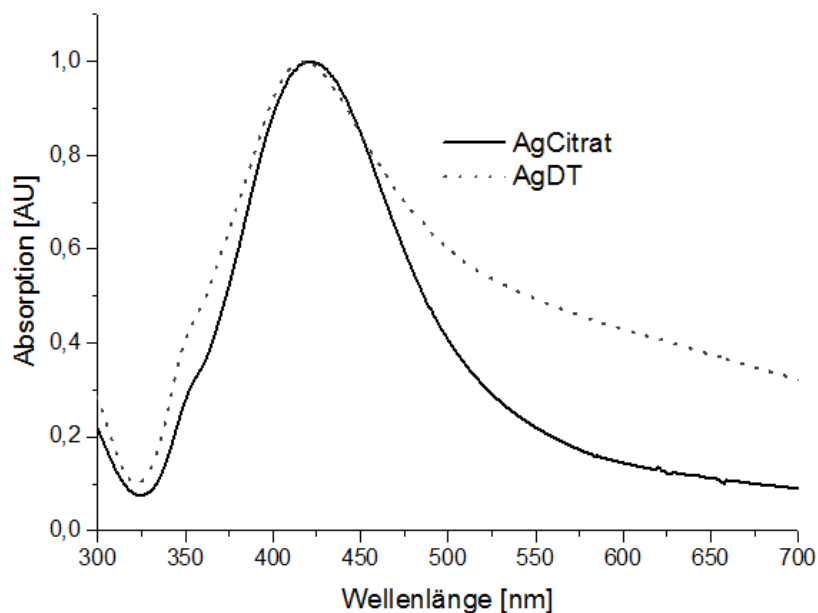


Abb. 36: Normierte Absorptionsspektren der DT- und Citrat-koordinierten Silberkolloide.

3.1.1.6 Synthese von Gold-/Silber-Legierungen

Wie bereits im einleitenden Kapitel vorgestellt kann die Oberflächenplasmonenresonanz der Gold- und Silbernanopartikel über einen weiten Bereich des sichtbaren Spektrums eingestellt werden. Dabei beeinflussen nicht nur Form und Größe die Wellenlänge, mit der das Licht emittiert wird, sondern auch die Zusammensetzung. So ist es möglich mit bimetallicen Gold- / Silber-Nanopartikelsystemen das Absorptionsmaximum einzustellen.^[178] Dabei besitzen diese nanoskaligen Gold- / Silber-Legierungen weitere interessante Eigenschaften, die sich von denen der reinen Gold- und Silbernanopartikel unterscheiden.^[179,180] Neben der veränderten Biokompatibilität ist ihr einstellbarer Absorptionsbereich von gesteigertem Interesse für diese Arbeit.

Die Synthese von Gold- / Silber-Legierungen erfolgte in dieser Arbeit in wässrigem Medium durch Reduktion der entsprechenden Salzmischung von Silbernitrat und Tetrachlorogoldsäure in Gegenwart des Stabilisators Natriumcitrat.^[181] Als Salzmischungen wurden drei Verhältnisse von Tetrachlorogoldsäure zu Silbernitrat (3:1, 1:1 und 1:3) gewählt und deren Einfluss auf die Partikelgröße, die Dispersität und die Oberflächenplasmonenresonanz mit Hilfe von TEM Aufnahmen, DLS-Messungen und UV/Vis-Spektroskopie untersucht.

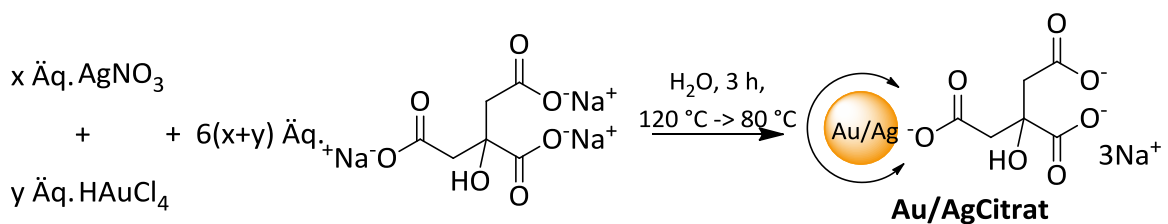


Abb. 37: Schematische Darstellung der durch Co-Reduktion synthetisierten nanoskaligen Gold-/Silber-Legierungen.

Dazu wurde zunächst die Tetrachlorogoldsäure in Wasser vorgelegt und bis zum Sieden erhitzt. Nachdem die Goldlösung 20 min bei dieser Temperatur gehalten wurde, erfolgte die schnelle Zugabe der entsprechenden Mengen von Silbernitrat und der frisch hergestellten wässrigen Natriumcitrat-Lösung. Dabei wurde darauf geachtet, dass zwischen Zugabe des Silbernitrats und der Citrat-Lösung nur wenige Sekunden verstrichen, um das Ausfallen des in Wasser schwerlöslichen Silberchlorids zu verhindern. Nach dem

3 Ergebnisse und Diskussion

Hinzufügen aller Komponenten wurde die Temperatur langsam auf 80 °C gesenkt und die Reaktionsmischung insgesamt 3 h gerührt. Die dabei entstehende Farbe der Lösung hängt vom gewählten Verhältnis von Gold zu Silber ab (siehe Abb. 39B) und variiert mit steigendem Goldanteil von gelb über orange bis rot.

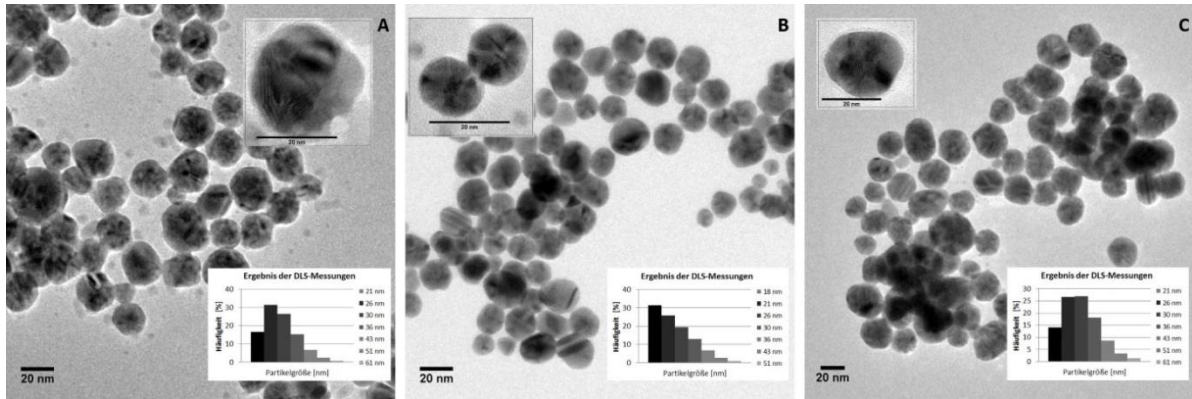


Abb. 38: TEM Aufnahmen der verschiedenen nanoskaligen Gold-/Silberlegierungen mit den Au-/Ag-Verhältnissen 1:3 (A); 1:1 (B); 3:1 (C). Die als Insets eingefügten DLS-Messungen ergeben für die hydrodynamischen Durchmesser 29 ± 7 nm (AuAg 3:1); 22 ± 6 nm (AuAg 1:1) und 28 ± 6 nm (AuAg 1:3).

Die in Abb. 38 gezeigten TEM-Aufnahmen lassen den Schluss zu, dass das Gold-zu-Silberverhältnis keinen nennenswerten Einfluss auf die Partikelform besitzt. Bei allen drei in dieser Arbeit synthetisierten nanoskaligen Gold-/Silber-Legierungen handelt es sich größtenteils um sphärische Partikel und nur vereinzelt sind trigonale Partikel und kleine Stäbchen in den Proben vorhanden. Dabei weisen die Partikel mit 23 nm (Au/Ag-Verhältnis 1:3), 19 nm (Au/Ag-Verhältnis 1:1)-und 24 nm (Au/Ag-Verhältnis 3:1) annähernd gleiche mittlere Partikeldurchmesser auf, nehmen aber mit steigendem Silbergehalt in ihrer Dispersität von 13% über 15% bis 17% zu. Außerdem liegen die Partikel nicht vereinzelt auf dem TEM-Grid, sondern in kleinen Aggregaten zusammen. Vergleicht man die erhaltenen Absorptionsspektren (Abb. 39 A) und DLS-Messungen (Insets Abb. 38) mit den für einzelne Partikel passenden hydrodynamischen Durchmessern, ist die Aggregation der Partikel weitgehend auf den Eintrocknungsprozess bei der Grid-Präparation zurückzuführen.

Eine Zusammenstellung der Absorptionsspektren von Citrat koordinierten Gold-, Silber- und Alloy-Nanopartikeln ist in Abb. 39 A zu sehen. Die Wellenlänge des Absorptionsmaximums der Partikel nimmt, wie bereits kurz beschrieben, mit steigendem Goldanteil zu und variiert zwischen 410 nm für die Silberkolloide und 530 nm für die Goldkolloide. Obwohl die Partikel sich in ihren Durchmessern (zwischen 15 nm bei den

3 Ergebnisse und Diskussion

reinen Gold- und Silberpartikeln und 25 nm bei den nanoskaligen Legierungen) und der Dispersität unterscheiden, was die Lage des Absorptionsmaximums beeinflusst und somit die Auswertung leicht verfälschen, ist der literaturbekannte, lineare Zusammenhang zwischen der Lage des Absorptionsmaximums und dem prozentualen Goldanteil gut zu erkennen (Abb. 39 C).^[180,182] Mithilfe der aus der linearen Ausgleichsgeraden erhaltenen Gleichung ($y = 405 \text{ nm} + 1,196x$) (Abb. 39 C), lässt sich das Absorptionsmaximum einer nanoskaligen Gold/Silber-Legierung mit einem Partikeldurchmesser von ca. 20 nm vorhersagen und Citrat-koord. Edelmetallnanopartikel gezielt mit einem Absorptionsmaximum zwischen 410 und 530 nm für diese Arbeit synthetisieren.

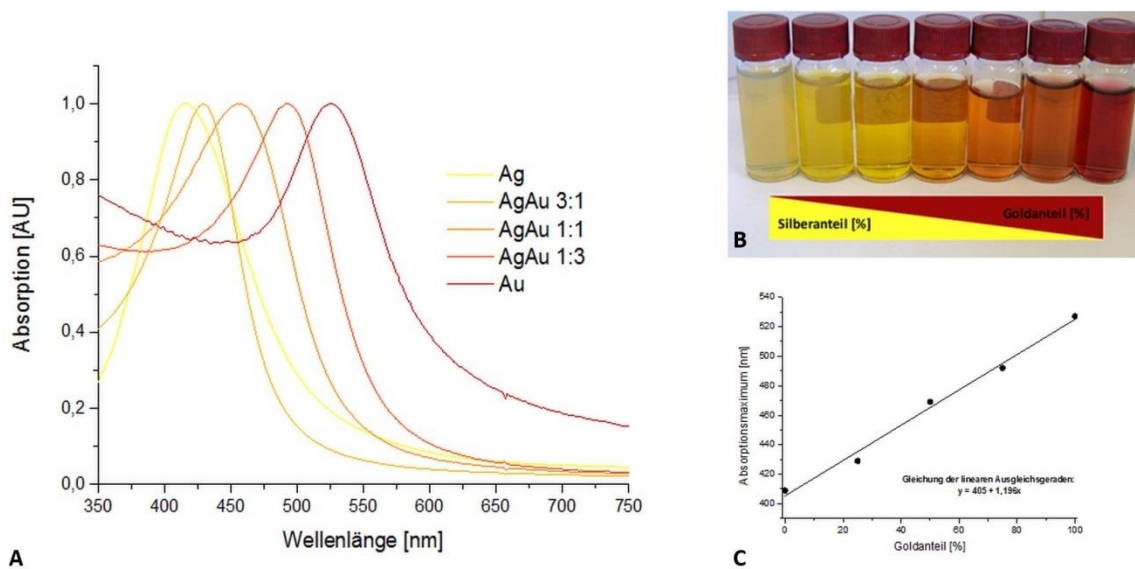


Abb. 39: Absorptionsspektren der nanoskaligen Gold-/Silberlegierungen mit verschiedenen Zusammensetzungen (A); Foto der verschiedenen Zusammensetzungen (B); linearer Zusammenhang der Legierungen (C).

3.1.2 Synthese von CdSe- und CdTe-Halbleiternanopartikeln (QDots)

Wegen ihrer einzigartigen optischen Eigenschaften wurden CdSe- und CdTe- Quantum Dots (QDots) als weitere Partikelart für die multivalente Präsentation potenzieller Selektin-Inhibitoren gewählt. Wie bereits im einleitenden Kapitel (siehe 2.4.4) beschrieben besitzen die literaturbekannten Synthesemethoden spezifische Vor- und Nachteile. In der vorliegenden Arbeit erfolgte deshalb die Synthese der QDots nach zwei unterschiedlichen Synthesemethoden.

3.1.2.1 Synthese von CdTe- und CdSe-QDots mit Hilfe der „Hot-Injection“-Methode in organischen Lösungsmitteln

Für die QDot-Darstellung nach der auf Arbeiten von *Murray et al.* basierenden „Hot-Injection“- Methode wurde die Cd-Vorstufe unter Schutzgasatmosphäre zu der Se-Vorstufe bzw. Te-Vorstufe gegeben und schnell in eine auf 300 °C (CdTe: 185 °C) erhitzte Mischung der koordinierenden Lösungsmittel (Trioctylphosphinoxid und Hexadecylamin) injiziert. Die Reaktionsmischung wurde für 5 min (CdTe: 2 h) im Temperaturbereich zwischen 250 °C-300 °C (CdTe: 185 °C) gehalten, bevor das Wachstum der Partikel durch schnelles Abkühlen auf Raumtemperatur unterbrochen wurde (Abb. 40). Für mögliche biologische Anwendungen müssen die erhaltenen CdSe- und CdTe-QDots im Anschluss an ihre Synthese mit einer Hülle (z.B. ZnS, Polymere, Silica) passiviert werden. Dies ist notwendig, weil CdSe- und CdTe- QDots wegen ihrer Zusammensetzung hochgradig zytotoxisch sind.^[183] So wiesen *Derfus et al.* in Studien nach, dass es bei *in vitro* Anwendungen zur Freisetzung von Cd²⁺-Ionen in die Zelle durch Oxidation der QDot-Oberfläche kommt. Dabei korreliert diese Cd²⁺-Ionenkonzentration stark mit einem möglichen Zelltod.^[184] Durch die Passivierung des Kernmaterials mit einer Schutzhülle kann die Freisetzung der Cd²⁺-Ionen reduziert bis gänzlich unterbunden werden, sodass eine mögliche zytotoxische Wirkung herabgesetzt wird.^[185,186]

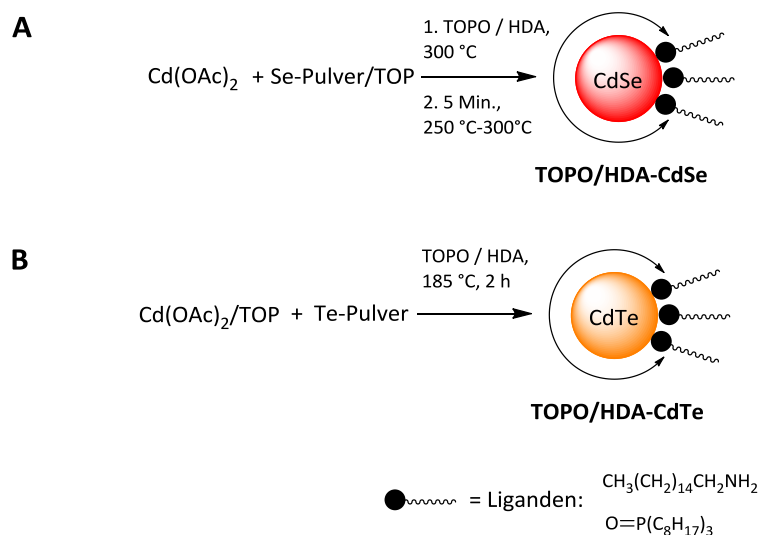


Abb. 40: Schematische Darstellung der Synthese von CdSe- und CdTe-QDots nach der „Hot-Injection“-Methode.

3 Ergebnisse und Diskussion

Eine Passivierung der QDots mit Silica-Hüllen oder Polymeren kann zu einer erheblichen Zunahme der Partikelgröße und einer signifikanten Abnahme der Fluoreszenz führen,^[185] weswegen für die Ziele der vorliegenden Arbeit die Passivierung mit einer ZnS-Hülle die beste Möglichkeit darstellt. Neben der niedrigeren toxischen Wirkung besitzen ZnS-passivierte QDots meist eine stärkere Fluoreszenz und höhere Stabilität, was sich zusätzlich auf eine mögliche biologische Anwendung positiv auswirkt.^[187] Die Passivierung mit einer ZnS-Hülle erfolgte in der vorliegenden Arbeit nach literaturbekannten Methoden^[90,188] durch die Umsetzung der zuvor hergestellten QDots mit einer ZnS-Präkursorlösung bestehend aus Zinkstearat und Schwefelpulver in TOPO/HDA bei 200 °C für 1 h (Abb. 41).

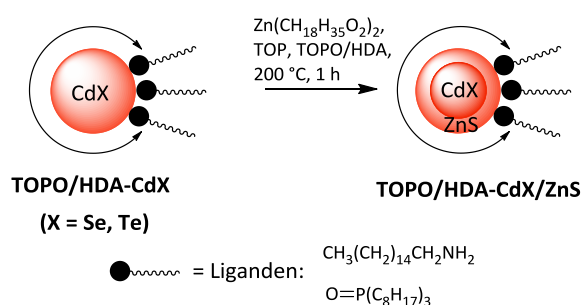


Abb. 41: Schematische Darstellung der ZnS-Passivierung der zuvor synthetisierten CdSe-bzw. CdTe-QDots.

Die Charakterisierung der erhaltenen QDots erfolgte durch TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen, UV/Vis-Absorptionsspektroskopie für das Kernmaterial, sowie NMR- und IR-Spektroskopie für die Ligandenhülle. In Abb. 43 A und B sind die TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen für die aus der zweistufigen Synthese erhaltenen QDots gezeigt. Bei den CdSe/ZnS-QDots handelt es sich um sphärische Partikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser $d = 5,3 \pm 0,4$ nm ($d_h = 14 \pm 3$ nm) und einer Größendispersität von 9% (Abb. 43 A). Im Vergleich dazu zeigen die CdTe/ZnS-QDots eine etwas engere Größenverteilung mit 7% bei einem mittleren Partikeldurchmesser von $d = 4,5 \pm 0,3$ nm ($d_h = 14 \pm 2$ nm). Anhand der UV/Vis-Absorptionsspektren (Anhang Abb. 4) konnte mithilfe der Absorptionsmaxima und der Gleichungen 2.5 A und 2.5 B etwas kleinere Partikeldurchmesser mit $d = 3,8$ nm ($\lambda_{\text{max}} = 578$ nm) für CdSe/ZnS-QDots und mit $d = 3,6$ nm ($\lambda_{\text{max}} = 588$ nm) für CdTe/ZnS-QDots berechnet werden.

Zur Untersuchung möglicher Einflüsse unterschiedlicher Reaktionsparameter auf die Partikelsynthese wurden zwei einstufige Synthesen gewählt, die auf Arbeiten von Yu et al.^[189] und Park et al.^[190] zurückgehen (Abb. 42). In einem typischen Syntheseansatz nach

3 Ergebnisse und Diskussion

Park et al. erfolgte die „Eintopf“-Synthese von CdSe/ZnS-QDots in dem koordinierenden Lösungsmittelgemisch TOP/HDA. Dabei wurde zunächst bei 200 °C das Wachstum der CdTe-Kerne ermöglicht, bevor diese direkt im Anschluss durch Zugabe von Zinkstearat und Schwefelpulver mit einer ZnS-Schale umhüllt wurden (Abb. 42 A). Dafür wurde die Reaktionsmischung bei 180 °C eine weitere Stunde gerührt.

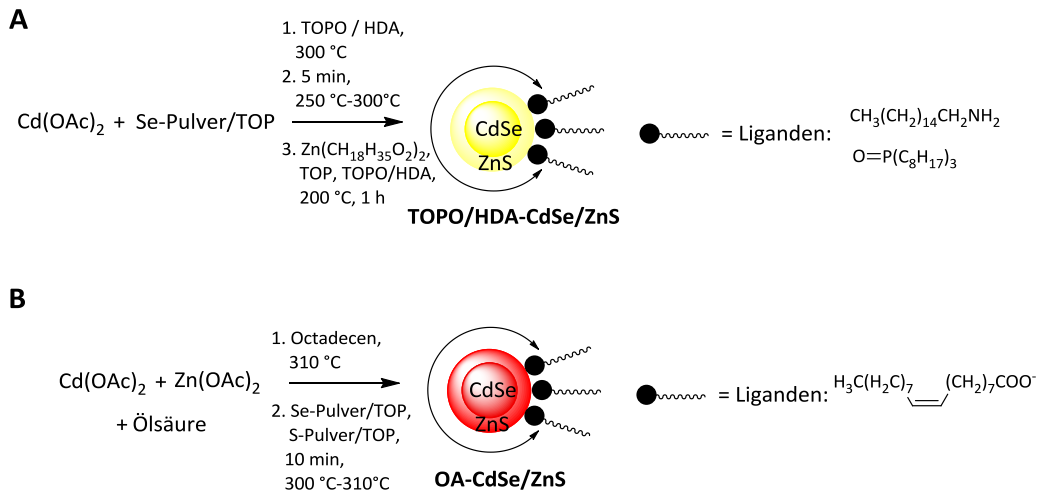


Abb. 42: Schematische Darstellung der „Eintopf“-Synthesen von CdSe/ZnS-QDots.

Hingegen wurden für die einstufige Synthese nach *Yu et al.* Cadmiumacetat mit Zinkacetat und Ölsäure in 20 mL des nicht-koordinierenden Lösungsmittels 1-Octadecen gelöst und auf 310 °C erhitzt. Bei dieser Temperatur wurde schnell der Se-Präkursors und der S-Präkursors zugegeben und die Temperatur zum Wachstum der Partikel auf 300 °C eingestellt. Nach 10 min wurde die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur abgekühlt. Anhand der TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen (Abb. 43 C) zeigt sich, dass eine direkte Umsetzung der TOPO/HDA-koodinierten CdSe-QDots mit dem ZnS-Präkursor ohne vorherigen Aufreinigungsschritt zu einer breiteren Größenverteilung von 19% führt. Neben Partikeln mit einem mittleren Durchmesser von $d = 4,8 \pm 0,9$ nm ($d_h = 14 \pm 3$ nm) sind ebenfalls kleinere Partikel enthalten, die durch den fehlenden Aufreinigungsschritt nicht entfernt wurden. Die beste Größenverteilung mit 6% konnte durch die einstufige Synthese nach *Yu et al.* erhalten werden (Abb. 43 D). Diese Methode ermöglicht die Synthese $6,8 \pm 0,4$ nm großer QDots. Die aus der organometallischen Synthese erhaltenen qualitativ hochwertigen Halbleiternanopartikel, zeichnen sich fast alle durch enge Größenverteilung aus und weisen zudem eine besonders intensive Fluoreszenz auf (siehe 6.2.4.2.1-6.2.4.2.4).

3 Ergebnisse und Diskussion

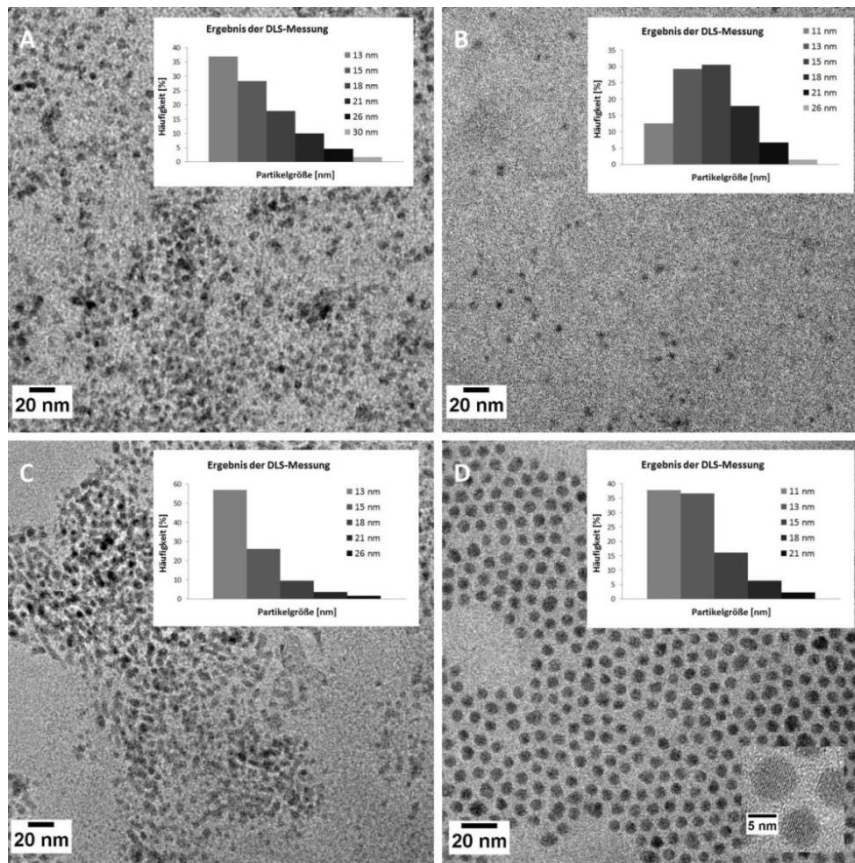


Abb. 43: TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen der nach der „Hot-Injection“-Methode hergestellten QDots. A: zweistufige Synthese der TOPO/HDA-kooordinierten CdSe/ZnS-QDots ($d = 5,3 \pm 0,4$ nm, $d_h = 14 \pm 3$ nm); B: zweistufige Synthese der TOPO/HDA-kooordinierten CdTe/ZnS-QDots ($d = 4,5 \pm 0,3$ nm, $d_h = 14 \pm 2$ nm); C: „Eintopf“-Synthese der TOPO/HDA-kooordinierten CdSe/ZnS-QDots ($d = 4,8 \pm 0,9$ nm, $d_h = 14 \pm 3$ nm); D: einstufige Synthese der OA-kooordinierten CdSe/ZnS-QDots ($d = 6,8 \pm 0,4$ nm, $d_h = 12 \pm 2$ nm).

Für eine Verwendung im biologischen System aber müssen die erhaltenen QDots durch eine postsynthetische Umfunktionalisierung ins wässrige Medium überführt werden. Es ist literaturbekannt, dass sich dieser Schritt meist nachteilig auf die Eigenschaften der QDots auswirkt. ^[191,192]

3.1.2.2 Synthese von Mercaptocarbonsäure funktionalisierten CdSe- und CdTe-Qdots

Aus diesem Grund wurde neben der Synthese von OA- und HDA/TOPO-kooordinierten QDots in organischen Lösungsmitteln, zusätzlich eine direkte „wässrige Synthese“ der QDots in der vorliegenden Arbeit durchgeführt. Dazu wurden Mercaptocarbonsäure-kooordinierte CdSe- und CdTe-QDots in Anlehnung bekannter Synthesvorschriften hergestellt. Dazu wurde eine sauerstofffreie Se- bzw. Te-Vorstufe in einer Ar-gesättigten Atmosphäre mit einer Cd^{2+} /Mercaptocarbonsäure-Mischung zur Reaktion gebracht (Abb.

3 Ergebnisse und Diskussion

44).^[94,193,194] Unabhängig der verwendeten Mercaptocarbonsäure wurde für alle Reaktionen mit 1 M Natronlauge ein pH-Wert > 10 eingestellt und ein Vorstufenverhältnis von 2 / 1 / 4,8 für Cd²⁺ / NaHX (X = Se oder Te) / Mercaptocarbonsäure gewählt. Bei diesem Verhältnis handelt es sich, um ein literaturbekanntes, empirisch gefundenes Verhältnis, das hohe Quantenausbeuten ermöglichen soll.^[195] Nach der raschen Injektion der frisch hergestellten Se- bzw. Te-Vorstufe wurde die Reaktionslösung unter Rückfluß für 2 - 24 h erhitzt.

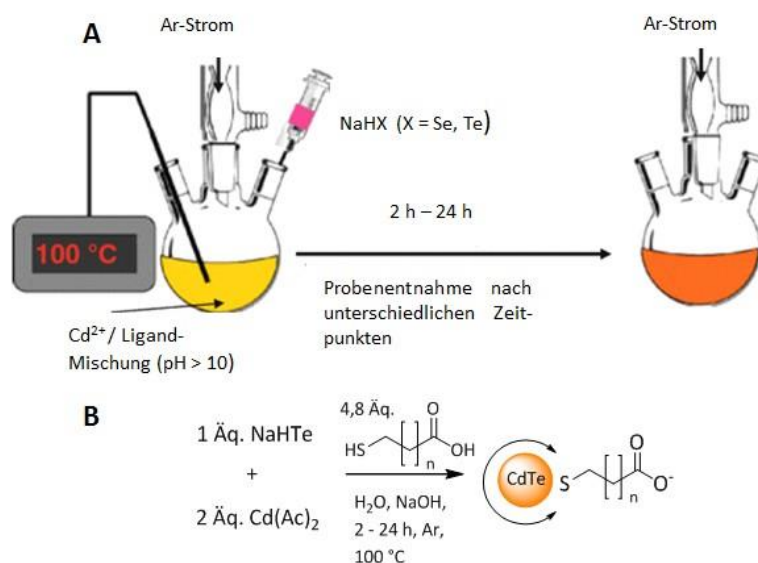


Abb. 44: Schematische Darstellung der wässrigen QDot-Synthese (A) und die entsprechende Reaktionsgleichung für die Synthese von CdTe-QDots (B).

Dabei wurde zur Überprüfung des Partikelwachstums nach 1 h, 3 h und 5 h eine Probe entnommen und das UV/Vis-Absorptionsspektrum aufgenommen (Abb. 45). Anhand dieser UV/Vis-Absorptionsspektren zeigte sich für das verwendete Vorstufenverhältnis (2 / 1 / 4,8) ein unterschiedlich schnelles QDots-Wachstum bei den verwendeten Kettenlängen der Mercaptocarbonsäuren (Abb. 45 A). Während Mercaptoessigsäure (TGA) und Mercaptopropionsäure (MPA) nach einer Reaktionszeit von 3 h ein Absorptionsmaximum von 538 nm (TGA) und 518 nm (MPA) aufwiesen, zeigten die längeren Ketten Mercaptohexansäure (MHA) und Mercaptoundecansäure (MUDA) ein Maximum bei 448 nm bzw. 434 nm. Als weitere Kettenlängen wurden in der vorliegenden Arbeit Mercaptobutansäure (MBA) und Mercaptopentansäure (MPETA) synthetisiert (siehe experimenteller Teil 6.2.4.1.2 und 6.2.4.1.3). Auch diese beiden Liganden wiesen den angesprochenen Trend des Einflusses der Kettenlänge auf (Abb. 45 B). Zusätzlich

3 Ergebnisse und Diskussion

scheinen sterisch anspruchsvolle Liganden wie z.B. Mercaptobernsteinsäure (MSA, $\lambda_{\max} = 486 \text{ nm}$; Abb. 45 A) das Partikelwachstum zu verlangsamen.^[196] Nicht nur die Liganden,^[197] sondern auch die Wahl der zugesetzten Base scheinen das Partikelwachstum zu beeinflussen. Durch die Verwendung von Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) anstelle von NaOH, konnten größere TGA-koord. QDots mit einem Absorptionsmaximum von 566 nm bei gleicher Reaktionsdauer erhalten werden (Anhang Abb. 5). Anhand der Absorptionsspektren zeigt sich, dass mit längerer Reaktionszeit auch die Größenverteilung der erhaltenen QDots zunimmt.^[197] Dies wird anhand der breiteren Absorptionsbanden sichtbar. Durch Austausch des Kernmaterials von CdTe in CdSe wurde das Absorptionsmaximum weiter zu längeren Wellenlängen verschoben. Bei analoger Synthesedurchführung wurde nach einer Reaktionsdauer von 5 h MPA-koordinierte CdSe-QDots mit einem Absorptionsmaximum von 593 nm (CdTe/MPA $\lambda_{\max} = 549 \text{ nm}$) erhalten. Somit ist durch die im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Synthese bei einer geeigneten Wahl der verwendeten Liganden, der eingesetzten Base, der Reaktionszeit und des Kernmaterials die Darstellung von wasserlöslichen QDots mit genau einstellbaren Absorptionsmaxima und somit die gewünschte Partikelgröße möglich. Durch Kupplungsreaktionen der Carboxylat-Gruppe mit primären Aminen könnten potenzielle Inhibitoren der Selektin-Ligand-Wechselwirkung auf die QDots immobilisiert werden, ohne dass ein vorheriger Ligandenaustausch notwendig ist.

Für eine mögliche Verwendung der Mercapto-carbonsäure-koordinierten QDots zur Detektion in der biologischen und medizinischen Bildgebung müssen diese nicht nur wasserlöslich und unter physiologischen Bedingungen stabil sein, sondern zusätzlich ein Emissionsmaximum im roten bis nahen Infraroten Bereich (600-900 nm) aufweisen.

In diesem Bereich sind die native biologische Fluoreszenz ("Autofluoreszenz") und die Gewebeabsorption minimal,^[198] weswegen die Synthese von QDots mit einem Emissionsmaximum $> 600 \text{ nm}$ anzustreben ist. Die Variation der Absorption und Emissionsmaxima zu längeren Wellenlänge kann dabei durch die Einstellung der Partikelgröße erzielt werden (Abb. 6). Während die Variation der Partikelgröße und der optischen Eigenschaften für die kurzkettigen Mercapto-carbonsäuren-koordinierten QDots für die vorgestellte Synthese durch eine geeignete Wahl der Reaktionszeit möglich ist, kann kein Einfluss der Reaktionszeit auf die MUDA-koordinierten CdTe-QDots nachgewiesen werden.

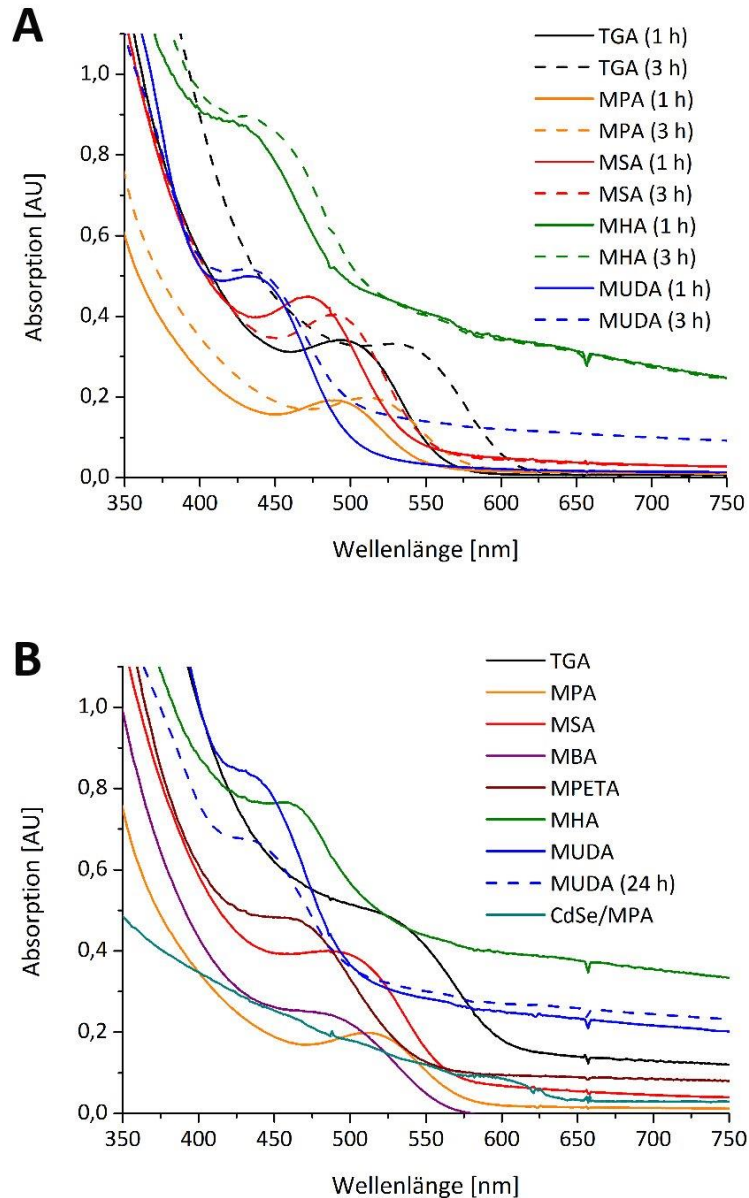


Abb. 45: A: Vergleich der UV/Vis-Absorptionsspektren der synthetisierten Mercaptocarbonsäure-koordinierten CdTe-QDots nach 1 h (durchgezogene Linie) und nach 3 h (gestrichelte Linie). B: Vergleich der UV/Vis-Absorptionsspektren der synthetisierten QDots mit unterschiedlichen Kettenlängen nach 5 h (gestrichelte Linie 24 h).

So zeigen die zu unterschiedlichen Zeitpunkten aufgenommenen UV/Vis-Absorptionsspektren der MUDA-koord. CdTe-QDots, dass nach einiger Zeit das Partikelwachstum gänzlich stoppt und eine weitere Verschiebung zu längere Wellenlängen nicht möglich ist (Abb. 45 B). Dies wird durch TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen einer Probe nach 22 h Reaktionszeit bestätigt. So ändert sich der Partikeldurchmesser von 2,4 nm auch nach dieser Reaktionszeit nicht (Anhang Abb. 6). Dieses Phänomen wurde bereits in der Literatur beschrieben. In ihren Studien zu unterschiedlichen Einflüssen auf

3 Ergebnisse und Diskussion

die Partikelsynthese von Mercaptocarbonsäure-kordinierten QDots konnten *Aldeek et al.* zeigen, dass die Kettenlänge der Mercaptocarbonsäure-Liganden einen Einfluss auf die Partikelgröße, die Quantenausbeute und die Oberflächenbedeckung besitzen, sodass für den hydrophoben MUDA-Liganden kleine Partikelgrößen und ein Absorptionsmaximum von ca. 450 nm erhalten wird.^[191] Zusätzlich konnten *Aldeek et al.* durch die Verwendung von höheren Drücken und Temperaturen eine geringe Verschiebung des Absorptionsmaximums zu längeren Wellenlängen nachweisen. Anhand dieser Ergebnisse wurde im Rahmen dieser Arbeit die Synthese der QDots um eine mikrowellenunterstützte Synthesedurchführung erweitert, um größere Partikel mit Absorptions- und Emissionsmaxima bei längeren Wellenlängen zu erhalten. Dies sollte durch die besonderen Eigenschaften der Mikrowelle (extrem schnelle Aufheizraten, „Hot-Spots“ und Temperaturen weit über dem Siedepunkt) möglich sein.^[199]

Deshalb wurden die beiden Reaktionsparameter pH-Wert und Präkursorkonzentration der konventionellen Synthesedurchführung auf die mikrowellenunterstützte Durchführung übertragen. Für die Reaktionszeit wurde empirisch eine Dauer von 10 min und für die Temperatur ein Wert von 130 °C gefunden (Abb. 47 A). Bei diesen Parametern konnten für alle Kettenlängen gute Quantenausbeuten erhalten werden.

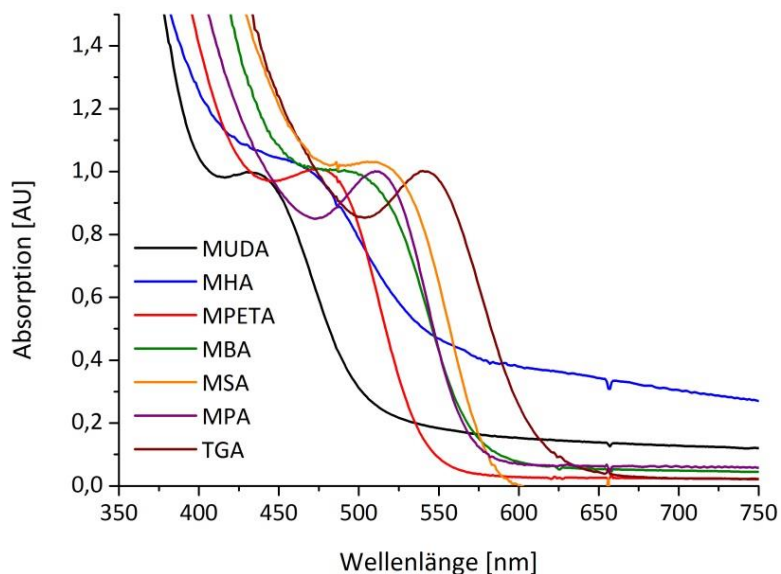


Abb. 46: Normierte UV/Vis-Absorptionsspektren der unterschiedlichen CdTe-QDots, die durch die mikrowellenunterstützte Synthese (130 °C, 10 min) erhalten wurden.

3 Ergebnisse und Diskussion

In Abb. 46 sind die normierten Absorptionsspektren, der durch die mikrowellenunterstützte Synthese erhaltenen CdTe-QDots dargestellt. Es zeigt sich, dass durch diese Synthesevariante Partikel mit deutlich schmalere Absorptionsbanden, d.h. mit einer engeren Größenverteilung, erhalten werden. Dies lässt auf einen positiven Einfluss der Mikrowellensynthese zurückführen. Weiter zeigt sich, dass auch unter diesen Bedingungen keine Veränderungen der Partikelgröße und des Absorptionsmaximums für MUDA-kordinierte QDots erhalten werden konnte. Aus diesem Grund wurden in einem weiteren Teilprojekt im Arbeitskreis^[200] durch *Anne Schulze* Untersuchungen mit höheren Temperaturen (140 °C-200 °C) und höheren Drücken (2 bar-17 bar) durchgeführt. Dabei konnte anhand von TEM-Aufnahmen gezeigt werden, dass für alle unterschiedlichen Reaktionstemperaturen und -drücken sphärische Partikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser $d = 2,3 \pm 0,3$ nm erhalten wurden. Aber zusätzlich zeigte sich durch die mikrowellenunterstützte Synthese eine Rotverschiebung der Absorptions- und Emissionsspektren, sodass auch MUDA-kordinierte CdTe-QDots für zukünftige Anwendungen in biologischen Systemen eingesetzt werden könnten.^[200]

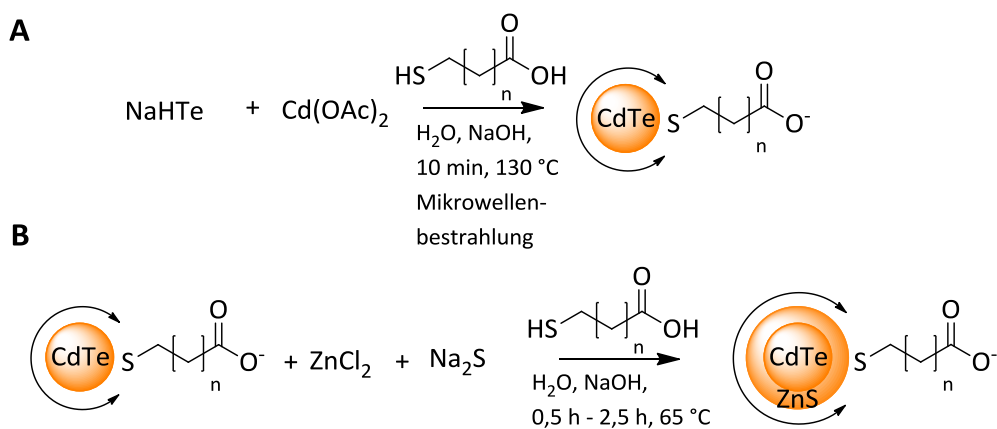


Abb. 47: Schematische Darstellung der mikrowellenunterstützten Synthese von CdTe-QDots (A) und die Passivierung der CdTe-QDots mit einer ZnS-Hülle (B).

Zur Erhöhung der Biokompatibilität wurden die erhaltenen Mercaptocarbonsäure-kordinierten QDots, wie bereits bei der Synthese mit organischen Lösungsmitteln beschrieben, mit einer ZnS-Schale passiviert. Die Passivierung erfolgte dabei durch zwei unterschiedliche Synthesemethoden. Zum einen wurde die ZnS-Hülle mit einer mikrowellenunterstützten Durchführung aufgebracht, indem die Zn- und S-Vorstufe zur vorgelegten QDot-Lösung gegeben und anschließend 10 min bei 65 °C mit

3 Ergebnisse und Diskussion

Mikrowellenstrahlen behandelt wurde.^[201] Hierbei wurden die schnelle Aufheizrate und Abkühlphase der Mikrowelle ausgenutzt, die ein gleichmäßiges Hüllenwachstum ermöglichen sollten. Zum anderen erfolgte die Passivierung durch die Verwendung konventioneller Synthesemethoden. Dabei wurden die QDots in einem ausgeheizten Dreihalskolben unter Schutzgasatmosphäre vorgelegt und nach Zugabe der Zn- und S-Präkursorlösung für 0,5 - 2,5 h bei 65 °C erhitzt (Abb. 47 B). Längere Reaktionszeiten ermöglichen somit eine dickere ZnS-Hülle, die zum Wachstum der Partikel und somit zu einer Rotverschiebung der Absorptionsmaxima führt.^[193] Zur Überprüfung, ob die Zunahme der Partikelgröße nicht nur auf das Aufbringen der ZnS-Schale, sondern auf ein allgemeines Partikelwachstum durch die Synthesebedingungen zurückzuführen ist, wurde ein Teil der Stammlösung als Referenzprobe verwendet. Diese Referenzlösung wurde wie die Reaktionslösung mit der Mikrowelle behandelt oder für 0,5-2,5 h unter Schutzgasatmosphäre bei 65°C gerührt, aber keine Präkursorlösungen (Na₂S und ZnSO₄) zugegeben. Das Aufbringen der ZnS-Schale kann somit anhand von UV / Vis-Absorptionsspektren nachgewiesen werden (Abb. 48).

Zusätzlich wurde die erfolgreiche Passivierung mit der ZnS-Hülle durch EDX-Messungen gezeigt. Diese zeigten einen relativ großen Anteil von Zink (26% für CdTe/ZnS/MUDA) und Schwefel (62% für CdTe/ZnS/MUDA) in den Proben, während Tellur (5% für CdTe/ZnS/MUDA) und Cadmium (7% für CdTe/ZnS/MUDA) nur in geringen Konzentrationen gefunden wurden. Neben einer Verschiebung des Absorptionsmaximums zu längeren Wellenlängen und der Zunahme der Partikelgröße, verbesserte sich durch die Passivierung mit ZnS zusätzlich die Stabilität der QDots. So fielen die QDots ohne ZnS-Schale bereits nach zweiwöchiger Lagerung unter Lichtausschluss im Kühlschrank aus, hingegen veränderten sich die zeitgleich synthetisierten QDots mit ZnS-Schale über mehrere Monate optisch nicht (klare Lösungen). In der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls eine mögliche Erhöhung der Stabilität der QDots durch Verwendung von mehrzähligen Liganden untersucht. Aufbauend auf Arbeiten von *Fang et al*, die in Vergleichsstudien zwischen DHLA-, MPA- und TGA-kordinierten CdTe-QDots eine höhere chemische Stabilität gegen Oxidationen für DHLA-kordinierte CdTe-QDots nachweisen konnten, wurde DHLA als Vertreter der mehrzähligen Liganden gewählt.^[202] Vor der QDot-Synthese wurde dafür DHLA durch eine Umsetzung von α -Liponsäure mit NaBH₄ zunächst hergestellt (Abb. 49 A).^[79]

3 Ergebnisse und Diskussion

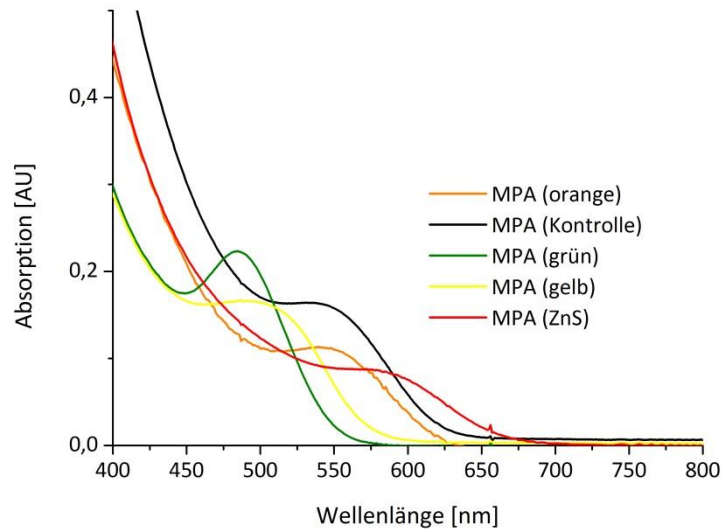


Abb. 48: Absorptionsspektren von MPA-kordinierten CdTe-QDots. Mit längerer Reaktionszeit verschiebt sich das Maximum zu längeren Wellenlängen. Die erfolgreiche Passivierung der QDots mit einer ZnS-Hülle kann anhand eines Vergleiches zwischen der Kontrollprobe (schwarz), orange fluoreszierenden QDots (orange) vor der Passivierung und rot fluoreszierenden QDots (rot; ZnS) nach der Passivierung gezeigt werden.

Im Anschluss daran erfolgte die Partikelsynthese durch eine zweistufige Synthese (Abb. 49 B). In der ersten Stufe wurde die aus der Cd-Vorstufe, Te-Vorstufe und dem Ligand bestehende Reaktionsmischung (pH-Wert > 11, Verhältnis 2 : 1 : 4,8) 10 min in der Mikrowelle bei 130 °C behandelt, bevor in der zweiten Stufe wie bereits zuvor beschrieben eine ZnS-Hülle aufgebracht wurde. Nach der Aufarbeitung durch Fällen mit Isopropanol erfolgte die Charakterisierung mithilfe von TEM-Aufnahmen, UV/Vis-Absorptionsspektroskopie und DLS-Messungen. In Anhang Abb. 8 ist das Absorptionsspektrum und eine TEM-Aufnahme der DHLA-kordinierten CdTe/ZnS-QDots gezeigt. Durch die verwendeten Syntheseparameter konnten sphärische Partikel erhalten werden, die einen mittleren Partikeldurchmesser von $d = 3,5 \pm 0,3$ nm besitzen und eine Größendispersität von 9% aufweisen. Vergleicht man das Absorptionsmaximum vor und nach der ZnS-Passivierung verschiebt sich dieses leicht zu längeren Wellenlängen (von $\lambda_{\max} = 565$ nm auf $\lambda_{\max} = 568$ nm). Die Berechnung des mittleren Partikeldurchmessers mithilfe von Gl.2.5 B ergibt einen Wert von 3,4 nm, der gut mit den Ergebnissen aus den TEM-Aufnahmen übereinstimmt.

3 Ergebnisse und Diskussion

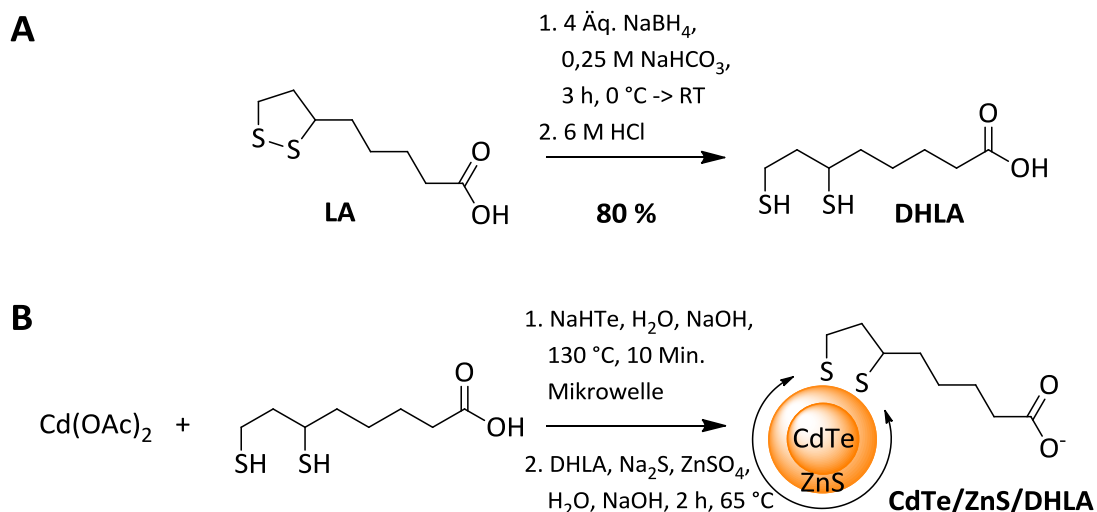


Abb. 49: Schematische Darstellung der Synthese DHLA-koordinierter CdTe/ZnS-QDots.

3.1.2.3 Vergleich der gebundenen Ligandenanzahl und der Quantenausbeute

Analog zu den Untersuchungen der synthetisierten Goldnanopartikel wurden in der vorliegenden Arbeit mithilfe der thermogravimetrischen Analyse die Anzahl der gebundenen Liganden auf der Partikeloberfläche bestimmt (Anhang Abb. 9). Anhand der erhaltenen Gewichtsverluste konnte für MUDA-koordinierte QDots ($d = 2,5$ nm, Gewichtsverlust 14%) ca. 60 Liganden, für MPA-koordinierte QDots ($d = 4$ nm, Gewichtsverlust 23%) ca. 350 Liganden und für TGA-koordinierte QDots ($d = 4,5$ nm, Gewichtsverlust 11%) ca. 450 Liganden berechnet werden. Diese Zahlen geben somit die maximale Zahl an möglichen Epitopen an, die durch Kupplungsreaktionen auf die QDots immobilisiert werden können.

Neben der maximalen Ligandenanzahl ist für eine Anwendung der QDots in biologischen Systemen auch die Fluoreszenzquantenausbeute eine wichtige Größe, weswegen diese von ausgewählten QDots ebenfalls bestimmt wurde. Die Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute erfolgte dabei mithilfe der vergleichenden Methode, die auf Arbeiten von Williams *et al.*^[203] basiert (siehe Kapitel 6.1.8). So konnte durch eine geeignete Wahl der Reaktionsparameter MUDA-koordinierte CdTe/ZnS-QDots synthetisiert werden, die eine Fluoreszenzquantenausbeute von 18% besitzen. Dabei zeigte sich, dass durch die mikrowellenunterstützte Synthese im Vergleich zur konventionellen Synthese höhere Quantenausbeuten erhalten werden konnten. Während

3 Ergebnisse und Diskussion

MHA- bzw. MPA-koodinierte CdTe/ZnS-QDots eher schlechtere Ausbeuten mit 5% (MHA) und 10% (MPA) ergaben, wurde für TGA-koodinierte CdTe/ZnS-QDots im Rahmen dieser Arbeit mit 35% die höchste Quantenausbeute erhalten. Diese liegt somit im Bereich literaturbekannter stark fluoreszierender QDots.^[197]

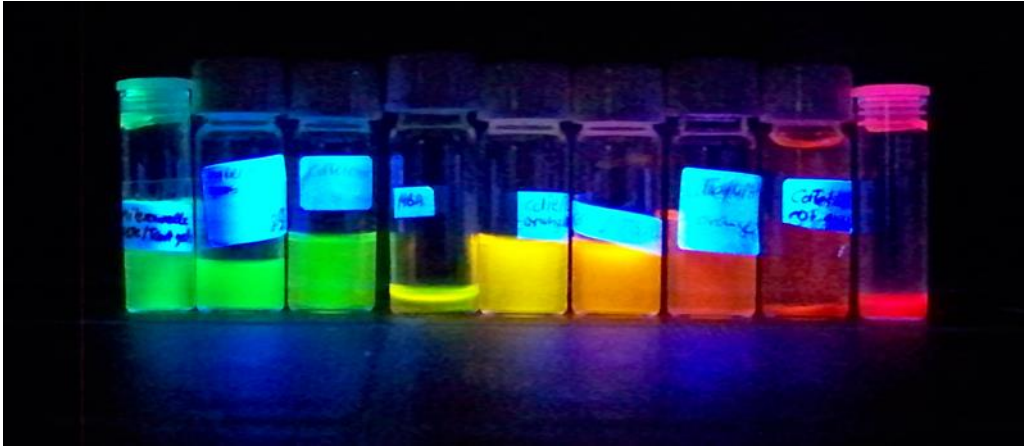


Abb. 50: Eine Auswahl der in der vorliegenden Arbeit durch den wässrigen Ansatz synthetisierten Mercaptocarbonsäure-funktionalisierten Quantum Dots unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$).

Durch geeignete Wahl der Reaktionsparameter für die „wässrigen Synthese“ von Mercaptocarbonsäure-koodinierten QDots, konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit QDots mit Partikelgrößen von 2,5 – 5 nm erhalten werden, die eine enge Größenverteilung besitzen und mit ihrer Fluoreszenz den sichtbaren Bereich des Lichtspektrums abdecken können (Abb. 50).

3.1.3 Synthese magnetischer Eisenoxidnanopartikel

Wie bereits im einleitenden Kapitel beschrieben (siehe 2.4.5), können magnetische Eisenoxidnanopartikel durch Co-Präzipitation mit vergleichsweise einfacher Synthese und guter Wasserlöslichkeit erhalten werden.^[40,46] Wegen den vorhandenen Nachteilen, wie z.B. einer breiteren Größenverteilung, polykristallineren Partikeln und schlechtere magnetische Eigenschaften,^[204] erfolgte keine direkte Synthese im wässrigen Medium, sondern durch Zersetzung von Eisenpräkursoren in hoch siedenden organischen Lösungsmitteln.

3.1.3.1 Synthese magnetischer Eisenoxidnanopartikel mit einer Partikelgröße < 10 nm

Dazu wurde zur Synthese monodisperser Eisenoxid-Nanopartikel mit einem mittleren Durchmesser < 10 nm aufbauend auf den Arbeiten von *S. Sun* und *H. Zeng*^[205] die thermische Zersetzung von Eisenacetylacetonat [Fe(acac)₃] in Anwesenheit des als Reduktionsmittel fungierenden 1,2-Hexadecandiol und den Oberflächenliganden Ölsäure (OA) und Oleylamin in organischem Lösungsmittel gewählt (Abb. 51). Für die Synthese wurden 2 mmol Eisenacetylacetonat, 10 mmol 1,2-Hexadecandiol, 6 mmol OA und 6 mmol Oleylamin in Benzylether gelöst und unter Argon-Atmosphäre zunächst 2,5 h auf 230 °C und anschließend 1 h auf 300 °C erhitzt. Hierbei war das Arbeiten unter Sauerstoffausschluss für die Herstellung von Fe₃O₄-Nanopartikeln von essentieller Bedeutung, da diese sehr oxidationsempfindlich sind und sonst bei einer Temperatur von 250 °C leicht durch Luftsauerstoff zu γ-Fe₂O₃ oxidiert werden könnten. Erfolgt bereits bei der Synthese eine oxidative Umwandlung von Magnetit in Maghemit lässt sich die Partikelgröße nicht mehr steuern und eine enge Größenverteilung ist nicht mehr realisierbar.^[206] Die Größenverteilung kann zusätzlich durch das stufenweise Aufheizen und der damit verbundenen Trennung der Keimbildung (230 °C) und dem Partikelwachstum (300 °C) der Partikel kontrolliert werden.^[207] Nach dem Fällern und mehrmaligen Waschen mit Ethanol wurde der Überstand entfernt und der braunschwarze Rückstand am Ölpumpenvakuum getrocknet. Die so erhaltenen OA / Oleylamin-koodinierten Eisenoxidnanopartikel wurden abschließend in einem unpolaren oder schwach polaren Lösungsmitteln, wie Hexan oder Toluol aufgenommen und bei 4°C im Kühlschrank unter Schutzgasatmosphäre gelagert.

Für die Steuerung der Größe und Morphologie der erhaltenen Nanopartikel stellen das Verhältnis der Edukte, die metallorganischen Verbindungen, die entsprechenden Liganden und das Suspensionsmittel wichtige Parameter dar. Auch die Reaktionszeit, -temperatur und Dauer des Alterungsprozesses sind für die Synthese entscheidend. Zur Variation der Partikelgröße wurde aus diesem Grund weitere Synthesen mit unterschiedlichen Verhältnissen der eingesetzten Substanzen, sowie dem Austausch des Lösungsmittels und des Reduktionsmittels 1,2-Hexadecandiol gegen 1,2-Dodecanthiol durchgeführt (siehe experimenteller Teil 6.2.5).

3 Ergebnisse und Diskussion

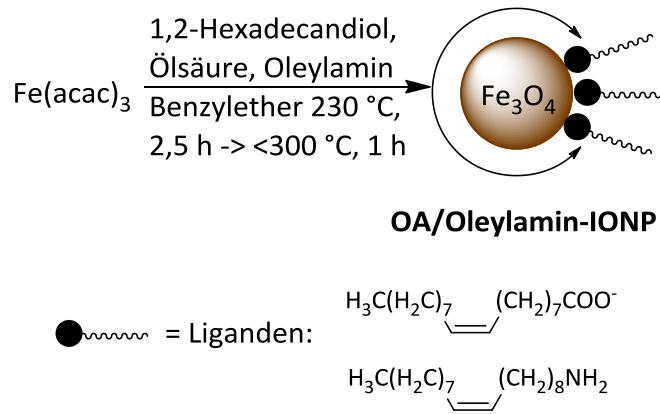


Abb. 51: Reaktionsschema der Synthese Ölsäure/Oleylamin-koordinierter Fe_3O_4 -Nanopartikel mit einem mittleren Durchmesser < 10 nm.

3.1.3.2 Synthese magnetischer Eisenoxidnanopartikel mit einer Partikelgröße > 10 nm

Eisenoxidnanopartikel mit einem Durchmesser > 10 nm wurden in Anlehnung an eine zweistufige Synthesevorschrift von *Xu et al.* hergestellt.^[208] Dazu wurde Eisen(III)chlorid mit 3 Äq. Natriumoleat in einem Hexan / Ethanol / Wasser-Gemisch 4 h auf 65 C erhitzt und anschließend zur Aufreinigung dreimal mit Wasser gewaschen.

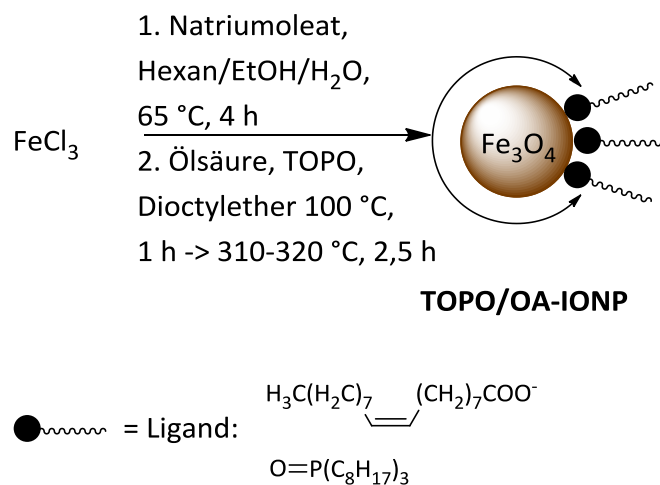


Abb. 52: Schematische Darstellung der Synthese von Eisenoxidnanopartikeln mit einem mittleren Durchmesser > 10 nm.

Danach wurde der erhaltene Eisenoleat-Komplex zunächst mit OA und TOPO in Dioctylether stufenweise auf 310 - 320 °C erhitzt um mögliche Lösemittelreste zu entfernen. Dabei konnte ab Temperaturen, um die 280 °C eine plötzliche Farbänderung in dunkelbraun beobachtet werden, was auf die Bildung der Eisenoxidnanopartikel hindeutete. Die Reaktionsmischung wurde weitere 2,5 h bei 320 °C gehalten und dann

3 Ergebnisse und Diskussion

schnell auf Raumtemperatur abgekühlt. Durch Fällern und Waschen mit Aceton, mit anschließendem Trocknen am Ölpumpen-vakuum konnten die Eisenoxidnanopartikel als schwarzes Pulver erhalten werden. Zur Aufbewahrung wurden die Eisenoxidnanopartikel in absolutem Chloroform gelöst (5 mg/mL) und bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

3.1.3.3 Charakterisierung und Vergleich der erhaltenen Eisenoxidnanopartikel

Während eine Charakterisierung der Ligandenhülle der erhaltenen Eisenoxidnanopartikel wegen den magnetischen Eigenschaften nur mit IR-Spektroskopie möglich war, wurden zur Bestimmung der Partikelgröße, der Größendispersion und dem Agglomerationsgrad der Partikel DLS-Messungen und TEM-Aufnahmen verwendet. Durch eine Variation der literaturbekannten Synthese konnten 5-10 nm große OA/Oleylamin koordinierte Eisenoxidnanopartikel erhalten werden. Während durch die Verwendung von 1,2-Hexadecylamin als Reduktionsmittel, Diphenylether als Lösungsmittel und zwei Temperaturschritten bei 200 °C und 300 °C sphärische Eisenoxidnanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $4,3 \pm 0,8$ nm erhalten werden konnten (Abb. 53 A), ermöglichten der Wechsel des Lösungsmittels (40 mL Octadecen) und ein zweiter Temperaturschritt bei 310 °C das Wachstum von fast doppelt so großen sphärischen Eisenoxidnanopartikeln ($8,4 \pm 0,3$ nm, Abb. 53 B). Das Ersetzen des Reduktionsmittels durch 1,2-Dodecandiol ergab $10,3 \pm 0,5$ nm große kubische Eisenoxidnanopartikel (Abb. 53 C). Neben Partikelgröße und -form unterscheiden sich die drei Synthesevarianten auch in ihrer Dispersität. So nimmt diese von 4-5% bei den größeren Partikeln deutlich bei den kleineren Partikeln (11%) zu. Ebenfalls konnten wie in der Literatur beschrieben große ($13,3 \pm 0,4$ nm) sphärische OA/TOPO-koordinierte Eisenoxidnanopartikel mithilfe des Eisenoleat-Komplexes hergestellt werden (Abb. 53 D). Alle erhaltenen Kolloidlösungen zeigten eine dunkelbraune bis schwarze Farbe, die einen Hinweis auf das Vorliegen von Magnetit (Fe_3O_4) gibt. Nach längerer Lagerung (ca. 6 Monate und mehr) im Kühlschrank bei 4 °C verfärbte sich die Suspension zunehmend bräunlich. Dieses Phänomen lässt sich durch zunehmende Oxidation des Magnetits zu Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) erklären. Um eine genauere Aussage treffen zu können wurden Versuche zur Aufklärung der kristallinen Natur der erhaltenen Eisenoxidnanopartikel direkt nach der Synthese mithilfe der Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD) unternommen.

3 Ergebnisse und Diskussion

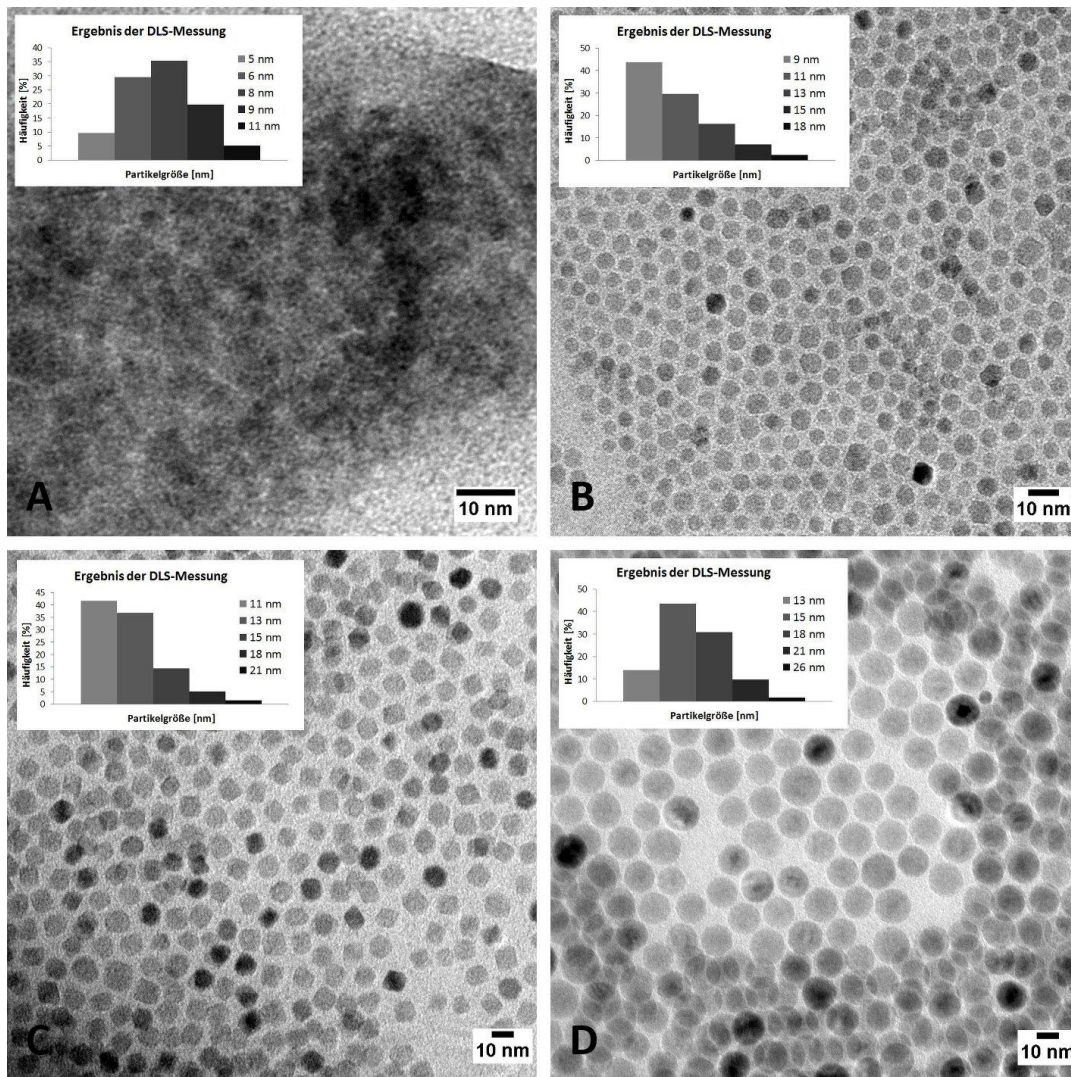


Abb. 53: TEM Aufnahmen der aus den vorgestellten Synthesen erhaltenen Eisenoxidnanopartikel mit mittleren Durchmessern von $4,3 \pm 0,8$ nm ($d_h = 7 \pm 1$ nm) (A); $8,4 \pm 0,3$ nm ($d_h = 11 \pm 2$ nm) (B); $10,3 \pm 0,5$ nm ($d_h = 13 \pm 3$ nm) (C) und $13,3 \pm 0,4$ nm ($d_h = 15 \pm 2$ nm) (D).

Dazu wurden die Partikel am Ölpumpenvakuum getrocknet und als Pulver vermessen. Die erhaltenen Diffraktogramme konnten zu keiner weiteren Klärung beitragen. Zwar deutete die Position der Reflexe auf das Vorliegen von Eisenoxid in Form von Magnetit und / oder Maghemit hin, aber durch die typischen Effekte (Reflexverbreiterung, Verschiebung der Reflexlagen, Reflexverschmelzung), die in Pulverdiffraktogrammen kleiner nanokristalliner Proben (Partikeldurchmesser < 10 nm) auftreten können und der ähnlichen Kristallstruktur der beiden Phasen konnte keine eindeutige Unterscheidung getroffen werden.^[209] Deshalb ist für eine genaue Analyse in zukünftigen Arbeiten neben einer Wiederholung der XRD-Messungen die Durchführung weiterer Messungen, wie z.B. Mössbauerspektroskopie notwendig.

3 Ergebnisse und Diskussion

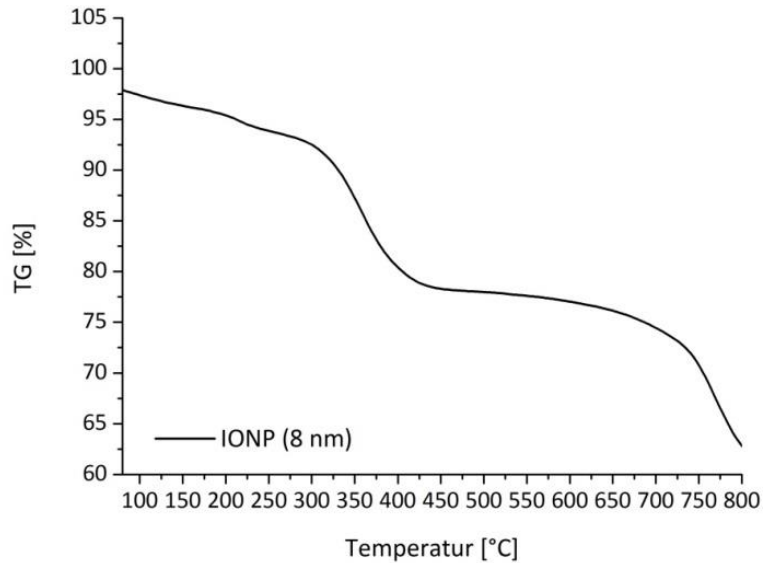


Abb. 54: Ergebnis der TGA-Messung für 8 nm große OA / Oleylamin-kordinierter Eisenoxidnanopartikel. Anhand des Gewichtsverlustes von 16% wurde eine Anzahl von 600 Liganden berechnet.

Die zur Bestimmung der Ligandenzahl eingesetzte thermogravimetrische Analyse ergab für 8 nm große OA / Oleylamin-kordinierte Eisenoxidnanopartikel einen Gewichtsverlust von 16% (Substanzmenge: 75,22 mg), d.h., dass ca. 600 Liganden auf der Partikeloberfläche immobilisiert sind (Abb. 54). Mit größerem Partikeldurchmesser nimmt die Zahl der immobilisierten Liganden wie zu erwarten zu, sodass für 10 nm große Eisenoxidnanopartikel eine Ligandenzahl von 800 bestimmt werden konnte (Gewichtsverlust 7% bei 7,53 mg Substanzmenge; Ergebnis der TGA-Messung nicht gezeigt).



Abb. 55: Foto der magnetischen Eigenschaften der synthetisierten Eisenoxidnanopartikel.

3.1.4 Fazit

Das erste Teilziel dieser Arbeit konnte durch die Synthese unterschiedlicher Nanopartikelarten, die sich in ihrer Partikelgröße und Ligandenhülle unterscheiden, erreicht werden. Dabei gelang bei fast allen Synthesen eine enge Partikelgrößenverteilung ($< 10\%$) zu erhalten, die durch unterschiedliche Charakterisierungsmethoden wie z.B. TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen und UV / Vis-Absorptionsspektren bestätigt werden konnte. Durch geeignete Wahl der Syntheseparameter konnten so z.B. im Fall der Edelmetall-nanopartikel 7 nm große DT-kordinierte Goldnanopartikel mit einer Dispersität $< 4\%$ und 1100 immobilisierten Liganden erhalten werden. Zusätzlich ermöglichte die Verwendung von Mercaptocarbonsäuren als Stabilisatoren die literaturbekannten Nachteile (Zunahme der Größendispersität, Variation der Partikelform) der *Turkevich-Methode* für die Synthese größerer Edelmetallnanopartikel (≥ 10 nm) zu überwinden. Durch geeignete Wahl der Syntheseparameter konnten ebenfalls magnetische Eisenoxidnanopartikel mit unterschiedlichen Größen (5 – 12 nm) hergestellt werden, während bei der direkten Synthese Mercaptocarbonsäure-koord. Halbleiternanopartikel im wässrigen Medium durch die Variation der Reaktionszeit und der Verwendung der Mikrowellensynthese das Absorptionsmaximum zu längeren Wellenlängen verschoben werden konnten. Dies ermöglichte je nach verwendeten Liganden die Synthese unterschiedlich großer Halbleiternanopartikel (2,5 - 5 nm) mit genau einstellbaren Absorptionsmaxima und einer Fluoreszenzquantenausbeute von bis zu 35%.

3.2 Funktionalisierung der Nanopartikel

Die auf die Oberfläche gebundenen, organischen Liganden bestimmen im Wesentlichen die Eigenschaften der Nanopartikel wie z.B. die Stabilität, das Löslichkeitsverhalten und die chemische Reaktivität. Bei der Synthese ist aber eine Ausrüstung der Partikel mit einer beliebigen Ligandenhülle oft nicht möglich, weil stark reduzierende Bedingungen und mögliche Wechselwirkungen während der Synthese diese beeinflussen können. Diese Einschränkungen der funktionellen Gruppen können durch Umfunktionalisierungen im Anschluss an die Synthese umgangen werden, sodass theoretisch jede Funktionalität auf der Partikeloberfläche immobilisiert werden kann.

Aus diesem Grund beschäftigt sich der zweite Teil der vorliegenden Arbeit mit der Umfunktionalisierung der in Kapitel 3.1 vorgestellten Nanopartikel. Zu Beginn soll dabei zunächst im folgenden Kapitel auf den Ligandenaustausch einfacher, sulfatierter und heterobifunktioneller Liganden eingegangen werden, bevor in den anschließenden Kapiteln die Immobilisierung verschiedener, bioaktiver Liganden auf die synthetisierten Nanopartikel vorgestellt wird.

In den letzten Jahren konnten eine Reihe von Veröffentlichungen zeigen, dass auch funktionalisierte Nanopartikel mit der Zeit „altern“.^[210] So können lange Lagerungszeiten zu Veränderungen in der Größe, Morphologie, Zusammensetzung und Oberflächenfunktionalität führen. Dadurch kann es zu erheblichen Abweichungen in den erhaltenen Ergebnissen kommen, weswegen in dieser Arbeit alle Reaktionen zur Umfunktionalisierung und alle Biokompatibilitätstests, soweit möglich, mit frisch hergestellten Partikeln durchgeführt wurden.

3.2.1 Ligandenaustauschreaktion mit sulfatierten oder heterobifunktionellen Liganden

Beispiel für eine Ligandenaustauschreaktion mit einem sulfatierten Liganden sind die in dieser Arbeit verwendeten Natrium-11-Mercaptoundecanylsulfat (MUDS)-koordinierten Nanopartikel. Diese wurden nach einer aus der Arbeitsgruppe bekannten Methode in einer mehrstufigen Synthese hergestellt.^[165] Zunächst wurde der komplette Ligand aus 11-Bromoundecanol durch Sulfatierung der Alkoholfunktion mittels $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex und anschließender nukleophiler Substitution des Broms mit Kaliumthioacetat, gefolgt von einer basischen Entschützung zum Thiol aufgebaut (Abb. 56 A). Danach wurde der erhaltene Ligand in Abhängigkeit der Löslichkeit der verwendeten Nanopartikel im Ein- oder Zweiphasensystem auf die jeweilige Nanopartikeloberfläche durch Ligandenaustauschreaktion immobilisiert (Abb. 56 B).

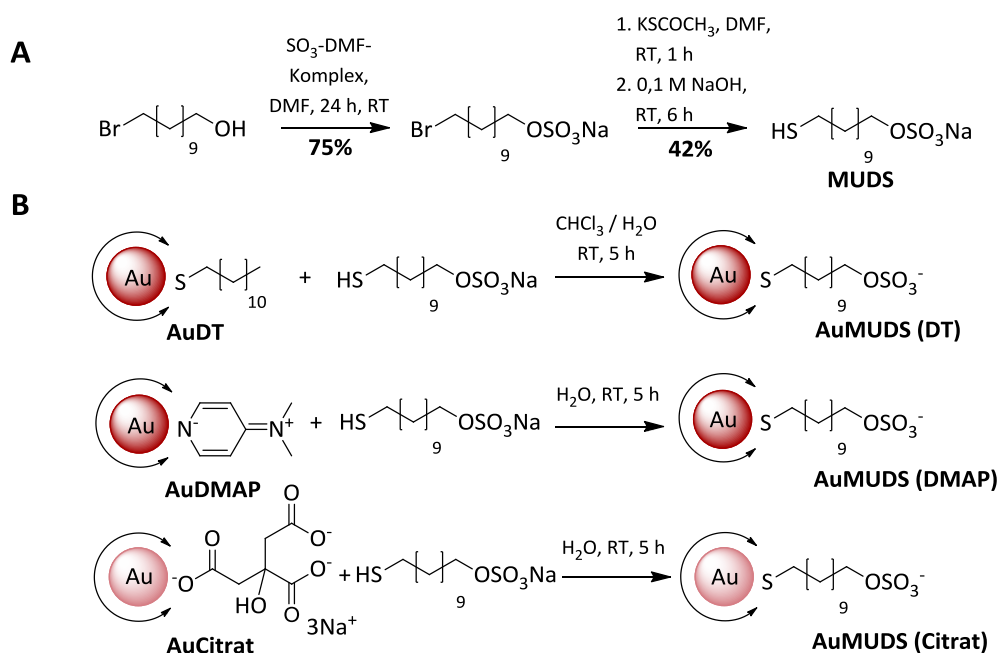


Abb. 56: A: Schematische Darstellung der Synthese von Natrium-11-Mercaptoundecanylsulfat (MUDS) durch eine zweistufige Synthese; B: Darstellung des Reaktionsschemas der Immobilisierung von MUDS auf die Partikeloberfläche durch Ligandenaustausch mit DT-, DMAP- oder Citrat-koordinierten Goldnanopartikeln im Ein- oder Zweiphasensystem.

Nach einigen Stunden fand ein vollständiger Austausch der Liganden statt, welcher bei den DT-koordinierten Goldkolloiden sehr gut durch den vollständigen Phasentransfer und

3 Ergebnisse und Diskussion

den damit verbundenen Farbwechsel der organischen und der wässrigen Phase beobachtet werden konnte. Anschließend wurde die wässrige Kolloidlösung zur Aufreinigung und Abtrennung nicht gebundener Liganden und anderer Additive gegen Millipore-Wasser dialysiert und abschließend auf die gewünschte Konzentration eingeeengt. Vorteile der Dialyse gegenüber dem Fällern in Lösung sind in diesem Fall neben der milden Aufarbeitung und einfachen Anwendung, die Vermeidung einer Agglomeration der Partikel. Allerdings steht der Probe während der Dialyse ein großer Überschuss an Lösungsvolumen gegenüber, was zu einer Änderung der Ionenstärke der Lösung oder der Anzahl der gebundenen Liganden auf der Partikeloberfläche führen kann. Es ist davon auszugehen, dass es infolgedessen zu einer Abnahme der Stabilität der Partikel und somit zu Agglomeration kommen kann, zumal die Trennung sich über einen längeren Zeitraum hinzieht,^[211] weswegen die Kolloidlösung während der Dialyse stetig kontrolliert wurde.

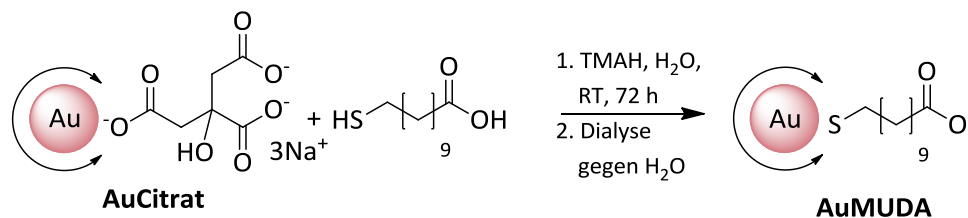


Abb. 57: Schematische Darstellung der Ligandenaustauschreaktion von Citrat-koordinierten Goldnanopartikeln (Partikeldurchmesser 14 nm oder 25 nm) mit 11-Mercaptoundecansäure (MUDA).

Eine weitere Möglichkeit die limitierende Funktionalität der sich auf der Partikeloberfläche befindlichen Liganden zu verändern, besteht im Ligandenaustausch mit heterobifunktionellen Liganden, wie z.B. den bereits angesprochenen Mercaptocarbonsäuren. Im Unterschied zur Variante der Immobilisierung auf die Partikeloberfläche während der Synthese, können durch Ligandenaustauschreaktionen Mercaptocarbonsäure-koordinierte Partikel erhalten werden, die die Partikelgröße und Dispersität der ursprünglich synthetisierten Partikel beibehalten. So ist z.B. die Darstellung von MUDA-koordinierten Goldnanopartikeln mit einem Durchmesser von 14 nm oder 25 nm möglich (Abb. 57). Die Überprüfung der Ligandenaustauschreaktionen wurde im Anschluss mit den bereits bei der Nanopartikelsynthese vorgestellten Charakterisierungsmethoden durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass weder der Ligandenaustausch selbst noch der anschließende Reinigungsschritt per Dialyse einen Einfluss auf die MUDA-koordinierten Goldnanopartikel und deren Agglomerationsgrad besaßen (siehe Anhang Abb. 10). Hingegen zeigten die

3 Ergebnisse und Diskussion

Absorptionsspektren nach dem Ligandenaustausch mit MUDS eine leichte Verbreiterung der Absorptionsbanden (Abb. 58). Eine signifikante Änderung des Agglomerationsgrades konnte aber durch TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen nicht nachgewiesen werden. Auch verschiebt sich die Lage des Absorptionsmaximums nach dem Ligandenaustausch, wie auch bei den Absorptionsspektren der Ausgangskolloide, mit steigendem Partikeldurchmesser zu längeren Wellenlängen. Aufgrund der ähnlich verlaufenden Funktionalisierungen und der größeren Dispersität im Vergleich zu den annähernd gleich großen DT-kooordinierten Goldnanopartikeln, wurde auf weitere Umfunktionalisierungen der DMAP-kooordinierten Goldkolloide in dieser Arbeit verzichtet. Es sei aber darauf hingewiesen, dass für zukünftige Arbeiten DMAP-kooordinierte Goldkolloide einen vielversprechenden Ansatzpunkt für die Immobilisierung von Liganden mit schwächeren Bindungsaffinitäten darstellen. So sollten sie z.B. für Umfunktionalisierungen mit kurzkettigen Thiolliganden (MPA, MHA usw.) gut geeignet sein.

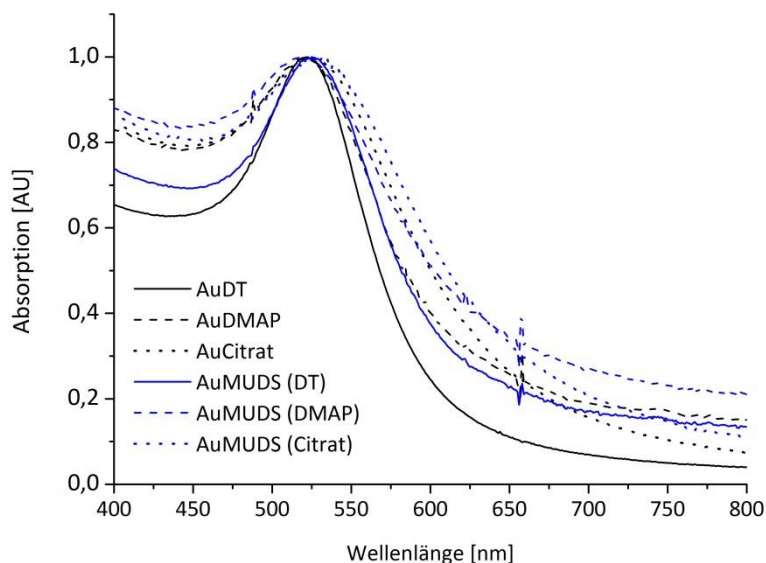


Abb. 58: Normierte UV/Vis-Absorptionsspektren vor (schwarz) und nach (grau) dem Austausch mit MUDS.

Für biologische Anwendungen sind aber AuMUDA wegen ihrer Carboxylat-Funktion und der geringen Aggregationsstabilität bei pH-Werten < 9 ungeeignet. Deswegen wurden die unterschiedlich großen sulfatierten AuMUDS als Kontrolle in einigen in dieser Arbeit vorgestellten Untersuchungen zur Biokompatibilität eingesetzt.

3.2.2 Darstellung NHS-Aktivester koordinierter Edelmetallnanopartikel

Für die Immobilisierung der in dieser Arbeit untersuchten potenziell biologisch-aktiven Epitope auf die Partikeloberfläche wurde neben der Mercaptoundecansäure als weiterer heterobifunktionaler Ligand, ein Aktivester, gewählt. Dabei muss der gewählte Aktivester besonders die Biokompatibilität der Nanopartikel für die spätere Anwendung in biologischen Systemen durch seine vermittelnde Grundstabilität entscheidend unterstützen. Unter Berücksichtigung dieses limitierenden Faktors für die Wahl des Aktivesters wurde in dieser Arbeit für die Synthese eines *N*-Hydroxysuccinimidesters, 11-Mercaptoundecansäure als Grundgerüst gewählt,^[212,213] der neben der für die Synthese des Aktivesters notwendigen Carbonsäure-Funktion auch eine freie Thiol-Funktion zur Anbindung auf die Goldoberfläche besitzt. Obwohl mit mehrzähligen Thiolinkern funktionalisierte Goldnanopartikel nahezu resistent gegen Ligandenaustauschreaktionen sind und eine deutlich höhere Stabilität besitzen,^[214] wurde für die vorliegende Arbeit der einzählige Ligand gewählt. Dieser sollte aufgrund seines geringeren Platzbedarfs auf der Partikeloberfläche eine höhere Ligandendichte aufweisen.^[215] Zusätzlich sorgt die lange lineare Alkylkette für eine hohe Stabilität der resultierenden Nanopartikel gegenüber Aggregation und chemischer Zersetzung.

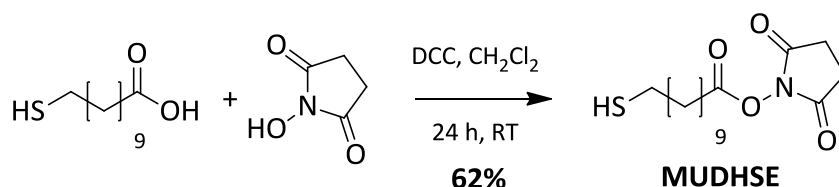


Abb. 59: Reaktionsschema der Darstellung des 11-Mercaptoundecansäure-*N*-hydroxysuccinimidesters (MUDHSE).

Die Synthese des 11-Mercaptoundecansäure-*N*-hydroxysuccinimidesters (MUDHSE) erfolgte durch die sogenannte Carbodiimid-Methode^[216], bei der 1 Äq. MUDA mit 1,1 Äq. *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 1 Äq. *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) in Dichlormethan umgesetzt wurden (Abb. 59). Nach der Zugabe der Edukte wurde die Reaktionslösung für weitere 24 h gerührt. Dabei wurde die Lösung nach ca. 30 min langsam trüb. Nach 24 h wurde die Reaktionslösung filtriert, das Lösungsmittel am

3 Ergebnisse und Diskussion

Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in DMF gelöst. Die Charakterisierung des Aktivesters mit ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren und IR-Spektren zeigen neben den zu erwartenden Signalen für den Aktivester auch Signale des Dicyclohexylharnstoffes, der als Nebenprodukt gebildet wird. Das in der Arbeitsgruppe bekannte Problem des Entstehens des Harnstoffes^[165] kann anhand des Mechanismus der Veresterung erklärt werden (Abb. 21).^[216] DCC und MUDA reagieren zu einem *O*-Acylisoharnstoff. Daran greift im nächsten Schritt das NHS nukleophil an und es bilden sich der äußerst stabile Dicyclohexylharnstoff und der gewünschte Aktivester. Durch einfache Zwischenschritte gelang es in der vorliegenden Arbeit die Nebenprodukte zu entfernen und die Ausbeute zu verbessern. Der Dicyclohexylharnstoff kann durch Lösen des Rohproduktes in Aceton abgetrennt werden, sodass MUDHSE sauber und in guten Ausbeuten erhalten wird (62%).

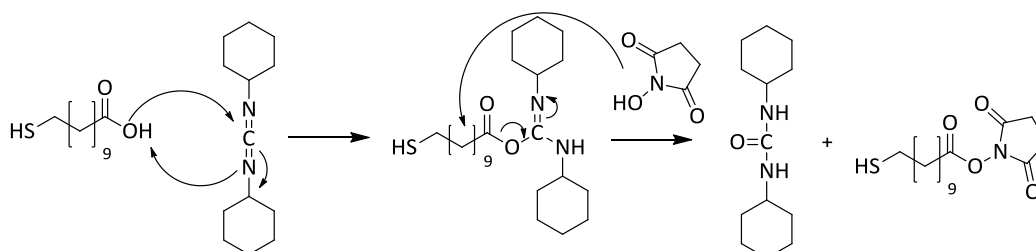


Abb. 60: Mechanismus der Veresterung (nach ^[216])

Nach der Synthese erfolgte die Immobilisierung des Aktivesters auf die Oberfläche der mit DT-kordinierten Goldnanopartikel ($d = 7$ nm) durch Ligandenaustauschreaktion unter Zugabe des neuen Ligands im Überschuss. Zu einer vorgelegten Lösung MUDHSE in wasserfreiem DMF wurden unter starkem Rühren die Dodecanthiol-funktionalisierten Goldnanopartikel, welche in Chloroform dispergiert waren, zugetropft. Kurz nach der Partikelzugabe wurde ein Großteil des Chloroforms mithilfe des Ölpumpenvakuums entfernt, um die Löslichkeit der Nanopartikel in absolutem DMF zu verbessern. Ein vollständiger Ligandenaustausch ist ohne das Entfernen des Chloroforms nicht möglich, da es bei einem Lösungsmittelgemisch aus DMF und Chloroform mit voranschreitender Reaktionszeit zur Ausbildung von Agglomeraten kommt, die durch die Farbänderung der Lösung von rot nach blau sichtbar wird.^[165] Nach einer Reaktionszeit von 24 h wurde die Reaktionslösung abschließend zur Aufreinigung gegen DMF dialysiert. Es wurde eine klare, rote Lösung erhalten. Eine thermogravimetrische Analyse der MUDHSE koordinierten

3 Ergebnisse und Diskussion

Goldnanopartikel zeigte eine Anbindung von 765 Aktivester-Liganden auf der Partikeloberfläche von 7 nm großen Goldpartikeln. Die Differenz zu der Anzahl der Dodecanthiol-Liganden (1550) kann durch den höheren sterischen Anspruch der neuen Liganden erklärt werden (Rechnung zur Ligandenanzahl siehe 6.1.7).

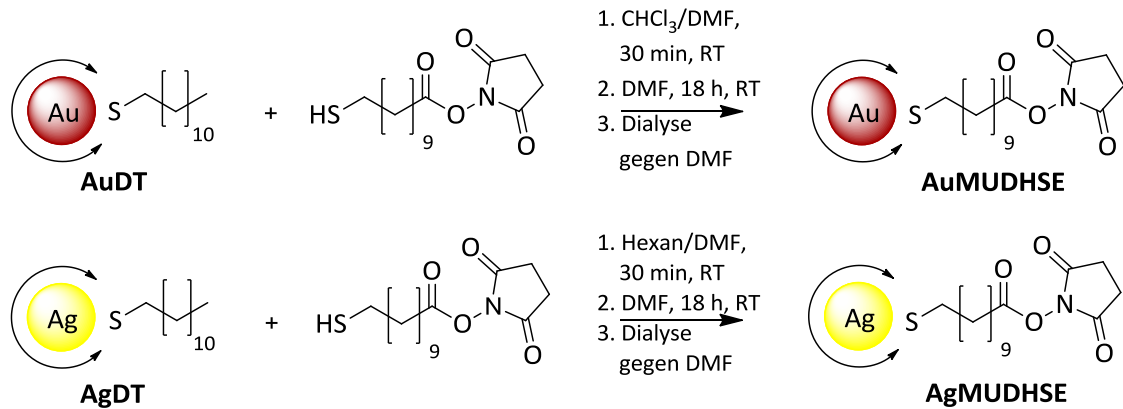


Abb. 61: Schematische Darstellung der Synthese von MUDHSE-funktionalisierten Gold- und Silbernanopartikeln.

Analog zu der Immobilisierung des Aktivesters auf die Goldoberfläche erfolgte der Ligandenaustausch mit den Dodecanthiol-funktionalisierten Silbernanopartikeln. Dazu wurde erneut der Aktivester, gelöst in absolutem DMF, vorgelegt und mit den in Hexan dispergierten Silbernanopartikeln versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur in abs. DMF gerührt. Nach Aufreinigung der Partikellösung durch Dialyse gegen DMF erfolgte die Überführung der Partikel in wasserfreies DMF für anschließende Kupplungsreaktionen.

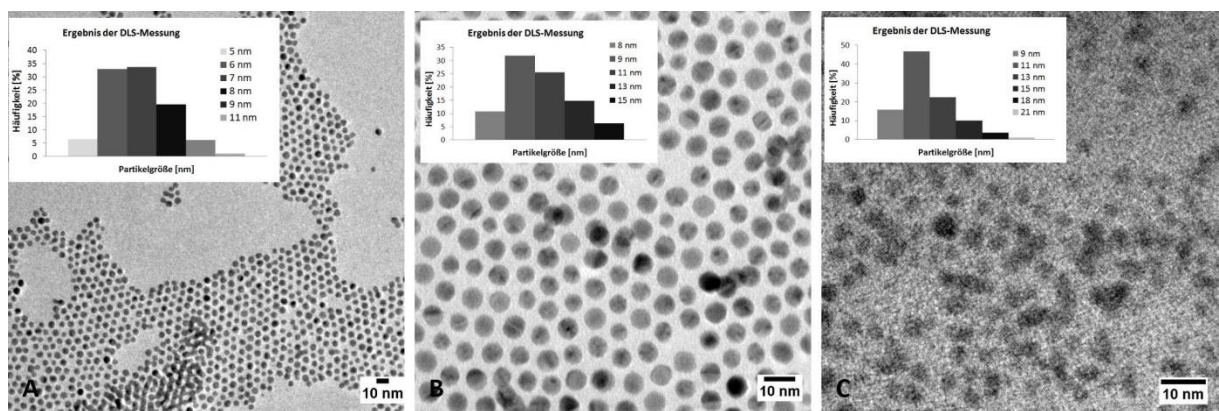


Abb. 62: TEM-Aufnahmen und Ergebnisse der DLS-Messungen von 3,5 nm großen AuMUDHSE (A), 7 nm großen AuMUDHSE (B) und 5 nm großen AgMUDHSE (C).

Die Charakterisierung der Nanopartikel nach dem Ligandenaustausch erfolgte mittels ^1H -NMR- und IR-Spektren, TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen und UV/Vis-Absorptionsspektren. In den NMR- und IR-Spektren sind ausschließlich die für MUDHSE zu erwartenden Signale zusehen, sodass man von einem vollständigen Ligandenaustausch ausgehen kann. Es ist keine Veränderung des Partikeldurchmessers, der Dispersität oder des Agglomerationsgrades nach dem Ligandenaustausch an den Edelmetallnanopartikeln sichtbar.

Die erhaltenen NHS-Aktivester koordinierten Gold- und Silbernanopartikel können als Ausgangssubstanzen für die Immobilisierung verschiedener möglicher Selektin-bindender Liganden genutzt werden. Bei dieser als Reaktion an der Ligandenperipherie bezeichneten Umfunktionalisierung reagiert die Aktivesterfunktion durch Ausbildung einer kovalenten Bindung unter milden Bedingungen mit dem neuen Liganden. Dabei muss darauf geachtet werden, dass die Umsetzung der aus dem Ligandenaustausch erhaltenen Aktivesterfunktionalisierten Nanopartikel schnell im Anschluss an deren Synthese erfolgt, weil es bei längerem Stehen in nicht absolutiertem DMF zu einer Hydrolyse der Aktivesterfunktion zur Carbonsäure kommen kann. Zudem sind diese Kolloide nicht elektrostatisch stabilisiert und somit aggregationsanfällig. Diese Anfälligkeit für Aggregationen erschwert auch die Überführung der Partikel in absolutes DMF nach der Dialyse, welches für spätere Reaktionen notwendig ist.

3.2.3 Ligandenaustauschreaktionen mit Quantum Dots

3.2.3.1 Immobilisierung der Liganden MUDA und MUDS

Neben Ligandenaustauschreaktionen an Edelmetallnanopartikeln wurden auch Experimente zur Immobilisierung neuer Liganden auf CdSe/ZnS- und CdTe/ZnS- QDots des organischen Lösungsmittelansatzes durchgeführt. Die aus der Synthese erhaltenen QDots sind bedingt durch ihre Darstellungsmethoden durch die Oberflächen-aktiven Liganden TOPO, HDA und TOP stabilisiert, die an die Oberfläche der Partikel koordinieren. Die unpolaren Alkyl-Endgruppen dieser Liganden bewirken jedoch, dass die Nanopartikel in dieser Form zunächst nur in organischen und nicht in polaren, wässrigen Medien löslich

3 Ergebnisse und Diskussion

sind. Um die Partikel physiologisch nutzen zu können, müssen die vorhandenen Liganden durch neue, hydrophile Liganden ausgetauscht und in ein wässriges Medium überführt werden.^[217]

Deshalb erfolgte der Austausch mit den bereits bei den Edelmetallnanopartikel verwendeten Liganden MUDA bzw. MUDS an den QDots unter Schutzgasatmosphäre im Zweiphasensystem mit absolutem Chloroform und entgastem Wasser. Dazu wurden die in organischen Lösungsmitteln dispergierten QDots mit MUDA bzw. MUDS versetzt und ca. 2 h gerührt, bis der Phasentransfer vollständig erfolgte. Zur Aufreinigung wurden die Partikel gefällt, zentrifugiert und gewaschen. Abschließend wurde das restliche Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt und die QDots in entgastem Wasser aufgenommen und unter Schutzgasatmosphäre aufbewahrt.

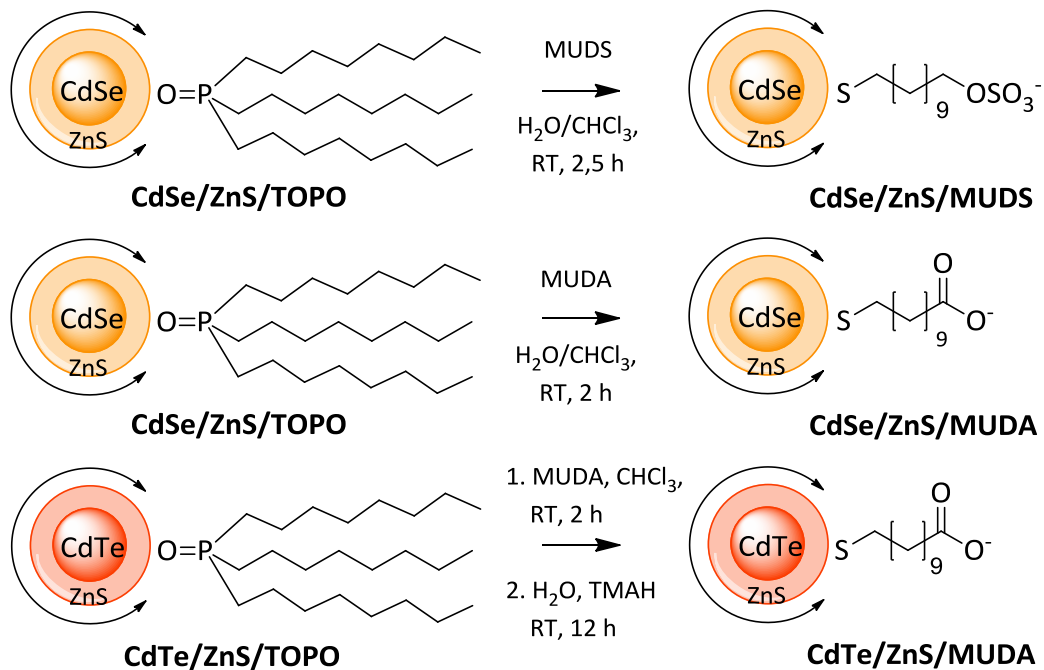


Abb. 63.: Schematische Darstellung der Synthese von MUDS- oder MUDA-koodinierten CdSe/ZnS- und CdTe/ZnS-QDots durch Ligandenaustauschreaktionen.

Zwar waren die QDots in Wasser löslich, doch ob der Ligandenaustausch mit MUDA und MUDS vollständig erfolgte konnte nicht mit Sicherheit bestimmt werden, da im Protonenspektrum der modifizierten Partikel nach dem Ligandenaustausch neben den Signalen für MUDA und MUDS auch TOPO Signale identifiziert werden konnten. Es ist

3 Ergebnisse und Diskussion

deshalb nicht auszuschließen, dass der Ligandenaustausch unvollständig verlaufen und TOPO noch partiell gebunden war.

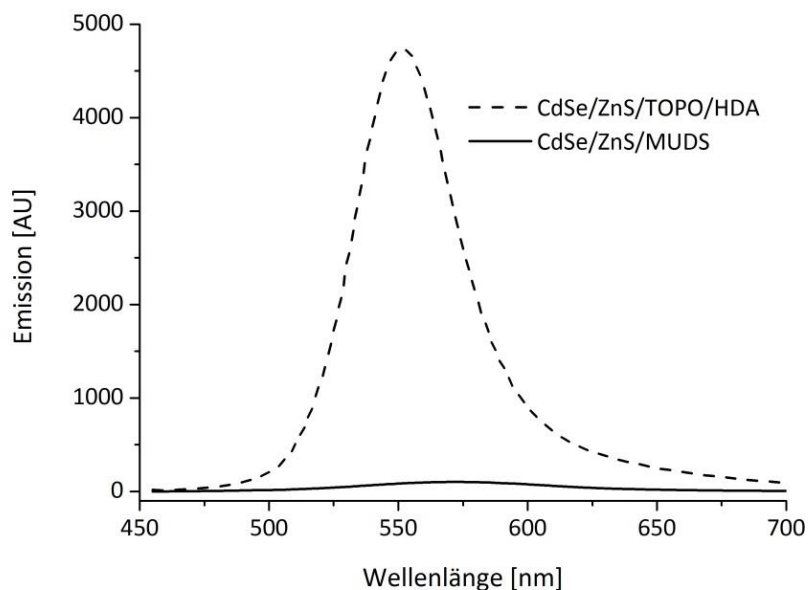


Abb. 64: Emissionsspektren der CdSe/ZnS-QDs vor (gestrichelte Linie) und nach (durchgezogene Linie) dem Ligandenaustausch mit MUDDS.

Auffallend war bei allen Proben nach dem Ligandenaustausch eine starke Abnahme der Fluoreszenz nach der Aufarbeitung der QDs (Abb. 64). Außerdem konnte festgestellt werden, dass größere rot lumineszierende Partikel nicht für Ligandenaustauschreaktionen geeignet waren, da durch Agglomeration die Lumineszenz stets komplett verloren ging. Die Abnahme bis hin zum kompletten Verlust der Fluoreszenz der CdSe-QDs nach Austauschreaktionen gegen Thiol-Liganden ist ein literaturbekanntes Problem und wird unter anderem durch die Position des Valenzbandes relativ zum Redox-Niveaus der Thiol-Moleküle begründet.^[218] Die mit dem Ligandenaustausch einhergehende Agglomeration der Partikel kann durch eine geringere Stabilität im wässrigen Medium erklärt werden.^[219] Sowohl die Atome der Partikeloberfläche als auch die Thiolgruppen der Liganden können in Wasser oxidiert werden, was eine Desorption der Liganden und somit eine Agglomeration der Partikel zur Folge hat.^[220]

3.2.3.2 Immobilisierung des Aktivesters MUDHSE auf die Quantum Dots

Der Ligandenaustausch gegen den Aktivester MUDHSE mit TOPO/HDA-funktionalisierten Quantum Dots erfolgte hingegen im Einphasensystem in absolutem Toluol. Die Triebkraft des Austausches ist hierbei ähnlich wie bei den Gold- und Silbernanopartikeln die im Vergleich zur Phosphin-Gruppe höhere Affinität der Thiole zur Cd-Oberfläche, sodass ein vollständiger Austausch der Liganden möglich sein sollte.^[221]

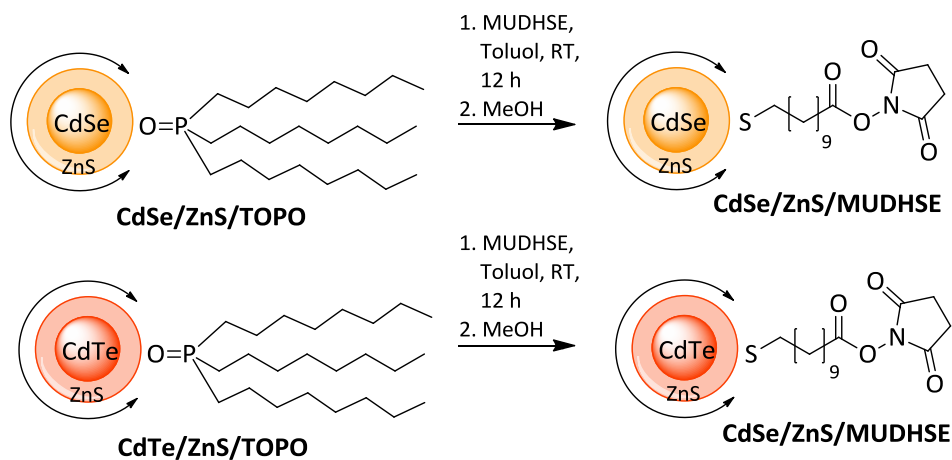


Abb. 65: Schematische Darstellung der Synthese von MUDHSE-koordinierten CdSe/ZnS- und CdTe/ZnS-Quantum Dots durch Ligandenaustauschreaktion

Dazu wurden die in Toluol gelösten QDots unter Schutzgasatmosphäre vorgelegt und mit MUDHSE im Überschuss versetzt. Im Unterschied zur Immobilisierung von MUDHSE-auf Edelmetallnanopartikeln ist die Aufreinigung durch Dialyse wegen der Empfindlichkeit der Partikel gegenüber Sauerstoff in diesem Fall nicht möglich, weswegen nach einer Reaktionszeit von 12 h die Partikel zur Aufreinigung mit absolutem Methanol gefällt wurden. TEM-Aufnahmen der erhaltenen MUDHSE-funktionalisierten CdSe/ZnS-QDots (Abb. 66) zeigen sphärische Partikel mit einem durchschnittlichen Partikeldurchmesser von 6 nm. Dies wird durch das aus den UV / Vis-Spektren erhaltene Absorptionsmaximum bei $\lambda_{\text{max}} = 592 \text{ nm}$ bestätigt. Von den MUDHSE funktionalisierten CdTe/ZnS-Partikeln konnte keine auswertbaren TEM-Aufnahmen erhalten werden, weshalb sie hier nicht aufgeführt werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

Die Charakterisierung der Ligandenhülle zeigte, dass analog zur Umfunktionalisierung mit MUDA und MUDS ein vollständiger Ligandenaustausch mit dem NHS-Aktivester auf der Partikeloberfläche der im organischen Lösungsmittel suspendierten QDots nicht realisiert werden konnte. Dies wird an TOPO-Signalen in den NMR-Spektren deutlich. In zukünftigen Arbeiten müssen deshalb weitere Untersuchungen zu den Reaktionsbedingungen für einen vollständigen Ligandenaustausch mit dem Aktivester durchgeführt werden.

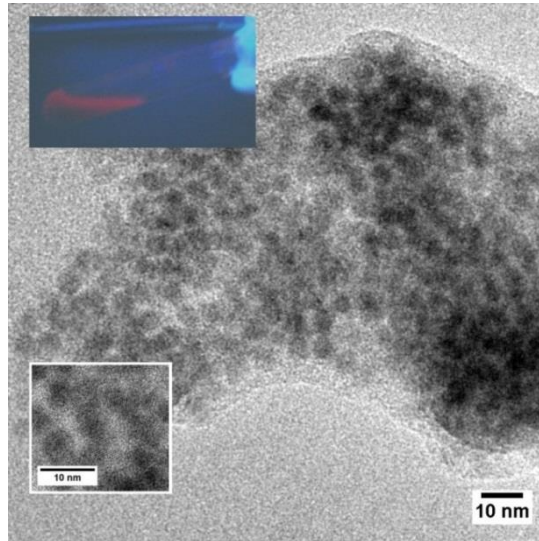


Abb. 66: TEM-Aufnahme der MUDHSE-funktionalisierten CdSe/ZnS-QDots. Das eingefügte Foto zeigt die QDots-Lösung unter UV-Licht ($\lambda = 366 \text{ nm}$).

3.2.4 Darstellung von Thiosulfonsäure-koordinierten Nanopartikeln

Für die Untersuchungen zur Biokompatibilität sollen neben MUDS-koordinierte Nanopartikel weitere einfache Strukturen als Kontrollen verwendet werden, weswegen im Rahmen der vorliegenden Arbeit erste Versuche zur Immobilisierung von Thiosulfonsäuren auf unterschiedliche Nanopartikel durchgeführt wurden. Thiosulfonsäuren sind im Unterschied auch bei niedrigeren pH-Werten stabil und stellen deshalb weitere interessante Liganden für Austauschreaktionen dar. Analog zur Darstellung von AuMUDS erfolgte die Immobilisierung der Thiosulfonsäure Natrium-3-Mercaptopropansulfonat (MPSA) durch Ligandenaustausch mit AuDT im Zweiphasensystem (Abb. 67). In Anhang Abb. 10 ist das Absorptionsspektrum der MPSA-koordinierten Goldkolloide gezeigt. Bedingt durch den Ligandenaustausch nimmt die Breite der Absorptionsbande ebenfalls leicht zu. Durch die bereits mit MUDS und MUDA

3 Ergebnisse und Diskussion

erhaltenen Ergebnisse zum Ligandenaustausch mit QDots konnte eine vollständige Immobilisierung mit der beschriebenen Methode nicht sichergestellt werden, weswegen zur Immobilisierung von MPSA auf CdTe-QDots die in Kapitel 3.1.2.2 vorgestellte mikrowellenunterstützte Synthese verwendet wurde. Dazu wurde MPSA anstelle einer Mercaptocarbonsäure während der Synthese der wässrigen QDots zugesetzt (analoge Durchführung der beschriebenen Synthese in Abb. 47). Auf diesen Syntheseweg konnten 3 nm große QDots erhalten werden, die ein Absorptionsmaximum bei 545 nm besitzen und somit unter der UV-Lampe orange fluoreszieren (siehe 6.2.6.5.2).

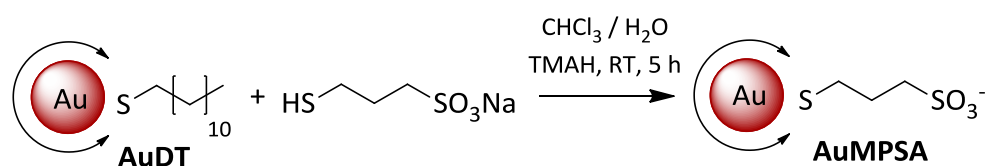


Abb. 67: Schematische Darstellung der Synthese von Natrium-3-Mercaptopropansulfonat-funktionalisierten Goldnanopartikel durch Ligandenaustauschreaktion mit AuDT im Zweiphasensystem.

3.2.5 Ligandenaustauschreaktionen an magnetischen Eisenoxidnanopartikeln

Für eine weitere Verwendung mussten auch die aus der Synthese erhaltenen Oleylamin / OA bzw. OA / TOPO-kordinierten, magnetischen Eisenoxidnanopartikel durch Liganden-austauschreaktion wasserlöslich, biokompatibel und funktionalisierbar gemacht werden. In der Literatur sind dazu unterschiedliche Methoden unter Verwendung verschiedener monomerer Liganden, wie z.B. Dimercaptobernsteinsäure, Dopamin oder Proteinen, bekannt.^[222,223,224] Dabei ist die Oberflächenmodifizierung mit Dimercaptobernsteinsäure (DMSA) für diese Arbeit von besonderem Interesse. DMSA kann über die Carboxylatgruppen an der Partikeloberfläche binden, während die zwei Thiolgruppen oxidiert werden und zur Ausbildung intermolekularer Disulfide führen können. Dadurch werden die Partikelkerne durch eine käfigartige Struktur der Liganden stabilisiert. Ein weiterer Vorteil des DMSA ist, dass die zweite Carboxylatgruppe Solvent exponiert vorliegt und für Kupplungsreaktionen verwendet werden kann.^[224,225] Aufbauend auf literaturbekannten Synthesevorschriften von *Mejías et al.*^[226] und *Kim et al.*^[227] wurde in der vorliegenden Arbeit der Ligandenaustausch auf den Eisenoxidnanopartikeln mit DMSA durch Umsetzung in DMSO / Toluol durchgeführt.

3 Ergebnisse und Diskussion

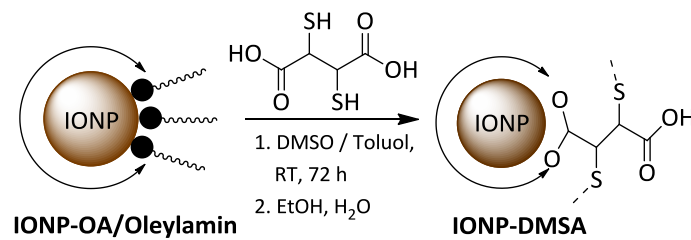


Abb. 68: Schematische Darstellung des Ligandenaustausches mit DMSA. Gestrichelte Linien geben die intermolekularen Disulfidbindungen an, die die Liganden den Kern wie einen Käfig umschließen lassen.

Dazu wurde im ersten Schritt die OA / Oleylamin bzw. OA / TOPO funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel in Toluol gelöst und dann mit einer 0,2 M DMSA-Lösung in DMSO versetzt (Abb. 68). Die Reaktionslösung wurde 72 h bei RT gerührt, bevor sie mit Ethanol gefällt und gewaschen wurde. Die erhaltenen DMSA-funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel wurden in Millipore-Wasser aufgenommen, diese können aber auch als Feststoff isoliert werden. Eine weitere Möglichkeit hydrophobe Eisenoxidnanopartikel ins wässrige Medium zu überführen, besteht durch Ligandenaustausch mit Polymeren.^[228] Dazu wurden als neue Liganden die Polymere Polyethylenimin (PEI) und Polyacrylsäure (PAA) gewählt. Diese wurden in DMSO gelöst, zur Eisenoxidnanopartikel-Lösung gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt (Abb. 69). Zur Aufreinigung wurden die Partikel gefällt und anschließend in Millipore-Wasser aufgenommen.

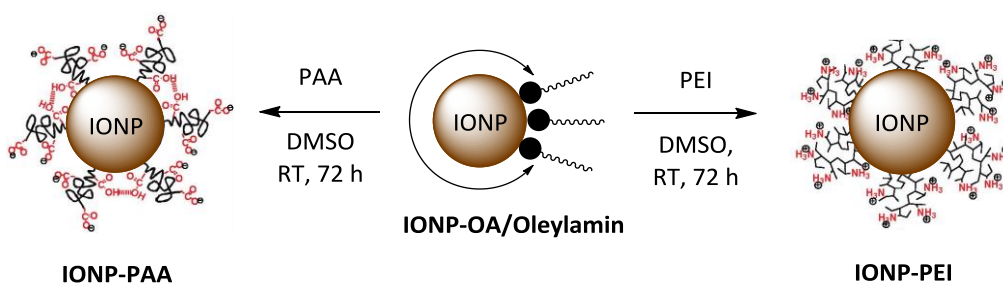


Abb. 69: Schematische Darstellung des Ligandenaustausches der Eisenoxidnanopartikel mit Polymeren (nach ^[228]).

Obwohl der vollständige Ligandenaustausch mit den Polymeren und DMSA anhand der Löslichkeit in Wasser sichtbar war, wurde die Ligandenhülle anhand IR-Spektroskopie überprüft.

3 Ergebnisse und Diskussion

Eine Charakterisierung mit NMR-Spektroskopie war aufgrund der magnetischen Eigenschaften der Eisenoxidnanopartikel nicht möglich. In Abb. 70 sind die IR-Spektren vor (blau) und nach (schwarz) dem Ligandenaustausch gezeigt. Das IR-Spektrum der aus der Synthese erhaltenen hydrophoben Nanopartikel weist neben den typischen Alkylgruppenschwingungen der Ölsäure und des Oleylamins bei ca. 2900 cm^{-1} eine intensivere Bande bei 1421 cm^{-1} auf. Sie ist der Carboxylgruppe der Ölsäure zuzuordnen. Nach dem Ligandenaustausch gleicht das Spektrum dem des reinen DMSA. Es ist daher davon auszugehen, dass der Ligandenaustausch nahezu quantitativ verlaufen ist. So können die bei 1590 cm^{-1} und 1380 cm^{-1} auftauchenden Banden im IR-Spektrum der DMSA-kooordinierten Partikel der asymmetrischen und symmetrischen C=O Valenzschwingung der Carboxylgruppe zugeordnet werden und bestätigen den Ligandenaustausch. Anhand von TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen konnte kein Einfluss des Ligandenaustauschs auf die Partikel festgestellt werden.

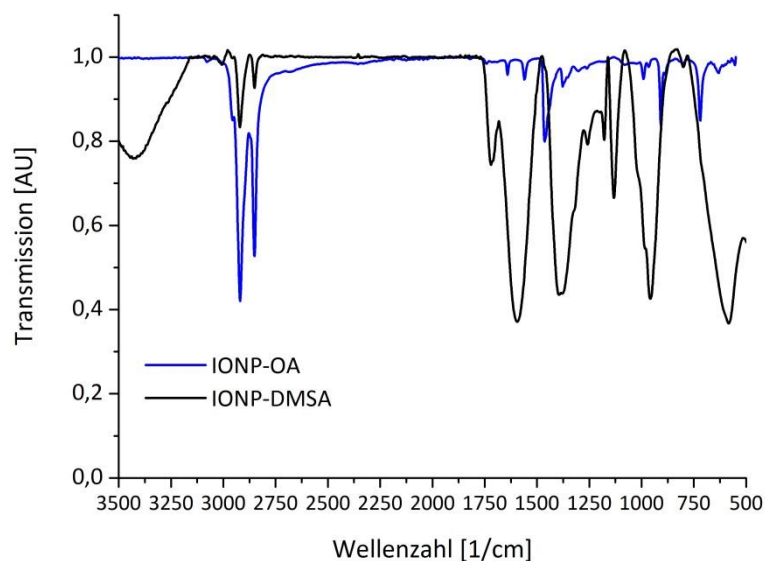


Abb. 70: IR-Spektren der Eisenoxidnanopartikel vor (blau) und nach (schwarz) dem Ligandenaustausch mit DMSA.

3.2.6 Fazit

Kurz zusammengefasst, wurden in diesem Kapitel erste Umfunktionalisierungen auf der Partikeloberfläche der aus dem ersten Teil der Arbeit erhaltenen Nanopartikel durchgeführt. So können durch Ligandenaustauschreaktion nach der Synthese eine Vielzahl von neuen Liganden auf der Partikeloberfläche immobilisiert werden, die wegen der Synthesebedingungen sonst nicht multivalent präsentiert werden könnten. Für die Goldnanopartikel wurden einfache sulfatierte, sulfonierte und heterobifunktionelle Liganden vorgestellt. Diese wurden in den weiteren Projekten als Ausgangssubstanzen für Reaktionen an der Ligandenperipherie bzw. als Kontrollsubstanzen in den Bio-kompatibilitätstests verwendet. Bei dem Ligandenaustausch mit den QDots aus dem organischen Lösungsmittelansatz konnte anhand der NMR-Spektren kein vollständiger Ligandenaustausch nachgewiesen werden. Deshalb wurden alle Kupplungsreaktionen in den weiteren Projekten mit QDots aus dem wässrigen Ansatz durchgeführt. Zusätzlich wurden Umfunktionalisierungen der Eisenoxidnanopartikel mit DMSA und zwei Polymeren vorgestellt, um diese ins wässrige Medium zu überführen. In den folgenden Kapiteln werden unterschiedliche bioaktive Liganden und deren Immobilisierung auf die unterschiedlichen Partikel vorgestellt.

Die durch die Umfunktionalisierung erhaltenen MUDA-kordinierten Goldkolloide ergänzen die aus der Synthese erhaltenen Mercaptocarbonsäure-funktionalisierten Partikel (siehe Abschnitt 3.1.1.1 und Abb. 25), um weitere Partikelgrößen. Diese wurden bei diversen Kupplungsreaktionen zur multivalenten Präsentation verschiedener Epitope eingesetzt. AuMUDA und AuMUDS zeigen beide wegen ihrer terminalen Carboxylat- bzw. Sulfat-Funktion selektinbindende Eigenschaften.^[165]

3.3 Multivalente Präsentation von MUC1-Glycopeptid-Vakzinen auf Goldnanopartikeln

In diesem Kapitel werden Glycopeptid-koordinierte Goldnanopartikel behandelt, die als mögliche tumorassoziierte Antigen-Analoga zur Entwicklung von Krebsvakzinen bzw. als selektive Tumormarker dienen könnten. Im Rahmen eines Kooperationsprojektes wurden von *Sebastian Hartmann* vom Institut für Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz verschiedene Mucin-ähnliche Glycopeptide synthetisiert^[229] und erste Untersuchungen zur Immobilisierung dieser Glycopeptide auf Goldnanopartikeln in einer vorangegangenen Arbeit durchgeführt.^[230] Im Zuge der vorliegenden Arbeit lag das Augenmerk auf der Durchführung immunologischer Tests und der Entwicklung neuer Nachweismethoden für die Biokompatibilität der erhaltenen Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate. Dieses Kapitel ist deshalb wie folgt gegliedert: Zuerst wird eine kurze Einleitung in das Thema der tumorassoziierten Kohlenhydrat-Antigen-Analoga gegeben. Daran schließt sich die Synthese der Glykopeptide, die Immobilisierung dieser synthetisierten Glykopeptide auf Goldnanopartikel und deren Charakterisierung an. Abschließend werden die Ergebnisse der einzelnen immunologischen Tests genauer vorgestellt.

3.3.1 Multivalente Präsentation von synthetischen Vakzinen für die Verwendung in der aktiven Immunotherapie

Die aktive Immuntherapie mithilfe spezifischer Tumorstoffe, die auf den unterschiedlichen Glykosylierungsmustern von gesunden und malignen Zellen beruhen, ist eine vielversprechende Alternative zu den konventionellen Behandlungsmethoden.^[148,231] Die Verwendung von synthetischen Vakzinen würde dabei das Immunsystem nicht nur für den spezifischen Angriff maligner Zellen aktivieren, sondern auch eine vielversprechende Möglichkeit eröffnen, um primäre und sekundäre Metastasen anzugreifen.^[232] Zusätzlich ist eine Art immunologisches Langzeitgedächtnis gegen die Bildung neuer Krebserkrankungen möglich.^[232] Zur Aktivierung des Immunsystems gegen Tumorzellen wäre eine Vakzinierung mit entsprechenden Antigenen, die für Tumorzellen spezifisch sind

3 Ergebnisse und Diskussion

(tumorassoziierte Antigene, kurz: TACA), nötig.^[233,234] Zur gezielten Unterscheidung von Krebszellen und gesunden Zellen lassen sich deshalb geeignete an der Zelloberfläche exprimierte Glycoproteine heranziehen, deren Glykosylierungsmuster bei malignen Zellen erkennbar verändert sind. Die im einleitenden Kapitel vorgestellten Mucine (siehe Kapitel 2.6.3) sind prominente Beispiele für eine derartige Erkennungsstruktur.^[152,235] Obwohl einige mucinartige Glycoproteine, die mit unterschiedlichen TACA Seitenketten bestückt sind, erfolgreich als Vakzin-Prototypen in den letzten Jahren entwickelt wurden,^[236] besitzen sie den Nachteil, dass ihr gezielter Angriff oftmals durch eine begrenzte metabolische Stabilität, eine schlechte Immunogenität und immunsuppressive Mechanismen verhindert wird.^[237] Für den erfolgreichen Einsatz dieser Strukturen in einem Tumorimpfstoff muss daher eine zusätzliche Anbindung des MUC1-Fragments an ein stark immunogenes Transportprotein oder eine entsprechende Peptidsequenz daraus erfolgen.^[153,238] Zusätzlich wäre ein weiterer vielversprechender Ansatz durch die multivalente Präsentation der einzelnen Glycopeptidsequenzen auf einem geeigneten Trägermaterial wie z.B. Peptidtemplaten,^[239] Dendrimeren,^[240] Liposomen^[241] oder bioaktiven Nanopartikeln die humorale Immunantwort zu verstärken. Dabei zeigen erste erfolgreiche Studien das große Potenzial MUC1-Glycopeptid-funktionalisierter Nanopartikel in der Präsentation von Tumor-impfstoffen.^[242] So gelang *Nuhn et. al.* kürzlich die Synthese nanoskaliger, auf Polymeren basierender Glycopeptid-Vakzine, die eine signifikante Immunantwort in Mäusen hervorrufen können.^[243] Wegen ihrer einfachen Synthese, dem Mangel an Immunogenität, ihrer hohen Stabilität und niedrigen Toxizität sowie dem bemerkenswert hohen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis, eignen sich auch Goldnanopartikel als Trägermaterialien für die multivalente Präsentation von Vakzinen.^[244] Deswegen wurden sie in diesem Projekt als Trägermaterial für die multivalente Präsentation der neu-synthetisierten MUC1-Glycopeptid Antigene gewählt.

3.3.2 Synthese und Immobilisierung der Glycopeptide

Die für die Synthese der Glycopeptide benötigten Bausteine wie Abstandhalter (Spacer)^[240,245] und T_N-Antigen^[246] wurden ausgehend von literaturbekannten mehrstufigen Synthesen von *Sebastian Hartmann* einzeln hergestellt und dann über die Festphasenpeptidsynthese (SPPS) zum Glycopeptid komplettiert.^[247,248] Dabei sollte neben

3 Ergebnisse und Diskussion

der späteren einfachen Möglichkeit über Amidbindungsknüpfung anhand der primären Aminofunktion des Spacers die Glycopeptide auf der Partikeloberfläche zu immobilisieren, der gewählte Spacer ebenfalls für die Flexibilität und einen ausreichenden Abstand zwischen Nanopartikel und dem Glycopeptid garantieren.

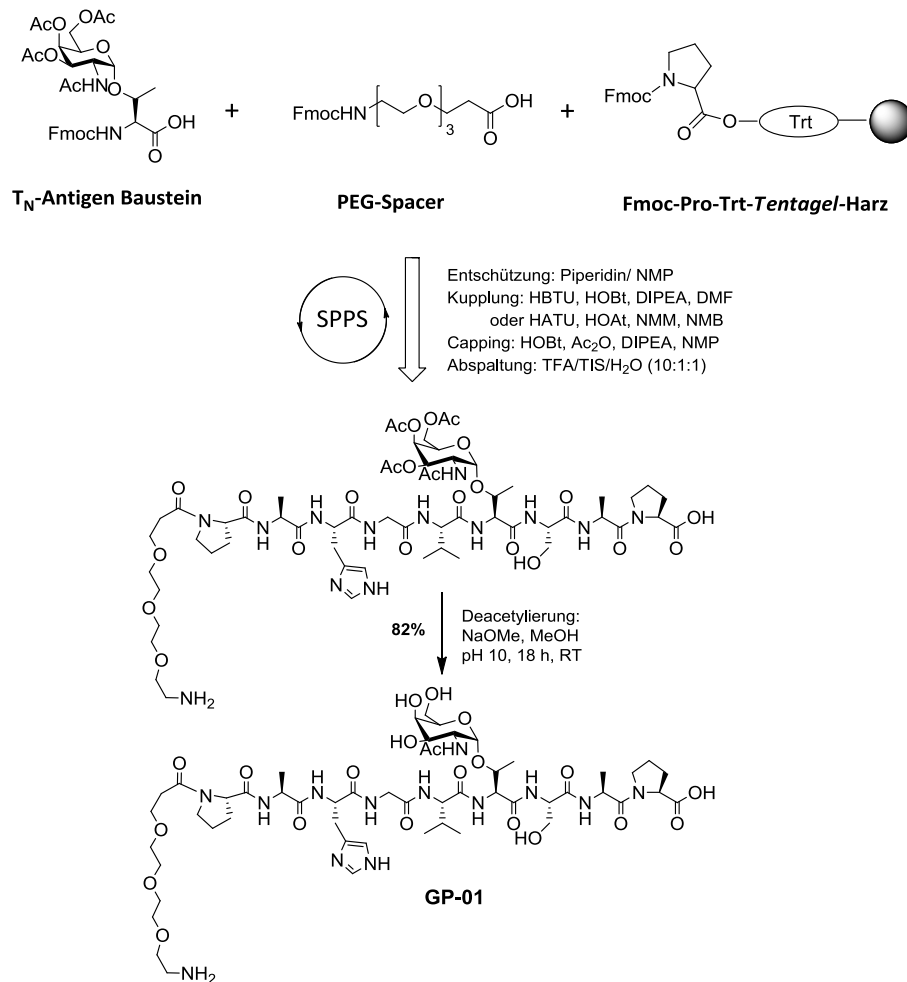


Abb. 71: Schematische Darstellung der Glycopeptide durch Festphasenpeptidsynthese. (in Anlehnung an ^[248]); NMP = *N*-Methyl-2-pyrrolidon, HBTU = 2-(1*H*-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol, DIPEA = *N,N*-Diisopropylethylamin, HATU = *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, HOAT = 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol, NMM = *N*-Methylmorpholin, TIS = Triisopropylsilan.

Für die nach der Fmoc-Strategie erfolgende Festphasenpeptidsynthese diente als feste Phase ein über einen säurelabilen Trityl-Linker mit der Startaminoäure Fmoc-L-Prolin beladenes Tentagel-Harz. Um störende Wechselwirkungen zwischen den wachsenden Peptidsträngen zu vermeiden, wurden für die Synthese niedrig beladene Harze (0,22-0,24 nmol/g) verwendet und alle nicht an der Kupplung beteiligten funktionellen Gruppen geschützt. Der Aufbau der Peptidsequenz erfolgte dann in iterativen Schritten, wofür als

3 Ergebnisse und Diskussion

Kupplungsreagenzien für die Anbindung der geschützten Aminosäuren HBTU/HOBt und die Hünigs-Base *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) eingesetzt wurden. Für die Kupplung des sterisch anspruchsvollen T_N-Antigenbausteins wurden hingegen die reaktiveren Kupplungsreagenzien HATU und HOAt in Kombination mit *N*-Methylmorpholin (NMM) angewendet. Die Entfernung der Seitenkettenschutzgruppen sowie die Abspaltung vom Harz nach der Synthese erfolgte in einem Schritt durch Gemisch aus Trifluoressigsäure / Wasser / Triisopropylsilan (10 : 1 : 1). Abschließend erfolgte die Deacetylierung der Glycopeptide nach *Zemplén et al.* mittels Alkalimethanolat-Lösung in absolutem Methanol.^[249]

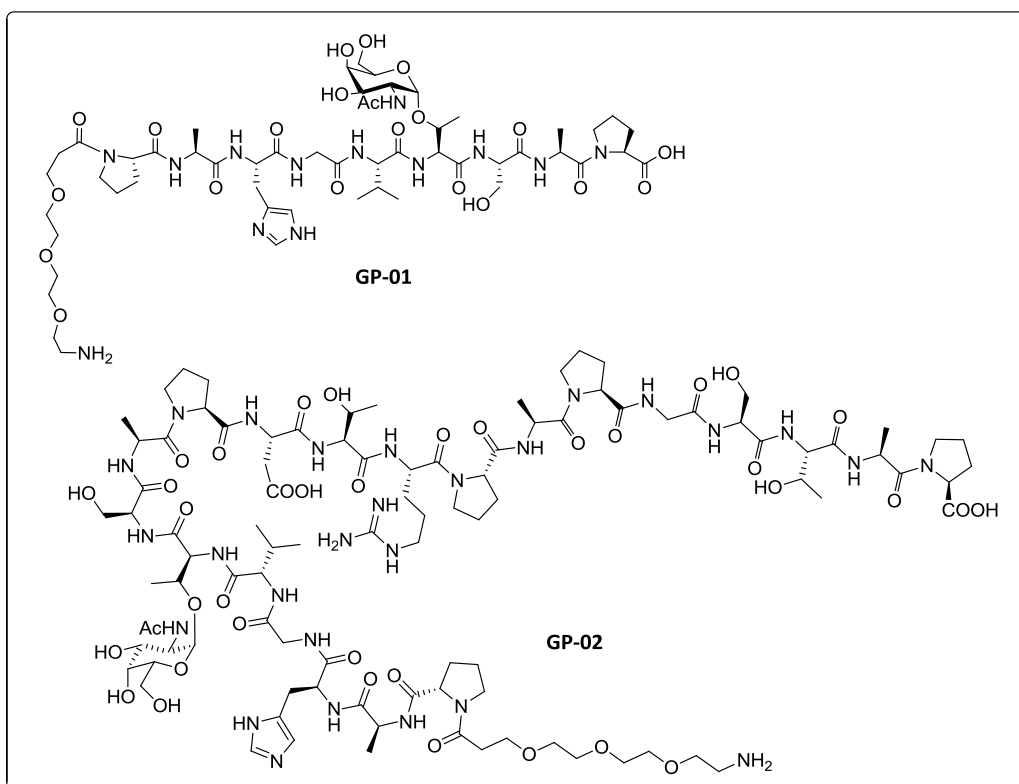


Abb. 72: Strukturen der für dieses Kooperationsprojekt synthetisierten Glycopeptide Amino-4,7,10-trioxadodecanylamido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-α-D-galactopyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolin (GP-01) und Amino-4,7,10-trioxadodecanylamido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-α-D-galactopyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin(GP-02).

Auf diese Weise wurde das in Abb. 72 gezeigten Nonapeptidkonjugat (GP-01) und das Eicosapeptidkonjugat (GP-02) mit enthaltenem T_N-Antigen und PEG-Spacer aufgebaut. Während das kurzkettige Glycopeptid GP-01 als Testsubstanz für die Immobilisierung und später als Negativkontrolle für die immunologischen Tests dienen sollte, handelt es sich bei dem Glycopeptid GP-02 um eine MUC1-Partialstruktur mit vollständiger,

3 Ergebnisse und Diskussion

20 Aminosäuren umfassender T_R-Domäne, die somit eine immunologische Aktivität zeigen sollte.

Die erhaltenen Glycopeptide wurden im nächsten Schritt auf Goldnanopartikel gebunden. Aus den bereits im Kapitel 3.2 genannten Gründen erfolgte die Umsetzung der Glycopeptide mit frisch hergestellten 7 nm großen MUDHSE-funktionalisierten Goldnanopartikeln. Dazu wurde bei Raumtemperatur und unter starkem Rühren das in wasserfreiem DMF gelöste Glycopeptid GP-01 zu den ebenfalls in absolutem DMF gelösten Aktivester-koordinierten Goldkolloiden gegeben und 18 h gerührt. Die primäre Aminfunktion an der Spacereinheit reagierte dabei mit der NHS-Aktivesterfunktion, wodurch es zur Ausbildung einer stabilen Amidbindung zwischen dem Glycopeptid und dem kovalent an die Goldnanopartikel gebundenen Alkylthiol-Linker kam (Abb. 73 Syntheseweg B). Als Lösungsmittel eignet sich absolutes DMF für die Immobilisierung gut, weil sich zum einen die Aktivester-funktionalisierten Goldnanopartikeln gut darin lösen und zum anderen DMF selektiv nur Kationen solvatisiert und dadurch die Nucleophilie des Anions in der nucleophilen Substitution steigert.^[250] Das erhaltene Produkt wurde durch mehrmalige Dialyse gegen DMF und Wasser gereinigt. Die Anbindung des längeren Glycsoeicosapeptids GP-02 an die 7 nm großen Goldnanopartikel erfolgte über eine analoge Strategie. Demgegenüber erforderte die Immobilisierung auf die großen Goldnanopartikel (d = 14 nm) eine abgewandelte Synthesestrategie, für die zunächst ein geeigneter, orthogonal geschützter Thiolinker hergestellt werden musste, der durch Festphasenpeptidsynthese an das Glycopeptid gekuppelt wurde (Abb. 73 Syntheseweg A). Die Umsetzung dieses Glycopeptid-Konjugats mit den Citrat-funktionalisierten Goldnanopartikeln lieferte nach Ligandenaustausch schließlich die gewünschten funktionalisierten-Goldkolloide.

Die Löslichkeit der erhaltenen Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate in wässrigem Medium ist ein erster Hinweis für eine gelungene Anbindung, da sich die Nanopartikel ohne Glycopeptid-Ligand nicht in Wasser lösen würden. Die Wasserlöslichkeit wird dabei vor allem durch den Zuckerrest vermittelt. So konnte in einem Versuch gezeigt werden, dass sich analoge Goldnanopartikel mit einem vollständig geschützten (acetylierten) Glycopeptid nicht in die wässrige Lösung überführen lassen.^[230]

3 Ergebnisse und Diskussion

In beiden Fällen, d. h. sowohl bei den 7 nm großen funktionalisierten Partikeln, als auch bei deren 14 nm großen Vertretern, erfolgte die Charakterisierung direkt im Anschluss an die Synthese durch NMR- und IR-Spektroskopie. Dabei konnte eine generelle Anbindung der Glycopeptide direkt durch den Vergleich der 2D-NMR-Spektren der Glycopeptide mit denen der Glycopeptid-koordinierten Goldnanopartikel anhand charakteristischer NMR-Signale nachgewiesen werden.

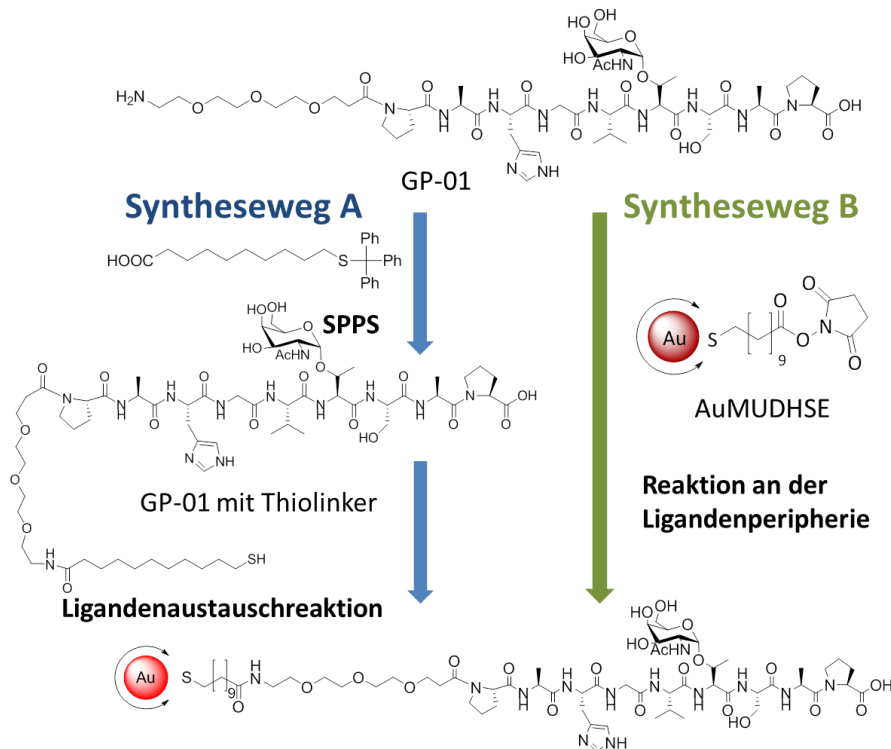


Abb. 73: Schematische Darstellung der Glycopeptid-Immobilisierung auf den unterschiedlich großen Goldnanopartikeln am Beispiel von GP-01.

Im HSQC-Spektrum der GP-01-koordinierten Partikel (Anhang Abb. 11) kann das Quartett bei 3,173 ppm und das Tripletts bei 3,381 ppm aus dem Protonenspektrum einer CH₂-Gruppe bei 38,3 ppm und einer CH₂-Gruppe bei 69,1 ppm im ¹³C-NMR-Spektrum zugeordnet werden. Zudem zeigt das COSY-DQF-Spektrum, dass die Protonen des Tripletts mit den Protonen des Quartetts und das Quartett auch mit der NH-Gruppe koppeln (Anhang Abb. 12). Daraus lässt sich schließen, dass es sich bei den Signalen um die neu gebildete Amidgruppe handeln muss. Da dieses Signal weder in den NMR-Spektren des freien Glycopeptids noch bei NMR-Spektren der Aktivester-funktionalisierten Goldnanopartikel auftreten, wird damit eine erfolgreiche Funktionalisierung bewiesen. IR-

3 Ergebnisse und Diskussion

Messungen können ebenfalls zum Nachweis der an die Nanopartikel gebundenen Glycopeptide beitragen, da Valenzschwingungen der neuen Amidbanden im Bereich um 2300 cm^{-1} und eine Amiddeformationsschwingung bei 1527 cm^{-1} zu erkennen sind (siehe Charakterisierung in 6.2.7.1).

Zusätzlich wurden TEM Aufnahmen, UV/Vis-Absorptionsspektren und DLS-Messungen eingesetzt, um den Einfluss der Anbindung der Glycopeptide auf die Größenverteilung, die Partikelform und den Agglomerationsgrad der Partikel zu ermitteln. Weder die TEM-Aufnahmen, die DLS-Messungen (Abb. 74) noch UV/Vis-Absorptionsspektren (Anhang Abb. 13) zeigen einen Einfluss der Funktionalisierungsschritte auf die Partikeleigenschaften.

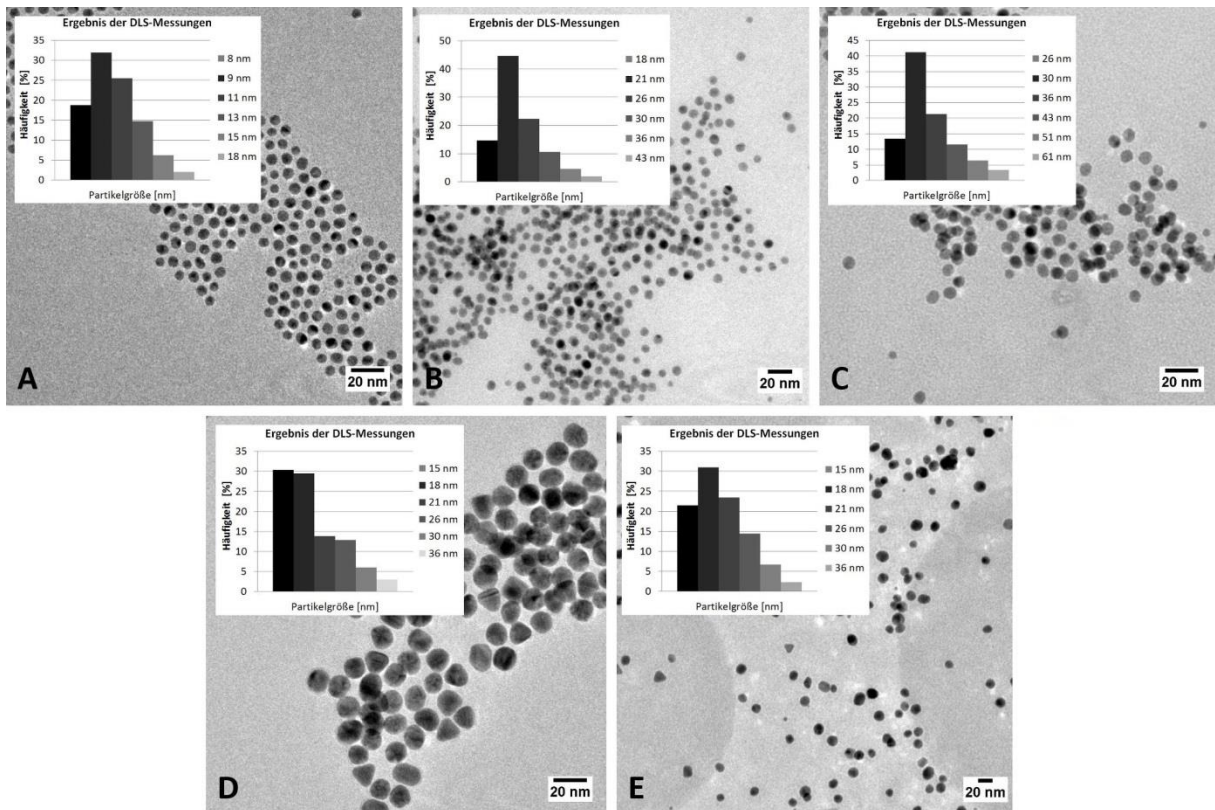


Abb. 74: TEM-Aufnahmen und Ergebnisse der DLS-Messungen von AuMUDHSE (A, $d_h = 10 \pm 3\text{ nm}$) und AuCitrat (D, $d_h = 18 \pm 4\text{ nm}$) vor der Funktionalisierung und AuGP-01 (B, $d_h = 23 \pm 4\text{ nm}$); AuGP-02 (C, $d_h = 34 \pm 7\text{ nm}$); AuGP-03 (E, $d_h = 19 \pm 4\text{ nm}$) nach der Funktionalisierung der Glycopeptide.

3.3.3 Immunologische Testung der Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate

Im Anschluss an die Charakterisierung sollten die hergestellten antigenfunktionalisierten Partikel noch bezüglich ihrer Erkennung durch Serumantikörper, die aus der Immunisierung von Mäusen mit strukturell eng verwandten Vakzinen stammten, untersucht werden. Hierzu wurden standardisierte ELISA-Tests durchgeführt, die allerdings keine brauchbaren Ergebnisse lieferten,^[230] so dass für eine immunologische Bewertung der hergestellten Glyconanopartikel auf alternative Detektionsverfahren zurückgegriffen werden muss. Um erste Aussagen über die mögliche biologische Aktivität der erhaltenen Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate treffen zu können, wurden deshalb im Arbeitskreis von *Prof. Dr. W. Tremel* am Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität von *Timo Schüler* Messungen mit einer Quarz-Kristall-Mikrowaage (QCM-Messungen) durchgeführt. Dabei wurden die GP-02 koordinierten Goldnanopartikel auf mögliche Wechselwirkungen mit spezifischen Antikörpern im Serum getestet.^[251] Für die Detektion der Antigen-Antikörper-Bindung wurde der kommerziell erhältliche anti-MUC1 Antikörper *SM3*^[149,252] gewählt, der durch die peripheren Methionin Bindungsstellen Met18, Met34, Met82 und Met135^[253] an den goldbeschichteten Quarzkristall bindet. Dadurch können diese Methionin Bindungsstellen nicht bei der Antigen-Bindung stören und das Ergebnis verfälschen. Für die QCM-Messungen wurde der *SM3*-Antikörper in die Messkammer mit dem vorbereiteten Kristall gegeben und der Abfall der Resonanzfrequenz beobachtet. Sobald die Oberfläche ihre maximale Belegung erreicht hatte, wurde die *SM3*-Injektion gestoppt und die Messkammer mehrmals mit Waschpuffer gewaschen, um nichtgebundenen Antikörper zu entfernen. Danach wurde die GP02-Goldkolloide zugegeben und abschließend erneut mit Waschpuffer gewaschen (Abb. 75). Dabei zeigte sich, dass nach der Zugabe der potentiellen antigenischen GP-02 koordinierten Goldnanopartikel, eine für QCM-Messungen typische Langmuir-Adsorptionsisotherme erhalten wurde. Die Zugabe der Nanopartikel führt somit zu einer signifikanten Verringerung der Resonanzfrequenz, die eine Anbindung der Glykopeptid-Goldnanopartikel Konjugate an die zuvor immobilisierten *SM3*-Antikörper beweist. An einem bestimmten Punkt, kann keine weitere Gewichtszunahme mehr nachgewiesen werden. Dabei handelt es sich um den Moment an dem die Antigen-Nanopartikel mit alle verfügbaren Antikörper gebunden haben.

3 Ergebnisse und Diskussion

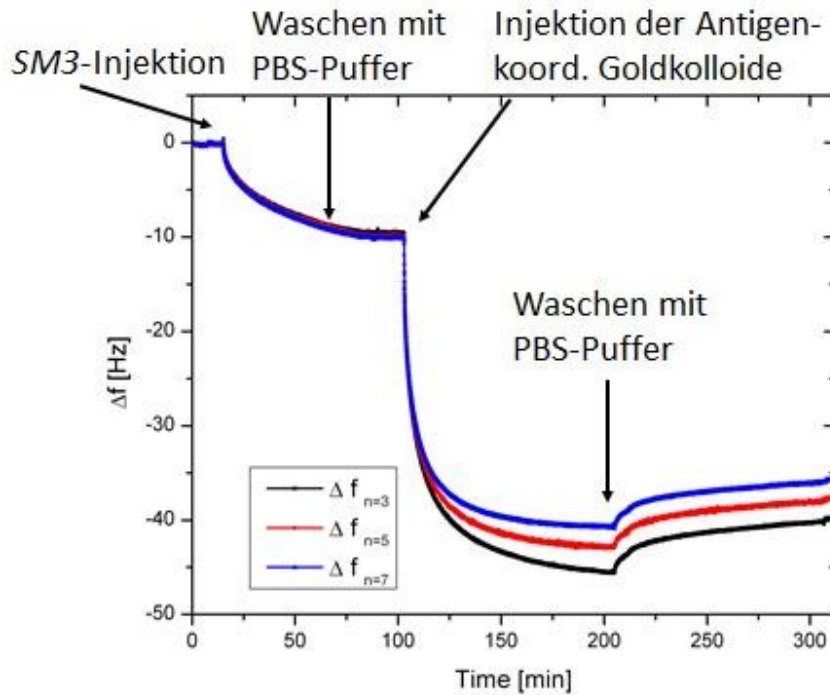


Abb. 75: QCM-Messungen von GPO2-koodinierten Goldnanopartikeln. Der SM3-Antikörper erkennt die immundominante Sequenz von Mucinen und kann dadurch mit den Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugaten wechselwirken.

Die erhaltenen Ergebnisse der QCM-Messungen weisen nur auf eine Bindung der Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate mit dem SM3-Antikörper hin. Um eine Aussage über die Natur dieser Bindung treffen zu können wurde in Zusammenarbeit mit *Laura Sommer* und *Prof. Dr. Martin Rühl* vom Institut für Lebensmittelanalytik und Lebensmittelbiotechnologie der Justus-Liebig Universität Gießen ein neuer Immunoblot (Dot Blot) entwickelt. Bei dem Dot Blot-Verfahren handelt es sich um eine Vereinfachung des aus der Proteinanalytik bekannten Westernblots, bei dem die zu untersuchenden Antigene einzeln auf eine feste Trägermembran (z.B. aus Nitrozellulose, Nylon oder PVDF) transferiert (geblottet) und dadurch für eine mögliche Antikörper-Bindung zur Detektion zugänglich gemacht werden.^[254] In einem zweiten Inkubationsschritt erfolgt eine Inkubation mit einem enzymmarkierten speziesspezifischen Antikörper, dessen Enzym durch eine Substrat-Lösung im abschließenden Schritt zur Farbreaktion gebracht wird.

Mit den neu entwickelten Immunoblot Assay wurden die unverdünnten GP-01 ($c = 0,13 \mu\text{mol} / \text{L}$) oder GP-02 ($c = 0,32 \mu\text{mol} / \text{L}$) koodinierten Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate getestet.

3 Ergebnisse und Diskussion

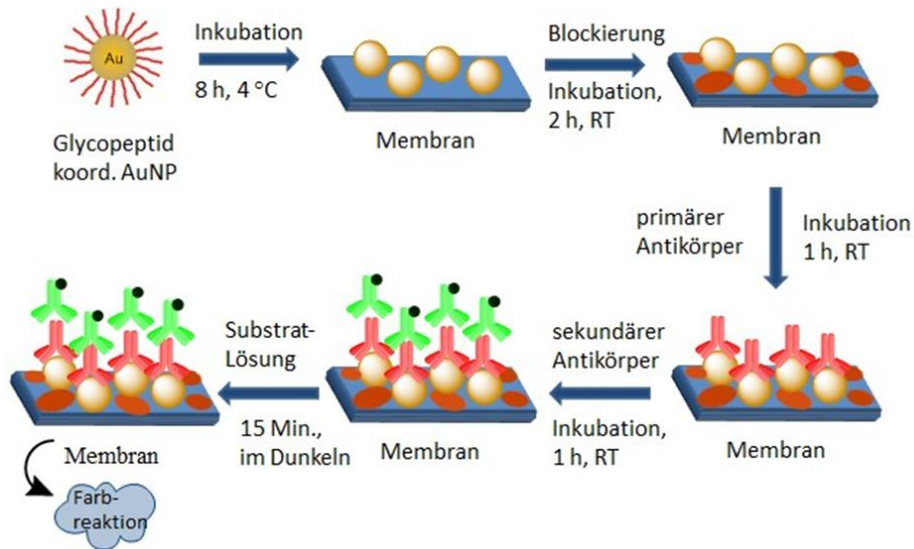


Abb. 76. Schematische Darstellung des neu entwickelten Immunoblots.^[255]

Als Negativkontrolle wurden unverdünnte Citrat-koordinierte Goldnanopartikel ($c = 2.6 \text{ nmol / L}$) gewählt, um unspezifische Wechselwirkungen der Goldnanopartikel auszuschließen. Zusätzlich wurde eine Verdünnungsreihe der GP-02 koordinierten Goldnanopartikel geplottet um die qualitativen Nachweisgrenzen des Dotblot-Immunoassays zu finden.

Das Prinzip des entwickelten Immunoblot-Assays ist ausführlich in Abb. 76 dargestellt. Zunächst wurden die unverdünnten GP-01 und GP-02 koordinierten Goldkolloide, die Citrat-koordinierten Goldnanopartikel und die Verdünnungsreihe auf eine Nitrozellulose Membran transferiert und über Nacht inkubiert. In Abb. 77 A ist die Membran nach diesem ersten Inkubationsschritt gezeigt. Die roten Punkte der unverdünnten Partikellösungen waren auch nach mehreren Waschsritten mit PBS-Puffer sichtbar, so dass von einer intakten Immobilisation ausgegangen werden konnte. Im zweiten Schritt erfolgte die Blockierung der freien Bindungsstellen der Membran, um den Hintergrund zu verringern, bevor dann der primäre Antikörper (monoklonal anti-MUC1 Antikörper) zugegeben wurde. Im nächsten Schritt wurde der sekundäre Antikörper geblottet, inkubiert und abschließend die Substratlösung zugegeben. Durch Zugabe der Substratlösung und Wasserstoffperoxid entsteht durch die am zweiten Antikörper konjugierte Meerrettichperoxidase katalysiert das 3,3',5,5-Tetramethylbenzidin-

3 Ergebnisse und Diskussion

Radikalkation, welches mit der nichtoxidierten Form des Tetramethylbenzidins einen Charge-Transfer-Komplex ausbildet.^[256] Dieser blaue Komplex erzeugt dunkle Flecken bei den GP-02-koordinierten Goldnanopartikeln (Abb. 77B), die sich innerhalb von Minuten entwickeln und mit dem bloßen Auge sichtbar sind. Sie beweisen eine Antigen-Antikörper-Bindung, während das Ausbleiben der Farbreaktion bei den GP-01-koordinierten Goldkolloiden bzw. der fehlende Farbwechsel der Negativkontrolle aussagt, dass die Antigen-Antikörper-Bindung selektiv und spezifisch für die glycosylierte MUC1-Teilsequenzen mit den zwanzig Aminosäuren und der enthaltenen T_R-Domäne ist. Eine qualitative Detektion der Antigen-Antikörper-Bindung anhand eines blass-blauen Punktes war auch bei einer 1:50 Verdünnung der GP-02-koordinierten Goldnanopartikel noch möglich (Abb. 77 C). Mit zunehmender Konzentration der Partikellösung veränderte sich die Farbe von blass-blau zu dunkelblau. Daher lässt sich vermuten, dass der neu entwickelte Immunoblot auch sensitiv für niedrige Konzentrationen der Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate ist.

Weiter wurden im Rahmen dieser Arbeit erste *in vitro* Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests zur Kontrolle der Biokompatibilität und Stabilität der Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate durchgeführt. MUC1 wird als Membran-gebundenes Glycoprotein von verschiedenen Epithelzelltypen exprimiert und spielt eine entscheidende Rolle beim Schutz der Zelloberfläche.^[257]

Unter anderem wird es auf humanen Endothelzellen der *Vena umbilicalis* exprimiert, weshalb *HUVEC*-Zellen für die Tests ausgewählt wurden. Zur Untersuchung der möglichen zytotoxischen Eigenschaften der Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate wurden diese in verschiedenen Konzentrationen mit *HUVEC*-Zellen 48 h inkubiert und die Zellviabilität, ausgedrückt als Prozentsatz der unbehandelten Kontrolle (100% Zellviabilität), mithilfe des fluorimetrischen Zellproliferation und Zytotoxizitätsnachweis Assay (*SYTOX*[®] *Green-Assay*) bestimmt. In Abb. 78 ist das Ergebnis des Tests gezeigt. Vergleicht man die 7 nm großen GP-02-koordinierten Goldnanopartikel mit den als Kontrollen verwendeten Citrat- bzw. MUDS-koordinierten Goldnanopartikel, so zeigen diese keinen signifikanten Effekt auf die Viabilität und Proliferation der Zellen. Schädliche unspezifische Wechselwirkungen können daher ausgeschlossen werden.

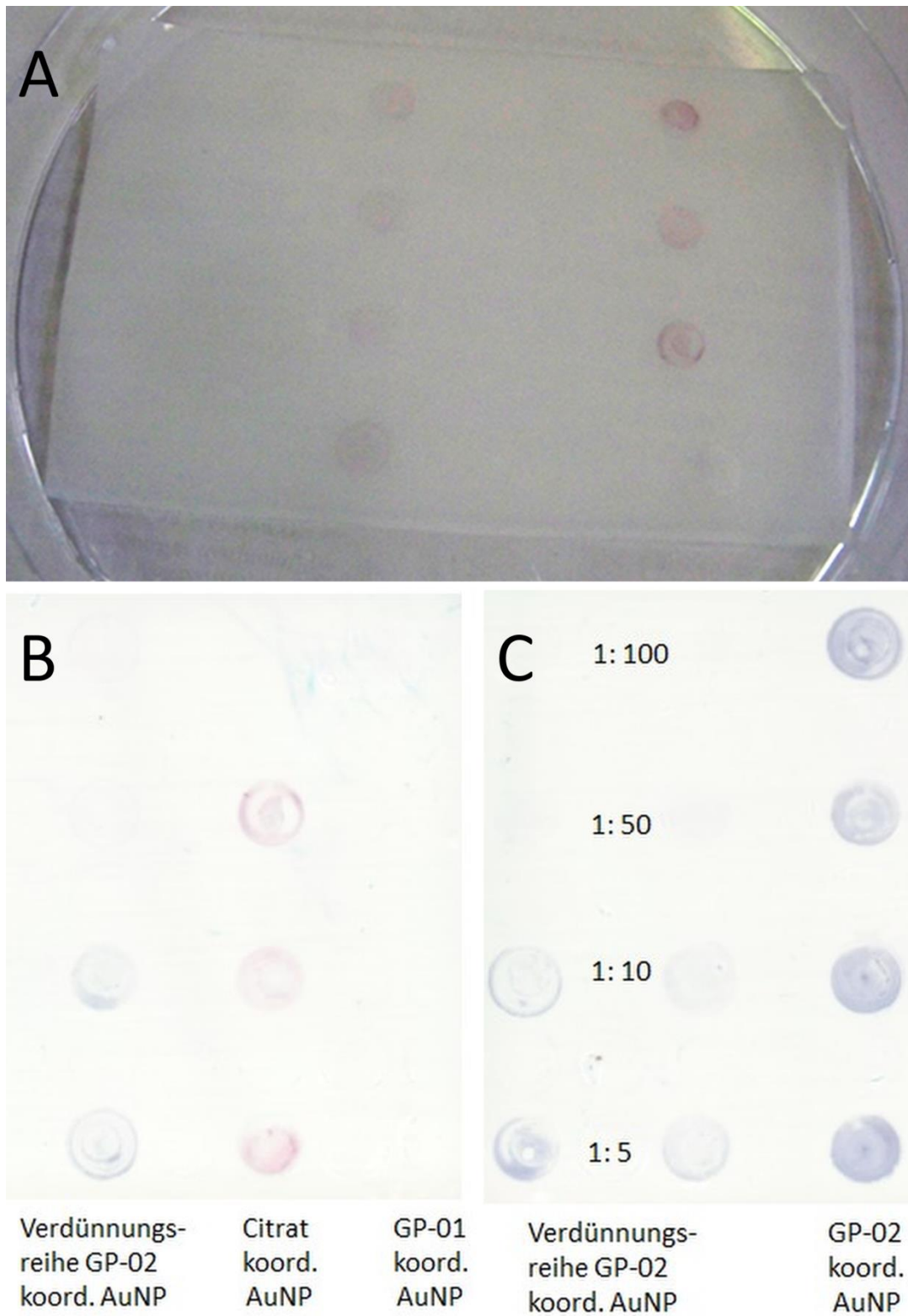


Abb. 77: Qualitatives Ergebnis des Immunoplot Assays. A: Vor dem Anfärben durch die Substratlösung; B: Vergleich der Bindungsaffinitäten der GP-02-, Citrat- und GP-01-koord, AuNP nach der Farbreaktion; C: Vergleich der verdünnten und nichtverdünnten GP-02 koord. Goldnanopartikellösung nach der Farbreaktion.

3 Ergebnisse und Diskussion

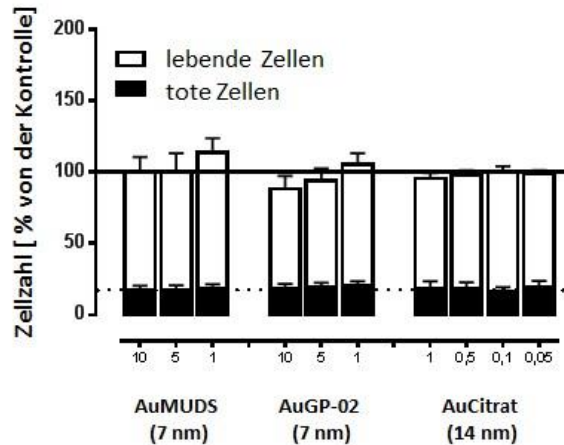


Abb. 78: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests von GP-02 koordinierten Goldnanopartikeln der eingesetzten Konzentrationen $c = 10$ nM, $c = 5$ nM, $c = 1$ nM. Als Kontrolle wurden Citrat- und MUDS-koordinierte AuNP verwendet. Viabilität und Zytotoxizität wurden mithilfe des SYTOX® Green-Assays bestimmt. Ergebnisse sind als Prozentsatz der unbehandelten Kontrolle (Mittelwert und Standardabweichung der Gesamtzellzahl der Kontrolle (durchgezogene Linie) und toten Zellen der Kontrolle (gestrichelte Linie)) angegeben.

3.3.4 Fazit

Im Rahmen dieses Projektes konnten erstmals verschiedene zuvor durch Festphasensynthese erhaltene MUC1-Glycopeptide-Antigene auf Goldnanopartikel mit unterschiedlichen Partikeldurchmessern immobilisiert werden. Dies erfolgte durch kovalente Anbindung der Glycopeptidantigene direkt über die Aminogruppe ihrer Spacereinheit und der Aktivester-Endgruppe der 7 nm großen AuMUDHSE, sowie durch Liganden-austauschreaktion bei den 14 nm großen Goldkolloiden. Die unterschiedlichen Charakterisierungsmethoden konnten zeigen, dass diese Immobilisierungsstrategie keinen Einfluss auf die Partikelgröße und Agglomeration der Partikel hat. Dadurch stellt die entwickelte Methode eine vielversprechende Variante für die Immobilisierung weiterer Glycopeptide dar.

Untersuchungen zur möglichen biologischen Aktivität der erhaltenen Glycopeptid-Goldnanopartikel Konjugate erfolgten durch QCM-Messungen und einem neu entwickelten Immunoblot Assay, mit deren Hilfe eine starke Bindungsaffinität zwischen den Antigenen und MUC1-Antikörpern nachgewiesen werden konnte. Weiter ergaben die experimentellen Ergebnisse eine hohe Selektivität, Spezifität und Sensitivität für MUC1-

3 Ergebnisse und Diskussion

Glycopeptid Antigene, die eine T_N-Domäne enthalten. In Kombination mit den erhaltenen Ergebnissen aus ersten Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstest, stellen Goldkolloide robuste und interessante Template für die multivalente Präsentation von MUC1-Glycopeptid-Antigenen dar und könnten somit zu möglichen neuen Entwicklungen in der Herstellung effizienter Immuntherapeutika, wie z.B. Antitumorvakzinen, führen.

3.4 Multivalente Präsentation von Cyclodextrin und Adamantan auf Goldnanopartikeln

Ausgehend von dem im einleitenden Kapitel am Beispiel des Heparins beschriebenen Prinzip (siehe 2.6.4), dass eine multivalente Präsentation von Sulfatgruppen sowohl P- als auch L-Selektin effektiv inhibieren kann, wurde im Rahmen dieser Arbeit nach weiteren möglichen Selektin-Inhibitoren gesucht, welche auf analoge Weise durch eine geeignete Anordnung und hohe Dichte der präsentierten Bindungsepitope die Selektin-Ligand-Wechselwirkungen beeinflussen könnten. Als eine geeignete Verbindung fiel dabei das zyklische Oligosaccharid β -Cyclodextrin (β -CD) ins Auge, da es neben seiner Stabilität auch als zugelassener Lebensmittelzusatzstoff toxikologisch unbedenklich und biokompatibel erscheint.^[258] Zusätzlich ist es kommerziell erhältlich und kann in geeigneter Weise für die Immobilisierung auf der Partikeloberfläche funktionalisiert werden.^[259]

Den schematischen Aufbau der Familie der Cyclodextrine zeigt Abb. 79. Es handelt sich um zyklische Oligosaccharide, die aus unterschiedlich vielen α -1,4- glycosidisch verknüpften Glucoseeinheiten aufgebaut sind. Die bekanntesten Cyclodextrine sind neben dem in dieser Arbeit verwendeten β -CD (sieben Glucoseeinheiten) α -CD (sechs Glucoseeinheiten) und γ -CD (acht Glucoseeinheiten). Alle Glucoseeinheiten liegen in der 4C_1 -Sesselkonformation vor und bilden eine konusförmige Gesamtstruktur aus, bei der die primären Hydroxylgruppen an der engeren Seite des hohlen Kegelstumpfes zu finden sind und die sekundären Hydroxylgruppen auf der breiteren Seite. Die Hydroxylgruppen an C-2-Position zeigen dabei ins Innere der Kavität und die Hydroxylgruppen an C-3-Position zur Außenseite.^[259]

Anhand eines *in vitro*-Tests zur Bestimmung der L-Selektin-Bindung an dem peripheren Lymphknoten Adressin (PNAd) untersuchten *Shailubhai et al.* die inhibitorischen Eigenschaften unterschiedlicher sulfatierter β -CD-Derivate. Dabei zeigte sich, dass mit höherem Sulfatierungsgrad die Bindungsaffinität zunimmt.^[260,261] Während β -CD keine und das monosulfatierte Derivat nur geringe Bindungsaffinitäten (10% Inhibition bei 0,5 mM) aufwies, ergab das heptasulfatierte Derivat mit einem IC_{50} -Wert von 0,2 mM eine wesentlich bessere Bindung an L-Selektin als Heparin und der bekannte Selektin-

3 Ergebnisse und Diskussion

Modellligand sLe^x .^[260,262] Neben einer höheren Bindungsaffinität ist die Umsetzung der sekundären Hydroxylgruppen des β -CDs für eine bessere Wasserlöslichkeit notwendig, weil natives β -CD aufgrund der intramolekularen Wasserstoffbrücken nur eine mäßige Löslichkeit in Wasser aufweist.^[263]

Eine multivalente Präsentation von vollständig sulfatiertem β -CD durch die Verwendung von Goldnanopartikeln als Templat könnte somit die Bindungsaffinität zusätzlich erhöhen und geeignete biokompatible Selektin-Inhibitoren darstellen.

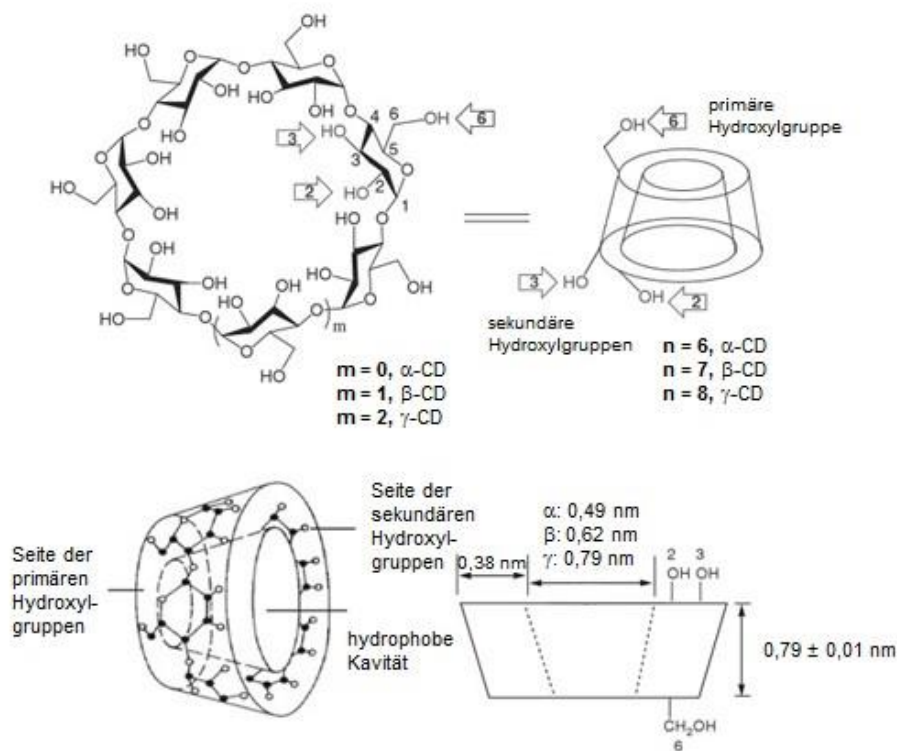


Abb. 79: Schematische Übersicht und Unterschiede der Gruppe der Cyclodextrine (nach ^[259]).

3.4.1 Synthese β -Cyclodextrin-koordinierter Goldnanopartikel

Die am häufigsten verwendete Methode zur Immobilisierung von CD auf der Oberfläche von Goldnanopartikeln ist eine von *Liu et al.* 1999 publizierte Synthese.^[264] Bei dieser wird nach der *Brust-Schiffrin*-Methode Tetrachlorogoldsäure in Gegenwart von vollständig Thiol-substituierten β -CD-Derivaten mit Natriumborhydrid reduziert. Diese Methode besitzt jedoch den Nachteil, dass die CD-Moleküle durch die kovalenten S-Au-Bindungen

3 Ergebnisse und Diskussion

starr auf der Partikeloberfläche immobilisiert und dadurch ungeeignet für die Verwendung als mögliche Selektin-Inhibitoren sind. Durch die starre Immobilisierung ist die benötigte Präsentation der Sulfatgruppen gegenüber den Bindungstaschen des Selektins nicht gewährleistet, weswegen im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine multivalente Präsentation des β -CDs durch Umsetzung mit Aktivester-kooordinierten Goldnanopartikeln angestrebt wurde, um durch Einsatz eines Linkers dem Liganden eine gewisse Beweglichkeit zu verleihen.

Für die Immobilisierung des β -CDs auf der Partikeloberfläche der Goldnanopartikel muss zunächst die primäre Hydroxylgruppe des CDs durch eine Aminofunktion substituiert werden, mit deren Hilfe im Anschluss die Anbindung des CDs durch Umsetzung mit Aktivester-kooordinierten Goldkolloiden unter Ausbildung einer Amidbindung ermöglicht wird. Dabei nutzt man für die Substitutionsreaktion aus, dass die primären Hydroxylgruppen im Vergleich zu den sekundären Hydroxylgruppen nukleophiler sind und diese dadurch mittels einer einfachen Reaktion mit Elektrophilen selektiv umgesetzt werden können. Allerdings liegt die Schwierigkeit dieses Reaktionstyps darin, die Konkurrenzreaktion an den sekundären Hydroxylgruppen zu unterdrücken, weil diese mit steigendem Substitutionsgrad immer wahrscheinlicher wird. Der entscheidende und möglicherweise limitierende Schritt der Synthese ist somit die Einführung einer geeigneten Abgangsgruppe an der Position der primären Hydroxylgruppe.^[265]

Die Synthese von Mono-6-amino-6-desoxy- β -Cyclodextrin wurde mit einer mehrstufigen literaturbekannten Methode durchgeführt (Abb. 80). Dazu wurde zunächst ausgehend von β -CD durch Umsetzung mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (Verhältnis 1:1) in basisch wässriger Lösung das monotosylierte CD-Derivat erhalten.^[266] Bei der Reaktion kam es zur Bildung von mehrfach tosylierten Produkten. Eine Umkristallisation aus Wasser entfernt diese und liefert Mono-[6-desoxy-6-(*p*-toluolsulfonyl)]- β -cyclodextrin (Ts-CD) in sehr geringen Ausbeuten von 10%. Deshalb wurde in dieser Arbeit zusätzlich eine zweite Variante der Ts-CD-Synthese durchgeführt, um höhere Ausbeuten für die nachfolgenden Syntheseschritte zu erhalten. Dazu wurde die wässrige Lösung gegen das Pyridin ausgetauscht, welches zwar die Aufarbeitung erschwert, aber im Unterschied zur wässrigen Lösung die Reaktivität an der 6-Position erhöht.^[267,268] Auf diesem Weg wurde eine Ausbeute von 32% des Tosylatderivates erhalten, welches ein sehr gutes Zwischenprodukt (gute

3 Ergebnisse und Diskussion

Abgangsgruppe) darstellt und durch verschiedene Nukleophile weiter umgesetzt werden kann. Im nächsten Schritt erfolgte die Umsetzung des Tosylats durch Substitution mit Natriumazid in Wasser (86% Ausbeute). Die Reduktion mit Triphenylphosphan (*Staudinger-Reaktion*) und die anschließende Hydrolyse lieferten im letzten Syntheseschritt das monosubstituierte Aminoderivat CD-NH₂ (81% Ausbeute), welches in Folgereaktionen mit NHS-Aktivestern und Carbonsäuren zu den entsprechenden Amiden umgesetzt werden kann.

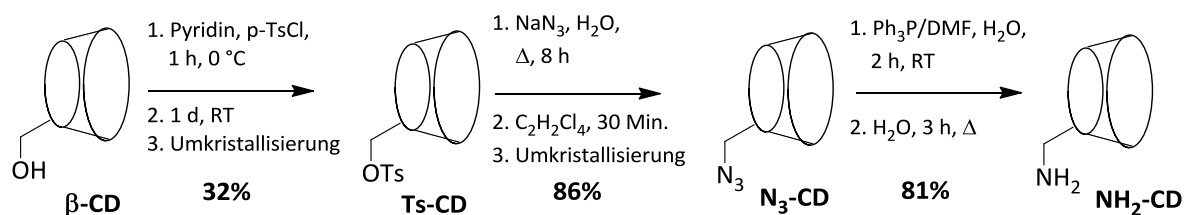


Abb. 80: Schematische Darstellung der dreistufigen Synthese von Mono-6-amino-6-deoxy-β-Cyclodextrin (NH₂-CD) durch selektive Tosylierung mit p-Toluolsulfonylsäurechlorid, Azid-Substitution mit Natriumazid, Reduktion mit Triphenylphosphin und abschließender Hydrolyse.

Die Charakterisierung der erhaltenen Produkte der einzelnen Syntheseschritte erfolgte via Massenspektrometrie, NMR- und IR-Spektroskopie (siehe 6.2.8.1). Dabei bewies das Vorhandensein einer charakteristischen Azid-Bande im IR-Spektrum und die Verschiebung des C6-Signals von 32,9 ppm auf 51,1 ppm im ¹³C-Spektrum die erfolgreiche Umsetzung zum Azid-Derivat (siehe 6.2.8.1.2), während nach dem letzten Syntheseschritt das Verschwinden dieser charakteristischen N₃-Valenzschwingung und das Erscheinen der NH₂-Schwingung bei etwa 1650 cm⁻¹ im IR-Spektrum auf eine vollständige Umsetzung zum gewünschten Produkt hindeutete (siehe 6.2.8.1.3). Die massenspektrometrische Untersuchung zeigte zusätzlich durch ein Molekülsignal bei m/z = 1134,50 [M+H]⁺ die Entstehung des gewünschten Produktes. Eine Aufreinigung des Produktes erfolgte durch Fällen mit Aceton und anschließendem Trocknen am Ölpumpenvakuum.

Die multivalente Präsentation des erhaltenen monosubstituierten Amino-Derivates CD-NH₂ auf der Partikeloberfläche erfolgte im Anschluss an die Synthese durch Umsetzung mit zuvor hergestellten 7 nm großen Aktivester-kooordinierten Goldnanopartikeln durch nukleophile Substitution unter Ausbildung einer Amidbindung. Das Schema zur Reaktion ist in Abb. 81 gezeigt. Da eine Substitution des vorhandenen Thiolliganden durch nicht

3 Ergebnisse und Diskussion

umgesetzte Amin-Liganden auf dem Nanopartikel unmöglich ist, wurde bei dieser Reaktion ein Überschuss (min. $1 \cdot 10^5$ Äq.) des Amins eingesetzt, um eine möglichst vollständige Umsetzung des Aktivesters zum Amid zu erhalten. Dazu wurde CD-NH₂ in wenig absolutem DMF gelöst und bei Raumtemperatur unter starkem Rühren mit der Kolloidlösung versetzt. Nach ca. 30 min wurde NEt₃ als Hilfsbase zugegeben und die Reaktionslösung weitere 24 h unter Schutzgasatmosphäre gerührt. Die Farbe der Kolloidlösung änderte sich hierbei nicht, was ein Indiz für das Ausbleiben einer Agglomeration der Partikel darstellt. Zusätzlich wurde der Fortschritt der Reaktion per DC-Kontrolle verfolgt, um eine möglichst hohe Immobilisierung der freien Liganden sicherzustellen. Bei der Reaktion als Nebenprodukt entstehendes NHS, Triethylamin und nicht gebundenes CD-NH₂ wurden nach der Reaktion mittels Dialyse gegen DMF entfernt.

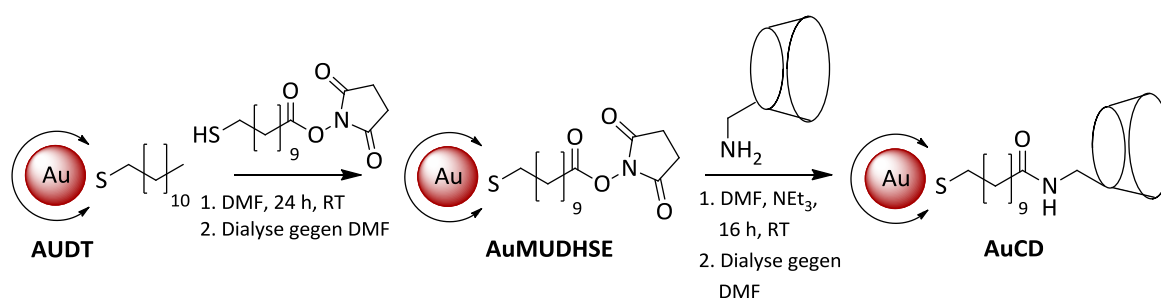


Abb. 81: Schematische Darstellung der Umsetzung von CD-NH₂ mit Aktivester-koordin. Goldnanopartikeln.

Um eine Variation der Partikelgröße der Cyclodextrin-koordinierten Goldkolloide zu erhalten, kann die in Abb. 81 gezeigte Syntheseroute ebenfalls unter Verwendung von 4 nm großen Dodecanthiol-koordinierten Goldnanopartikeln durchgeführt werden. Zur Immobilisierung des Cyclodextrins auf 10 nm große MUDA-koordinierte Goldnanopartikel kann gemäß leicht modifizierter Literaturvorschriften für die Festphasenpeptidsynthese eine Kombination aus HBTU / HOBt / NEt₃ verwendet werden.^[269] Im Gegensatz zur Carbodiimid-Methode erlaubt die Verwendung von Kupplungsreagenzien auf der Basis von Uronium- / Guanidiniumsalzen eine schnelle Aktivierung durch *in situ* Bildung von hochreaktiven Aktivestern in polaren Lösungsmitteln und somit die Möglichkeit der Einsparung eines Reaktionsschrittes mit agglomerationsanfälliger Aufarbeitung im Syntheseverlauf. Deshalb wurden die MUDA-funktionalisierten Goldnanopartikel mit dem Uronium- / Guanidiniumsalz 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HBTU) und dem Additiv 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) in DMSO unter

3 Ergebnisse und Diskussion

Schutzgasatmosphäre vorgelegt. Anschließend erfolgte die Deprotonierung der Carboxylkomponente durch Zugabe der Hilfsbase NEt_3 , wodurch sich ein reaktives *O*-acetyliertes Isoharnstoffderivat intermediär bildet, welches mit den ebenfalls in der Reaktion entstehenden HOBt-Anionen die eigentliche aktive Spezies, den Aktivester, generiert. Abschließend kann die so aktivierte Carboxylgruppe mit der freien Aminogruppe des im Überschuss zugegebenen CD- NH_2 unter Ausbildung einer Amidbindung reagieren (Abb. 82). Analog zur Synthese der kleineren Partikel erfolgte die Aufreinigung durch Dialyse gegen DMF.

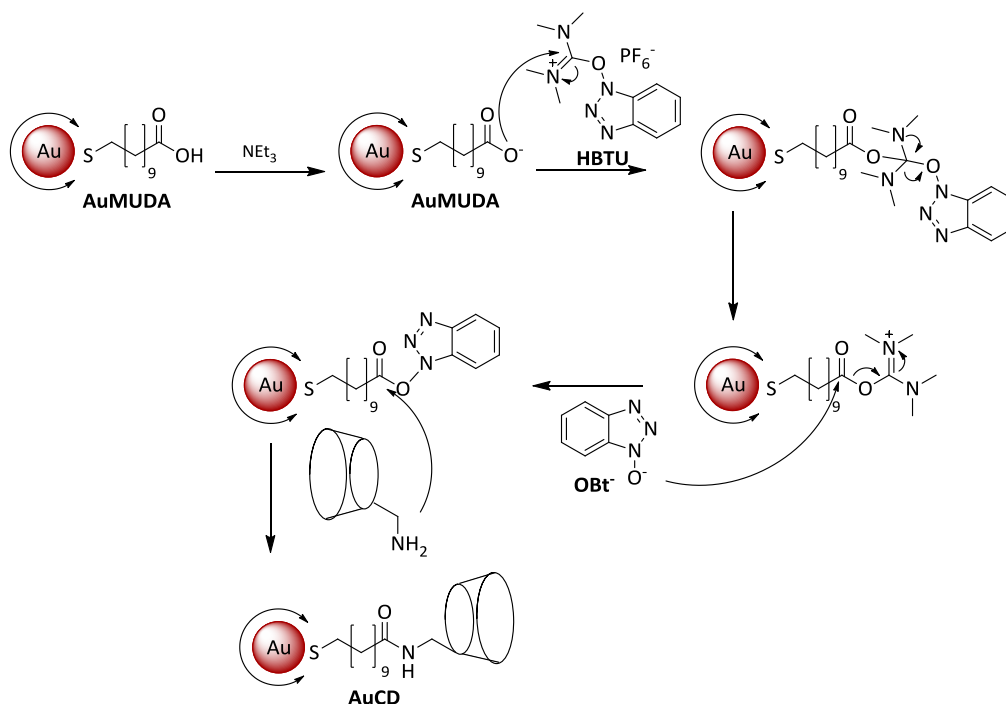


Abb. 82: Vorgeschlagener Mechanismus der HBTU / HOBt-Kupplung von CD- NH_2 auf MUDA-kordinierte Goldnanopartikel.

$^1\text{H-NMR}$ - und IR - spektroskopische Charakterisierung der dialysierten Kolloide zeigen eine erfolgreiche Funktionalisierung der Nanopartikel mit CD (siehe 6.2.8.2.2). Aus TEM-Aufnahmen und UV/Vis-Absorptionsspektren konnte entnommen werden, dass die Größendispersität der Partikelkerne sich während der Funktionalisierung nicht verändert hat.

Der Selektiv-erkennende Strukturteil, die sekundären Hydroxylgruppen des Cyclodextrins, befinden sich nach der Immobilisierung auf der Partikeloberfläche solvensexponiert.

3 Ergebnisse und Diskussion

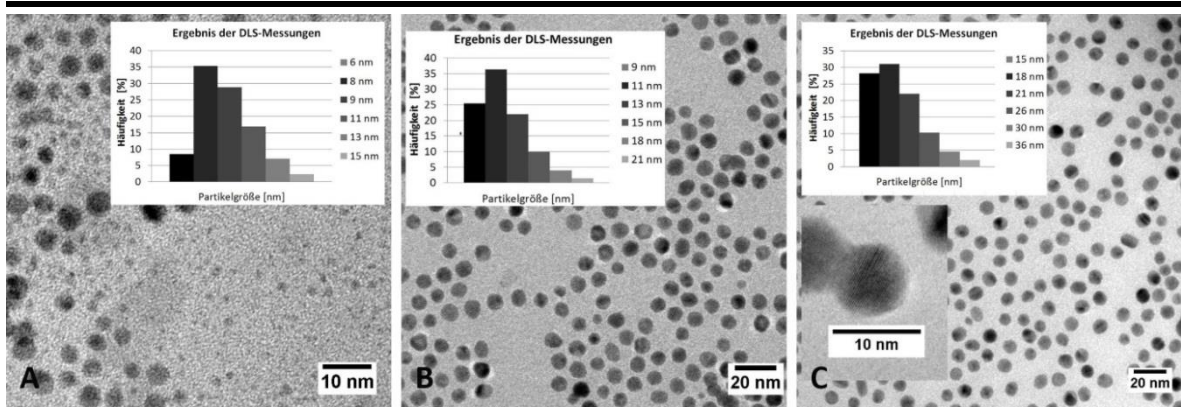


Abb. 83: TEM-Aufnahmen und Ergebnisse der DLS-Messungen der in dieser Arbeit synthetisierten β -CD koordin. Goldkolloide (A: $d = 3,6 \pm 0,4$ nm ($d_h = 8 \pm 2$ nm); B: $7,3 \pm 0,2$ nm ($d_h = 10 \pm 2$ nm); C: $d = 9,2 \pm 0,2$ nm ($d_h = 12 \pm 3$ nm)).

Zur leichteren Überführung der erhaltenen Partikel ins wässrige Medium, zur Unterbindung der Bildung von Agglomeraten und um möglichst viele Sulfatgruppen für eine potenzielle Selektinbindung zu präsentieren, wurde im Anschluss an die Immobilisierung des β -CDs auf der Partikeloberfläche ein Sulfatierungsschritt angeschlossen.

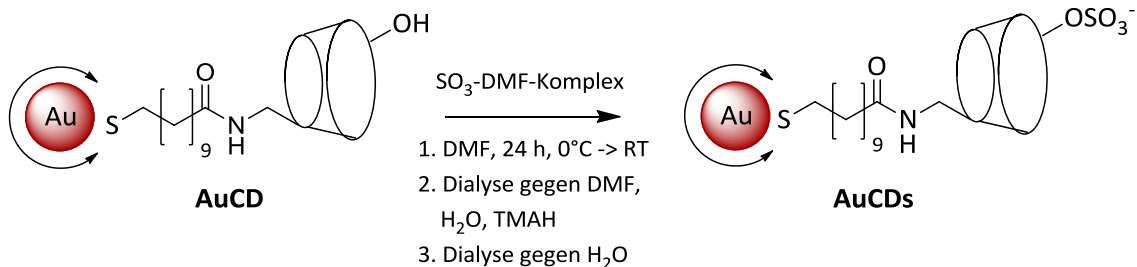


Abb. 84: Schematische Darstellung des Sulfatierungsschrittes der β -CD-koordinierten Kolloide.

Die Sulfatierung wurde in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Futaki et al.*^[270] mit dem Sulfatierungsreagenz SO_3 / DMF-Komplex in absolutem DMF durchgeführt. Vorteile des Sulfatierungsreagenzes sind seine selektiven Eigenschaften und die Möglichkeit durch Variation der Konzentration und der Reaktionszeit den Sulfatierungsgrad einzustellen. Die vorgelegte Kolloidlösung wurde dazu mit dem Sulfatierungsreagenz im Überschuss versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor sie zur Aufreinigung gegen DMF dialysiert und dann in Millipore-Wasser resuspendiert wurde. Erneutes Dialysieren gegen Wasser, entfernt abschließend noch vorhandene Verunreinigungen und DMF Reste (Abb. 84).

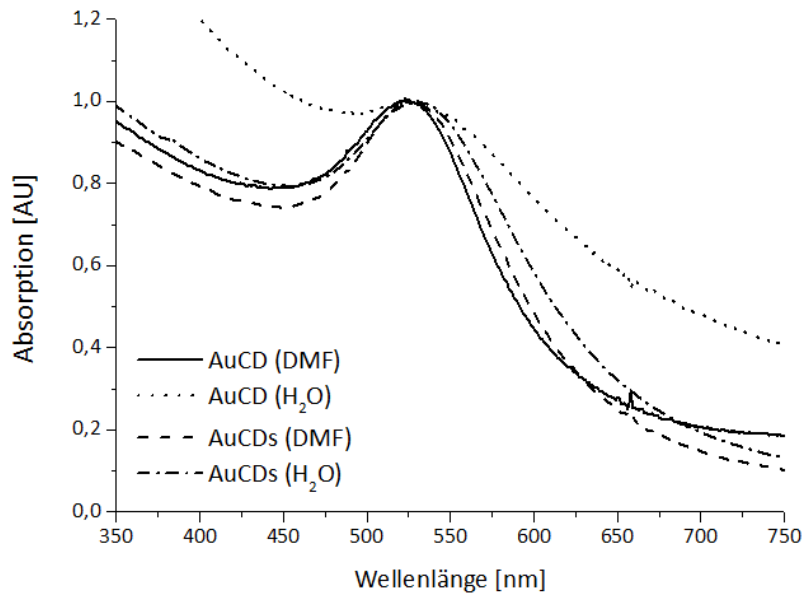


Abb. 85: Absorptionsspektren der synthetisierten Cyclodextrin-koordinierten Goldnanopartikeln (AuCD, $d = 7$ nm) und der sulfatierten CD-koordinierten Partikeln (AuCDs, $d = 7$ nm) nach der Dialyse in DMF oder destilliertem Wasser gelöst.

In Abb. 85 sind die Absorptionsspektren der einzelnen synthetisierten Cyclodextrin-koordinierten Goldnanopartikel gezeigt. Dabei wird deutlich, dass ohne den Sulfatierungsschritt eine Überführung der Partikel ins wässrige Medium nur in geringem Maße möglich ist. Es kommt zur Agglomeration der Partikel, was anhand der Verschiebung des Maximums hin zu längeren Wellenlängen ($\lambda_{\max} = 535$ nm) und einer Bandenverbreiterung sichtbar wird. Obwohl auch die sulfatierten Partikel eine geringe Bandenverbreiterung aufweisen, fällt diese deutlich schwächer aus, was den positiven Einfluss der Sulfatierung bestätigt.

3.4.2 Aufbau von mehrdimensionalen Strukturen mit Hilfe der synthetisierten β -CD-funktionalisierten Goldkolloide

Neben der großen Anzahl an Hydroxylgruppen auf der hydrophilen äußeren Seite besitzen Cyclodextrine mit der hydrophoben Kavität eine weitere besondere Eigenschaft, die sie für Anwendungen in biologischen Systemen interessant machen.^[271,272] Diese Kavität wird durch die Wasserstoff-Atome an den Positionen C-3 und C-5 sowie den etherähnlichen Sauerstoffbrücken gebildet und ermöglicht andere hydrophobe Moleküle ein-

3 Ergebnisse und Diskussion

zuschließen.^[258] Dabei sind die wichtigsten Triebkräfte für die Bildung von CD-Einschlussverbindungen vor allem die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen, sowie hydrophobe und van-der Waals-Wechselwirkungen.^[273] Die so erhaltenen CD-Einschlussverbindungen können die Löslichkeit, Stabilität, Bioverfügbarkeit und Zellaufnahme der Gastmoleküle erheblich verbessern sowie eine Reduktion der Nebenwirkungen erzielen. Deshalb besteht vor allem in der Krebstherapie ein erhöhtes Interesse an Cyclodextrin-Verbindungen als Wirkstoff-transportsysteme.^[272,274,275] Neben der multivalenten Präsentation der Wirtstrukturen (Cyclodextrin), können die Goldnanopartikel auch als Bausteine zum Aufbau von zweidimensionalen oder dreidimensionalen Strukturen durch *supramolecular self assembly* verwendet werden.^[276] In den letzten Jahren ist das Interesse an der Verwendung von selbstorganisierenden Mikrokapseln zur Einlagerung und zum Transport eines Wirkstoffes deutlich gestiegen, da diese durch ihre einzigartigen Eigenschaften der Nanopartikel-Bausteine eine höhere Stabilität, eine einstellbare Durchlässigkeit wie auch weitere einstellbare optische und magnetische Eigenschaften versprechen.^[277]

Aus diesem Grund wurden ebenfalls in dieser Arbeit erste Versuche zum Aufbau von mehrdimensionalen Strukturen mithilfe der erhaltenen CD-koordinierten Partikel gemacht. Bei der Suche nach dem passenden Gastmolekül wurde dabei berücksichtigt, dass die Größe des Gastmoleküls und dessen Fähigkeit die Kavität auszufüllen die wichtigsten Kriterien für die Stabilität einer gebildeten Einschlussverbindung darstellen. Aus den bekannten Durchmessern der Kavität (Abb. 79) und deren Engstelle (für β -CD = 0,58 nm) sollten sich besonders gut Aromaten und Heterocyclen von β -CD inkludieren lassen. So zeigten einige Studien, dass neben Ferrocen auch Adamantan-Verbindungen spezifische und reversible Einschlussverbindungen mit relativ hohen Bindungskonstanten (10^4 - 10^5 M⁻¹) ausbilden können.^[271,275,278] Ausgehend davon wurden für den Aufbau der mehrdimensionalen Strukturen Adamantan-funktionalisierte Goldnanopartikel als Gast-Strukturen gewählt.

Dazu wurde analog zur beschriebenen Methode der Immobilisierung des β -CDs, 1-Aminomethyladamantan durch Umsetzung mit zuvor frisch hergestellten 7 nm großen Aktivester-koordinierten Goldnanopartikeln unter Ausbildung einer Amidbindung auf der Partikeloberfläche immobilisiert (Abb. 86).

3 Ergebnisse und Diskussion

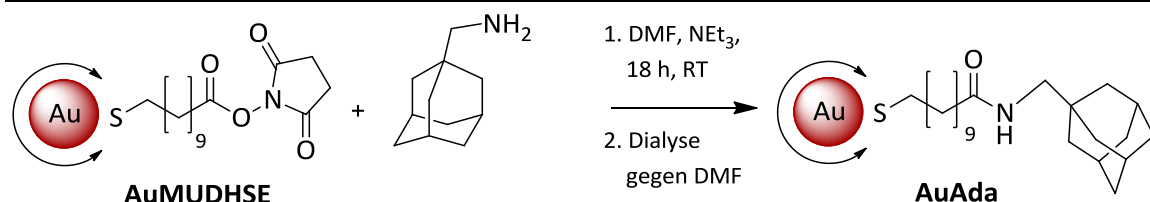


Abb. 86: Schematische Darstellung der Synthese von Adamantan-funktionalisierten Goldkolloiden durch Reaktion mit Aktivester-koodinierten Goldnanopartikeln.

Die erhaltenen Adamantan-funktionalisierten Goldnanopartikel wurden nach der Synthese durch Dialyse gegen DMF aufgereinigt und für anschließende Reaktionen in absolutem DMF resuspendiert. Eine Variation der Partikelgröße erfolgte durch Ligandenaustauschreaktion der Goldnanopartikel mit einem zuvor hergestellten Adamantan-Liganden. Dieser wurde durch eine in Abb. 87 A gezeigte mehrstufige Synthese erhalten. Ausgehend von der 11-Bromoundecansäure wurde zunächst durch nukleophile Substitution mit Kaliumthioacetat die Hydroxylgruppe geschützt und so *S*-Acetyl-Sulfanylundecansäure erhalten, welche dann im nächsten Schritt durch Umsetzung mit NHS und DCC in den *S*-Acetyl-Sulfanylalkyl-*N*-Hydroxysuccinimidester überführt wurde.^[165]

Durch Amidbindungsknüpfung wurde im dritten Schritt das 1-Aminomethyladamantan gebunden, bevor der Ligand ohne weitere Aufarbeitung mit Natronlauge entschützt wurde. Im Anschluss an die Synthese erfolgte der Ligandenaustausch mit 4 nm großen Dodecanthiol-koodinierten Goldnanopartikeln mittels Zugabe des Liganden im Überschuss, gefolgt von Aufreinigung durch Dialyse und Redispersion in absolutem Dichlormethan (Abb. 87 B). Der erfolgreiche Ligandenaustausch wurde anhand von NMR- und IR-Spektroskopie nachgewiesen. Dabei zeigten die Spektren nur die zu erwartenden Signale des neuen Ligands.

Die Kontrolle des Agglomerationsgrads, der Partikelgröße und der Dispersität erfolgte analog der Charakterisierung der CD-funktionalisierten Goldnanopartikel mittels DLS-Messungen, TEM-Aufnahmen und Absorptionsspektren und ergaben keine Veränderung der drei Eigenschaften nach der Funktionalisierung mit Adamantan und dem anschließenden Aufreinigungsschritt (Anhang Abb. 14). In beiden Fällen wurde eine klare rote Lösung erhalten, die mehrere Wochen optisch stabil blieb.

3 Ergebnisse und Diskussion

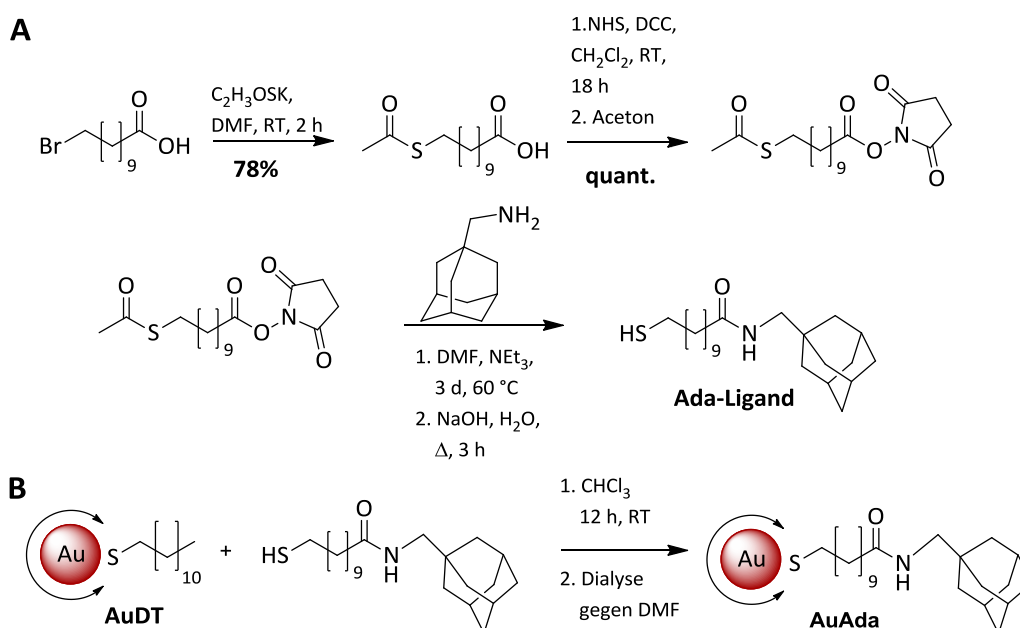


Abb. 87: Schematische Darstellung der Synthese von Adamantan-funktionalisierten Goldkolloiden durch Reaktion mit Aktivester-koordinierten Goldnanopartikeln (A) und Ligandenaustausch des zuvor hergestellten Adamantan-Liganden (B) mit Dodecanthiol-koordinierten Partikeln (C).

Zum Aufbau der mehrdimensionalen Strukturen wurden nach der Synthese der Partikel die Cyclodextrin-funktionalisierten Goldnanopartikel ($d = 7 \text{ nm}$) in DMF als „Wirtkomponente“ und eine äquivalente Menge (Verhältnis 1:1) der Adamantan-funktionalisierten Goldnanopartikel ($d = 7 \text{ nm}$) als „Gastkomponente“ gemischt und unter Schutzgas-atmosphäre 8 h bei Raumtemperatur gerührt. Analog dazu wurde ebenfalls eine Lösung von 10 nm großen Cyclodextrin-koordinierten Goldnanopartikeln im Verhältnis 1:1 mit einer Adamantan-funktionalisierten Kolloidlösung mit 4 nm großen Partikeln versetzt und gerührt. Nach einigen Minuten begannen die Lösungen langsam trüb zu werden und ein Farbwechsel von rot zu violett erfolgte. Nach einer Reaktionsdauer von 8 h war in beiden Lösungen zusätzlich ein violetter Niederschlag sichtbar. Diese sichtbaren Veränderungen der Proben deuten auf die Ausbildung von Agglomeraten hin. Zur Charakterisierung der Proben wurden TEM-Aufnahmen angefertigt. Diese sind in Abb. 88 gezeigt und bestätigen die Bildung von Agglomeraten mit durchschnittlichen Größen von 100 - 200 nm. Dies wird auch durch DLS-Messungen der 7 nm großen Partikel bestätigt, welche eine Zunahme der Dispersität und des hydrodynamischen Durchmessers von $d_h = 11 \pm 2 \text{ nm}$ der AuCD-Probe vor der Zugabe von AuAda auf $d_h = 92 \pm 8 \text{ nm}$ nach einer Reaktionsdauer von 1 h, $d_h = 156 \pm 27 \text{ nm}$ nach einer

3 Ergebnisse und Diskussion

Reaktionsdauer von 3 h und $d_h = 272 \pm 116$ nm nach einer Reaktionsdauer von 8 h ergaben. Der Aggregationsverlauf wurde neben den DLS-Messungen auch durch UV / Vis-Spektroskopie kontrolliert, da Aggregationen zu einer Verschiebung der Absorptionsbande zu längeren Wellenlängen führen sollten. Wie schon anhand der Farbänderung der Kolloidlösung sichtbar, verschiebt sich die Absorptionsbande mit fortschreitender Reaktionsdauer zu längeren Wellenlängen. Bei einer längeren Reaktionsdauer kommt es auch zu einer Verbreiterung der Absorptionsbande. Dies ist ebenfalls ein Indiz für die Ausbildung großer Agglomerate und der damit verbundenen Zunahme der Dispersität.

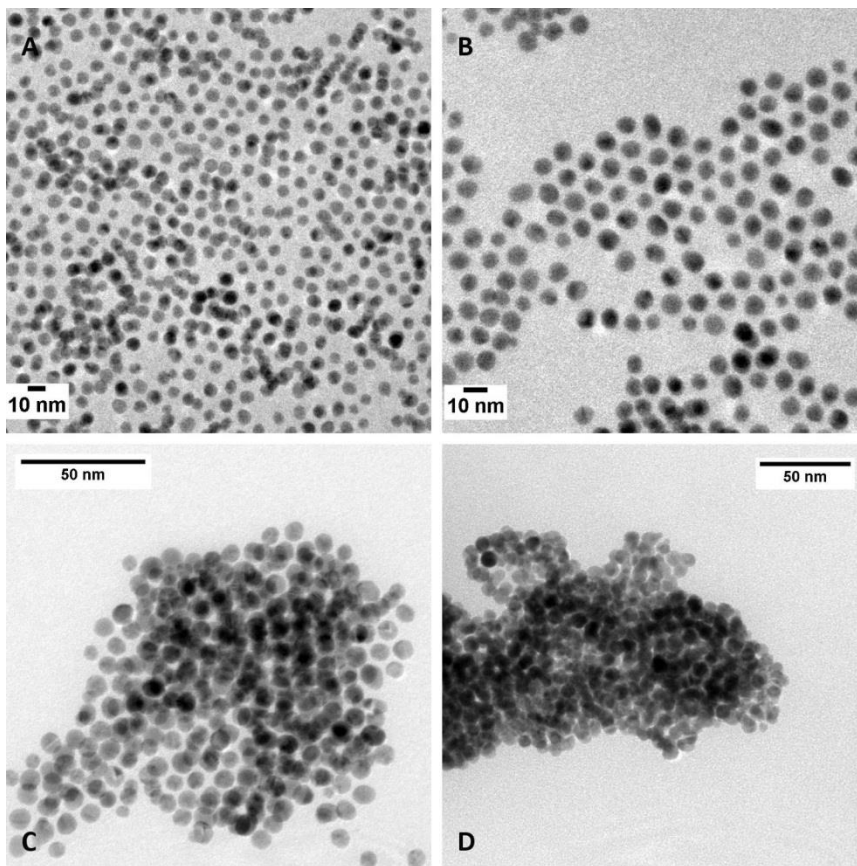


Abb. 88: TEM-Aufnahmen der Umsetzung von AuCD ($\varnothing = 7$ nm, A) mit AuAda ($\varnothing = 7$ nm, B) im Verhältnis 1:1; Nach einer Reaktionszeit von 8 h beträgt die durchschnittliche Größe der Agglomerate 129 nm (C) und 152 nm (D).

Zur Kontrolle, ob es sich bei dem Aggregationsverlauf wirklich um Wirt-Gast-Interaktionen des Cyclodextrins mit Adamantan handelt oder dies nur durch unspezifische Interaktionen erfolgt, wurde zusätzlich eine Blindprobe der 10 nm großen AuCD mit dem einfachen monovalenten 1-Aminomethyladamantan durchgeführt.

3 Ergebnisse und Diskussion

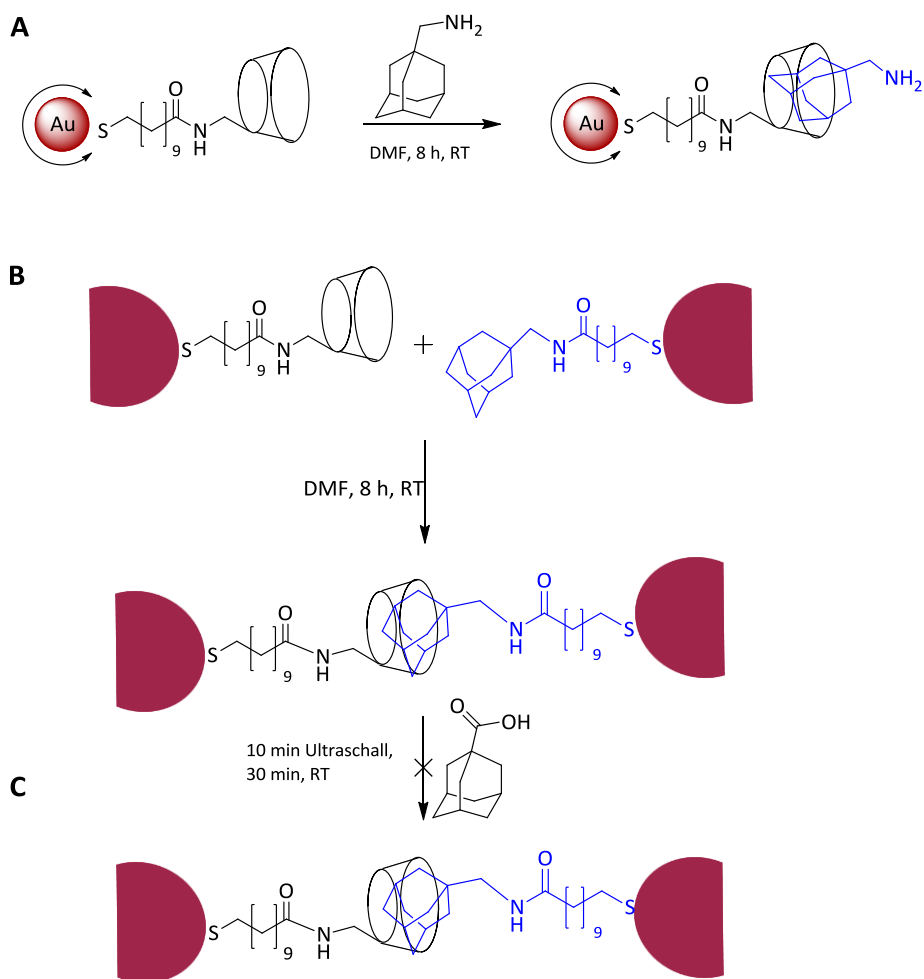


Abb. 89: Schematische Darstellung der für den Aufbau von mehrdimensionalen Strukturen mit AuCD und AuAda durchgeführten Versuche. A: Reaktion von AuCD mit dem monovalenten Liganden Ada-NH₂ als Blindprobe; B: Agglomerationsreaktion von AuCD mit AuAda; C: Deagglomerationsreaktion der über Wirt-Gast-Interaktionen verknüpften Strukturen.

Dies sollte zu keiner Ausbildung von Agglomeraten führen. Nach einer Reaktionsdauer von 8 h ergaben die DLS-Messungen einen hydrodynamischen Durchmesser von $d_h = 22 \pm 5$ nm (vor der Reaktion $d_h = 19 \pm 4$ nm). Zusätzlich zeigt ein Vergleich der Absorptionsspektren vor und nach der Zugabe des monovalenten Ligands, dass es sich bei der Ausbildung der Agglomerate um Wirt-Gast-Interaktionen der Goldnanopartikel und der damit verbundenen Ausbildung von mehrdimensionalen Strukturen handeln muss.

Ein weiterer interessanter Aspekt dieses Projektes war die Frage, ob man durch Variation der Reaktionsbedingungen Einfluss auf die Größe der Agglomerate nehmen kann. Deshalb wurden Versuche mit geringeren AuCD-Konzentrationen (Verhältnis 1:2 und Verhältnis 1:5) durchgeführt.

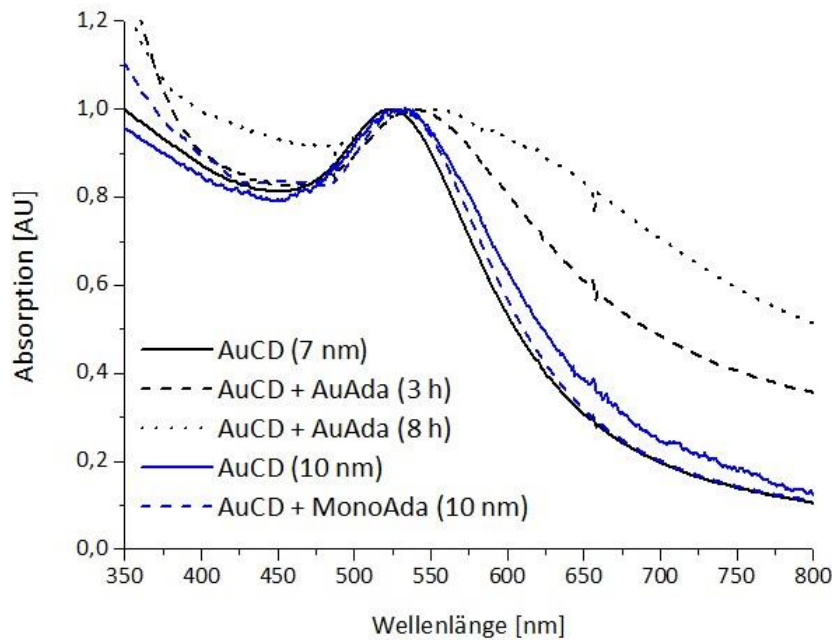


Abb. 90. Absorptionsspektren der Reaktion von AuCD + AuAda (schwarz) und der Reaktion AuCD + Mono-Ada (blau).

Dabei zeigten die DLS-Messungen im Anschluss an die Reaktion (Reaktionszeit 3 h) mit mittleren hydrodynamischen Durchmessern von $d_h = 67 \pm 19$ nm (Verhältnis 1:2) und $d_h = 52 \pm 13$ nm (Verhältnis 1:5), dass kleinere Agglomerate ausgebildet werden. Dies kann durch die weniger vorhandenen Vernetzungsmöglichkeiten zwischen den Nanopartikeln durch Wirt-Gast-Interaktionen erklärt werden. Auch sollte der große Vorteil von nichtkovalenten Wirt-Gast-Interaktionen, ihre Reversibilität, anhand der erhaltenen Agglomerate überprüft werden. Die Cyclodextrin-Adamantan-Vernetzungen sollten sich durch externe Anregungen wie z.B. der Zugabe von konkurrierenden Gastverbindungen im Überschuss trennen lassen. Zur Überprüfung dieser Annahme wurde im Anschluss an die Agglomerationsreaktion 1-Adamantancarbonsäure im Überschuss zugegeben und 10 min mit Ultraschall behandelt, bevor die Reaktionslösung anschließend weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt wurde. Bei der Behandlung der Reaktionslösung mit Ultraschall konnte beobachtet werden, dass die zuvor blauviolette, trübe Lösung mit ausgefallenen Partikeln wieder klar wurde. Nach kurzer Zeit begannen die Partikel wieder zu agglomerieren und der violette Niederschlag fiel erneut aus. DLS-Messungen ergaben einen hydrodynamischen Durchmesser von $d_h = 103 \pm 18$ nm für die mit Ultraschall

behandelten Kolloidlösungen. Dies lässt den Schluss zu, dass der Farbwechsel der Lösung lediglich auf die mechanische Zerkleinerung der Agglomerate durch die Behandlung mit Ultraschall und nicht auf eine Deagglomeration der Nanopartikel zurückzuführen ist. Dieses Ergebnis könnte im Einklang mit der Annahme stehen, dass eine erschwerte Deagglomeration aufgrund der multivalenten Wechselwirkungen besteht.^[279]

3.4.3 Fazit

Im Rahmen dieses Teilprojektes der vorliegenden Arbeit konnte nach der Synthese des Mono-6-amino-6-desoxy- β -Cyclodextrins dessen Immobilisierung auf die Partikeloberfläche von zuvor hergestellten Goldnanopartikeln mit unterschiedlichen Partikeldurchmessern gezeigt werden. Im Unterschied zu literaturbekannten Synthesen von Cyclodextrin-koordinierten Goldnanopartikeln, erfolgte diese erstmalig durch Anbindung über einen langkettigen, hydrophoben Linker mittels Amidbindungsknüpfung. Dazu wurde neben der bekannten NHS-Aktivester-Methode für Immobilisierungsreaktionen, auch eine neue Methode unter Verwendung von Kupplungsreagenzien auf der Basis von Uronium- / Guanidiniumsalzen durchgeführt. Eine Überführung der Goldkolloide ins wässrige Medium erfolgte durch einen abschließenden Sulfatierungsschritt mit SO_3 -DMF-Komplex.

Neben der Verwendung als mögliche Selektin-Inhibitoren, wurden die erhaltenen Cyclodextrin-koordinierten Goldkolloide für erste Versuche zum Aufbau mehrdimensionaler Strukturen auf Basis nichtkovalenter Wirt-Gast-Wechselwirkungen genutzt. Dazu wurden sie mit monovalenten Adamantan-Verbindungen bzw. Adamantan-koordinierten Gold-nanopartikeln umgesetzt. Es zeigte sich, dass es zu einer Ausbildung von 100 - 200 nm großen Agglomeraten kam. Zusätzlich wurden erste Untersuchungen zur Größenkontrolle der Agglomerate und Möglichkeiten der Aufspaltung der Vernetzung durchgeführt. In zukünftigen Arbeiten müssten dazu weitere Untersuchungen erfolgen.

3.5 Multivalente Präsentation von Kohlenhydratmimetika als mögliche Epitope für die Selektin-Bindung

Wie bereits im einleitenden Kapitel erläutert, stellt das Tetrasaccharid sLe^x das minimale Bindungsmotiv der natürlichen Liganden für die Bindung der Selektine dar (siehe Kapitel 2.6.4). Allerdings handelt es sich dabei um eine relativ schwache Wechselwirkung mit Bindungsaffinität im unteren millimolaren Bereich.^[280] Um eine Verstärkung der Bindung zu erreichen, wurde in den letzten Jahren vermehrt in zwei Richtungen geforscht. Ein Ansatzpunkt ist die Entwicklung neuer sLe^x -Mimetika (Kohlenhydratmimetika), die durch korrekte Anordnung bekannter Bindungsepitope den natürlichen Liganden imitieren, zusätzlich aber im Vergleich dazu verbesserte Eigenschaften in Bezug auf Affinität, Stabilität, Spezifität und Bioverfügbarkeit besitzen.^[141,157,281] Die zweite Möglichkeit sieht eine Affinitätssteigerung durch eine multivalente Präsentation von Kohlenhydratstrukturen vor. In einer Reihe unterschiedlicher Studien konnte durch Verwendung von Polymeren^[160,282], Dendrimeren^[166,283] und Nanopartikeln^[161,284] als Template beeindruckende Ergebnisse erzielt werden, sodass die Kombination aus beiden Ansätzen einen vielversprechenden Ausgangspunkt für die Entwicklung potenzieller Selektin-Inhibitoren darstellt.

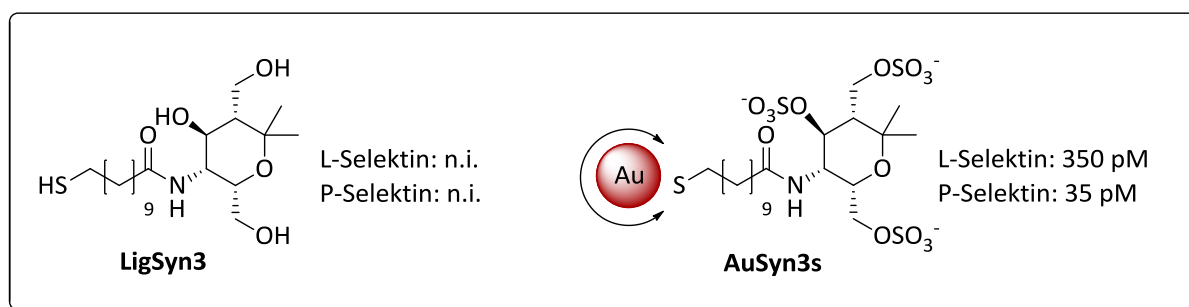


Abb. 91: Vergleich der IC_{50} -Werte des freien Liganden LigSyn3 und der 6 nm großen mit sulfatierten Liganden Syn3 funktionalisierten Goldkolloiden. (n.i. = nicht inhibierend). Die Konzentrationsangabe bei den Nanopartikeln bezieht sich auf die Partikelkonzentration, nicht die Ligandkonzentration.^[212]

Vorherige Arbeiten^[212,213] in einem Kooperationsprojekt der Arbeitsgruppen *Dernedde / Tauber, Reißig* und *Schlecht* konnten zeigen, dass sulfatierte Aminopyrane als mögliche

Epitope für die multivalente Präsentation auf Goldkolloide durch Immobilisierung anhand Amidbindungsknüpfung an der endständig funktionalisierten Thiolhülle sehr gut geeignet sind und Bindungskonstanten zu den verschiedenen Selektintypen im picomolaren Bereich ermöglichen. Zudem wird durch die Nutzung der von Kohlenhydrat-ähnlichen Verbindungen eigenen Eigenschaft, funktionelle Gruppen geometrisch definiert zu präsentieren, die Bindung zu Selektinen zusätzlich positiv beeinflusst. So zeigt z.B. das Aminopyran ((2S,3R,4S,5S)-3-Amino-4-hydroxy-6,6-dimethyltetrahydro-2H-pyran-2,5-diyl)-dimethanol (*Syn3*) (Abb. 91) die bisher beste Selektivität zwischen den einzelnen Selektinen mit Bindungskonstanten von 35 pM (P-Selektin) und 350 pM (L-Selektin), während es bei monovalenter Präsentation keine messbare Bindungsaffinität zu den Selektinen aufweist.^[212,213]

Um neue Informationen über die starke Bindung multivalent präsentierter polysulfatierter Kohlenhydratmimetika an die verschiedenen Selektintypen zu erhalten und deren Bindungseigenschaften durch Optimierung der Anzahl, geometrische Anordnung und Flexibilität der benötigten Sulfatgruppen weiter zu untersuchen, werden im folgenden Abschnitt neue Ansätze zur Verbesserung der Partikelsynthese, der Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika und Untersuchungen weiterer Faktoren zum Einfluss auf die Bindungseigenschaften vorgestellt. Zusätzlich wird näher auf die Ergebnisse erster *in vitro* Untersuchungen zur Biokompatibilität der erhaltenen Konjugate eingegangen.

3.5.1 Immobilisierung potenzieller selektininhibierender Kohlenhydratmimetika auf Goldnanopartikel

Die Synthese der für die im Kooperationsprojekt verwendeten Aminopyrane erfolgt dabei nach einer im Arbeitskreis *Reißig* entwickelten mehrstufigen stereoselektiven Methode, die auf einer Lewis-Säure induzierten Umlagerungen von 1,2-Oxazinen basiert.^[285] Dabei werden die benötigten 1,2-Oxazine (Abb. 92 C) durch eine stereoselektive [3+3]-Cyclisierung eines lithiierten Alkoxyallens (Abb. 92 B) und eines chiralen Aldonitrons (Abb. 92 A) erhalten und anschließend durch Behandlung mit einer Lewis-Säure in einer aldolartigen Cyclisierung in das bityklische Produkt D überführt. Durch Reduktion der

3 Ergebnisse und Diskussion

zentralen Carbonyleinheit, sowie hydrogenolytische Spaltung der N-O-Bindung wird abschließend das Aminopyran erhalten.

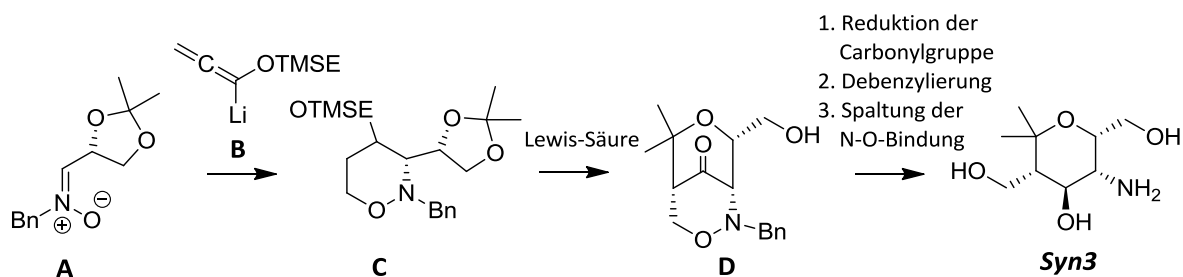


Abb. 92: Schematische Darstellung der stereoselektiven Synthese aus 1,2-Oxazin zugänglichen Kohlenhydratmimetika am repräsentativen Beispiel des Aminopyrans *Syn3* (nach ^[286]).

Mithilfe verschieden konfigurierter und substituierter 1,2-Oxazine wurde anhand dieser Sequenz von *Joana Salta* und *Maja Kandziora* aus dem Arbeitskreis *Reißig* eine Reihe von Aminopyranderivaten (Abb. 93 b)) synthetisiert und für die Immobilisierung auf den Nanopartikeln zur Verfügung gestellt. Diese hydroxylierten Aminopyranderivate unterscheiden sich neben der Anzahl ihrer Hydroxygruppen (AP01), auch in ihrer funktionellen Gruppe am C-1. So wird die geminale Dimethylgruppe im *Syn3* durch eine hydrophobe Phenylgruppe im Aminopyran AP03 und einer Ethylgruppe im Aminopyran AP05 ersetzt. AP02 und AP04 sind die entsprechenden Diastereomere und wurden zur Untersuchung des Einflusses der räumlichen Orientierung der Sulfatgruppen auf die Partikeloberfläche immobilisiert.

Als zusätzliche Epitope für die Immobilisierung auf der Nanopartikeloberfläche wurden die beiden käuflich erworbenen Aminosucker *D*-Mannosamin (Manna) und *D*-Glucosamin (Gluca) getestet. Mannosamin und Glucosamin besitzen im Unterschied zu den bisher angesprochenen Aminopyranen eine Hydroxymethylgruppe am C-1 und werden aufgrund ihrer einfachen Zugänglichkeit als Testsubstanzen für die Immobilisierung der Liganden verwendet. Außerdem konnten 2004 *Pochechueva et al.* anhand *in vitro* und *in vivo* Tests nachweisen, dass monomere und multivalent präsentierte Mannosid-Derivate als $s\text{Le}^{\text{X}}$ -Mimetika sehr gut geeignet sind und P-Selektin ab einer Konzentration von $0,6 \mu\text{M}$ blockieren können. ^[287]

3 Ergebnisse und Diskussion

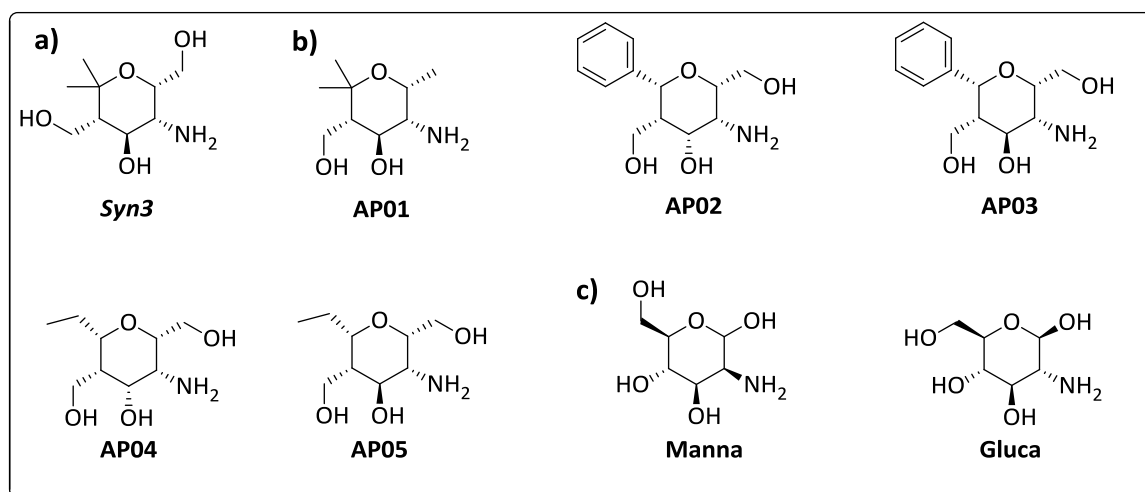


Abb. 93: Aufzählung der als Kohlenhydratmimetika verwendeten Aminopyranosen. a) Das aus vorherigen Arbeiten bekannte Aminopyran ((2S,3R,4S,5S)-3-Amino-4-hydroxy-6,6-dimethyltetrahydro-2H-pyran-2,5-diol)-dimethanol (Syn3); b) Die für diese Arbeit zur Verfügung gestellten Aminopyrane und c) Mannosamin (Manna) und Glucosamin (Gluca).

Im Vergleich dazu findet Glucosamin in Kombination mit Chondroitin als natürliches Chondroprotektiva Anwendung in der Behandlung von Osteoarthritis in Hüft- oder Kniegelenken und ihm wird als wichtiger Bestandteil des Tetrasaccharids sLe^X und der Klasse der Glycosaminoglycane eine entzündungshemmende Wirkung durch Wechselwirkung mit L- und P-Selektin nach-gesagt.^[145,288] So konnten Wang *et al.* durch Untersuchungen von Heparin und Heparinoiden (chemisch-modifizierte Heparin-Derivate) in Zelladhäsionassays und Tierversuchen zeigen, dass die entzündungshemmende Wirkung des Heparins *in vivo* hauptsächlich auf dessen Wechselwirkung mit P- und L-Selektin zurückzuführen sind. Hierbei ist die 6-O-Sulfatgruppe des Glucosamins unverzichtbar.^[163]

In Abb. 94 ist die Immobilisierung der freien Liganden am Beispiel des Aminopyrans Syn3 schematisch gezeigt. Dabei handelt es sich um eine in der Arbeitsgruppe etablierte Methode zur Immobilisierung von Kohlenhydratmimetika,^[165,230] die durch Variation der Reaktionsparameter in der vorliegenden Arbeit deutlich verbessert werden konnte. Das Aminopyran, welches zuvor in wenig absolutem DMF gelöst wurde, wurde unter starkem Rühren zur Kolloidlösung gegeben. Nach 30 min wurde dann etwas Triethylamin als Hilfsbase zugegeben und die Reaktionslösung weitere 24 h gerührt. Dabei wurde der Fortschritt der Reaktion per DC-Kontrolle zur Sicherstellung einer möglichst hohen Immobilisierung der freien Liganden überprüft. Noch freie NHS-Aktivester wurden mittels Zugabe von Ethanolamin deaktiviert, um die Stabilität der Nanopartikel zu erhöhen.

3 Ergebnisse und Diskussion

Danach wurde das als Nebenprodukt entstehende NHS gemeinsam mit dem Triethylamin und dem nicht gebundenen Aminopyran mittels Dialyse gegen DMF entfernt. Die erhaltene klare, rote Lösung war in absolutem DMF und durch Lagerung im Kühlschrank bei 4 °C mehrere Wochen stabil und eine Agglomeration der Partikel war nicht sichtbar. Ein einfaches Entfernen des Lösungsmittels mit anschließendem Lösen in dest. Wasser ist aber nicht möglich, da die zahlreichen Alkoholfunktionen auf der Partikeloberfläche in Wasser zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen neigen. Diese Wasserstoffbrückenbindungen wirken zwischen den Nanopartikeln verbrückend und führen somit zu einer Agglomeration der Partikel. Deshalb wurde analog, wie bei den Cyclodextrin-funktionalisierten Goldnanopartikeln (Kapitel 3.4.1, Abb. 84) bereits beschrieben, ein zusätzlicher Sulfatierungsschritt durchgeführt. Dieser ist notwendig, um eine vollständige Überführung der Nanopartikel ins wässrige Medium und die rückstandslose Entfernung des toxischen DMF zu ermöglichen.

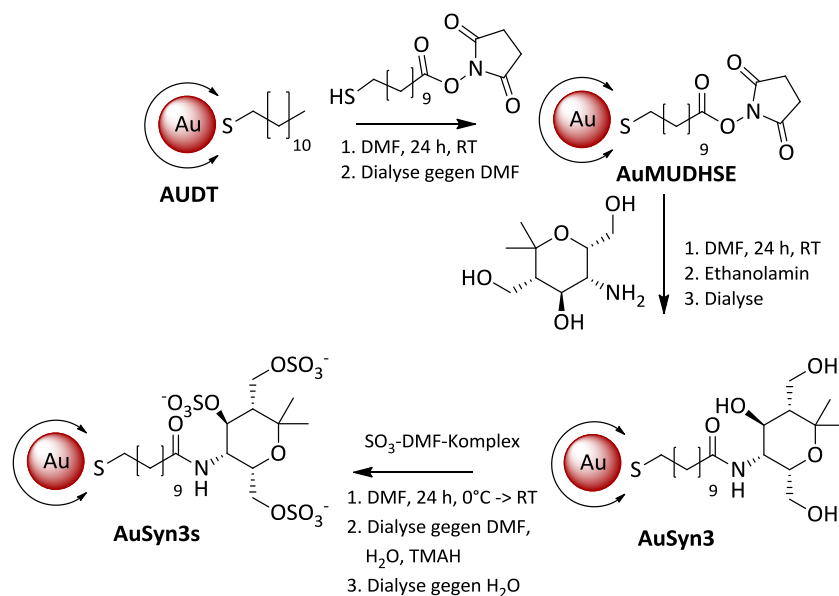


Abb. 94: Schematische Darstellung der mehrstufigen Synthese sulfatierter Aminopyranose-koordinierter Goldnanopartikel am Beispiel von *Syn3*, ausgehend von der Goldkolloid-Synthese gefolgt von der Immobilisierung des Aktivesters durch Ligandenaustauschreaktion und den abschließenden Reaktionen an der Ligandperipherie.

Obwohl sich die erfolgreiche Sulfatierung schon anhand der Änderung der Löslichkeit in Wasser zeigt, wurde diese mittels IR- und ¹H-NMR-Spektren kontrolliert. Der mögliche Einfluss auf die Nanopartikel-Eigenschaften durch die Immobilisierung der Kohlenhydrat-

3 Ergebnisse und Diskussion

mimetika und die Überführung der Nanopartikel ins wässrige Medium wurde mittels TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen und Absorptionsspektren untersucht. Es zeigte sich, dass sich weder die Partikelgröße, die Größendispersität, noch der Agglomerationsgrad während den verschiedenen Reaktionsschritten wesentlich verändert haben.

Frühere Tests in der Arbeitsgruppe zum Bindungsverhalten von zyklischen Aminopyran-koordinierten Goldnanopartikeln haben gezeigt, dass diese im Vergleich P-Selektin besser inhibieren als L-Selektin.^[212] Um eine Aussage über den Einfluss der multivalenten Präsentation der Epitope auf die Selektin-bindende Wirkung der neuen synthetisierten Aminopyranose-funktionalisierten Goldnanopartikel treffen zu können, reicht somit die Untersuchung des Bindungsverhaltens an L-Selektin aus. Zusätzlich wurde nur jeweils ein Diastereomer auf sein Bindungsverhalten getestet, da der Einfluss ihrer unterschiedlichen räumlichen Orientierung der Sulfatgruppen bedingt durch die Änderungen in der Konfiguration bei gleichbleibender Konstitution in dieser Studie vernachlässigbar waren. Die Tests wurden anhand eines von *Sven Enders* aus der Arbeitsgruppe *Dernedde/Tauber* entwickelten kompetitiven SPR-basierenden Bindungsassays durchgeführt (Beschreibung des Versuchsprotokolls siehe Kapitel 6.1.9.1).^[167,283]

Ein Vergleich der aus dem kompetitiven Bindungsassay erhaltenen Absolutwerte für die Inhibierung von L-Selektin ist dabei nicht möglich, da die verschiedenen Aminopyran-koordinierten Goldkolloide aus unterschiedlichen AuMUDHSE-Chargen synthetisiert wurden. Zwar besitzen alle Chargen einen entsprechenden mittleren Partikeldurchmesser und eine ähnliche Größendispersität, aber durch die hohe Sensibilität der Synthese kann es zu leichten Unterschieden, z.B. in der Immobilisierung der Anzahl der Liganden auf die Partikeloberfläche, zwischen den Chargen kommen. Diese Unterschiede können das Ergebnis des Assays stark beeinflussen und ermöglichen nur eine Interpretation der Trends für die L-Selektin-Inhibierung. Vergleicht man die erhaltenen IC_{50} -Werte der verschiedenen Aminopyranose-koordinierten Goldnanopartikel mit dem IC_{50} -Wert von bekannten Selektin-Inhibitoren wie z.B. Heparin ($IC_{50} = 4 \mu M$)^[289] so liegen diese mit Werten im pM-Bereich deutlich darunter, sodass ein positiver Effekt der multivalenten Präsentation der Epitope auf die Inhibierung feststellbar ist. Auch zeigt sich, dass es durch Variation der vermutlich nicht an der Bindung beteiligten Strukturelemente zu einer Änderung des Bindungsverhaltens kommt. So nimmt die inhibierende Wirkung der Epitope im Trend von den zwei Methylgruppen über die Ethylgruppe zur sterisch

3 Ergebnisse und Diskussion

anspruchsvollen hydrophoben Phenylgruppe deutlich ab (Tabelle 4). Dieses Ergebnis steht im Einklang mit vorherigen Ergebnissen, die einen Einfluss der Struktur des immobilisierten Amins und somit der Anordnung der Sulfatgruppen auf die Selektivität und das Bindungsverhalten zeigten.^[165] Ebenso führen sterisch anspruchsvolle Epitope zusätzlich zu einer Verringerung der Anzahl an Epitopen auf der Partikeloberfläche und können somit den Effekt der multivalenten Präsentation negativ beeinflussen.

Tabelle 4: Übersicht der synthetisierten sulfatierten Aminopyran-koord. Goldnanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $d = 7$ nm und ihrer gemessenen IC_{50} -Werte für L-Selektin (n.g. = nicht getestet).

Aminopyran-funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	DLS (d_h / nm)	UV/Vis (λ_{max} / nm)	L-Selektin Inhibierung (IC_{50}) / pM
AuSyn3s	7	11 ± 2	521	350 ^[165]
AuAP01s	7	16 ± 3	522	600
AuAP02s	7	21 ± 5	526	1900
AuAP03s	7	25 ± 6	528	n. g.
AuAP04s	7	22 ± 4	525	1600
AuAP05s	7	31 ± 5	526	n. g.
AuGlucas	7	15 ± 3	523	n. g.
AuMannas	7	19 ± 5	521	n. g.

3.5.1.1 Variation der Partikelgröße und deren Einfluss auf die Stabilität

Die Anzahl der auf der Partikeloberfläche multivalent präsentierten Epitopen hängt neben dem sterischen Anspruch des Ligands selbst auch von der Partikelgröße des Goldkerns und der damit verbundenen, bereitgestellten Oberfläche ab. So besitzen größere Partikel z.B. einen kleineren Krümmungsgrad der Partikeloberfläche und bedingt dadurch können sich die Liganden dichter zusammenlagern. Dies führt dazu, dass mehr Liganden auf die Oberfläche immobilisiert werden können und die Bindungseigenschaften dadurch positiv beeinflusst werden.^[9,290,291] So konnten *Lin et al.*^[292] bei der Untersuchung von Mannose-, Glucose- und Galactose-funktionalisierten Partikeln mit 6 bzw. 20 nm Durchmesser auf ihre Bindungseigenschaften an das Lectin Concanavalin A (Con A) zeigen, dass diese durch die multivalente Präsentation eine 10-fach (6 nm Partikel) bzw. 100-fach (20 nm Partikel)

3 Ergebnisse und Diskussion

stärkere Bindung an Con A als der monomere Referenzligand Methyl- α -D-mannopyranosid besitzen.^[293]

Aber nicht nur wegen des Einflusses auf die Bindungseigenschaften spielt die Größe von Nanopartikeln eine wesentliche Rolle für deren Anwendung im medizinischen Bereich. Auch die Toxizität, die Verteilung und die Aufenthaltsdauer in biologischen Systemen werden durch die Partikelgröße stark beeinflusst.^[294] Um einen möglichen Einfluss der Partikelgröße der Aminopyranose-funktionalisierten Goldnanopartikel auf die Eigenschaften in biologischen Systemen zu untersuchen wurden Aminopyran *Syn3* und Glucosamin auf vier unterschiedlich große Goldnanopartikel immobilisiert und die erhaltenen Nanopartikel charakterisiert. Neben den schon beschriebenen *Syn3*-koordinierten Goldnanopartikeln mit einem mittleren Partikeldurchmesser von 7 nm wurden für die Funktionalisierung ebenfalls MUDA-koordinierte Partikel mit einem mittleren Durchmesser von 10 nm, sowie 14 nm und 25 nm große Citrat-funktionalisierte Goldnanopartikel verwendet.

Die Synthese der 10 nm großen sulfatierten *Syn3*- bzw. Gucoseamin-koord. Nanopartikel erfolgte dabei nach der bereits im vorangegangenen Kapitel beschriebenen Methode durch die Verwendung der Kupplungsreagenzien HBTU, HOBT und der Hilfsbase NEt_3 in DMSO (Abb. 95) mit anschließendem Sulfatierungsschritt der Hydroxygruppen durch den SO_3 -DMF-Komplex. Dabei zeigte sich, dass die Überführung der Partikel in Wasser nur bedingt möglich war und es zu Agglomerationen der Partikel kam (hydrodynamische Durchmesser $d_{h\text{Syn}3} = 41 \pm 9$ nm, $d_{h\text{Gluc}a} = 35 \pm 6$ nm), die unter anderem durch einen Farbwechsel von rot zu violett sichtbar wurden. Gründe dafür können neben einer unvollständigen Sulfatierung des Liganden^[165] auch Probleme bei der HBTU-Kupplung selbst sein. So kann die verwendete Hilfsbase Triethylamin, die im Unterschied zu anderen Protonenscavenger, wie z.B. der Hünig Base (*N,N*-Diisopropylethylamin, DIPEA), eine höhere Nukleophilie besitzt oder die ungeschützten Hydroxygruppen des *Syn3* die Kupplung durch Nebenreaktionen negativ beeinflussen. Aus diesen Gründen wurde eine neue Variante zur Synthesedurchführung entwickelt. Dazu wurde zunächst *Syn3* in Abwesenheit der Partikel mit einem Überschuss von SO_3 -DMF-Komplex in absolutem DMF sulfatiert, mit 1 M NaOH gefällt und anschließend ohne weiteres Aufarbeiten für die Kupplungsreaktion verwendet.

3 Ergebnisse und Diskussion

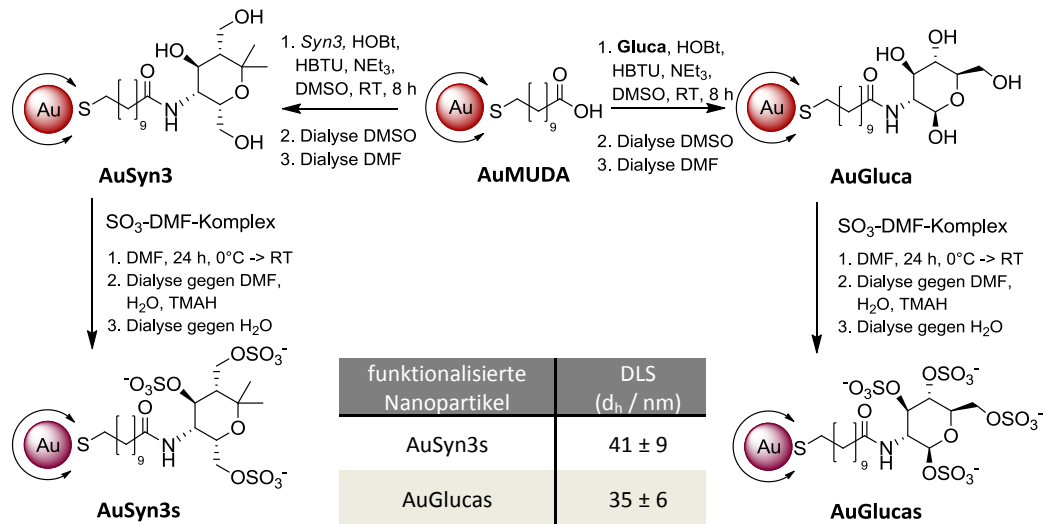


Abb. 95: Reaktionsschema der Darstellung der 10 nm großen sulfatierten Syn3- bzw. Glucosamin-funktionalisierten Goldnanopartikel durch Verwendung der HBTU / HOBT-Kupplungsmethode.

Da es sich bei den Verunreinigungen größtenteils nur um anorganische Salze, wie z.B. NaCl, handelt, stören diese bei der Kupplungsreaktion nicht. Für die Kupplungsreaktion wurden die MUDA-kordinierte Goldkolloide mit HBTU und HOBT in DMSO unter Schutzgas vorgelegt und anschließend Triethylamin gefolgt von *Syn3s* (sulfatiertes *Syn3*) zugegeben und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden die Partikel durch Dialyse gegen DMF aufgereinigt, das DMF am Ölpumpenvakuum entfernt und durch Zugabe von TMAH und Millipore-Wasser wieder gelöst (Abb. 96).

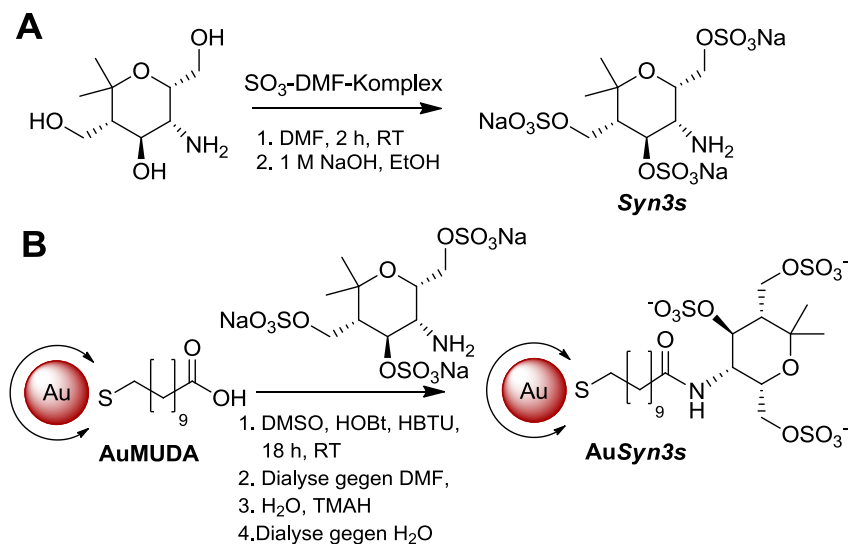


Abb. 96: Schematische Darstellung der Synthese von sulfatiertem Syn3-kordinierten Goldnanopartikeln (B) durch Kupplung mit dem zuvor hergestellten sulfatierten Liganden (A) in einer Stufe.

3 Ergebnisse und Diskussion

Ein Vergleich der UV/Vis-Absorptionsspektren der nach beiden Methoden synthetisierten Partikel (Abb. 97) bestätigt die bereits anhand des Farbwechsels getroffene Aussage, dass nach der zweistufigen Synthese eine Partikelagglomeration stattfinden muss, da es zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums zu längeren Wellenlängen und zu einer Bandenverbreiterung kommt. Dies tritt bei der einstufigen Synthese nicht bzw. nur in geringerem Maß auf (Abb. 97 gepunktete Linien). Die Darstellung der Syn3- und Gluca-koodinierten großen Goldkolloide ($d = 14 \text{ nm}$ bzw. 25 nm) erfolgten über einen alternativen Syntheseverlauf. In vorherigen Arbeiten der Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass ein Ligandenaustausch von Citrat gegen einen *N*-Hydroxysuccinimidester-funktionalisierten Liganden mit Überführung in abs. DMF nicht agglomerationsfrei möglich ist.^[165] Eine analoge Synthesedurchführung wie bei den Dodecanthiol-funktionalisierten Gold-nanopartikeln ist somit nicht möglich.

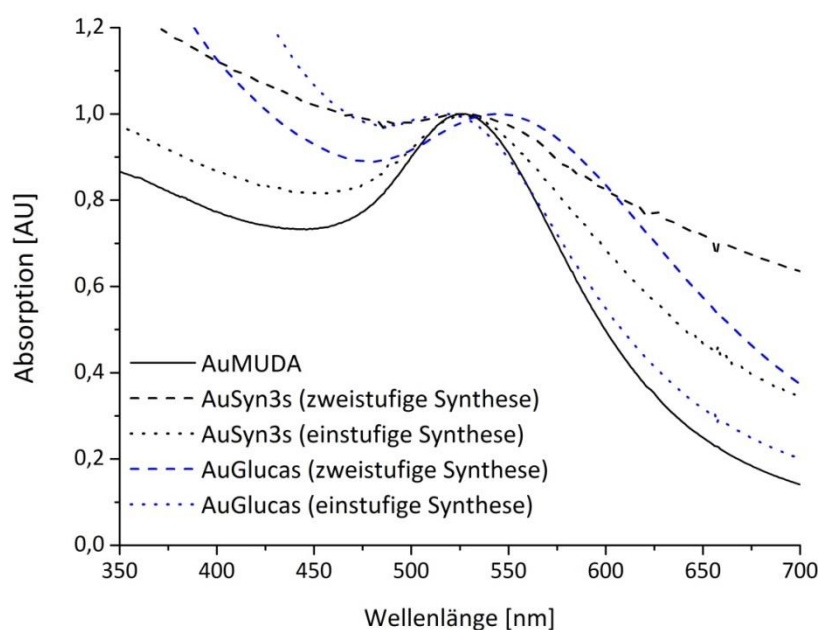


Abb. 97: Vergleich der normierten Absorptionsspektren der beiden Synthesewege mit AuMUDA als Ausgangspartikel.

Deswegen erfolgte die Darstellung der Kohlenhydratmimetika-Goldnanopartikel Konjugate mit Durchmessern von 14 nm bzw. 25 nm nach der in Abb. 98 gezeigten Syntheseroute in sechs Stufen. Ähnlich der in Abschnitt 3.4.2 (Abb. 87) bereits beschriebenen Methodik wurde ausgehend von 11-Bromundecansäure als Edukt durch nukleophile Substitution mit Kaliumthioacetat eine Acetylsulfanylundecansäure

3 Ergebnisse und Diskussion

hergestellt, welche dann durch Umsetzung mit NHS und DCC in den Acetylsulfanylundecansäure-*N*-hydroxysuccinimidester überführt wurde. Der Aktivester wurde in den nächsten Schritten mit Syn3 unter Amidbindungsknüpfung umgesetzt, mit SO₃-DMF-Komplex sulfatiert und ohne weitere Aufarbeitung mit Natronlauge entschützt. Der so hergestellte Ligand wurde im letzten Schritt durch Ligandenaustauschreaktion auf der Goldnanopartikeloberfläche immobilisiert. Dabei besitzen die großen Citrat-funktionalisierten Kolloide den Vorteil, dass sich die Citrat-Moleküle durch Alkanthiole vollständig von der Partikeloberfläche verdrängen lassen. Hierzu wurde der freie Ligand in wenig Wasser gelöst und unter starkem Rühren zu der Lösung der Citrat-koordinierten Goldkolloide gegeben. Nach 72 h wurde die Reaktionslösung auf ca. die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingengt und abschließend gegen Wasser dialysiert, um Verunreinigungen zu entfernen.

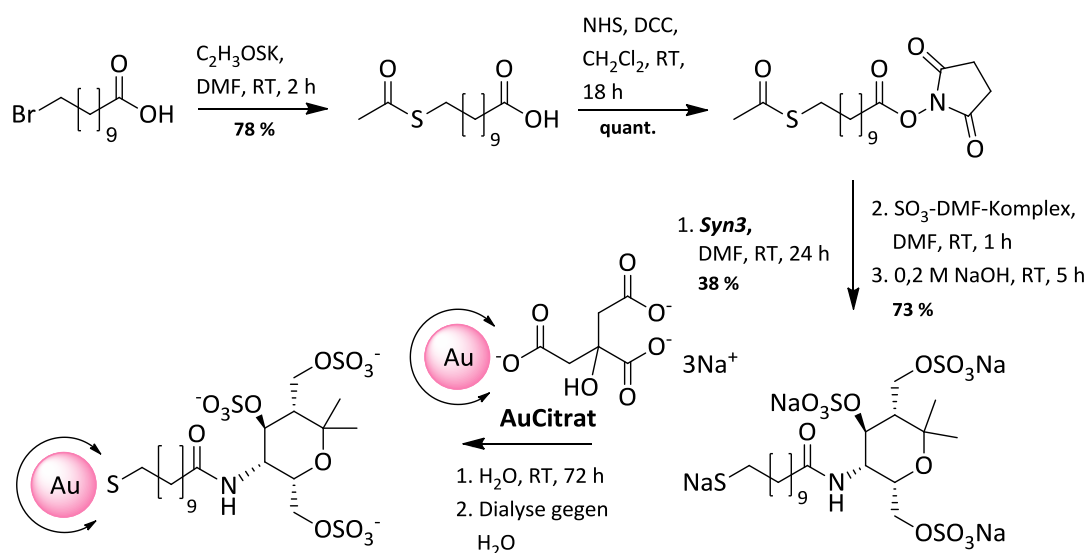


Abb. 98: Schematische Darstellung der Synthese des freien Liganden und dessen Immobilisierung auf Citrat-koordinierten Nanopartikeln.

Die Charakterisierung der erhaltenen Syn3-funktionalisierten Partikel erfolgte durch die in den vorherigen Kapiteln schon angesprochenen Methoden (Tabelle 5). Die erfolgreichen Funktionalisierungen hatten keinen Einfluss auf die Proben.

Tabelle 5: Übersicht der synthetisierten Syn3s- bzw. Glucas-funktionalisierten Goldkolloide mit unterschiedlichen Partikeldurchmessern.

Aminopyran-funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	DLS (d _h / nm)	UV/Vis (λ _{max} / nm)
AuSyn3s	10	17 ± 4	526
AuSyn3s	14	21 ± 5	529
AuSyn3s	25	-	535
AuGlucas	10	16 ± 3	526
AuGlucas	14	20 ± 6	528
AuGlucas	25	33 ± 8	535

3.5.1.2 Variation der Linkerkettenlänge und deren Einfluss auf die Partikelstabilität

Mithilfe des Aminozuckers Gluca wurden weitere Untersuchungen zum Einfluss der Kettenlänge auf die Stabilität der Partikel und der Präsentation der Eptiope durchgeführt. Dazu wurde die Kettenlänge von 11 C-Atomen (MUDA), über 6 (MHA) zu 3 (MPA) verkürzt. Analog der in Abb. 96 für Syn3s beschriebenen Vorgehensweise wurde Glucas auf MHA- bzw. MPA- koordinierten Goldnanopartikeln immobilisiert und in Millipore-Wasser überführt. Die erhaltenen klaren, roten Kolloidlösungen waren zwar einige Wochen optisch stabil, die Agglomerationsanfälligkeit nahm aber bei den kürzeren Ketten stark zu.

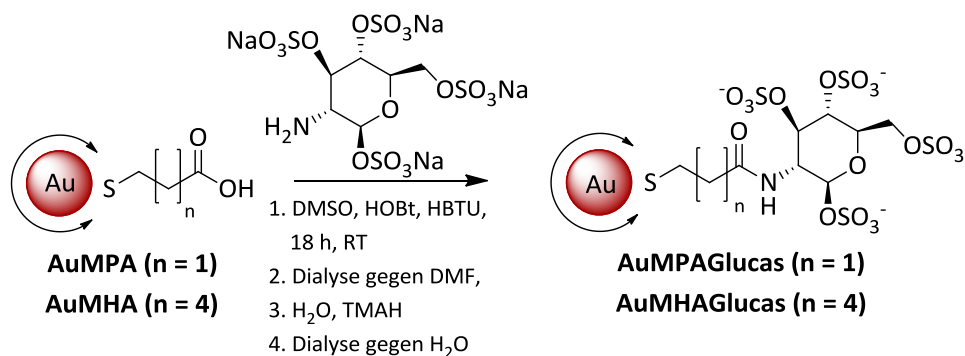


Abb. 99: Schematische Darstellung der Synthese der Glucas-funktionalisierten Goldnanopartikel mit unterschiedlichen Linkerlängen.

Auch wurden erste Versuche durchgeführt, um Glucas über Dithiocarbamat (DTC), einen sogenannten O-Linker, auf die Partikeloberfläche zu immobilisieren. Das Interesse an DTC als mögliche Ankergruppe für metallische Nanopartikel ist in den letzten Jahren wegen

3 Ergebnisse und Diskussion

seiner zweizähligen Natur und der einfachen Eintopf-Synthese stetig gewachsen. Ähnlich wie beim zweizähligen Linker DHLA erfolgt die Bindung auf der Partikeloberfläche durch die zwei Thiolgruppen. Dies führt im Vergleich zu einfachen Alkanthiolen zu einer stärkeren Bindung, sowie einer höheren Kompatibilität mit unterschiedlichen Reaktionsbedingungen.^[214] Dadurch stellt die DTC-Ankergruppe eine weitere vielversprechende Variation der multivalenten Präsentation der Kohlenhydratmimetika dar. Die Synthese der DTC-Liganden erfolgte in der vorliegenden Arbeit durch Kondensation von Glucas mit CS₂ unter alkalischen Bedingungen. Dazu wurde 1 Äq. CS₂ mit der adäquaten Menge Glucas und Triethylamin in Wasser gemischt und 15 min bei Raumtemperatur im Ultraschallbad behandelt. Der erhaltene DTC-Ligand wurde anschließend durch Ligandenaustauschreaktion auf den Goldnanopartikeln gebunden und durch Dialyse gegen Millipore-Wasser aufgereinigt.

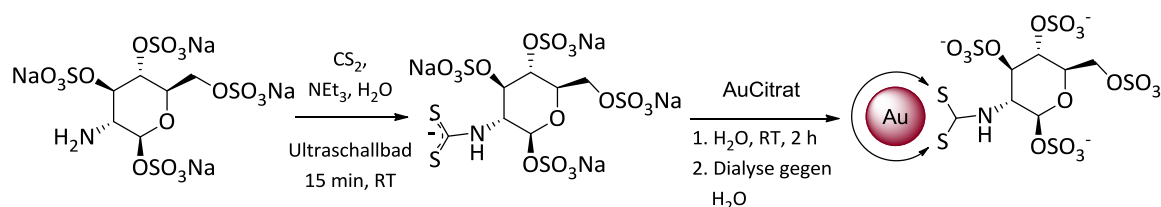


Abb. 100: Schematische Darstellung der Immobilisierung von Glucas auf die Goldkolloide durch Kupplung mit Dithiocarbamat (DTC).

3.5.1.3 Immobilisierung von Aminooxepanen auf Goldnanopartikel

Um den Einfluss der Ringgröße auf die Stabilität der Goldnanopartikelkonjugate zu untersuchen, wurde neben den verschiedenen Aminopyranen von Dr. *Léa Bouché* aus dem Arbeitskreis *Reißig* verschiedene Aminooxepane auf analogen Weg synthetisiert und auf ihre mögliche Selektin-Inhibierung getestet.^[295] Dabei zeigte das Monomer des Aminooxepans (2S,3S,4R,5S,6S)-4-Amino-2,6-bis(hydroxymethyl)-7,7-dimethyloxepan-3,5-diol für die Bindung an L- und P-Selektin IC₅₀-Werte im millimolaren Bereich, die durch mehrfache Präsentation des Epitops weiter gesenkt werden konnten (Abb. 101) und sich somit als weitere Epitope für die multivalente Präsentation auf den Goldnanopartikeln eignen.^[296,297]

3 Ergebnisse und Diskussion

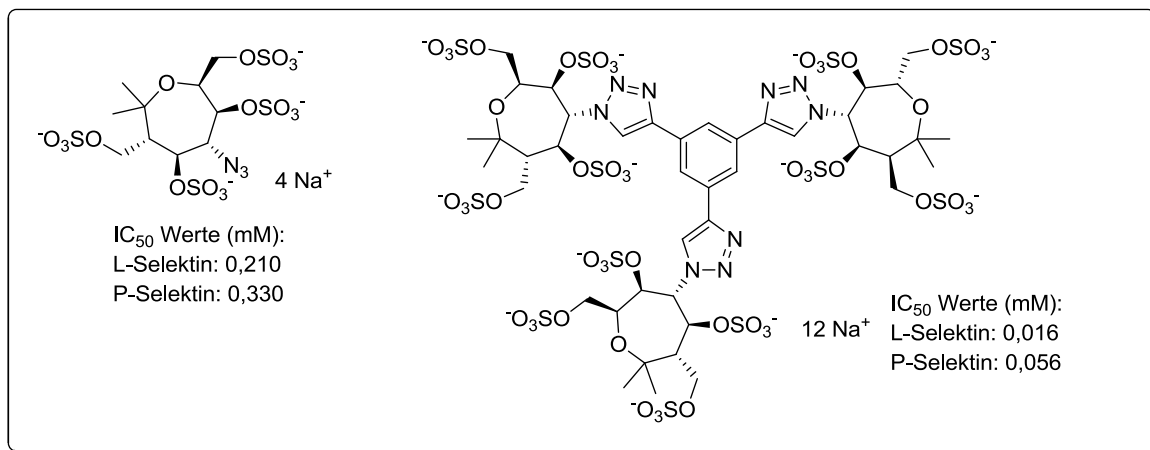


Abb. 101: IC_{50} -Werte eines ausgewählten Aminooxepans und dessen tendenzielle Selektinbindung zur mehrfache Präsentation.^[296,297]

Für diese Studie wurden die drei in Abb. 102 gezeigten vollkommen entschützten Aminooxepane ausgewählt. Dabei unterscheiden sich die Aminooxepane (2R,3S,4R,5S,6S)-4-amino-2,6-bis(hydroxymethyl)-7,7-dimethyl-oxepan-3,5-diol (AO-1) und (2S,3S,4R,5S,6S)-4-Amino-2,6-bis(hydroxymethyl)-7,7-dimethyl-oxepan-3,5-diol (AO-2) lediglich in ihrer Konfiguration voneinander und durch eine zusätzliche Hydroxygruppe am Siebenring von *Syn3*. Im Vergleich dazu besitzt das Aminooxepan (1S,4S,5S,8S,9S)-9-amino-4-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-2,6-dioxabicyclo-[3,2,2]nonan-8-ol (AO-3) eine verbrückende Esterbindung, die eine Erhöhung des sterischen Anspruchs durch den Bizyklus und eine Verringerung der zur Verfügung stehenden Hydroxygruppen zur Folge hat.

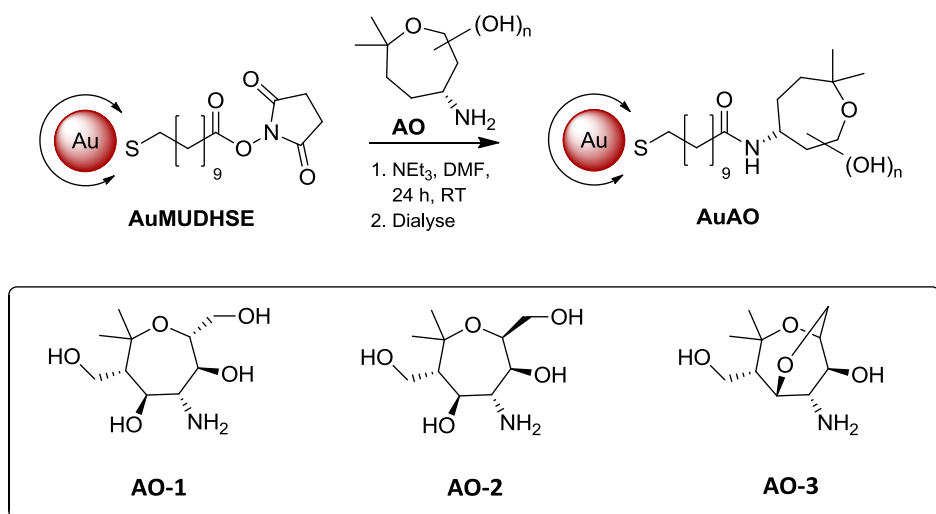


Abb. 102: Immobilisierung der verschiedenen Aminooxepane auf die Partikeloberfläche durch Ausbildung einer Amidbindung.

3 Ergebnisse und Diskussion

Die Immobilisierung der Aminooxepane erfolgte wie zuvor bei den Aminopyranen beschrieben unter Ausbildung einer Amidbindung an die Aktivester funktionalisierten Goldnanopartikel (Abb. 102). Für alle drei Aminooxepane wurden klare rote Lösungen erhalten. Die Charakterisierung der Aminooxepan funktionalisierten Nanopartikel ergab eine leichte Zunahme der hydrodynamischen Radien von 13 nm (AuMUDHSE $d_h = 11 \pm 2$ nm) auf 23 ± 5 nm (AuAO-1) und 20 ± 5 nm (AuAO-2), sowie eine größere Zunahme für AuAO-3 auf 60 ± 16 nm, die durch den höheren sterischen Anspruch der Epitope erklärt werden kann. Dieses Ergebnis wird durch TEM Aufnahmen (Anhang Abb. 16) und UV/Vis-Spektren bestätigt, anhand derer keine Agglomerationen sichtbar sind.

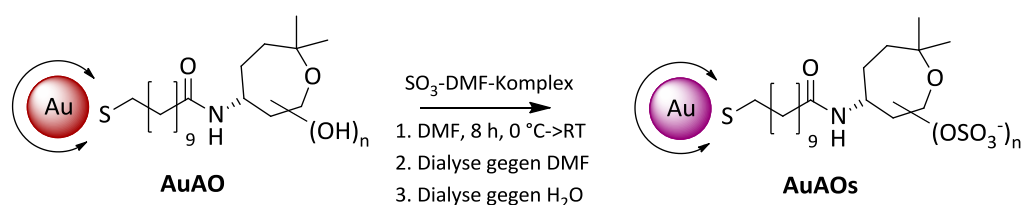


Abb. 103: Schematische Darstellung des Sulfatierungsschritts der verschiedenen Aminooxepane

Eine Überführung der Aminooxepan-koordinierten Goldnanopartikel ins wässrige Medium sollte erneut durch Sulfatierung der Hydroxygruppen erfolgen (Abb. 103). Dies ist nur bedingt möglich. Im Falle der Aminooxepane funktionalisierten Goldnanopartikel AuAO-1 und AuAO-2 nimmt die Stabilität der Partikel durch die Sulfatierung und Überführung sehr stark ab. Die Sulfatierung mit dem Aminooxepan AO-3 gelang allerdings nicht und es kam zur Aggregation der Partikel. Dabei zeigt das ¹H-NMR-Spektrum eine Zersetzung des erhaltenen Nanopartikel-Ligand-Konjugats durch Öffnung der Etherbrücke von AO-3 an, was durch die Reaktionsbedingungen begründet werden kann. Deshalb wurden keine weiteren Untersuchungen mit dem kompetitiven Bindungsassay von den Aminooxepan-koordinierten Goldnanopartikeln durchgeführt.

3.5.2 Variation des Partikelkerns

Neben der multivalenten Präsentation neuer Strukturen mit potenzieller inhibierender Wirkung auf die Selektinbindung durch Goldnanopartikel, lag das Augenmerk der vorliegenden Arbeit auch auf der Verwendung weiterer Partikelkerne, wie z.B. Silbernanopartikeln, modifizierten Quantum Dots und Eisenoxidnanopartikeln. Da die

3 Ergebnisse und Diskussion

Selektin-bindende Wirkung hauptsächlich auf der Struktur der Ligandenhülle und nicht auf dem Partikelkern zurückzuführen ist, sollte ein Austausch des Kernmaterials ohne Verlust der potenziellen Selektinbindung möglich sein. Durch Verwendung anderer Partikelarten können deren spezifische Attribute mit den guten Bindungseigenschaften der Liganden verwendet werden.

3.5.2.1 Silbernanopartikel

Silbernanopartikel gehören ebenfalls zur Klasse der Edelmetallnanopartikel, besitzen aber im Unterschied zu Goldnanopartikeln weitere vielversprechende antibakterielle und zellschützende Eigenschaften, die für eine Verwendung in biologischen Systemen von großem Interesse sind. Bereits 2004 veröffentlichten *Zhang et al.*^[298] Arbeiten zur selektiven Detektion des Lectins Con A durch Dextran funktionalisierte Silbernanopartikel und vor Kurzem zeigten *Ramtenki et al.*, dass Con A auch durch einfache Strukturen wie Mannose- und Glucose-funktionalisierten Silbernanopartikeln selektiv gebunden und detektiert werden kann.^[299] Ausgehend von diesen Arbeiten und der einfachen Handhabbarkeit wurden die in Kapitel 3.2.2 vorgestellten Aktivester-kordinierten Silbernanopartikel (AgMUDHSE; Abb. 61) für erste Versuche zum Austausch des Partikelkerns verwendet.

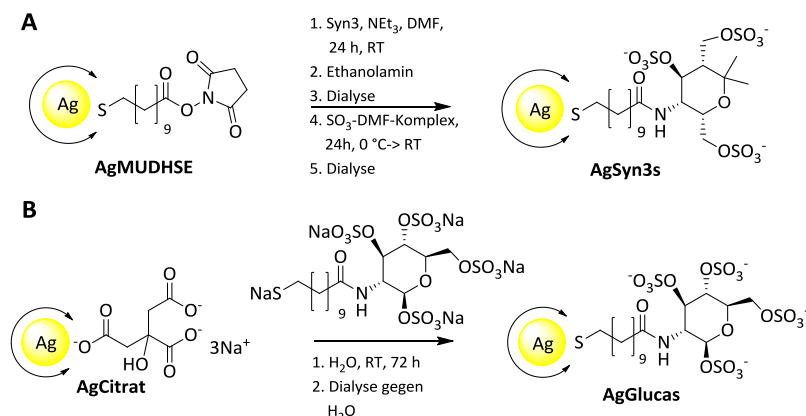


Abb. 104: Schematische Darstellung der Synthese von sulfatierten Aminopyran-kordinierten Silbernanopartikeln mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $d = 5$ nm am Beispiel von *Syn3* (A) und durch Ligandenaustauschreaktion am Beispiel von *Glucas* (B).

Analog zur Immobilisierung auf der Goldnanopartikeloberfläche erfolgte deshalb die Umsetzung von *Syn3* und Glucosamin mit den funktionalisierten Silbernanopartikeln in absolutem DMF unter Schutzgasatmosphäre mit anschließendem Sulfatierungsschritt in zwei Stufen (Abb. 104A). Durch Umsetzung des zuvor schon für einen Ligandenaustausch mit AuCitrat verwendeten Glucosamin-Liganden mit den Citrat-koordinierten Silbernanopartikel konnte auf analoge Weise auch eine Variation der Partikelgröße erhalten werden (Abb. 104B). Die so hergestellten 5 nm bzw. 17 nm großen funktionalisierten Silbernanopartikel wurden wie bereits bei den Goldnanopartikeln beschrieben charakterisiert.

3.5.2.2 CdTe/ZnS- Quantum Dots

Im Vergleich zu herkömmlichen organischen Farbstoffen besitzen kolloidale Halbleiter-QDots einzigartige optische Eigenschaften wie eine durch die Größe abstimmbare Photolumineszenz, hohen Quantenausbeuten, ausgezeichnete Photostabilität und breite Anregungsspektren. Dadurch sind sie organischen Fluorophoren deutlich überlegen. Diese Überlegenheit kombiniert mit Fortschritten in der Synthese, der Wasserlöslichkeit und neuen Biokonjugationsmethoden haben die QDots für Anwendungen in biologischen Systemen attraktiver gemacht.^[300] Wegen ihrer optischen Eigenschaften wurden deshalb die aus der Synthese erhaltenen CdTe / ZnS-QDots als weiteres Partikelmaterial gewählt. Bereits im einführenden Kapitel zur Funktionalisierung der Nanopartikel (siehe Kapitel 3.2.3.2) konnte gezeigt werden, dass die aus dem Syntheseansatz mit organischem Lösungsmittel erhaltenen QDots trotz ihrer hohen Quantenausbeuten für die Immobilisierung von möglichen Selektin-bindenden Liganden nicht geeignet sind, da ein vollständiger Ligandenaustausch mit dem Aktivester MUDHSE nicht möglich war. Versuche zu Ligandenaustauschreaktionen mit den vollständigen Liganden LigSyn3s und LigGlucas ergaben einen vollständigen Verlust der Quantenausbeute und eine Agglomeration der Partikel, weswegen für die erstmalige multivalente Präsentation der vorgestellten Kohlenhydratmimetika durch QDots unterschiedliche wasserlösliche CdTe/ZnS-Partikel aus dem Syntheseansatz im wässrigen Medium gewählt wurden. Diese in Abb. 105 gezeigten QDots unterscheiden sich zum einen in der Partikelgröße und somit auch im Emissionsmaximum, zum anderen aber auch in der Kettenlänge der Linker.

3 Ergebnisse und Diskussion



Abb. 105: Aufnahme unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) der in diesem Projekt verwendeten Qdots mit MUDA-Hülle (grün), MHA-Hülle (gelb), MPA-Hülle (orange).

Dadurch ist eine Vielzahl an Variationen der Partikel möglich und somit können verschiedene Einflüsse auf die Selektinbindung überprüft werden. Bei den drei in Abb. 105 gezeigten Partikelarten handelt es sich um grün fluoreszierende MUDA-kordinierte QDots mit einem Partikeldurchmesser von $d = 2,5 \text{ nm}$, gelb fluoreszierende MHA-kordinierte QDots ($d = 3,5 \text{ nm}$) und orange fluoreszierende MPA-kordinierte QDots ($d = 4 \text{ nm}$). Alle drei Partikel sind mit einer gegen die Freisetzung von Cd^{2+} -Ionen schützenden ZnS-Hülle versehen. Zur Überprüfung, ob CdTe/ZnS-QDots für Untersuchungen zur Selektin-Bindung verwendet werden können, wurden die Mercaptocarbonsäure-kordinierten CdTe/ZnS-QDots mit dem bereits erwähnten SPR-Bindungsassay getestet. Dazu wurden die Lösungen stark verdünnt und auf $\text{pH} = 8$ eingestellt.

Tabelle 6: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse aus dem SPR-Bindungsassay für die Mercaptocarbonsäure-koord. QDots.

Mercaptocarbonsäure-koord. QDots	TEM (d / nm)	DLS (d_h / nm)	UV/Vis (λ_{max} / nm)	L-Selektin Inhibierung (IC_{50})
CdTe/ZnS/MPA	4	6 ± 1	562	80 nM
CdTe/ZnS/MHA	3,5	5 ± 1	485	637 nM
CdTe/ZnS/MUDA	2,5	4 ± 1	433	790 nM
AuMUDA	7	9 ± 2	523	$100 \text{ pM}^{[165]}$

Es ergibt sich, dass die QDots IC_{50} -Werte im nM-Bereich erzielen, diese aber im Vergleich zu MUDA-kordinierten Goldnanopartikeln mit ca. 800 nmol / L drei Größenordnungen

3 Ergebnisse und Diskussion

schwächer sind. Zusätzlich konnte ein größenabhängiger Einfluss auf die inhibierende Wirkung gezeigt werden. Je kleiner die Mercaptocarbonsäure-koodinierten CdTe/ZnS-QDots werden, desto höher wird der IC₅₀-Wert und somit die Bindung schwächer. Diese Unterschiede können mit einer geringeren Anzahl der freien Carboxylat-Gruppen auf der Partikeloberfläche der kleineren Partikel begründet werden.

Standardmäßig erfolgt die Immobilisierung von Liganden auf Mercaptocarbonsäure-koodinierten QDots in wässrigem Medium durch die Verwendung der EDC/NHS-Methode. Im Unterschied zu den meisten literaturbekannten Kopplungsvorschriften für QDots wurden in der vorliegenden Arbeit das NHS für eine verbesserte Kopplungseffizienz durch sulfo-NHS ausgetauscht. Sulfo-NHS ist ein wasserlösliches Analogon von NHS und verleiht dem entstehenden Aktivester eine bessere Löslichkeit in Wasser, während diese durch die Aktivierung mit NHS abnehmen würde.^[301] Zur Darstellung der Kohlenhydratmimetika-QDots Konjugate wurden zunächst die QDots in entgastem Wasser 30 min bei Raumtemperatur mit EDC und sulfo-NHS aktiviert, bevor der Ligand zugegeben und die Reaktionsmischung 2 h im Dunkeln gerührt wurde (Abb. 106). Die beste Kupplungseffizienz wurde mit dem Verhältnis 1 : 10000 : 25000 (CdTe/ZnS : EDC : sulfo-NHS) erhalten. Im Anschluss erfolgte die Aufreinigung der Partikel durch Dialyse gegen Millipore-Wasser.

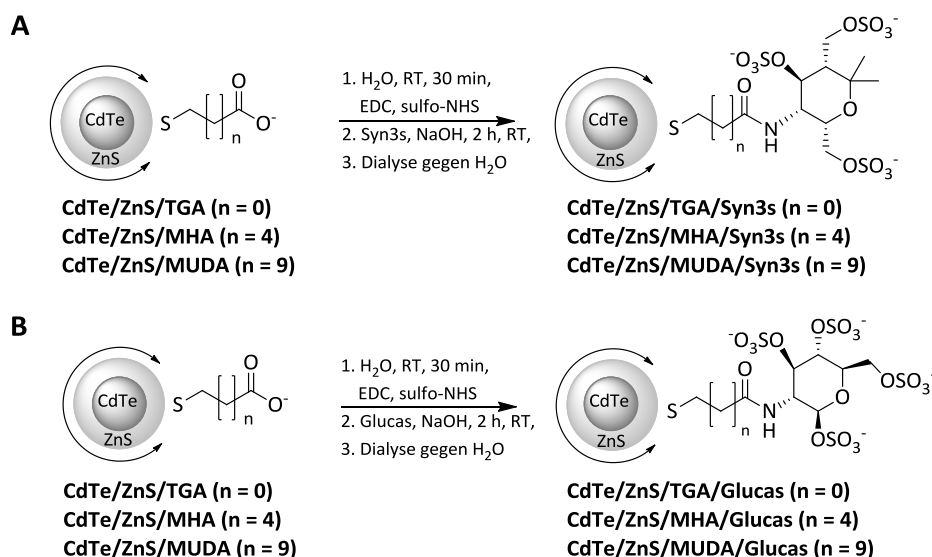


Abb. 106: Schematische Darstellung der Immobilisierung von Syn3s (A) und Glucas (B) auf die verschiedenen Mercaptocarbonsäure-koodinierten QDots durch EDC / sulfo-NHS-Methode.

3 Ergebnisse und Diskussion

Um das literaturbekannte Problem der möglichen Abnahme der Quantenausbeute durch den Dialyse-Reinigungsschritt so gering wie möglich zu halten, wurde der Dialyseschlauch aus regenerierter Cellulose gegen einen Dialyseschlauch aus Celluloseester ausgetauscht. Die erfolgreiche Kupplung der Liganden wurde durch die Signale der neu gebildeten Amidbindung in den NMR-Spektren und den Amidbanden im IR-Spektrum nachgewiesen. Die Kontrolle der Einflüsse der Kupplungsreaktion auf den Agglomerationsgrad der Partikel erfolgte, wie bereits zuvor beschrieben durch Absorptionsspektren und TEM-Aufnahmen (Tabelle 7).

Tabelle 7: Übersicht der in dieser Arbeit hergestellten Aminopyran-kooordinierten CdTe/ZnS-QDots

Aminopyran-funktionalisierte Quantum Dots	TEM (d / nm)	UV/Vis (λ_{\max} / nm)
CdTe/ZnS/MUDA/Syn3s	2,5	443
CdTe/ZnS/MHA/Syn3s	3,5	486
CdTe/ZnS/TGA/Syn3s	5	592
CdTe/ZnS/MUDA/Glucas	2,5	435
CdTe/ZnS/MHA/Glucas	3,5	499
CdTe/ZnS/TGA/Glucas	5	584

3.5.2.3 Magnetische Eisenoxidnanopartikel

Aktuelle Veröffentlichungen zeigen das hohe Potenzial Selektin-bindender funktionalisierter magnetischer Nanopartikel als mögliche MRT-Kontrastmittel zur Darstellung von entzündetem Gewebe. 2014 publizierten *Suzuki et al.*^[302] eine Arbeit zur multivalenten Präsentation von Fucoidan, ein sulfatiertes Polysaccharid, durch Eisenoxidnanopartikel und deren *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen zur Bindung an P-Selektin. Darin konnten sie zeigen, dass Fucoidan-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel sehr selektiv an P-Selektin binden und zur Detektion von Thromben durch MRT verwendet werden können. *Nordmeyer et al.* konnten ebenfalls kürzlich zeigen, dass dendritische Polyglycerolsulfat-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel eine bemerkenswerte Bindung an L-Selektin besitzen und dabei ihre magnetischen Eigenschaften durch die Immobilisierung nicht verlieren.^[303]

3 Ergebnisse und Diskussion

Die Einführung magnetischer Partikelkerne ohne Verlust der Selektin-bindenden Eigenschaften sollte somit für die untersuchten Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel möglich sein. Viele Arbeiten zum Thema Umfunktionalisierung der Eisenoxidnanopartikel zur biologischen Anwendung beschreiben einen direkten Ligandenaustausch der hydrophoben Ölsäure/Oleylamin-Liganden mit den neuen Liganden.^[223,228,304] Dieser Weg ist für die multivalente Präsentation der beiden sulfatierten Epitope Syn3s und Glucas wegen der fehlenden Ankergruppe ungeeignet, weswegen die Immobilisierung über einen anderen literaturbekannten Weg erfolgte. Bei diesem handelt es sich um eine zweistufige Modifikation der Partikeloberfläche, die zunächst die Überführung der hydrophoben Eisenoxidnanopartikel durch einen Ligandenaustausch mit DMSA ins wässrige Medium vorsieht. Im zweiten Schritt erfolgt die Immobilisierung der bioaktiven Liganden durch Reaktion mit den freien funktionellen Gruppen der DMSA-Hülle.^[305]

Die 5-12 nm großen Eisenoxidnanopartikel wurden zunächst wie in Kapitel 3.1.3 beschrieben synthetisiert und mit DMSA ins wässrige Medium überführt (siehe Kapitel 3.2.5). Dann erfolgte die Immobilisierung der sulfatierten Epitope Syn3s und Glucas über konventionelle Carbodiimid-Methode mit EDC / sulfo-NHS durch Ausbildung einer Amidbindung (Abb. 107). Überschüssige freie Liganden wurden durch magnetisches Fällern der Nanopartikel und anschließender Dialyse gegen Millipore-Wasser entfernt (ausführliche Synthesevorschrift siehe Kapitel 6.2.9.1.7).

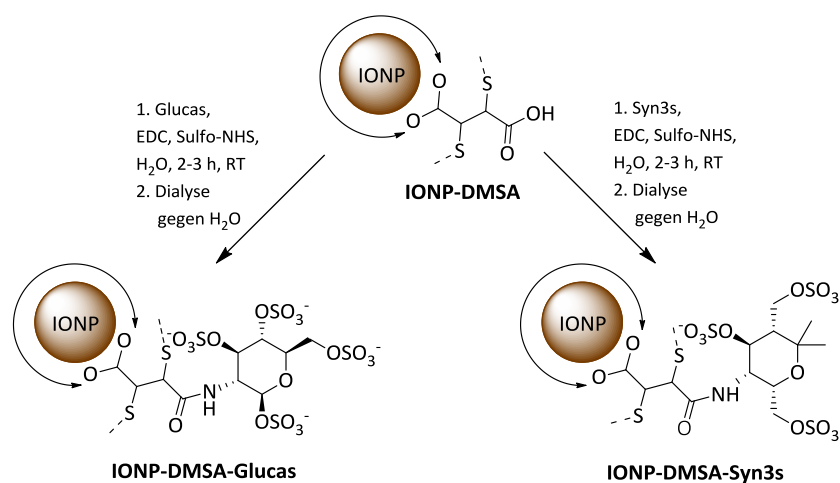


Abb. 107: Schematische Darstellung der multivalenten Präsentation von Glucas und Syn3s auf Eisenoxidnanopartikel.

3 Ergebnisse und Diskussion

Zur Kontrolle des Einflusses der Immobilisierungsreaktion auf die Morphologie und dem Agglomerationsgrad der Partikel, wurden TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen herangezogen. Diese zeigten, dass die Partikel nach der Funktionalisierung gut verteilt ohne Aggregation vorliegen. Der hydrodynamische Durchmesser der Partikel nahm leicht von 16 ± 2 nm (8 nm große IONP-DMSA) auf 23 ± 3 nm (8 nm große IONP-DMSA-Glucas) zu. Wie bereits beim Ligandenaustausch mit DMSA beschrieben erfolgte die Kontrolle der Immobilisierungsreaktion durch den Vergleich der IR-Spektren vor und nach der Reaktion. Ein repräsentatives IR-Spektrum von IONP-DMSA-Glucas ist in Abb. 108 gezeigt (Ergebnisse für IONP-DMSA-Syn3s siehe Kapitel 6.2.9.6.1). Die neu gebildete Amidbindung kann dabei durch die im IR-Spektrum nach der Reaktion auftauchenden Amidbande bei $1633,5 \text{ cm}^{-1}$ bestätigt werden.

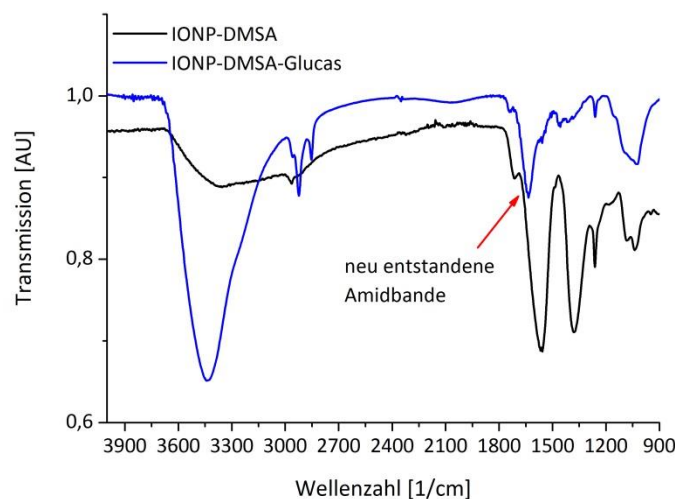


Abb. 108: IR-Spektren der DMSA-funktionalisierten (schwarz) und der Glucas-funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel (blau). Der rote Pfeil zeigt die neu entstandene Amidbande bei $1633,5 \text{ cm}^{-1}$ an.

3.5.3 Untersuchungen zur Biokompatibilität der funktionalisierten Nanopartikel

Für die mögliche Verwendung in biologischen Systemen müssen die erhaltenen Nanopartikel biokompatibel sowie stabil unter physiologischen Bedingungen sein. Die in dieser Arbeit synthetisierten und funktionalisierten Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel Konjugate erfüllen die dafür wichtigen Faktoren. Sie sind in Wasser auch in starker Verdünnung stabil und weisen einen neutralen pH-Wert auf. Auch stellt eine Temperatur zwischen $20 - 40 \text{ °C}$ kein Problem für die Stabilität der Partikel dar. Neben diesen Faktoren

dürfen die funktionalisierten Nanopartikel sich nicht negativ auf die Zellviabilität und die Zellproliferation auswirken. Um diese Punkte und die Biokompatibilität der in dieser Arbeit synthetisierten Nanopartikel zu überprüfen, wurden erste *in vitro* Untersuchungen zur Zytotoxizität und Zellproliferation in einer Kooperation mit dem *Institut für Ernährungswissenschaften der Justus-Liebig Universität Gießen* (Prof. Dr. Silvia Rudloff, Dr. Sabine Kuntz) und dem *Labor für experimentelle Unfallchirurgie des Universitätsklinikums Gießen* (Prof. Dr. Katrin Lips, Dr. Katja Trinkaus und Olga Dakischew) durchgeführt.

Zur Untersuchung der Biokompatibilität wurden Nabelschnur-Endothelzellen (*HUVECs*) verwendet. Diese werden allgemein bei *in vitro* Tests zur Untersuchung von endothelialer Physiologie und pathologischen Bedingungen verwendet.^[306] Es ist bekannt, dass *HUVECs* unter dem Einfluss von proinflammatorischen Cytokinen, Adhäsionsmoleküle hochregulieren, weswegen sie für die Untersuchung von Selektin-Wechselwirkungen ebenfalls geeignet sind. Als zweiten Zelltyp wurden mesenchymale Stammzellen aus humanem Bohrmehl (MSCs) eingesetzt. Diese besitzen wegen ihrer Fähigkeit in unterschiedliche Zellen und Gewebe auszudifferenzieren großes therapeutisches Potenzial.^[307]

3.5.3.1 Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der Kohlenhydratmimetika-koordinierten Edelmetallkolloide

Die zytotoxische und wachstumsinhibierende Wirkung der funktionalisierten Gold- und Silbrenanopartikel wurden an *HUVEC*-Zellen mithilfe eines fluorimetrischen Zellproliferations- und Zytotoxizitätsnachweis Assays untersucht. Dabei wird ausgenutzt, dass der kommerziell erhältliche DNA-interkalierende Farbstoff *SYTOX[®]-Green* nur die Plasmamembran von beschädigten oder abgestorbenen Zellen durchdringen kann. Aufgrund dieser Eigenschaft kann sowohl die Anzahl der lebenden wie auch der toten Zellen in einem Assay bestimmt werden. Neben der schnellen und simultanen Quantifizierbarkeit besitzt der Assay die Vorteile einer hohen Sensitivität und eines starken Fluoreszenzsignals. Alle Untersuchungen wurden von *Dr. Sabine Kuntz* aus dem Institut für Ernährungswissenschaften durchgeführt. Die ausführliche Beschreibung der Testdurchführung ist in Kapitel 6.1.9.2.1.1 gezeigt.

3 Ergebnisse und Diskussion

Frühere Studien^[52] zur Zytotoxizität von funktionalisierten Edelmetallnanopartikeln haben gezeigt, dass diese hauptsächlich von Faktoren des Partikelkerns wie der Größe und Form, aber auch von der Ladung der funktionellen Gruppen und der Stabilität der Liganden abhängig ist. Aus diesem Grund wurden einige dieser Faktoren für die Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel Konjugate untersucht. Zunächst wurde der Einfluss der Liganden auf die 7 nm großen Goldnanopartikel getestet. Der Vitalitätstest zur Bestimmung der Anzahl lebender Zellen ergab bei der Untersuchung eine signifikante Abweichung der Glucas-kooordinierten Goldnanopartikel ab einer Nanopartikelkonzentration von 5 nmol / L (Abb. 109). Bei einer Konzentration von 10 nmol / L waren über 80% der Zellen im Vergleich zur Kontrolle tot. Kürzlich zeigten *Kaur et al.*, dass Glucose-koord. Goldnanopartikel ($d = 7 \pm 2$ nm) bis zu Konzentrationen von 30 μ mol / L keine zytotoxische Wirkung auf *HUVECs* besitzen.^[308] Dieses Ergebnis in Kombination mit dem Vergleich der anderen funktionalisierten Goldnanopartikel, lässt den Schluss zu, dass die zytotoxische Wirkung der Glucas-kooordinierten Goldnanopartikel nicht durch die Liganden hervorgerufen wurde. Vielmehr könnte eine vorherige Agglomeration der Partikel oder andere externe Faktoren das Ergebnis beeinflusst haben. Dies müsste in zukünftigen Tests validiert werden.

Ein Einfluss der Stabilität und Agglomerationsanfälligkeit könnte auch für die zytotoxische und zellproliferationshemmende Wirkung von AuAP02s ab einer Konzentration 1 nmol / L verantwortlich sein. Das Mimetikum mit der Phenylgruppe am C-1 zeigte schon während der Synthese eine schlechtere Stabilität im Vergleich zu Glucas, Syn3s und AP01s. Alle anderen Liganden weisen keine zytotoxische Wirkung bei den getesteten Konzentrationen auf. Dafür wirkten AuSyn3s und AuAO02s ab Konzentrationen von 10 nmol / L wachstumshemmend auf die *HUVECs* (Abb. 109). Es ist literaturbekannt, dass Goldnanopartikel mit einem Durchmesser < 5 nm eine zytotoxische Wirkung hervorrufen, da sie in den Zellkern eindringen und dort mit der DNA wechselwirken können.^[309] Hingegen zeigen größere Goldnanopartikel keine zytotoxische Wirkung. Zur Untersuchung des Einflusses der Partikelgröße auf die Zytotoxizität der Kohlenhydratmimetika-Goldnanopartikel Konjugate wurden 14 nm große Glucas- bzw. Syn3s-kooordinierte Goldnanopartikel getestet. Ein Vergleich der Partikelgrößen ist in Abb. 110 gezeigt. Um den Einfluss der Liganden bei dieser Größe zu bestimmen, wurden ebenfalls 14 nm große AuCitrat und AuMUDS als Kontrollen verwendet.

3 Ergebnisse und Diskussion

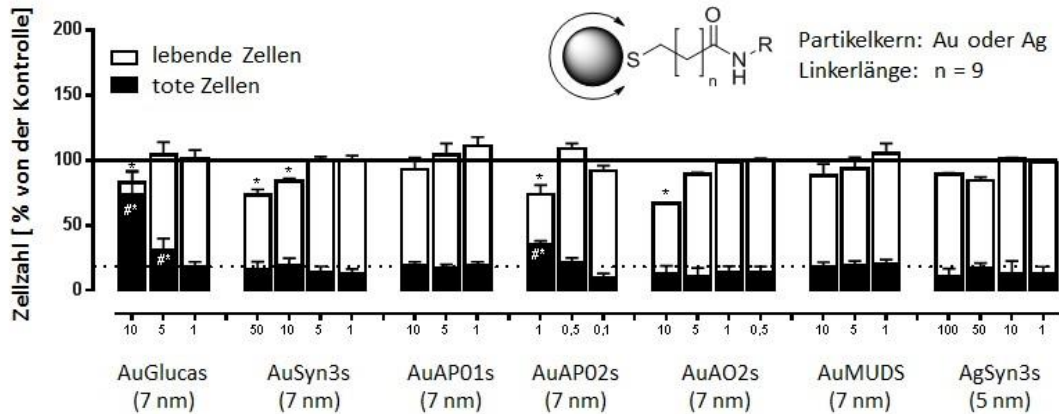


Abb. 109: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der kleinen Kohlenhydratmimetika-kooordinierten Edelmetallnanopartikel; HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen (100, 50, 10, 5 und 1 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX® Green Kernfarbstoff erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als *p < 0,05 (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder ##p < 0,05 (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

Alle 14 nm großen Goldnanopartikel zeigten bei den getesteten Konzentrationen keine Zytotoxizität. Bedingt durch die Synthese der AuCitrat konnten keine höheren Konzentrationen getestet werden. Eine leichte Hemmung der Zellproliferation wiesen AuGlucas und AuMUDS auf, während AuSyn3s keinen Einfluss zeigte. Es ist zu vermuten, dass die Hemmung der Zellproliferation von AuSyn3s konzentrationsabhängig sein könnte. Die Untersuchung der Silbernanopartikel ergab für die 5 nm großen Syn3s-kooordinierten Partikel bei den getesteten Konzentrationen keine signifikante Veränderung der Zellproliferation und Zytotoxizität (Abb. 109). Auch die großen Glucas-funktionalisierten Silbernanopartikel zeigten keine Zytotoxizität (Anhang Abb. 17; Anhang Abb. 21), dafür aber eine inhibierende Wirkung der Zellproliferation ab einer Konzentration von 1 nmol / L. Um eine Aussage über die Zytotoxizität der Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel Konjugate unabhängig von der Zelllinie treffen zu können, wurde *im Labor für experimentelle Unfallchirurgie* von Dr. Katja Trinkaus weitere Tests der funktionalisierten Goldnanopartikel an Zellkulturen durchgeführt. 7 nm und 14 nm große Syn3s-kooordinierte Goldkolloide wurden in Konzentration von 3 nmol / L, 300 pmol / L, 30 pmol / L und 3 pmol / L an primären mesenchymalen Stammzellen aus humanem Bohrmehl getestet.

3 Ergebnisse und Diskussion

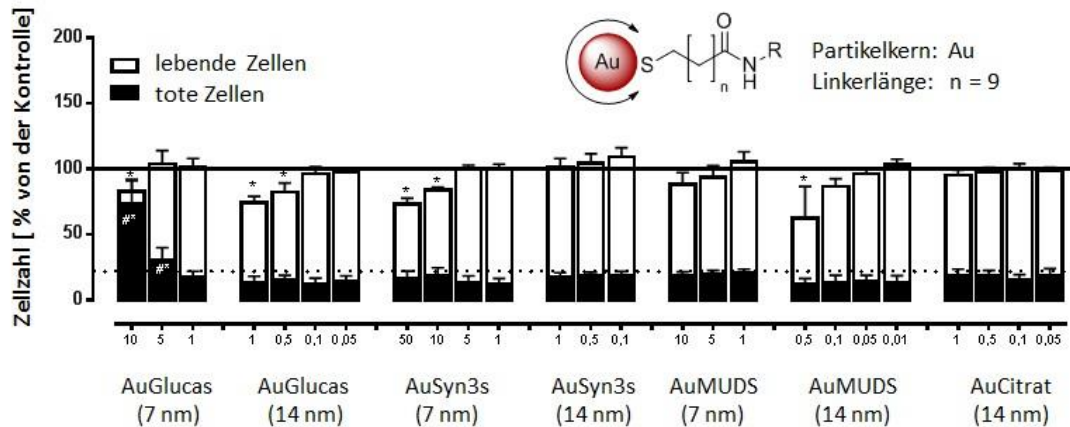


Abb. 110: Vergleich der Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der Glucas- bzw. Syn3s-kooordinierten Goldnanopartikel mit unterschiedlichen Partikelgrößen. AuMUDS und AuCitrat dienten als Kontrollen; *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen (50, 10, 5, 1, 0,5, 0,1, 0,05 und 0,01 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX® Green Kernfarbstoff erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als *p < 0,05 (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #*p < 0,05 (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

Der Beobachtungszeitraum betrug 8 Tage, in denen die Zellen lichtmikroskopisch kontrolliert wurden. In dieser Zeit konnten für die 7 nm großen Syn3s-kooordinierten Goldkolloide keine Anzeichen für Zellunverträglichkeit beobachtet werden. So blieb der Zellrasen intakt, die Zellen blieben adhären und kleine RS-1 Zellen waren vorhanden. Diese entstehen durch asymmetrische Teilung von mesenchymalen Stammzellen und deuten auf eine intakte Zellproliferation hin.^[310] Im Gegensatz dazu zeigten die größeren Partikel bereits bei einer Konzentration von 3 pmol / L nach einer Inkubationsdauer von zwei Tagen erste Anzeichen für Veränderungen (Abb. 111). Es war Zelldebris in Form von kleinen Partikeln, sowohl im Medium als auch auf den Zellen zu bemerken. Auch begannen die Zellen abzuflachen und sich abzulösen. Im Unterschied zu den Untersuchungen an *HUVECs* scheint die toxikologische Wirkung der Kohlenhydrat-mimetika-Nanopartikel-Konjugate in *MSCs* größenabhängig zu sein. Dieses Ergebnis stimmt mit früheren Untersuchungen zur Zytotoxizität der funktionalisierten Nanopartikel überein.^[165,230] In diesen Untersuchungen konnte unabhängig der Zelllinie ebenfalls keine zytotoxische Wirkung der 7 nm großen funktionalisierten Goldkolloide gefunden werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

Die 14 nm großen Syn3s-funktionalisierten Goldkolloide wirkten sich aber negativ auf die Vitalität der MSCs aus.

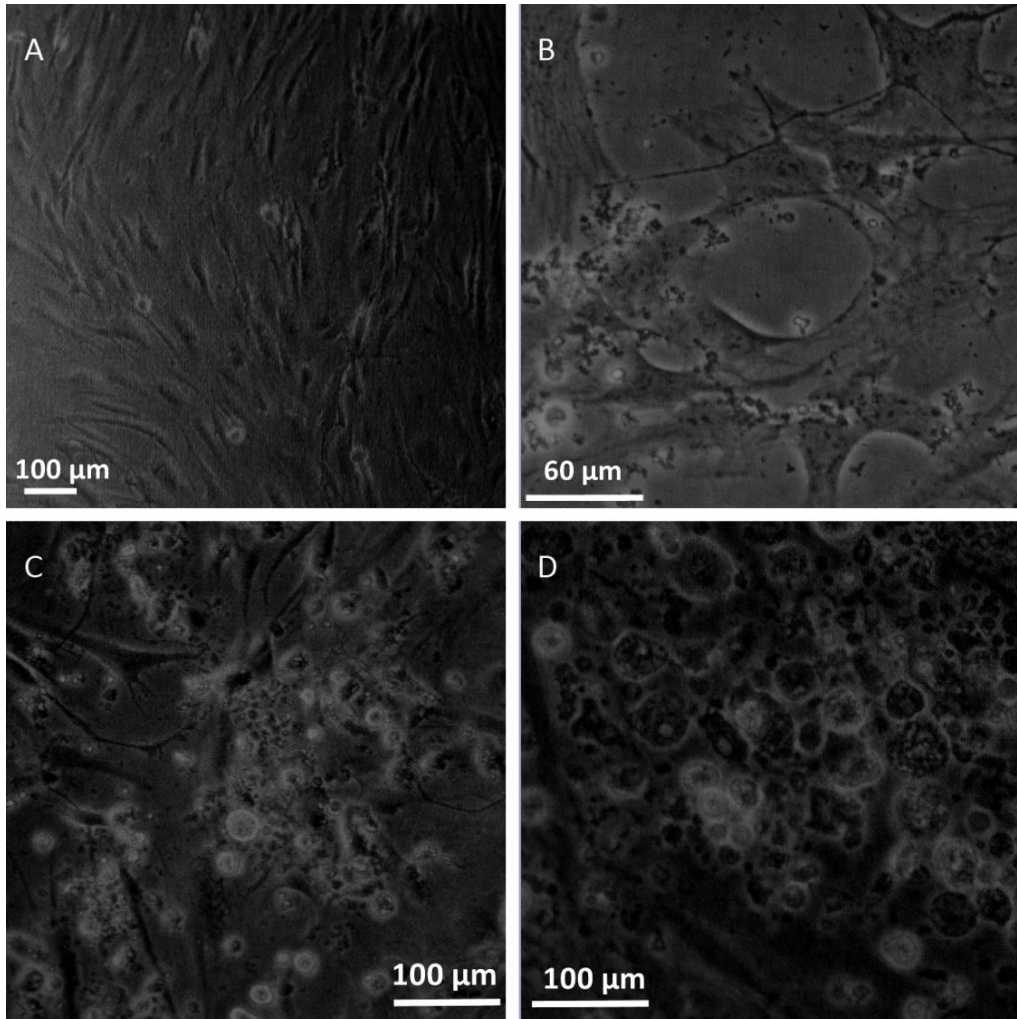


Abb. 111: Lichtmikroskopische Aufnahmen von humanen mesenchymalen Stammzellen nach einer Inkubationsdauer von 2 Tagen mit unterschiedlichen Konzentrationen von AuSyn3s (14 nm); Konzentrationen: Kontrolle $c = 0$ pmol / L (A); $c = 300$ pmol / L (B), $c = 30$ pmol / L (C), $c = 3$ pmol / L (D).

3.5.3.2 Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der Kohlenhydratmimetikafunktionalisierten QDots und Eisenoxidnanopartikel

Dem großen Potenzial der funktionalisierten QDots zur medizinischen Anwendung in biologischen Systemen steht ein starkes Bedenken wegen ihrer möglichen Toxizität gegenüber. Das *in vitro* Toxizitätspotenzial der QDots beruht auf der möglichen Freisetzung von Schwermetallionen (Cd^{2+}), die auf zellulärer Ebene zur Ausbildung von

3 Ergebnisse und Diskussion

reaktiven Sauerstoff-Spezien führen, mit Mitochondrien wechselwirken, die Apoptose auslösen und die DNA beschädigen können. *Chen et al.*^[185] konnten in *in vitro* Tests an HUVECs nachweisen, dass MPA-funktionalisierte CdTe-QDots eine drastische Abnahme der Zellviabilität hervorrufen. *Yan et al.*^[311] und *Wang et al.*^[312] erhielten ähnliche Ergebnisse mit MSA-funktionalisierten CdTe-QDots. Alle drei Forschergruppen, sahen die zytotoxische Wirkung durch die Induzierung von oxidativen Stress und Beschädigungen an der DNA begründet. Andere *in vitro* Studien konnten zeigen, dass eine schützende Hülle (ZnS, Silica, Polymere) die Freisetzung der Cadmiumionen reduzieren und somit zu einer Herabsetzung der zytotoxischen Wirkung von QDots führt. So zeigten z.B mit Polymeren funktionalisierte CdSe/ZnS-QDots keinen negativen Einfluss auf die Zellproliferation von HUVECs.^[313]

Anhand dieser Studien sollten die in dieser Arbeit synthetisierten Glucas- bzw. Syn3s-koordinierten CdTe/ZnS-QDots keine zytotoxische Wirkung auf die HUVECs zeigen. Zur Überprüfung der Annahme wurden diese deshalb mit unterschiedlichen Partikelgrößen, Linkerlängen und Konzentrationen mit den HUVECs inkubiert und nach 48 h auf ihre Biokompatibilität getestet. Um eine Aussage über den Einfluss der Epitope auf die Biokompatibilität machen zu können, konnten zum Vergleich die Mercaptocarbonsäure koordin. Qdots wegen ihrer angesprochenen fehlenden Stabilität bei pH-Werten < 9 nicht verwendet werden. Deshalb sollten einfache sulfatierte Liganden als Kontrolle verwendet werden. In Kapitel 3.2.3 wurden die Probleme der Immobilisierung von MUDS auf die QDot-Oberfläche durch Ligandenaustausch mit den QDots im organischen Lösungsmittel näher erläutert. Auch eine Immobilisierung während der Synthese wässriger QDots war nicht möglich, weswegen auf die Sulfonsäure-koordinierten QDots zurückgegriffen werden musste. Die Ergebnisse des *in vitro* Tests sind in Abb. 112 gezeigt.

Es zeigt sich, dass unabhängig von ihrer Partikelgröße, dem Epitop, der Linkerlänge und der Konzentration die getesteten Kohlenhydratmimetika-QDots Konjugate keine signifikant höhere zytotoxische Wirkung im Vergleich zu den Edelmetallnanopartikeln besaßen. Lediglich die 2,5 nm großen CdTe/ZnS/MUDA/Syn3s zeigen ab einer Konzentration von 100 nmol / L einen leichten Anstieg der Zytotoxizität, sowie eine Hemmung der Zellproliferation. Bei der höchsten Konzentration trat ebenfalls bei CdTe/ZnS/TGA/Syn3s und CdTe/ZnS/MUDA/Glucas eine Hemmung der Zellproliferation auf. Überraschend ist, dass CdTe/MPSA, trotz fehlender ZnS-Hülle bei den getesteten

3 Ergebnisse und Diskussion

Konzentrationen keine Veränderung der Viabilität hervorruft. Dies lässt den Schluss zu, dass eine zytotoxische Wirkung erst bei höheren Konzentrationen und längerer Inkubationszeit auftreten könnte.

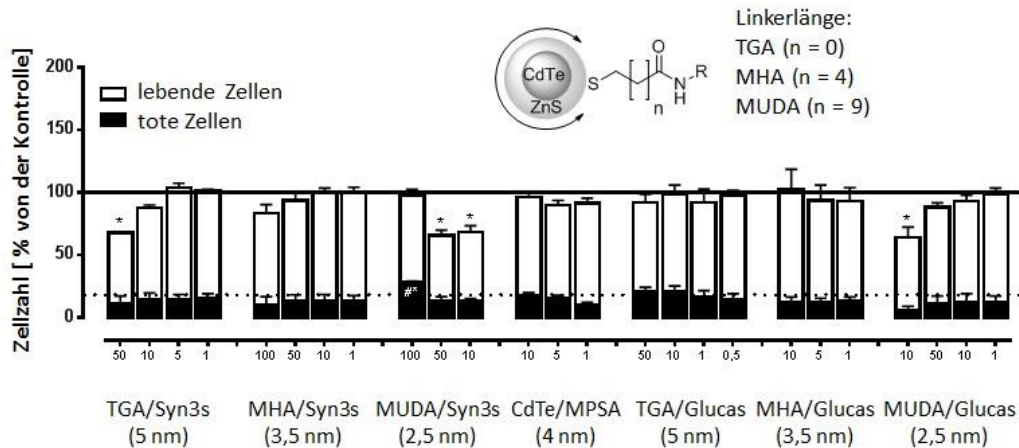


Abb. 112: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der Glucas- bzw. Syn3s- koordinierten CdTe/ZnS-QDots. *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX® Green Kernfarbstoff* erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

Auch die funktionalisierten magnetischen Eisenoxidnanopartikel wurden auf ihre Biokompatibilität untersucht. Obwohl Eisenoxidnanopartikel als die Nanopartikelklasse mit der besten Biokompatibilität gelten, können sie die Funktion von Zellen ähnlich wie andere Nanopartikel beeinflussen und eine zytotoxische Wirkung hervorrufen. So ergaben Studien, die funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel auf ihr zytotoxisches Potenzial untersuchten, dass diese ab Konzentrationen von $> 100 \mu\text{g} / \text{mL}$ ebenfalls Zytotoxizität zeigen.^[314] Um einen Vergleich mit den anderen Partikelarten zu ermöglichen, wurden für die Biokompatibilitätstests in dieser Arbeit, Stammlösungen mit 1-2 mg / mL funktionalisierter Eisenoxidnanopartikel verwendet. Somit kommen die höchsten Konzentrationen in den toxikologisch interessanten Bereich. In Abb. 113 sind die Ergebnisse des Tests gezeigt. Wie zu erwarten, zeigen alle getesteten Partikel bei niedrigen Konzentrationen keine zytotoxische oder zellproliferationshemmende Wirkung. Einzig die 5 nm großen Syn3s-funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel besitzen ab einer

3 Ergebnisse und Diskussion

Konzentration von 50 nmol / L einen Einfluss auf die Vitalität der Zellen, hier sind über 50% der Zellen im Vergleich zur Kontrolle nach der Inkubation tot. Da dieses Ergebnis deutlich von den anderen Ergebnissen abweicht, könnten andere äußere Faktoren verantwortlich sein. In zukünftigen Arbeiten müsste deshalb die zytotoxische Wirkung der IONPSyn3s bei höheren Konzentrationen ab 10 nmol / L noch einmal genauer untersucht werden.

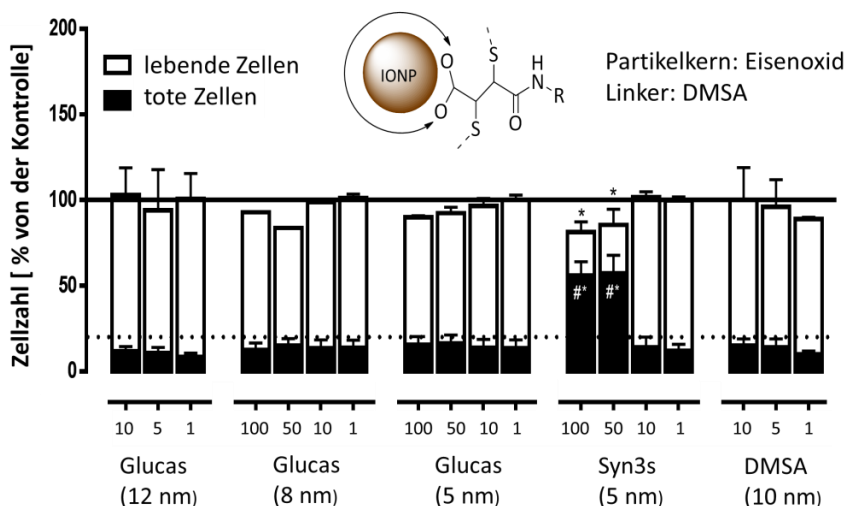


Abb. 113: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der Glucas- bzw. Syn3s-kooordinierten Eisenoxidnanopartikel; *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit den Nanopartikeln (100, 50, 10, 5 und 1 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX[®] Green Dead Cell Stain* erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

3.5.4 Fazit

Im Rahmen dieses Kooperationsprojektes konnten neue Erkenntnisse über die Bindung multivalent präsentierter, polysulfatierter Kohlenhydratmimetika an L-Selektin erhalten werden. Dafür wurden unterschiedliche Aminopyrane auf 7 nm große Goldkolloide immobilisiert und mit einem kompetitiven SPR-basierenden Bindungsassays auf ihre Selektinbindung getestet. Es ergab sich, dass die Selektin-bindende Wirkung der Epitope auch von den funktionellen Gruppen am C-1 beeinflusst wird. Für zukünftige Arbeiten muss deshalb neben der Anordnung der an der Bindung beteiligten Sulfatgruppen, auch

3 Ergebnisse und Diskussion

die funktionelle Gruppe am C-1 berücksichtigt werden, unabhängig davon ob diese an der Bindung beteiligt ist. Zusätzlich konnten vielfältige Variationen der Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel Konjugate hergestellt und deren Einfluss auf die Stabilität untersucht werden. So gelang die Entwicklung und Verbesserung einfacher und reproduzierbarer Methoden zur multivalenten Präsentation der sulfatierten Aminopyran-funktionalisierten Goldkolloide mit unterschiedlichen Partikelgrößen und Linkerlängen. Auch konnten erstmals Aminooxepane auf der Goldoberfläche immobilisiert werden. Der erfolgreiche Austausch des Partikelkernmaterials gegen Silber, CdTe und Eisenoxid ermöglicht die Kombination neuer Eigenschaften mit der guten Selektinbindung der Epitope. Erste umfassende *in vitro* Tests der Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel Konjugate mit HUVECs und MSCs zeigen eine gute Biokompatibilität der Partikel.

3.6 Multivalente Präsentation von azyklischen Aminoalkoholen zur mögliche Selektin-Bindung

In weiteren Arbeiten des im vorherigen Kapitel angesprochenen Kooperationsprojektes konnte neben der guten Selektinbindung und Selektivität der Kohlenhydratmimetika-Goldnanopartikel Konjugate ebenfalls ein positiver Einfluss der polyanionischen Struktur von einfachen azyklischen Aminoalkoholen auf die Selektinbindung nachgewiesen werden.^[212,213] Dabei zeigten alle Goldkolloide, die mit azyklischen Liganden funktionalisiert wurden, im Vergleich mit AuSyn3s niedrigere IC_{50} -Werte für L-Selektin (Abb. 114). Anhand dieser Ergebnisse wurde die Annahme getroffen, dass für eine starke Bindung an L-Selektin eine Kohlenhydrat-ähnliche Grundstruktur nicht benötigt wird, sondern hauptsächlich die Anzahl, Flexibilität und Ausrichtung der negativgeladenen Sulfatgruppen die Bindungsstärke bestimmen.^[165]

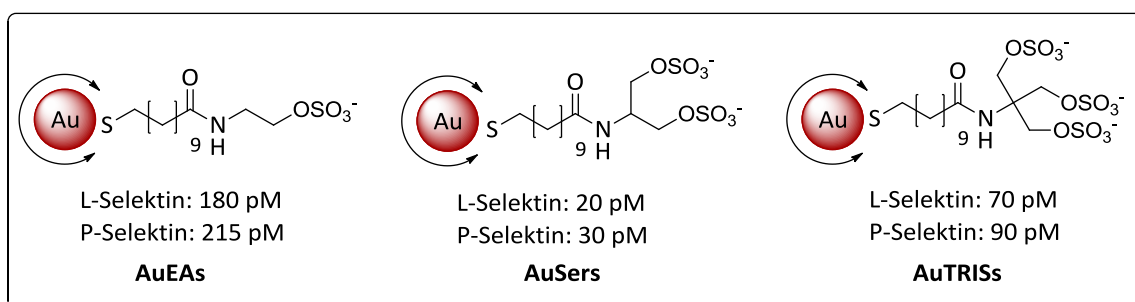


Abb. 114: 6 nm große Goldkolloide koordiniert mit azyklischen Aminen und deren gemessene IC_{50} -Werte für L- und P-Selektin.^[212]

Das Augenmerk in der vorliegenden Arbeit lag deshalb auf weiteren Untersuchungen zur multivalenten Präsentation von einfachen azyklischen Aminoalkoholen als mögliche Selektin-Inhibitoren und deren Biokompatibilität. Dazu wird in diesem Kapitel die multivalente Präsentation der aus den vorherigen Arbeiten bekannten einfachen azyklischen Epitope und weiteren möglichen einfachen Bindungsepitopen auf die unterschiedlichen Partikelarten und deren Untersuchungen zur Biokompatibilität vorgestellt. Zusätzlich wird näher auf ihr Bindungsverhalten an L-Selektin eingegangen und erste Untersuchungen zur Zellaufnahme dieser Partikel beschrieben.

3.6.1 Untersuchungen zur Biokompatibilität der Aminoalkohol-funktionalisierten Edelmetallnanopartikel

Zu Beginn des Projektes wurden zunächst die bereits aus vorherigen Arbeiten des Arbeitskreises bekannten Epitope Ethanolamin (EA), Serinol (Ser) und Trometamol (TRIS) auf Edelmetallnanopartikel immobilisiert. Obwohl eine Funktionalisierung in zwei Stufen mit anschließendem Sulfatierungsschritt zu den gewünschten Partikeln führt ^[212,230], wurden die Epitope durch die für die Kohlenhydratmimetika neu entwickelte Methode auf die Partikel gebunden (Abb. 96). Analog zu den Kohlenhydratmimetika sollte eine vorangestellte Sulfatierung der azyklischen Aminoalkohole eine Erhöhung des Sulfatierungsgrades und somit eine leichtere Überführung ins wässrige Medium zur Folge haben. Während die beiden Epitope Serinol und Trometamol deshalb vor der Immobilisierung sulfatiert wurden, konnte 2-Aminoethylhydrogensulfat (EAs) käuflich erworben und direkt eingesetzt werden. Ein Vergleich der Absorptionsspektren der erhaltenen funktionalisierten Kolloide aus beiden Methoden ergibt für die Partikel mit der vorangestellten Sulfatierung eine kleinere Halbwertsbreite der Absorptionsbande.

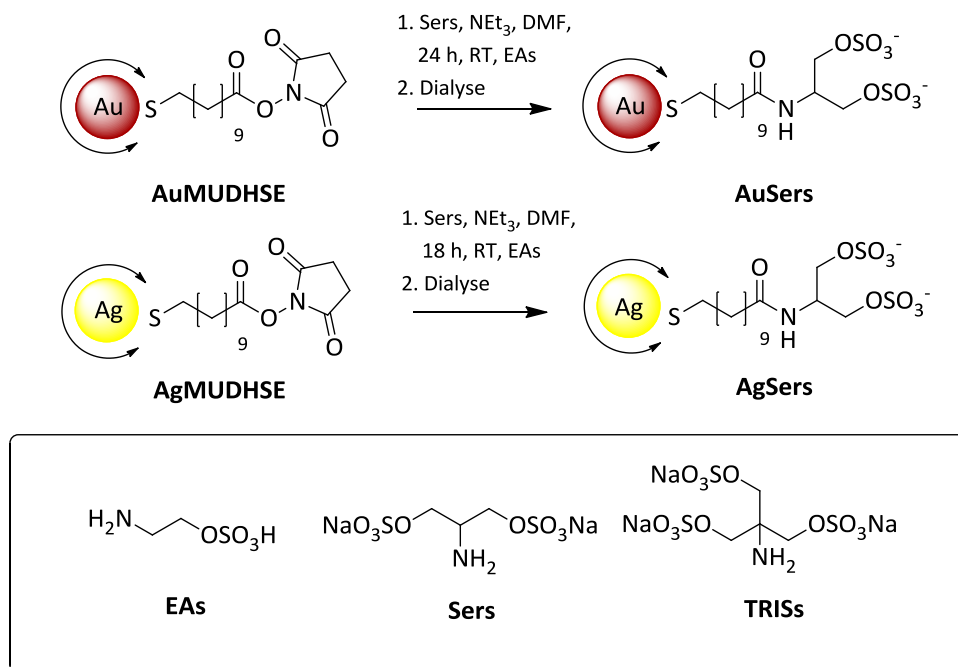


Abb. 115: Schematische Darstellung der Immobilisierung der sulfatierten Epitope EAs, Sers, TRISs auf 7 nm große Goldnanopartikel und 5 nm große Silbernanopartikel (gezeigt am Beispiel von Sers).

3 Ergebnisse und Diskussion

Dies ist gleichbedeutend mit einer engeren Größenverteilung bzw. geringeren Agglomerationsgrad der funktionalisierten Nanopartikel im wässrigen Medium (Abb. 116).

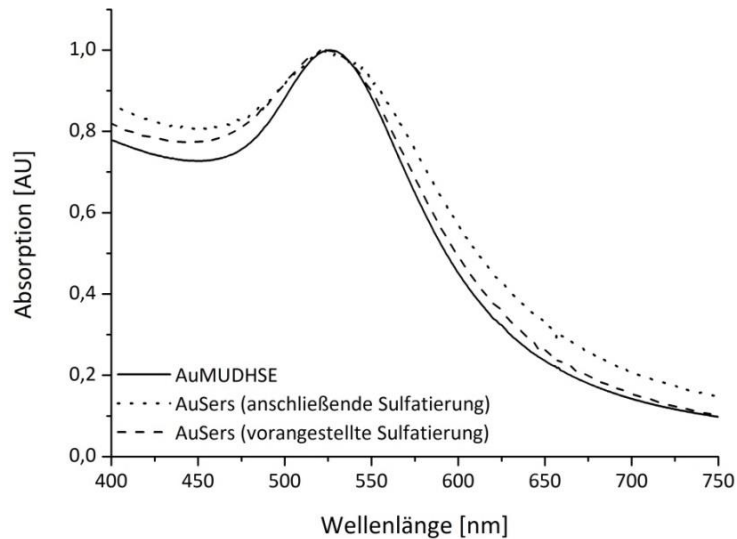


Abb. 116: Vergleich der normierten Absorptionsspektren der Funktionalisierungsmethoden mit vorangestelltem Sulfatierungsschritt (gestrichelte Linie) und anschließendem Sulfatierungsschritt (gepunktete Linie) (gezeigt am Beispiel von AuSers).

Für mögliche *in vitro* Biokompatibilitätstests sind eine enge Größenverteilung und ein niedriger Agglomerationsgrad notwendig, um mögliche Einflüsse richtig einordnen zu können. Auch wird durch die vorangestellte Sulfatierung der Epitope ein Reaktionsschritt mit Lösungsmittelwechsel während der Funktionalisierung der Nanopartikel eingespart, wodurch das Risiko einer Agglomeration der Nanopartikel weiter gesenkt werden kann. Aus den genannten Gründen erfolgte die Funktionalisierung der sulfatierten Aminoalkohole durch die neu entwickelte Methode. In Tabelle 8 sind die Ergebnisse der im Anschluss an die Funktionalisierung durchgeführten Charakterisierung der Nanopartikel aufgeführt. Zur Erweiterung der Bibliothek möglicher Selektin-bindender Liganden wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit vier weitere azyklische Aminoalkohole multivalent auf den 7 nm großen Goldkolloiden präsentiert. Dabei handelte es sich um L-Threoninol (Threo), DL-Alaninol (Alan), DL-1-Amino-2-propanol (IPA) und 2-Amino-2-methyl-1,3-propandiol (AMPD). Während Alan und IPA als Ethanolamin-Derivate zur Untersuchung der Einflüsse der unterschiedlichen Seitenketten auf die Synthese und Biokompatibilität gewählt wurden, sollten Threo und AMPD als Variationen des Serinols verwendet werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 8: Zusammenfassung der Ergebnisse der Charakterisierung der sulfatierten Aminoalkohol-koord. Gold- und Silbernanopartikel.

Edelmetallnanopartikel coord. mit azyklischen Aminoalkoholen	TEM (d / nm)	DLS (d _h / nm)	UV/Vis (λ _{max} / nm)
AuEAs	7	10 ± 2	525
AuSers	7	11 ± 3	525
AuTRISs	7	17 ± 3	526
AgEAs	5	10 ± 3	422
AgSers	5	15 ± 2	424
AgTRISs	5	16 ± 3	430

Alle vier Liganden wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit erstmals auf Nanopartikel immobilisiert. Dazu wurden diese wie bereits im vorangegangenen Kapitel beschrieben (Abb. 96) vor der Immobilisierung zunächst sulfatiert, um einen möglichst hohen Sulfatierungsgrad zu erhalten.

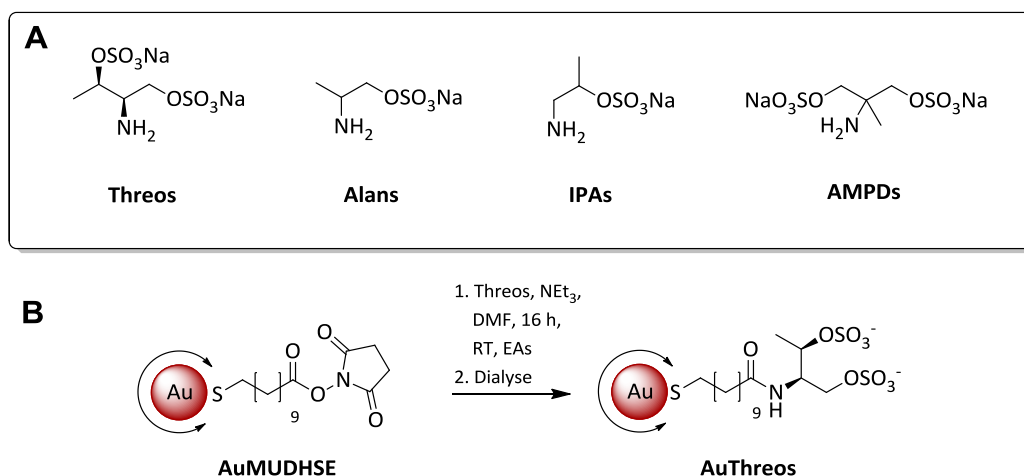


Abb. 117: Übersicht weiterer sulfatierter Bindungsepitope (A), die in der vorliegenden Arbeit auf die 7 nm großen Goldnanopartikel immobilisiert wurden (B; Immobilisierung gezeigt am Beispiel von Threos).

Die Immobilisierung auf der Partikeloberfläche erfolgte dann im Anschluss durch Ausbildung einer Amidbindung. Die Reaktionsbedingungen und Durchführung der Immobilisierung sind in Abb. 117 B am Beispiel von sulfatiertem Threoninol gezeigt. Die Charakterisierung der funktionalisierten Goldkolloide erfolgte nach der Immobilisierung durch TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen und Absorptionsspektren. Dabei zeigte diese keinen Einfluss der Reaktion auf den Agglomerationsgrad der Partikel (Tabelle 9).

3 Ergebnisse und Diskussion

Table 9: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse zur Charakterisierung der 7 nm großen Goldkolloide funktionalisiert mit Threos, Alans, IPAs und AMPDs.

Goldnanopartikel koord. mit azyklischen Aminoalkoholen	TEM (d / nm)	DLS (d _h / nm)	UV/Vis (λ _{max} / nm)
AuThreos	7	12 ± 3	524
AuAlans	7	13 ± 3	525
AuIPAs	7	14 ± 3	527
AuAMPDs	7	18 ± 4	528

Eine erfolgreiche Immobilisierung der sulfatierten Epitope konnte anhand von NMR- und IR-Spektren durch die vorhandenen Signale der neu gebildeten Amidbande bestätigt werden. Im Anschluss an die Synthese und Charakterisierung der funktionalisierten 7 nm großen Goldkolloide wurden diese auf ihre mögliche Biokompatibilität getestet. In vorherigen Arbeiten der Arbeitsgruppe wurde für eine erste Abschätzung der möglichen Zytotoxizität der AuSers, diese mit der L-Selektin exprimierenden Lymphozyten-Zelllinie *Jurkat* inkubiert. Dazu wurde der Einfluss der Zugabe von Partikeln in unterschiedlichen Konzentrationen (3 pmol / L- 30 nmol / L) auf die Zellproliferation ermittelt.^[213] In den durchgeführten Experimenten wiesen dabei die Partikel nur eine geringfügige Hemmung der Zellproliferation auf.^[165,213] Um weitere Aussagen zur Biokompatibilität der azyklischen Aminoalkohol-Goldnanopartikel Konjugate treffen zu können, wurden die funktionalisierten Gold- und Silbernanopartikel auf ihre zytotoxische und wachstumsinhibierende Wirkung an *HUVEC*-Zellen getestet. Wie bereits bei den Biokompatibilitätstests der Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel Konjugate ausführlich beschrieben (siehe Kapitel 3.5.3), wurden die Biokompatibilitätstests mit Hilfe eines fluorimetrischen Zellproliferations- und Zytotoxizitätsnachweis Assays durchgeführt. Im Vergleich zu den Untersuchungen an der *Jurkat*-Zelllinie ergaben die Tests an den *HUVECs* ebenfalls eine Hemmung der Zellproliferation, die mit steigender Konzentration zunahm (Abb. 118 und Anhang Abb. 21). Zusätzlich konnte eine signifikante zytotoxische Wirkung von AuAMPDs, AuAlans und AuIPAs ab einer durchschnittlichen Konzentration von 10 nmol / L und von AuSers bzw. AuEAs ab einer Konzentration von 5 nmol / L nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch für die 5 nm großen AgEAs und AgSers erhalten. Diese zeigten sowohl eine zytotoxische wie auch wachstumsinhibierende Wirkung ab Konzentrationen von 50 nmol / L (Anhang Abb. 21). Überraschenderweise

3 Ergebnisse und Diskussion

wiesen hingegen AuThreos und AuTRISs auch bei höheren Konzentrationen keine Veränderung der Zellvitalität auf. Mögliche Ansatzpunkte zur Erklärung des Phänomens sind die hohe Ladungsdichte und der sterische Anspruch der TRIS-Liganden, die zu einer erhöhten Stabilität gegenüber Agglomeration und Freisetzung der Liganden führt.

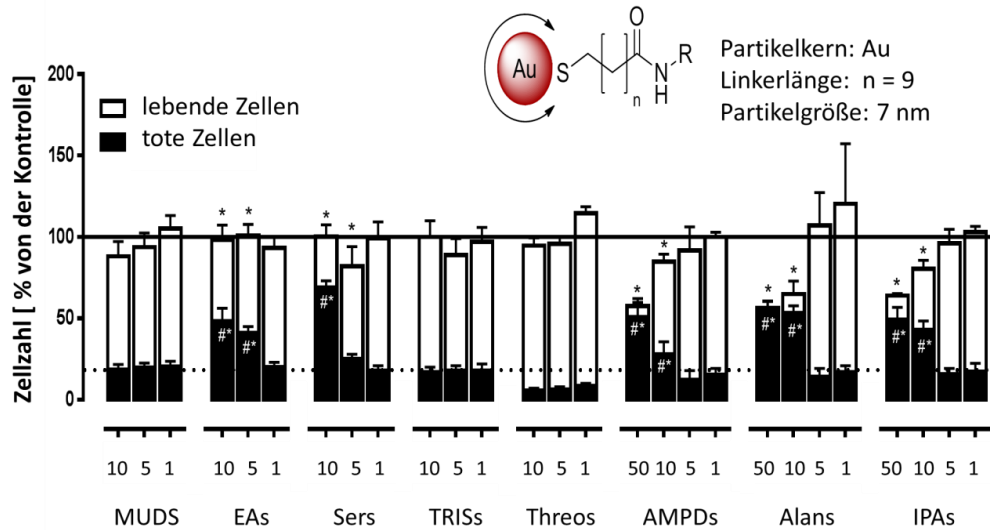


Abb. 118: Ergebnis der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der 7 nm großen azyklische Aminoalkohol-koordinierten Goldnanopartikel; *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen (50, 10, 5 und 1 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX® Green* Kernfarbstoff erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als *p < 0,05 (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #*p < 0,05 (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

Für Untersuchungen zum Einfluss der Partikelgröße der Aminoalkohol-Edelmetallnanopartikel Konjugate wurden die Epitope EA, Ser und TRIS auf 14 nm bzw. 25 nm großen AuCitrat immobilisiert. Aus den bereits im Unterkapitel 3.5.1.1 genannten Gründen erfolgte die Amidbindungsknüpfung und Sulfatierung in Abwesenheit der Nanopartikel. Mit dem Ziel einer Erhöhung der Ausbeute wurde zusätzlich der Syntheseverlauf variiert. Anstelle der Verwendung des S-Acetylsulfanylundecansäure-*N*-hydroxysuccinimidesters erfolgte die Amidbindungsknüpfung der Epitope direkt über eine EDC / HOBt-Kupplung mit der S-Acetyl-sulfanylundecansäure (Abb. 119). Dazu wurde diese in Dichlormethan vorgelegt auf 0°C abgekühlt und mit 1,1 Äq. des Aminoalkohols, NEt_3 und HOBt versetzt. Nach 10 min wurde unter starkem Rühren 1,1 Äq. EDC zugegeben und weitere 8 h gerührt, wobei sich die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmte. Nach

3 Ergebnisse und Diskussion

Aufarbeitung der Rohprodukte wurden die Liganden in akzeptablen Ausbeuten erhalten, aber eine Verbesserung der Ausbeute im Vergleich zu bekannten Methoden konnte nicht beobachtet werden.

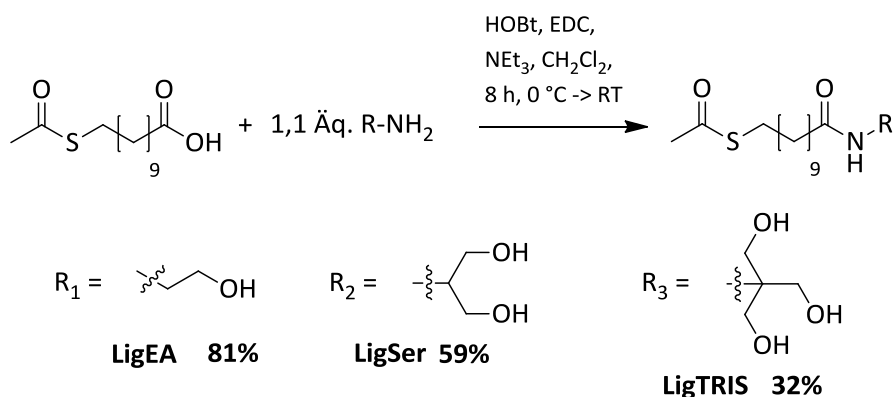


Abb. 119: Schematische Darstellung der EDC / HOBt-Kupplung der verschiedenen Aminoalkohole (EA, Ser, TRIS) mit S-Acetylsulfanylundecansäure.

Im Anschluss an die Kupplungsreaktion wurden die Liganden mit $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex sulfatiert und ohne weitere Aufarbeitung mit Natronlauge entschützt. Der so vollständig synthetisierte Ligand wurde im finalen Schritt durch Ligandenaustauschreaktion auf den Citrat-koord. Goldnanopartikeln immobilisiert (Abb. 120). Hierzu wurde der Ligand in wenig Wasser gelöst und unter starkem Rühren zu der Kolloidlösung gegeben. Nach 72 h wurde die Kolloidlösung auf ca. die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingengt und die resultierenden wasserlöslichen Kolloide mittels Dialyse gegen Wasser gereinigt.

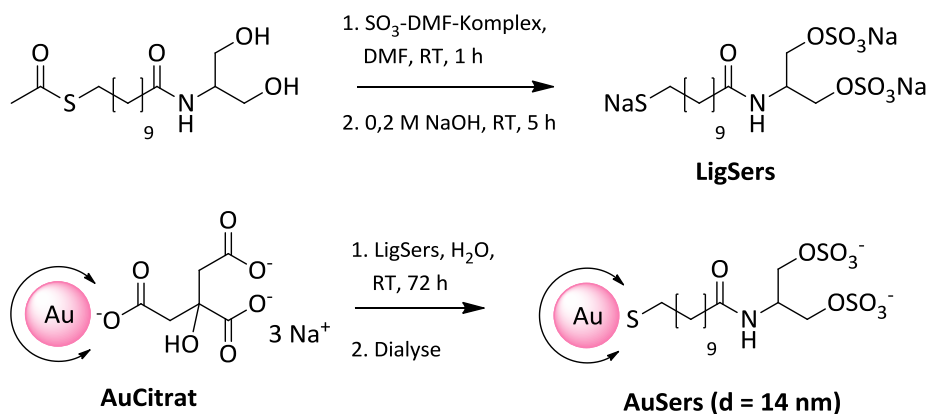


Abb. 120: Schematische Darstellung der Funktionalisierung der AuCitrat mit den sulfatierten Aminoalkoholliganden (gezeigt am Beispiel von LigSers).

3 Ergebnisse und Diskussion

Für eine weitere Variation der Partikelgröße wurde das Epitop Sers nach der in Abb. 96 beschriebenen Methode auf Goldkolloide mit einem mittleren Partikel-durchmesser von $d = 10$ nm immobilisiert. In Tabelle 10 sind die erhaltenen Ergebnisse der Charakterisierung zusammengefasst.

Tabelle 10: Zusammenfassung der Ergebnisse der Charakterisierung der sulfatierten Aminoalkohol-koordinierten Goldnanopartikel mit unterschiedlichen Partikelgrößen.

Goldnanopartikel koord. mit azyklischen Aminoalkoholen	TEM (d / nm)	DLS (d_h / nm)	UV/Vis (λ_{max} / nm)
AuSers	10	15 ± 3	528
AuSers	14	19 ± 4	531
AuSers	25	27 ± 9	534
AuEAs	14	19 ± 4	531
AuTRISs	14	37 ± 10	532

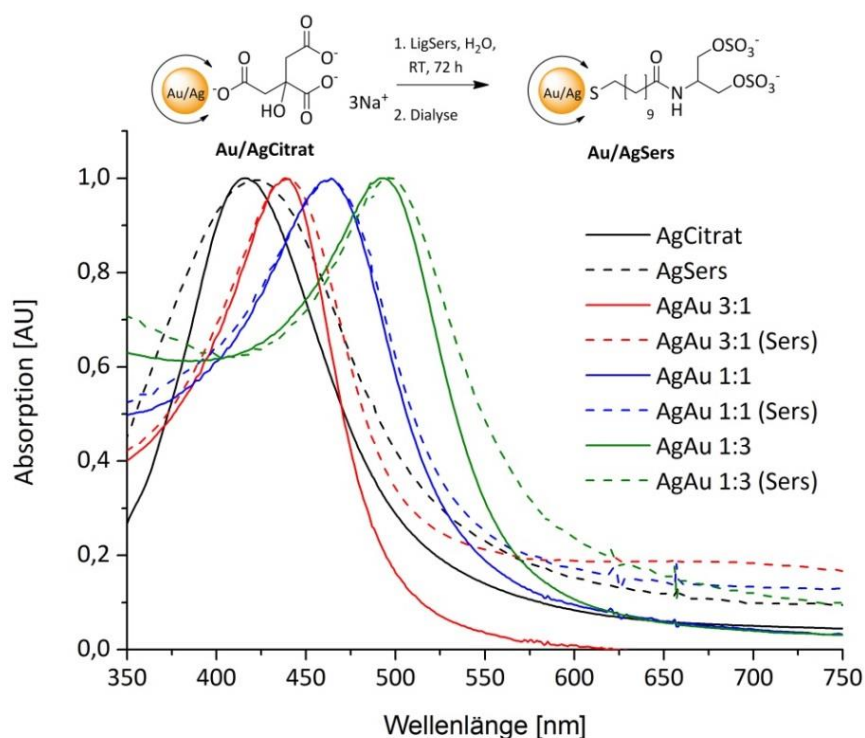


Abb. 121: Schematische Darstellung der Synthese Sers koordin. Gold- / Silber-Legierungen, sowie die dazugehörigen Absorptionsspektren von verschiedenen Zusammensetzungen vor dem Ligandenaustach (durchgezogene Linie) und danach (gestrichelte Linie).

3 Ergebnisse und Diskussion

Zusätzlich wurden Silbernanopartikel und Gold / Silber-Legierungen mit den Liganden LigSers und LigEAs funktionalisiert. Analog der Vorgehensweise bei den Goldnanopartikeln erfolgte der Ligandenaustausch im Einphasensystem mit anschließendem Dialyseschritt zur Reinigung der Partikellösungen (Abb. 121). Ein Vergleich der Absorptionsspektren vor und nach der Funktionalisierung ergab eine geringe Zunahme der Größenverteilung. Trotzdem ermöglicht diese Variante die Immobilisierung verschiedener Liganden auf Nanopartikel mit unterschiedlichen Größen und Kernzusammensetzungen. Dies erweist sich als nützlich, wenn bestimmte Absorptionsmaxima benötigt werden.

Tabelle 11: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse aus der Charakterisierung der funktionalisierten Gold- / Silber-Legierungen.

Edelmetallnanopartikel koordiniert mit azyklischen Aminoalkoholen	TEM (d / nm)	UV/Vis (λ_{\max} / nm)
AgSers	17	435
AgAuSers (3:1)	24	493
AgAuSers (1:1)	19	464
AgAuSers (1:3)	23	429
AgEAs	17	427
AgAuEAs (3:1)	24	495
AgAuEAs (1:1)	19	463
AgAuEAs (1:3)	23	425

Weiter wurden in diesem Projekt erste Versuche zur Erhöhung der Biokompatibilität der 7 nm großen AuSers durchgeführt. Der Annahme folgend, dass eine hohe Zytotoxizität und Hemmung der Zellproliferation durch eine schlechte Stabilisierung der Liganden auf der Partikeloberfläche hervorgerufen wird, wurde nach neuen Möglichkeiten gesucht die Bindungsstärke der Liganden zu erhöhen. Es ist literaturbekannt, dass eine stärkere Bindung der Liganden auf der Partikeloberfläche durch die Verwendung von mehrzähligen Liganden als Ankergruppen erreicht werden kann.^[315] So konnten z.B. *Mattoussi, Medintz* und Mitarbeiter zeigen, dass Polymerliganden mit Dihydroliponsäure-Ankergruppen Goldnanopartikel und QDots besser stabilisieren als ihre Monothiol-funktionalisierten Gegenstücke.^[316] *Mefford et al.* erhielten ähnliche Ergebnisse für Katechol-stabilisierte Eisenoxidnanopartikel. Sie konnten nachweisen, dass Liganden mit

3 Ergebnisse und Diskussion

mehreren auf der Partikeloberfläche bindenden Katecholeinheiten die Partikel besser vor Agglomeration schützen, als Liganden mit nur einer Katecholeinheit.^[317]

Die literaturbekannte Methodik durch Erhöhung der Anzahl der Thiofunktionen eines Liganden die Stabilität der Nanopartikel zu erhöhen,^[76,318] sollte auch im vorliegenden Fall möglich sein und zu einer Senkung der Zytotoxizität führen. Als mehrzähliger Ligand wurde neben dem bereits im vorherigen Kapitel 3.5.1.2 beschriebenen DTC (Abb. 122 A), als weiterer zweizähliger Ligand DHLA gewählt. Wegen der breiten Größenverteilung der aus der Synthese erhaltenen DHLA-funktionalisierten Goldkolloide (siehe Kapitel 3.1.1.2) wurde von einer Verwendung in diesem Projekt abgesehen und die bei AuCitrat verwendete Methode adaptiert, d.h. der Ligand sollte zunächst komplett aufgebaut und dann durch Ligandenaustauschreaktion auf der Goldoberfläche immobilisiert werden. Dazu wurde zunächst ein Liponsäurehydroxysuccinimidylester (LA-NHS) synthetisiert, indem eine Reaktionsmischung aus Liponsäure, 1,1 Äq. NHS und 1,1 Äq. EDC in absolutem DMF 4 h bei Raumtemperatur unter Schutzgasatmosphäre gerührt wurde (Abb. 122 B).

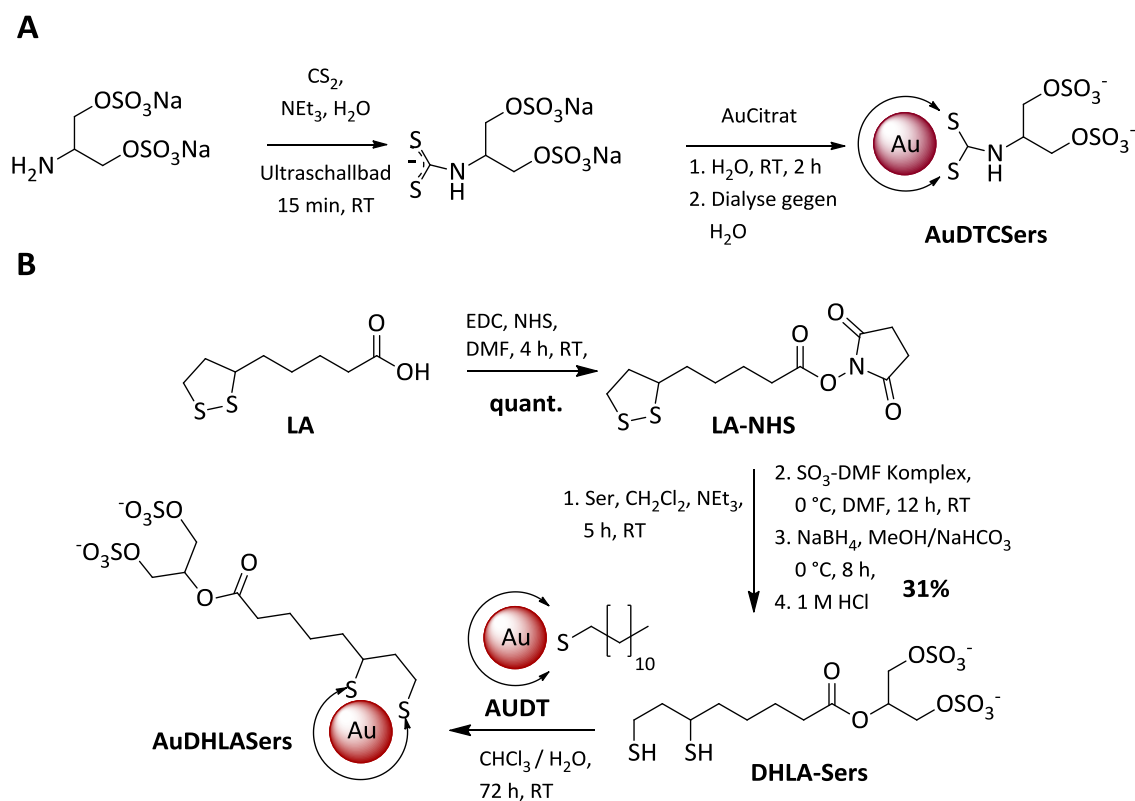


Abb. 122: Schematische Darstellung der Synthese von AuDTCSers (A) und AuDHLASers (B).

3 Ergebnisse und Diskussion

Daran schloss sich die Kupplung des Epitops Ser unter Zugabe von HOBt, EDC und NEt_3 an. Eine quantitative Sulfatierung der Verbindung mit $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ Komplex und anschließender Spaltung der Disulfidbindung durch Reduktion mit NaBH_4 führten zu DHLA-Sers. Die gewünschte Zielverbindung konnte dabei über die beschriebene fünfstufige Synthese in guten Ausbeuten (31%) erhalten werden und wurde dann im finalen Schritt durch Ligandenaustauschreaktion auf die Goldkolloide immobilisiert. Die Charakterisierung der so erhaltenen Goldkolloide erfolgte mittels DLS-Messungen, Absorptionsspektren und TEM-Aufnahmen, während der Ligandenaustausch mittels IR- und $^1\text{H-NMR}$ -Spektren kontrolliert wurde. Weder in den Ergebnissen der DLS-Messungen und der TEM-Aufnahmen noch in den Absorptionsspektren ließen sich Hinweise auf eine Aggregation finden.

Die funktionalisierten Goldkolloide mit unterschiedlichen Partikelgrößen und Ankergruppen wurden ebenfalls auf ihre Biokompatibilität getestet (Abb. 123).

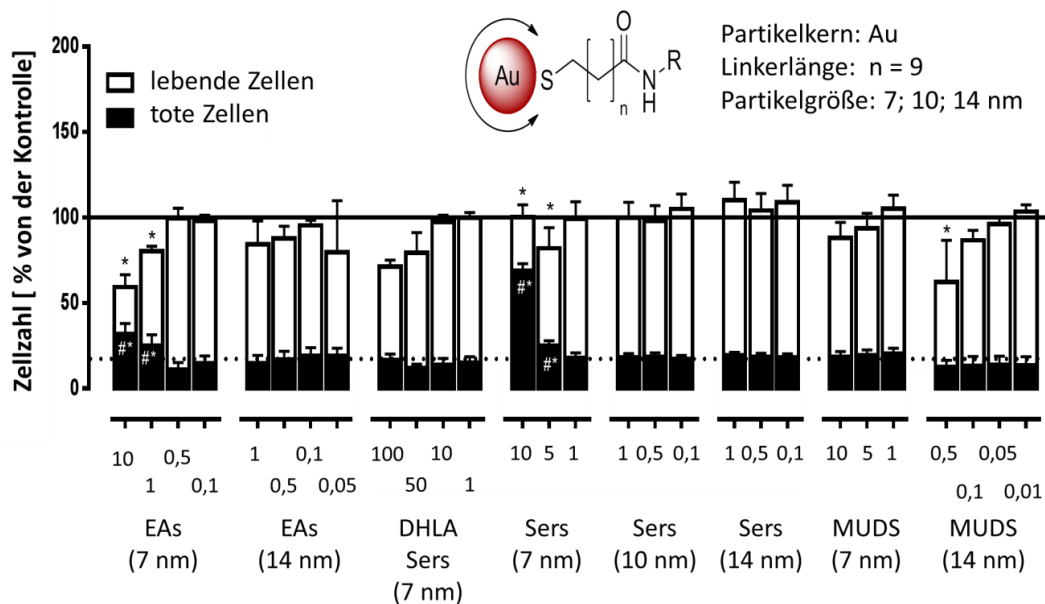


Abb. 123: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der EAs und Sers koordinierten Goldnanopartikel zur Untersuchung der Einflüsse der Partikelgröße und Ankergruppe; *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen (50, 10, 5 und 1 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX® Green* Kernfarbstoff erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder ** $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

3 Ergebnisse und Diskussion

Dabei zeigte sich, dass bei den niedrigen Konzentrationen der großen Goldkolloide (10 nm und 14 nm) kein Einfluss der Nanopartikel auf die Zytotoxizität und Zellproliferation nachweisbar ist. Dies ist unabhängig vom Epitop. Positiv war das Ergebnis von AuDHLASers. Bei sonst gleichen Parametern zeigten diese im Unterschied zu AuSers auch bei 10fach höherer Konzentration, keine toxische Wirkung für die Zellen. Somit konnte die Annahme, dass eine niedrige Ligandenstabilität für die zytotoxische Wirkung verantwortlich ist, bestätigt werden. Analog der Vorgehensweise bei den Kohlenhydratmimetika-Goldnanopartikel Konjugaten (siehe Kapitel 3.5.3.1) wurden zur Überprüfung möglicher Einflüsse auf unterschiedliche Zelllinien die 7 nm großen AuSers mit unterschiedlichen Konzentrationen an *MSCs* getestet. Auch nach einer Inkubationsdauer von 8 Tagen zeigten diese bei der höchsten Konzentration (3 nmol / L) keine Anzeichen für Veränderungen der Zellen (Abb. 124 B). Wie bei AuSyn3s konnte durch nachgewiesene RS-1 Zellen eine intakte Zellproliferation bestätigt werden. Ein ähnliches Ergebnis wurde für die 14 nm großen AuSers erhalten. Diese zeigten nach 7 Tagen Inkubation ebenfalls intakte Zellen (Abb. 124 D). Wegen der niedrigen Konzentration ($c = 3 \text{ pmol / L}$) konnten keine Vergleiche mit AuSyn3s und Rückschlüsse auf die Konzentrationsabhängigkeit getroffen werden.

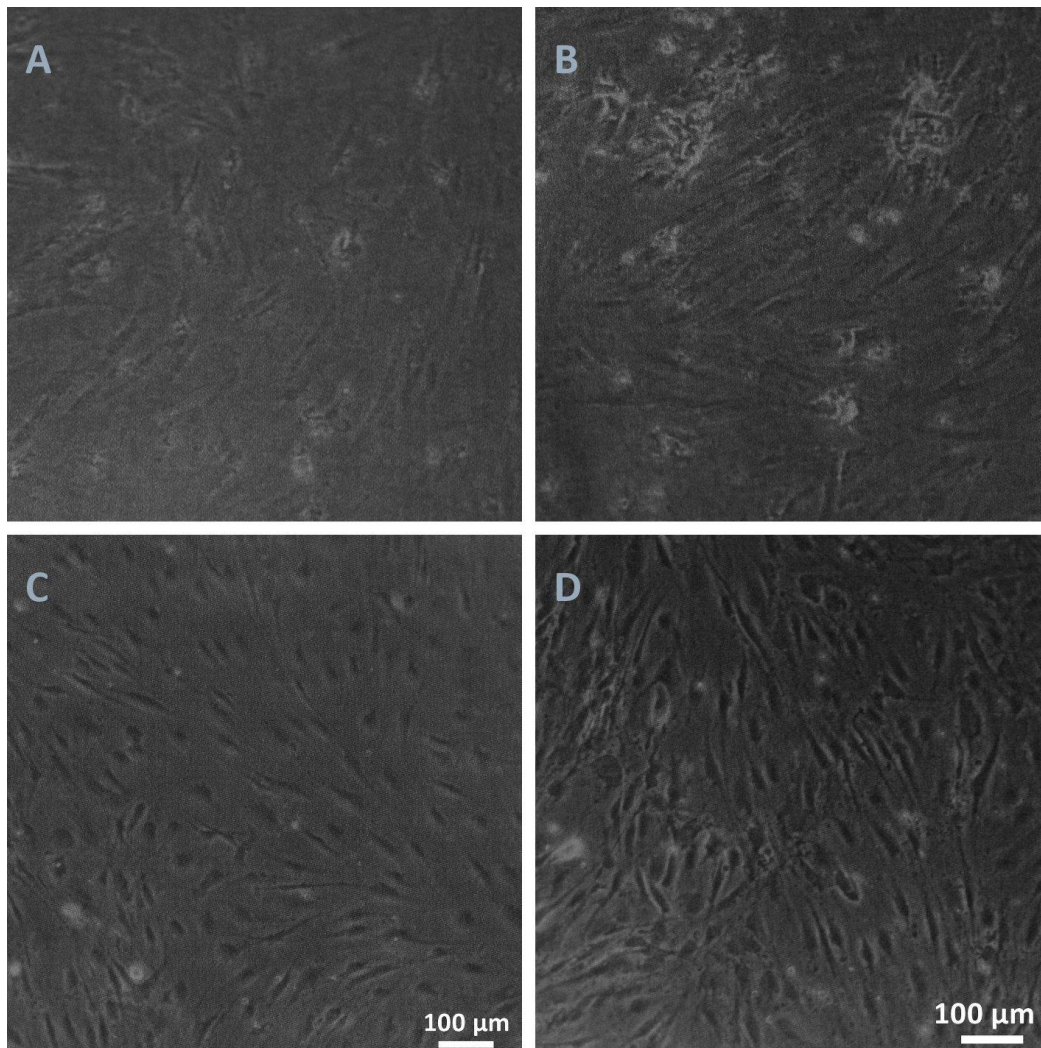


Abb. 124: Lichtmikroskopische Aufnahmen von MSCs nach Inkubation mit AuSers; A: Kontrolle (ZK26P3) nach 8 Tagen (100 fache Vergrößerung); B: 3 nmol / L AuSers (7 nm) nach 8 Tagen (100 fache Vergrößerung); C: Kontrolle (ZK20P4) nach 7 Tagen; D: 3 pmol / L AuSers (14 nm) nach 7 Tagen.

3.6.1.1 Fazit

Im ersten Teil dieses Projektes konnten erfolgreich Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests zur Untersuchung der Biokompatibilität von Gold- und Silbernanopartikeln mit azyklischen Aminoalkoholen durchgeführt werden. Dazu wurden unter anderem die für ihre hohen Bindungsstärken an L-Selektin bekannten Epitope EA, Ser, TRIS durch eine weiterentwickelte Methode auf die Nanopartikel immobilisiert. Die vorgestellte Methode besitzt den Vorteil, dass diese neben der Einsparung eines Reaktionsschrittes durch einen vorangestellten Sulfatierungsschritt auch eine verbesserte Überführung ins wässrige Medium besitzt. Für eine Variation der Partikelgröße wurde

zunächst der Ligand ohne Nanopartikel synthetisiert und anschließend durch Ligandenaustauschreaktion mit Citrat- koordinierten Gold-nanopartikeln umgesetzt. Diese Oberflächenfunktionalisierung wurde zusätzlich für weitere Größen und Legierungsgrade mit Silber adaptiert. Durch Variation des Legierungsgrades können bei einer ähnlichen Partikelgröße die Absorptionsmaxima über einen weiten Bereich des Spektrums genau eingestellt werden, was z.B. großes Potenzial für Anwendungen in Assays besitzt. Die durchgeführten *in vitro* Biokompatibilitätstests ergaben eine konzentrationsabhängige zytotoxische Wirkung der funktionalisierten Goldnanopartikel. Dabei konnte die Annahme, dass diese auf eine geringere Ligandenstabilität zurückzuführen ist durch die Verwendung einer zweizähligen Ankergruppe bestätigt werden. Dieses literaturbekannte Phänomen müsste in zukünftigen Arbeiten weiter untersucht werden.

3.6.2 Untersuchungen zum Einfluss des Kernmaterials auf die Biokompatibilität

Im zweiten Teil dieses Projektes standen Untersuchungen zum Einfluss des Kernmaterials auf die Bindungsstärke und der Biokompatibilität im Vordergrund. Im vorherigen Kapitel konnte anhand der Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel Konjugate kein signifikanter Einfluss des Kernmaterials auf die Biokompatibilität nachgewiesen werden. Dies sollte durch weitere Untersuchungen mit den azyklischen Aminoalkoholen bestätigt und vertieft werden. Ausgehend von den erhaltenen Ergebnissen, besonders der hohen Zytotoxizität, wurden für weiterführenden Studien möglicher Einflüsse des Kernmaterials von der Verwendung aller neuen Bindungsepitope zur Untersuchung abgesehen und nur das bis dahin unauffällige Threos als Vertreter dieser Gruppe ausgewählt. Alle funktionalisierten Nanopartikel wurden durch die bereits beschriebenen Methoden charakterisiert. Falls nicht anders angegeben, hatte die Funktionalisierung keinen Einfluss auf den Agglomerationsgrad und die Form der Partikel. Die erhaltenen Ergebnisse der Charakterisierungen sind in Tabelle 12, Tabelle 13 und Tabelle 15 zusammengefasst.

Zur Untersuchung der möglichen Einflüsse auf die Biokompatibilität wurden die sulfatierten Epitope EAs, Sers, TRISs und Threos auf 5 nm großen magnetischen Eisenoxidnanopartikel immobilisiert (Abb. 125). Dies erfolgte durch Umsetzung von

3 Ergebnisse und Diskussion

IONP-DMSA mit den sulfatierten Epitopen durch Zugabe von EDC, NEt_3 und Sulfo-NHS in einem $\text{DMSO} / \text{H}_2\text{O}$ -Gemisch. Um einen möglichen Einfluss der Partikelgröße auf die Biokompatibilität der magnetischen Eisenoxidnanopartikel nachweisen zu können, wurden die beiden Epitope EAs und Sers zusätzlich auf 7 nm und 12 nm große Nanopartikel immobilisiert.

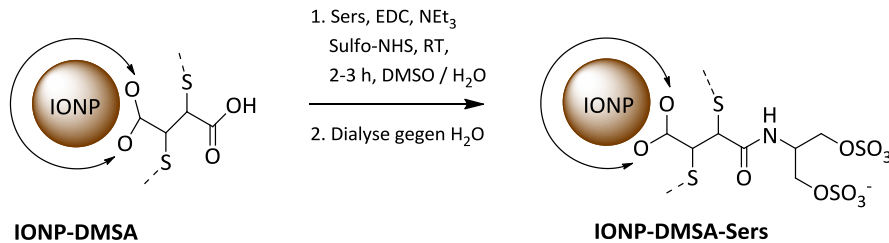


Abb. 125: Schematische Darstellung der Funktionalisierung von IONP-DMSA mit den unterschiedlichen Aminoalkoholen (gezeigt am Beispiel von Sers).

Die Charakterisierung der durch die Umfunktionalisierung erhaltenen Eisenoxidnanopartikel erfolgte wie bereits bei den funktionalisierten Kohlenhydratmimetika ausführlich beschrieben durch IR-Spektroskopie. Die typischen Schwingungen der Amidbindung konnten auch in allen Spektren der Aminoalkohol-funktionalisierten Eisenoxidnanopartikeln nachgewiesen werden, womit eine Immobilisierung bestätigt werden konnte (Ergebnisse der IR-Auswertungen siehe experimenteller Teil 6.2.10.5).

Tabelle 12: Ergebnis der Charakterisierung der Aminoalkohol-funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel

funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	DLS (d_h / nm)
IONP/DMSA/EAs	5	13 ± 3
IONP/DMSA/Sers	5	14 ± 3
IONP/DMSA/TRISs	5	15 ± 4
IONP/DMSA/Threos	5	15 ± 2
IONP/DMSA/EAs	7	25 ± 5
IONP/DMSA/Sers	7	23 ± 4
IONP/DMSA/EAs	12	55 ± 15
IONP/DMSA/Sers	12	47 ± 10

3 Ergebnisse und Diskussion

Obwohl die DLS-Messungen einen deutlichen Anstieg der hydrodynamischen Radien bei den 12 nm großen Eisenoxidnanopartikel ergaben, konnte kein Einfluss der Umfunktionalisierungsreaktion in den TEM-Aufnahmen beobachtet werden. Die Partikel lagen einzeln und nicht agglomeriert vor. In Abb. 126 sind die Ergebnisse der *in vitro* Biokompatibilitätstests der funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel dargestellt. Es fällt auf, dass unabhängig von der Partikelgröße, den sulfatierten Epitopen und der Konzentration für alle Partikel keine zytotoxischen Wirkungen auf die *HUVECs* nachgewiesen werden konnte.

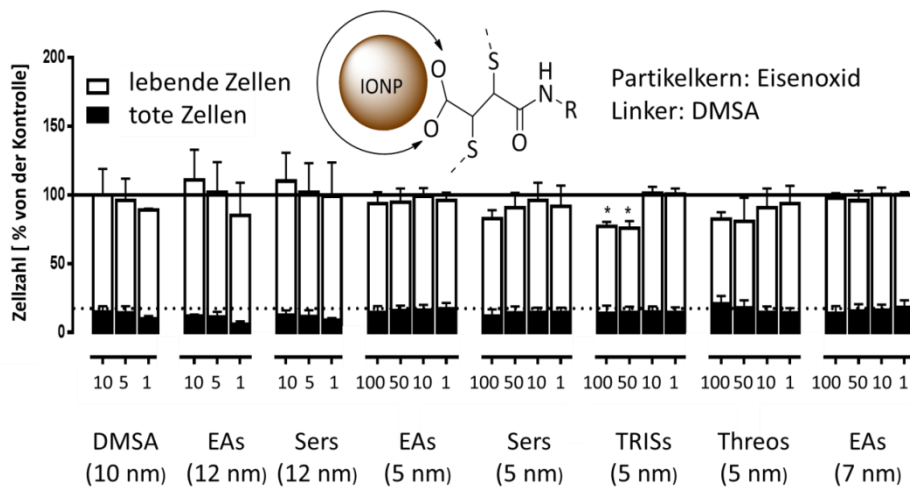


Abb. 126: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der unterschiedlich großen Eisenoxidnanopartikel, die mit den sulfatierten azyklischen-Aminoalkoholen Ethanolamin (EAs), Serinol (Sers), Trometamol (TRISs) und Threoninol (Threos) funktionalisiert wurden. *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit den Nanopartikeln (100, 50, 10, 5 und 1 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX® Green* Kernfärbung erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

In Verbindung mit den aus den Studien der Kohlenhydratmimetika erhaltenen Ergebnisse (Abb. 113) kann deshalb postuliert werden, dass die DMSA-Hülle die funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel sehr gut stabilisiert und somit vor Agglomerationen und weiteren negativen Wechselwirkungen mit den Zellen schützt. Die DMSA-funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel sind ein vielversprechender Kandidat als Templatmaterial für die multivalente Präsentation der Selektin-bindenden Epitope.

3 Ergebnisse und Diskussion

Als weitere Variation des Kernmaterials wurden die sulfatierten Epitope nach der bereits im Kapitel 3.5.2.2 vorgestellten Methode (Abb. 106) auf 4 nm bzw. 2,5 nm große CdTe/ZnS-QDots immobilisiert und charakterisiert (Tabelle 13) Zur Untersuchung der möglichen Einflüsse der Linkerlänge und Partikelgröße auf die Biokompatibilität wurden weitere CdTe/ZnS-QDots mit Sers funktionalisiert (Tabelle 15). Dabei sollte ein Vergleich zwischen der Biokompatibilität der gleichlangen Linker MHA und DHLA Erkenntnisse zur stabilisierenden Wirkung der zweizähligen Ankergruppe liefern, während der Linker MSA den Einfluss verzweigter Linker aufzeigen sollte.

Tabelle 13: Ergebnisse der Charakterisierung der Aminoalkohol-funktionalisierten QDots

funktionalisierte QDots	TEM (d / nm)	UV/Vis (λ_{\max} / nm)
CdTe/ZnS/MUDA/Eas	2,5	436
CdTe/ZnS/TGA/Eas	5	581
CdTe/ZnS/MUDA/Threos	2,5	434
CdTe/ZnS/TGA/Threos	5	565
CdTe/ZnS/MUDA/TRISs	2,5	439
CdTe/ZnS/TGA/TRISs	5	565

Bei den getesteten Konzentrationen konnte für die Sers- und Threos-kordinierten CdTe/ZnS-QDots kein signifikanter Einfluss auf die Vitalität der Zellen nachgewiesen werden (Abb. 127). Beide sulfatierten Epitope weisen für diese Partikelgröße scheinbar den besten Abstand zueinander auf und können die Partikel sehr gut gegen Agglomeration schützen. Hingegen zeigten die funktionalisierten QDots in der Biokompatibilitätsstudie eine konzentrationsabhängige zytotoxische und zellproliferationshemmende Wirkung ab 50 nmol / L für EAs-kordinierten QDots bzw. ab 100 nmol / L für QDots mit TRISs als Epitop auf (Abb. 127 A). Die toxische Wirkung war dabei unabhängig von der Partikelgröße.

In Kombination mit den Studien der Kohlenhydratmimetika-koord. QDots kann ein konzentrationsabhängiger Trend der zytotoxischen Wirkung der QDots auf die HUVECs nachgewiesen werden. Negative Einflüsse auf die Zellvitalität treten ab hohen Konzentrationen (> 50 nmol / L) auf. Während Partikelgröße und Linkerlänge einen

3 Ergebnisse und Diskussion

geringeren Einfluss darauf besitzen, ist die Stabilität der sulfatierten Epitope ein ausschlaggebender Punkt für die beschriebene Wirkung. Dabei scheinen die sterisch anspruchsvolleren Kohlenhydratmimetika die Partikel besser zu stabilisieren.

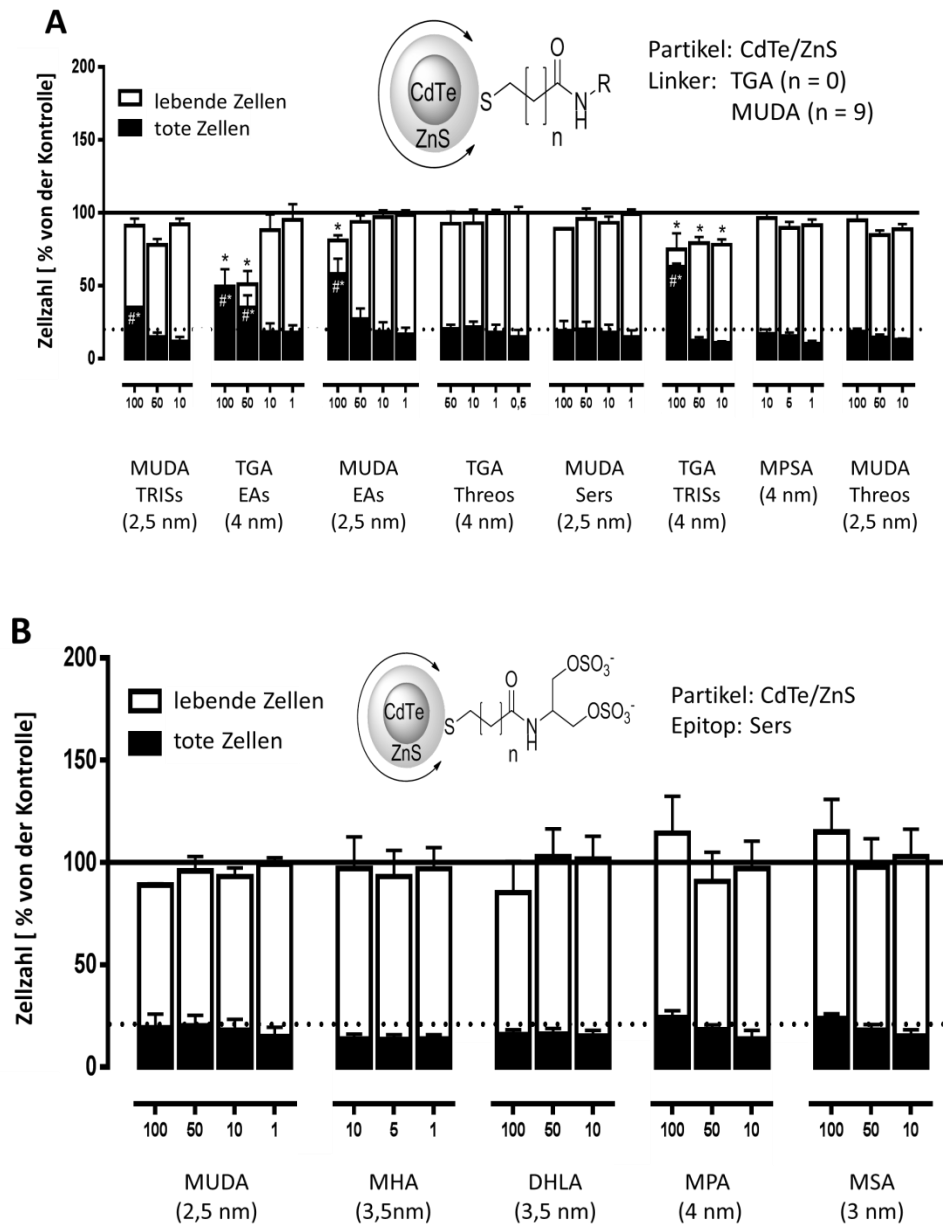


Abb. 127: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der QDots mit unterschiedlichen sulfatierten Epitopen (A) und mit Sers (B). *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen (100, 50, 10, 5, 1, 0,5 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX® Green* Kernfarbstoff nachgewiesen. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als *p < 0,05 (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #*p < 0,05 (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

Auch wurde der Einfluss der Zelllinie auf die Biokompatibilität der funktionalisierten QDots mit einer Studie an *MSCs* untersucht. Die Tests wurden *im Labor für experimentelle Unfallchirurgie der JLU von Olga Dakischew* durchgeführt.

Dazu wurden CdTe/ZnS/TGA/EAs mit einer Konzentration von $c = 20 \text{ pmol / L}$ auf primäre mesenchymale Stammzellen aus humanem Bohrmehl (ZK57 und ZK67) gegeben und 6 Tage inkubiert. Nach 48 h und 6 Tagen erfolgte eine Kontrolle der Zellen durch mikroskopische Untersuchungen. In Abb. 128 sind Aufnahmen der mit Nanopartikeln inkubierten Zellen und einer Kontrolle ohne Nanopartikel (ZK67) nach verschiedenen Tagen gezeigt. Auch nach Tag 6 konnte bei der verwendeten Konzentration keine Veränderung der Zellen beobachtet werden. In einer weiteren Untersuchung wurde die Partikelkonzentration ($14,1 \text{ nm / L}$, 100 pmol / L und 1 nmol / L) variiert und nach einer Inkubationsdauer von einem Tag die Zellen untersucht. Dabei konnte kein Einfluss der Partikelkonzentration auf die Vitalität nachgewiesen werden (siehe Anhang Abb. 25).

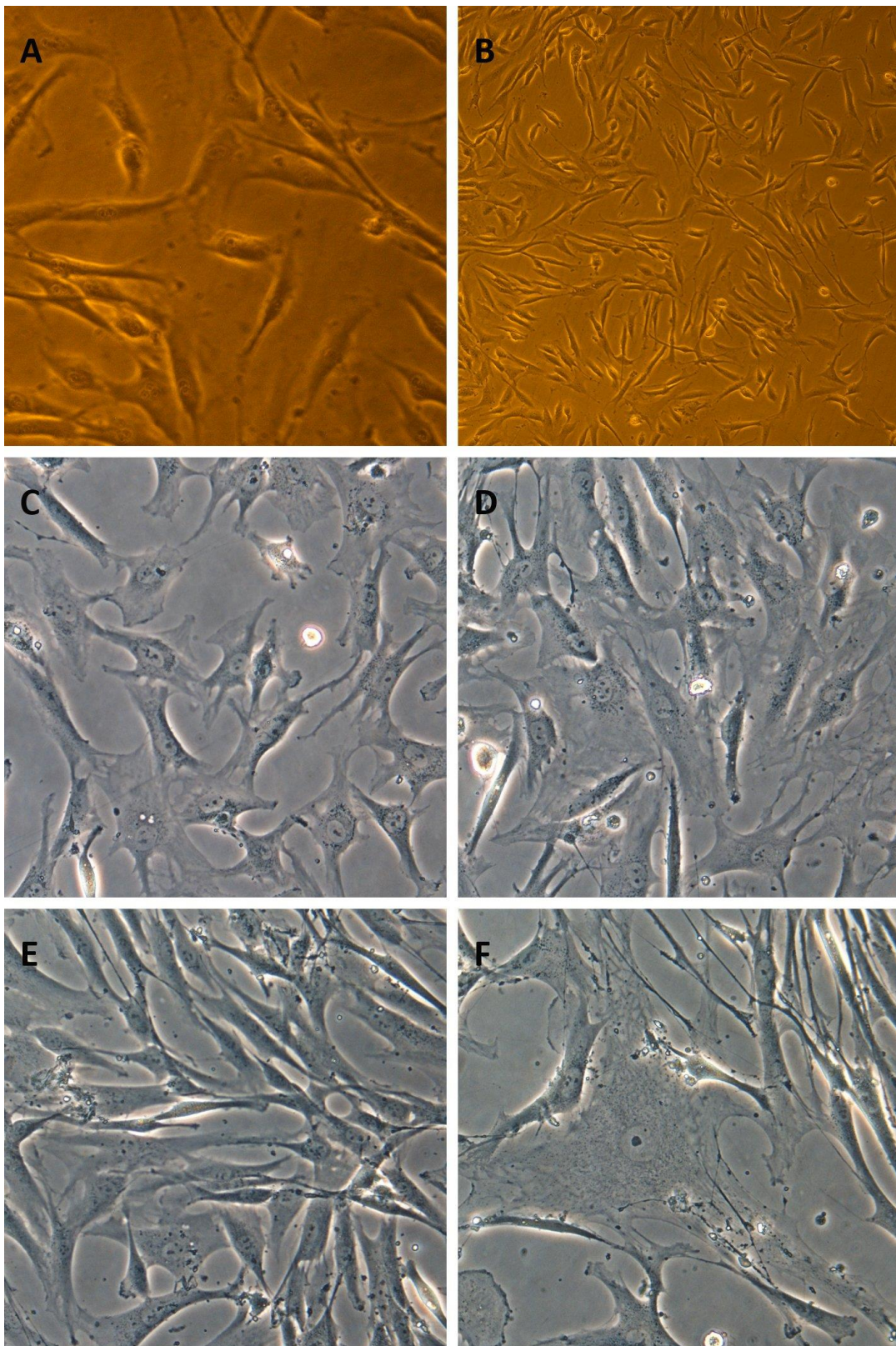


Abb. 128: Mikroskopische Aufnahmen der mit CdTe/ZnS/TGA/EAs ($c = 20 \text{ pmol/L}$) inkubierten MSCs; Kontrolle einen Tag nach der Aussaat mit unterschiedlichen Vergrößerungen (A: K32 und B: K10); Kontrolle nach einer Inkubationsdauer von 48 h (C, Vergrößerung K32); Kontrolle nach Tag 6 (E, Vergrößerung K32); Zellen mit Nanopartikeln nach Inkubationsdauer von 48 h (D, Vergrößerung K32); Zellen mit Nanopartikeln nach 6 Tagen (F, Vergrößerung K32).

3.6.2.1 Untersuchungen zum Einfluss des Kernmaterials auf die Bindungsstärke

Ob eine ähnliche Verbesserung der Bindungseigenschaften wie mit den Goldnanopartikeln durch die multivalente Präsentation auf Eisenoxidnanopartikeln oder QDots erzielt werden kann, wurde in der vorliegenden Arbeit durch Bestimmung der L-Selektin-Bindungsstärke von unterschiedlich großen Sers-funktionalisierten Eisenoxidnanopartikeln und QDots untersucht. Die dafür nötigen SPR-Messungen wurden von *Christian Kühne* aus der Arbeitsgruppe *Dernedde / Tauber* an der Charité in Berlin durchgeführt und sind in Tabelle 14 und Tabelle 15 gezeigt. Durch Trägerung der azyklischen Aminoalkohole auf den Nanopartikeln konnte eine Bindungsverstärkung um den Faktor 10^3 für die 5 nm großen Eisenoxidnanopartikel erzielt werden. Wie bereits in vorherigen Arbeiten der Arbeitsgruppe an 6 nm und 14 nm großen AuSers gezeigt,^[165] nimmt diese mit größer werdenden Partikeldurchmessern ab. Eine mögliche Erklärung für die Abhängigkeit der Bindungseigenschaften von der Nanopartikelgröße könnte die Veränderung des Krümmungsradius der Partikeloberfläche und der damit verbundenen Veränderung der Ligandenabstände zueinander sein.^[9,165,290]

Tabelle 14: Ergebnisse des SPR-Bindungsassays für Sers-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel

Sers-koord. IONP	Partikelgröße (d / nm)	L-Selektin Inhibierung (IC ₅₀)
IONP/DMSA/Sers	5	25 nM
IONP/DMSA/Sers	7	467 nM
IONP/DMSA/Sers	12	478 nM

Ein ähnliches Ergebnis wurde für die QDots erhalten. Auch diese zeigen IC₅₀-Werte im unteren nM-Bereich. Die schlechtesten Werte werden für den MUDA-Linker und den MHA-Linker erhalten, sodass neben der Partikelgröße auch ein Einfluss der Linkerlänge und der damit verbundenen Präsentation der Epitope vermutet werden kann. Durch kurz-kettige Linker und dem DHLA-Linker werden die Sers-Liganden mit besseren Abständen zueinander präsentiert und konnten in der Studie die besten IC₅₀-Werte mit 4 – 7 nmol / L zeigen.

3 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 15: Übersicht der erhaltenen IC₅₀-Werte der unterschiedlichen mit Sers koordinierten CdTe/ZnS-QDots

Sers-koord. Qdots	TEM (d / nm)	UV/Vis (λ_{\max} / nm)	L-Selektin Inhibierung
CdTe/ZnS/MPA/Sers	4	565	4,6 nM
CdTe/ZnS/MSA/Sers	3	517	7,1 nM
CdTe/ZnS/DHLA/Sers	3,5	567	4,4 nM
CdTe/ZnS/MHA/Sers	3,5	487	46 nM
CdTe/ZnS/MUDA/Sers	2,5	439	84 nM

3.6.2.2 Fazit

Anhand der in diesem Unterkapitel beschriebenen Studien zur Biokompatibilität der Aminoalkohol-funktionalisierten Nanopartikeln konnte kein signifikanter Einfluss der Eisenoxidnanopartikel auf die Vitalität der Zellen nachgewiesen werden. Hingegen zeigten die funktionalisierten QDots eine konzentrationsabhängige toxische Wirkung bestimmter Epitope. Diese Ergebnisse unterstützen die bereits bei den Kohlenhydratmimetika-Nanopartikel Konjugaten getroffene Aussage, dass eine negative Beeinflussung der Zellen nicht durch das Kernmaterial, sondern durch die Stabilität der Ligandenhülle hervorgerufen wird. So nimmt die Toxizität mit steigendem sterischen Anspruch der Liganden ab. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Bindungsaffinität nicht vom gewählten Kernmaterial beeinflusst wird, sondern nur durch die Anzahl und die Präsentation der Liganden (Flexibilität, Linkerlänge und Partikelgröße). Es ist somit möglich, gute Bindungseigenschaften bekannter Liganden mit den einzigartigen Eigenschaften des Kernmaterials zu kombinieren, ohne dass dies signifikante Auswirkungen auf die Biokompatibilität hat.

3.6.3 Untersuchungen zur Zellaufnahme der funktionalisierten Nanopartikel

Die unterschiedlichen zytotoxischen und proliferationshemmenden Wirkungen der getesteten Nanopartikel können neben einer geringen Stabilität der Liganden auch durch unterschiedliche Aufnahmemechanismen in die Zelle hervorgerufen werden. So konnten

3 Ergebnisse und Diskussion

verschiedene Gruppen nachweisen, dass die Partikelgröße,^[309,319] Funktionalität^[320] und Konzentration^[321] von Nanopartikeln einen Einfluss auf den Mechanismus der Zellaufnahme und der anschließenden zellulären Reaktion, wie z.B. Zytotoxizität besitzen. Deshalb wurden neben *in vitro* Biokompatibilitätstests in diesem Projekt auch Untersuchungen zur Zellaufnahme durchgeführt. Solche Studien sind von großem Interesse, um weitere Einblicke in die Natur der Wirkung von Nanopartikeln in biologischen Systemen zu erhalten. Weitere Studien mit den bereits für die *in vitro* Biokompatibilitätstests verwendeten Sers-kooordinierten Goldnanopartikel (Abb. 124) konnten dabei eine größenabhängige Zellaufnahme der AuSers (7 nm bzw. 14 nm) nachweisen. So zeigten TEM-Aufnahmen der in Epon eingebetteten MSCs (Abb. 129), dass die Nanopartikel durch Endozytose in die Zelle aufgenommen und die internalisierten Partikel in Vesikeln angereichert werden. Auffallend war auch, dass scheinbar nur die Aufnahme der kleinen Partikel durch die fibrillären Strukturen der Zelle erfolgte, während die großen Partikel über die gesamte Zelloberfläche aufgenommen wurden.

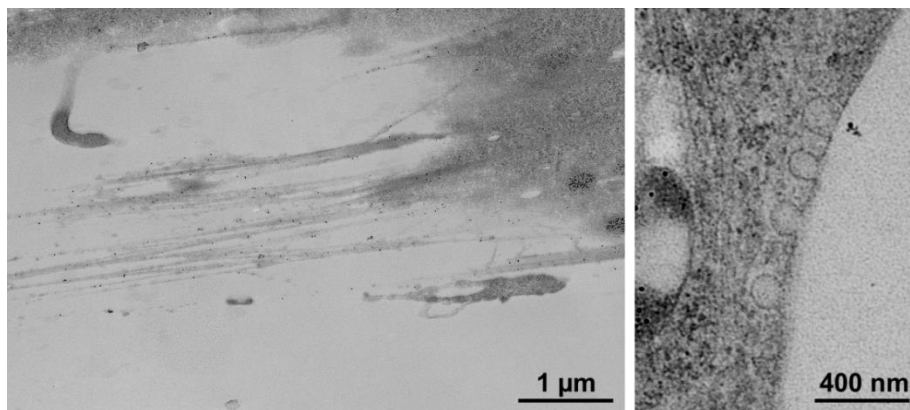


Abb. 129: TEM-Aufnahmen der Zellaufnahme (MSCs) von 7 nm (links) und 14 nm (rechts) großen AuSers.

Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen könnte eine unterschiedliche Lokalisation der bindenden Glycoproteine und größenabhängige Wechselwirkungen der Goldnanopartikel sein. So scheinen die größeren Nanopartikel ein Signal zur Endozytose auszusenden, während die kleinen Goldkolloide nur mit einer geringen Anzahl von Rezeptoren interagieren und nicht in der Lage sind die Endozytose selbst auszulösen.^[321] Auch wurden unterschiedlich großen QDots CdTe/ZnS/MUDA/EAs (2,5 nm) und CdTe/ZnS/TGA/EAs (4 nm) auf ihre Zellaufnahme untersucht.

3 Ergebnisse und Diskussion

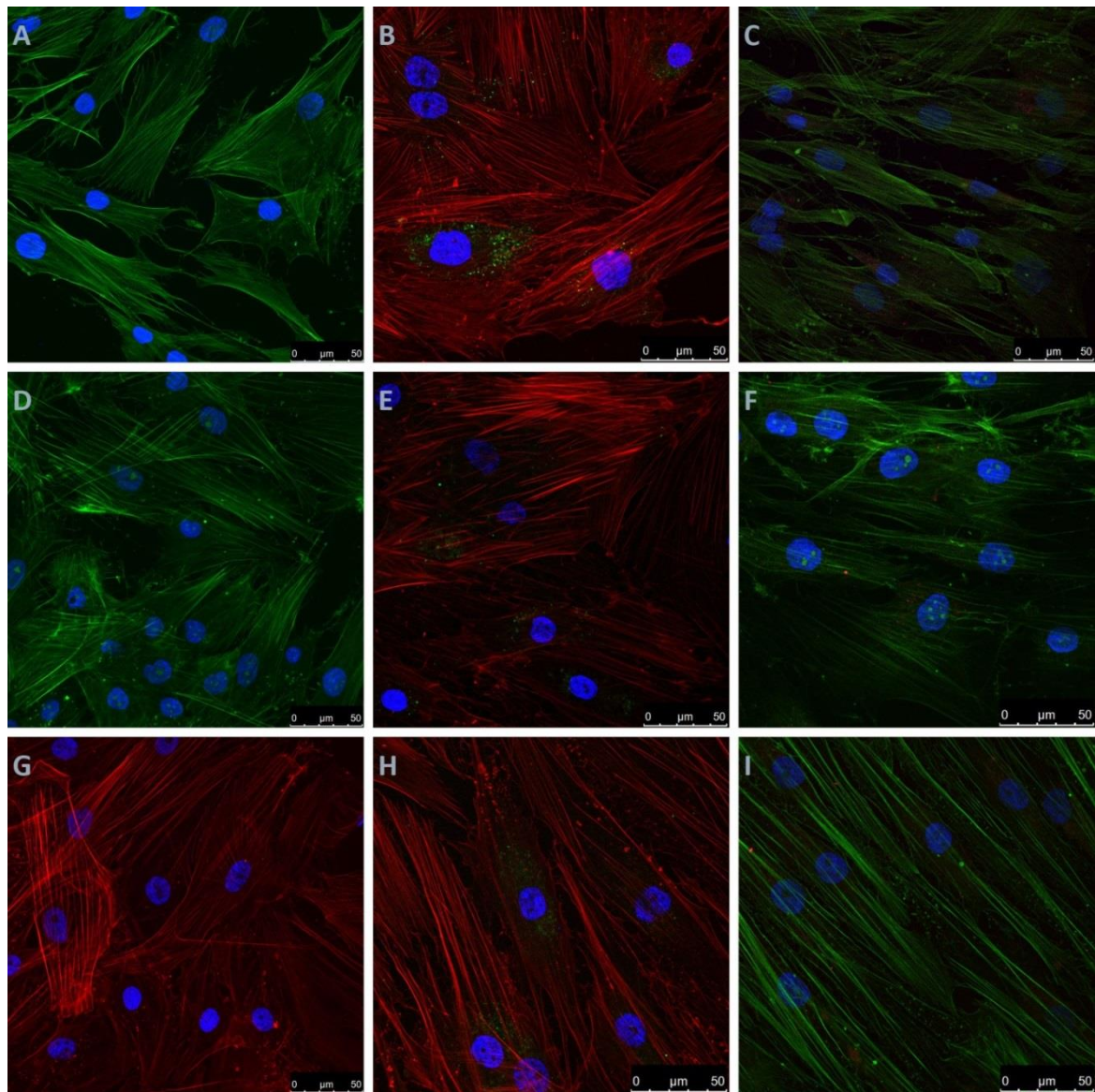


Abb. 130: Aufnahmen der inkubierten MSCs mit einem konfokalen Fluoreszenzmikroskop (Kernanfärbung mit 4',6-Diamidin-2-phenylindol; Anfärbung Actinfilamente mit Phalloidin-TRITC). In A, C, D, F, I sind Actinfilamente grün und in B, E, G, H rot dargestellt. In allen Abbildungen ist der Kern blau und die QDots nach ihrer Größe grün (2,5 nm) oder orange (4 nm) dargestellt. Aufnahme der Kontrolle ohne Nanopartikel nach Tag 1 (A); Aufnahme der Kontrolle ohne Nanopartikel nach Tag 3 (D); Aufnahme der Kontrolle nach Tag 7 (G); Aufnahme der Zellen mit 2,5 nm großen QDots nach Tag 1(B); Aufnahme der Zellen mit 2,5 nm großen QDots nach Tag 3 (E); Aufnahme der Zellen mit 2,5 nm großen QDots nach Tag 7 (H); Aufnahme der Zellen mit 4 nm großen QDots nach Tag 1 (C); Aufnahme der Zellen mit 4 nm großen QDots nach Tag 3 (F); Aufnahme der Zellen mit 4 nm großen QDots Tag 7 (I).

Dazu wurden die MSCs mit QDots ($c = 100 \text{ pmol} / \text{L}$) eine Woche inkubiert und nach Tag 1, Tag 3 und Tag 7 unter einem konfokalen Fluoreszenzmikroskop betrachtet. In Abb. 130 sind einzelne Aufnahmen gezeigt. Nach Zugabe der QDots beginnen diese durch den Mechanismus der Endozytose in die Zelle zu wandern. Ab Tag 1 (Abb. 130 B und C) können Agglomerate der Qdots im Zytoplasma in der Nähe des Zellkerns beobachtet werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

Auch nach einer Inkubationsdauer von 3 und 7 Tagen kann keine Penetration der QDots in den Zellkern auf den Aufnahmen beobachtet werden. Ebenfalls sind keine Unterschiede bedingt durch die Partikelgröße sichtbar. Dies steht im Einklang mit anderen literaturbekannten Studien.^[322,323]

Als mögliche Erklärung für die Ausbildung der Agglomerate führten *Xiao et al.* eine drastische Abnahme der pH-Werte in den späten Endosomen an.^[322] Diese weisen einen pH-Wert von 4,5^[324] auf und führen zur Protonierung der negativen Sulfatgruppen. Dadurch kommt es zu einem osmotischen Ungleichgewicht innerhalb des Endosoms mit der Folge, dass durch endosomaler Schwellung und Zerfall die QDots freigesetzt werden.^[325]

3.6.4 Fazit

Zusammenfassend konnten anhand der in diesem Unterkapitel präsentierten Ergebnisse neue Erkenntnisse zur Aufnahme der Aminoalkohol-funktionalisierten Nanopartikel erhalten werden. Um die Wirkung der Größenvariation der Goldnanopartikel auf deren Zellaufnahme und intrazellulärer Lokalisation zu bestimmen, wurden dazu die 7 nm und 14 nm großen AuSers nach unterschiedlich lange Zeitintervalle untersucht. Dabei zeigten die Nanopartikel einen größenabhängigen Aufnahmemechanismus, der in weiteren Arbeiten näher untersucht werden muss. Im Unterschied dazu konnte keine Größenabhängigkeit bei der Zellaufnahme der 2,5 nm und 4 nm großen CdTe/ZnS/EAs nachgewiesen werden. Beide QDots-Größen wurden durch Endozytose innerhalb eines Tages in die Zelle aufgenommen, wo diese aus den Endosomen ins Zytoplasma freigesetzt wurden und sich um den Zellkern anreicherten. Auch nach längeren Zeitintervallen konnte keine Penetration des Zellkerns oder weitere Wechselwirkungen beobachtet werden. Mit diesen Ergebnissen kann die fehlende zytotoxische Wirkung bei niedrigen Konzentrationen ($c = 100 \text{ pmol / L}$) erklärt werden. In weiteren Studien müssten höhere Konzentrationen untersucht werden, um eine mögliche Veränderungen des Mechanismus zu beobachten und Anzeichen für die konzentrationsabhängige Zytotoxizität zu finden. Obwohl noch eine genauere Klärung der beschriebenen Phänomene über weitere biochemische Untersuchungen erforderlich ist, könnte die Verwendung der in diesem Kapitel

beschriebenen Nanopartikel dazu führen, tiefere Einblicke in die Zellaufnahme von Nanopartikeln und wertvolle Informationen für den Wirkstofftransport und der Tumordiagnostik zu erhalten.

3.7 Multivalente Präsentation von Clovamid-inspirierten Liganden zur mögliche Selektin-Bindung

Zusätzlich zu Cyclodextrinen, einfachen Kohlenhydratmimetika und azyklischen Aminoalkoholen wurde in der vorliegenden Arbeit nach weiteren potenziellen Liganden für die multivalente Präsentation auf Nanopartikeln gesucht, die mögliche Wechselwirkungen mit Selektinen eingehen können. Einige Studien konnten zeigen, dass sekundäre Pflanzenstoffe, die keine Kohlenhydrat-Derivate der sLe^x-Struktur enthalten, eine inhibierende Wirkung auf Selektine besitzen.^[326] Dabei heben sich die in Pflanzen, Rotwein und Kakao natürlich vorkommenden Polyphenole deutlich hervor, weswegen sie in der vorliegenden Arbeit als weitere Liganden ausgewählt wurden.

Dazu wird in diesem Kapitel zunächst in einer kurzen Einleitung eine Klasse der Kakao-Polyphenole vorgestellt, bevor auf die multivalente Präsentation von abgeleiteten, vereinfachten Strukturen durch die unterschiedlichen Nanopartikel näher eingegangen und erste Biokompatibilitätstests diskutiert werden.

3.7.1 Clovamide

Seit dem letzten Jahrzehnt haben eine Vielzahl von Studien über die möglichen antioxidativen und gesundheitsfördernden Eigenschaften von Kakao und dunkler Schokolade das Interesse an den Inhaltsstoffen der Pflanze *Theobroma cacao* (Kakaobaum) geweckt und ins Zentrum der Naturstoff- und Wirkstoffforschung gelenkt.^[327] Dabei werden vor allem den enthaltenen Polyphenolverbindungen (Anteil: ca. 6-10% im Kakaopulver) vorteilhafte antikarzinogene, antithrombotische, immunmodulierende und entzündungshemmende Eigenschaften nachgesagt.^[328] Von den verschiedenen Polyphenolverbindungen, die in Kakao, Schokolade und sonstigen Schokoladenerzeugnissen nachgewiesen wurden, ist die Verbindung Clovamid und dessen

3 Ergebnisse und Diskussion

Derivate *N*-Coumaroyldopamin und *N*-Caffeoyldopamin (Abb. 131) für die Untersuchung von antiinflammatorischen Eigenschaften von besonderem Interesse. Arbeiten verschiedener Gruppen zeigten, dass diese Verbindungen unter anderem die Fähigkeit besitzen, die Wechselwirkungen zwischen Leukozyten und Thrombozyten durch die Hemmung der P-Selektin Expression zu beeinflussen.^[329,330,331] So konnten z.B. *Park und Schoene* in verschiedenen *in vivo* und *in vitro* Tests nachweisen, dass Clovamide ab Konzentrationen von 0,05 µmol/L die P-Selektin-Expression und somit die Leukozyt-Thrombozyt-Wechselwirkungen um 30% inhibieren können.^[331]

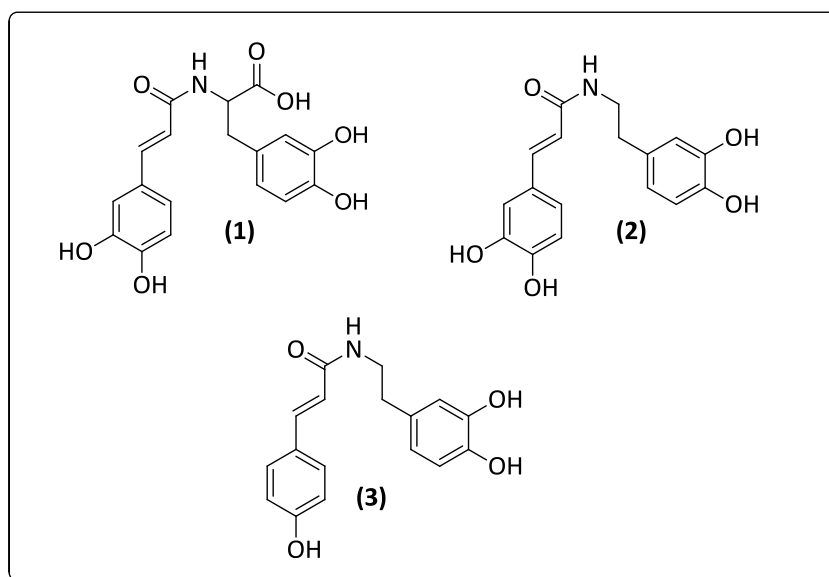


Abb. 131: Chemische Strukturen von Clovamid (1), *N*-Caffeoyldopamin (2) und *N*-Coumaroyldopamin (3).

Bei näherer Betrachtung der in Abb. 131 gezeigten Verbindungen fällt auf, dass es sich um Mitglieder der Klasse der Hydroxyzimtsäure-Aminosäure-Amide handelt, die aus Verknüpfungen zwischen Kaffee- oder Cumarsäure mit der aromatischen Aminosäure L-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) oder dem Katecholamin Dopamin (DP) aufgebaut werden.^[332] Die inhibitorischen Eigenschaften können anhand der L-DOPA und DP Funktionalität erklärt werden. Bei beiden Komponenten handelt es sich um Derivate der proteinogenen Aminosäure L-Tyrosin, die in sulfatierter Form auch in dem wichtigsten Bindungspartner bzw. Rezeptor für P-Selektin dem P-Selektin Glycoprotein Ligand-1 (PSGL-1) vorkommt.^[333] So sind neben den sialylierten und fukosylierten core-2 O-Glykanen drei Tyrosinsulfatreste an den Positionen 46, 48 und 51 für die hohe Affinität zwischen dem PSGL-1-Ligand und seinen Selektin-Bindungspartnern ausschlaggebend.^[334] *Enders et al.*

3 Ergebnisse und Diskussion

konnten zeigen, dass eine multivalente Präsentation von sulfatierten Tyrosinresten mit benachbarten sLe^x -Einheiten auf einem Polyacrylamid (PAA)-Trägerpolymer zu hohen Bindungsaffinitäten mit IC_{50} -Werten im nanomolaren Bereich führt.^[166,335] Durch Verwendung von nanopartikulären Trägermaterialien zur multivalenten Präsentation sollte eine Verbesserung der Bindungsaffinität und somit ähnliche IC_{50} -Werte möglich sein.

3.7.2 Immobilisierung von Clovamid inspirierten Liganden auf Edelmetallnanopartikel

Aus den oben genannten Gründen sind Hydroxyzimtsäure-Aminosäure-Amide (Caffeoyl-Derivate) vielversprechende Modellsysteme für potenzielle Inhibitoren der Selektin-Ligand Wechselwirkungen und wurden in dieser Arbeit zur Entwicklung neuer Clovamid inspirierter Liganden und deren multivalenter Präsentation auf verschiedenen Nanopartikeln verwendet. Als Epitope wurden dafür neben den bereits erwähnten L-Tyrosin, L-DOPA und Dopamin, weitere Derivate dieser Verbindungen verwendet, die in Abb. 132 als Übersicht in sulfatierter Form gezeigt sind. So wurden als weitere Liganden die biogenen Amine Octopamin (Octos), L-Tyrosinol (Tyrols) und L-Tyramin (Tyras) wegen ihrer Ähnlichkeit zum L-Tyrosin gewählt.

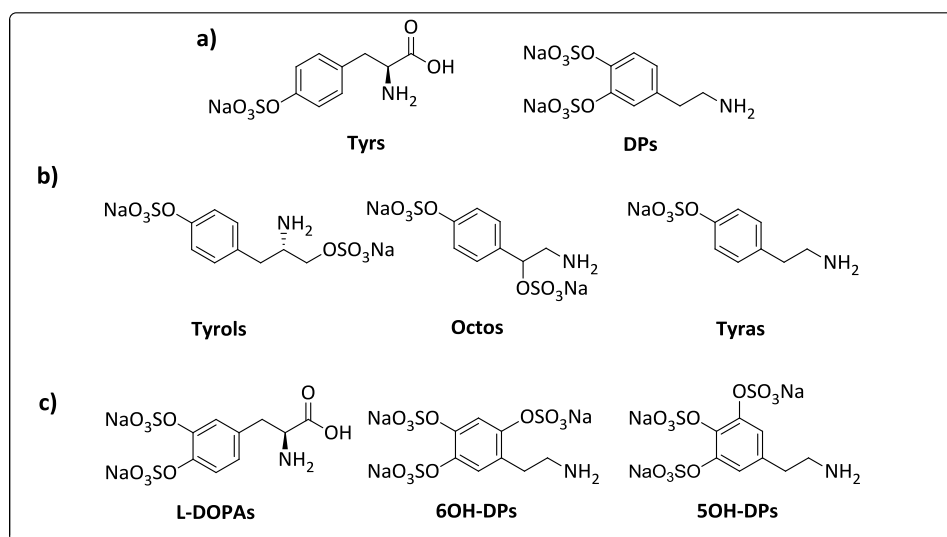


Abb. 132: Aufzählung der in dieser Arbeit für die Entwicklung neuer Clovamid-inspirierter Liganden verwendeten sulfatierten Verbindungen a) sulfatiertes L-Tyrosin (Tyrs); sulfatiertes Dopamin (DPs); b) sulfatiertes Tyrosinol (Tyrols); sulfatiertes Octopamin (Octos); sulfatiertes Tyramin (Tyras); c) sulfatiertes L-DOPA (L-DOPAs); sulfatiertes 6 Hydroxydopamin (6OH-DPs); sulfatiertes 5 Hydroxydopamin (5OH-DPs).

3 Ergebnisse und Diskussion

Während die ebenfalls biogenen Katecholamine 5-Hydroxydopamin (5OH-DPs) und 6-Hydroxydopamin (6OH-DPs) eine zusätzliche Hydroxylgruppe im Vergleich zum Dopamin besitzen und deshalb ausgewählt wurden. Für die Immobilisierung muss berücksichtigt werden, dass Katechole eine hohe Affinität zu vielfältigen Materialien, insbesondere zu Metallen bzw. Metalloxiden, besitzen.^[336] So bestimmten z.B. *Messersmith et al.* experimentell anhand rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen die Bindungsstärke von Dopamin auf Metalloberflächen und konnten zeigen, dass die Dopamin-TiO₂-Bindung eine der stärksten je gemessenen reversiblen Wechselwirkungen mit einer Dissoziationskonstanten von über 800 pN aufweist.^[337]

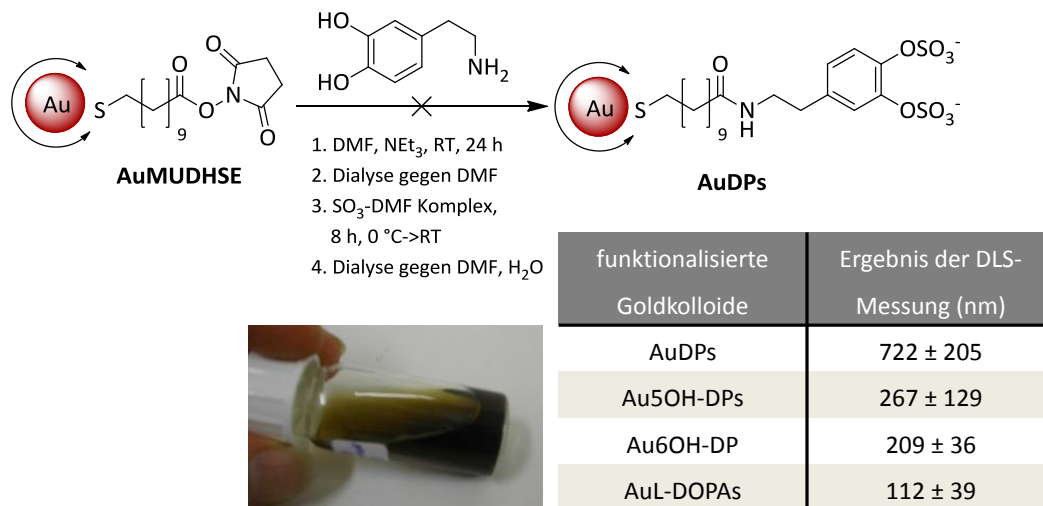


Abb. 133: Schematische Darstellung des nicht erfolgreichen zweistufigen Syntheseversuches zur Herstellung von Dopamin-funktionalisierten Goldkolloiden. Charakterisierung durch TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen zeigten eine Agglomeration der Partikel.

Für die multivalente Präsentation des Neurotransmitters Dopamin und dessen Derivate L-DOPA, 5OH-DP und 6OH-DP, war die Verwendung der bereits in den vorangegangenen Kapiteln ausführlich vorgestellten Kupplungsstrategie mit der vorherigen Sulfatierung der Liganden und der anschließenden Anbindung durch Verwendung der NHS-Aktivester koordinierten Nanopartikeln oder der MUDA-koordinierten Goldnanopartikel mit den Kupplungsreagenzien HBTU/HOBt zwingend notwendig (siehe z.B. Abb. 96). Es zeigte sich bei der Kupplung von AuMUDHSE mit unsulfatierten DP, L-DOPA, 5OH-DP oder 6OH-DP und anschließendem Aufreinigungsschritt durch Dialyse ein Farbwechsel der Kolloidlösung ins Braune, bedingt durch die Ausbildung eines Elektronen-Transfer-Komplexes der

3 Ergebnisse und Diskussion

Katechol-Funktion. DLS-Messungen und TEM-Aufnahmen ergaben zusätzlich, dass eine Agglomeration der Partikel auftrat (Abb. 133). Dieses Phänomen kann durch die Fähigkeit der Katechol-Einheit des Dopamins und der oxidierten Form, dem Dopamin-Chinon, kohäsive und adhäsive Bindungen zur Partikeloberfläche aufbauen zu können, erklärt werden.

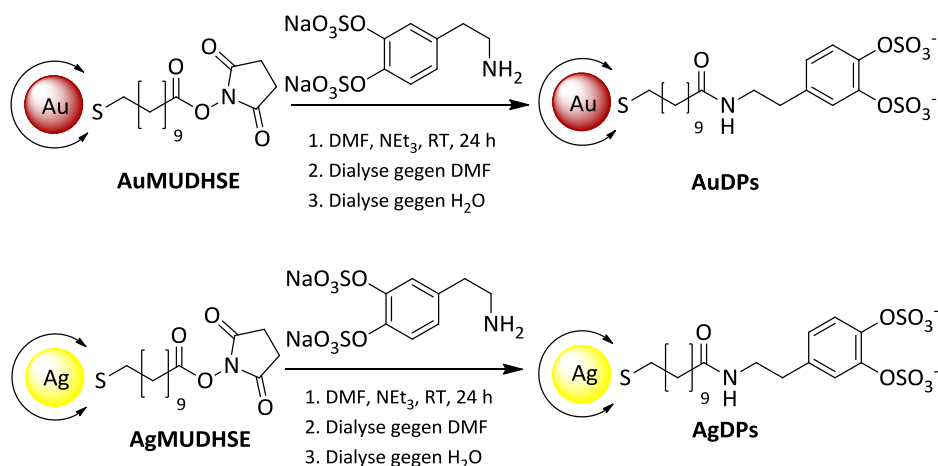


Abb. 134: Schematische Darstellung der Synthese der Gold- ($d = 7 \text{ nm}$) und Silbernanopartikel ($d = 5 \text{ nm}$) funktionalisiert mit sulfatiertem Dopamin.

Um den Einfluss der multivalenten Präsentation der unterschiedlichen Epitope auf die Biokompatibilität der erhaltenen Edelmetallnanopartikel untersuchen zu können, wurden die unterschiedlichen sulfatierten Liganden wie in Abb. 134 gezeigt auf die Gold- bzw. Silbernanopartikel immobilisiert und durch verschiedene Methoden charakterisiert (Tabelle 16). Es zeigte sich, dass durch die verwendeten Kupplungsmethoden keine Änderung des Agglomerationsgrades, der Partikelform und der Dispersität der Partikel auftrat. Zusätzlich waren die Partikel im wässrigen Medium einige Wochen stabil und konnten für erste Biokompatibilitätstests verwendet werden.

Zur Untersuchung der Biokompatibilität der erhaltenen funktionalisierten Edelmetallnanopartikel wurden Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests durchgeführt. Analog zu der bei dem Mucin-Projekt, den Kohlenhydratmimetika und azyklischen Aminoalkohol vorgestellte Durchführung wurden die Nanopartikel in unterschiedlichen Konzentrationen 48 h mit *HUVECs* inkubiert und 24 h nach der Aussaat die Toxizität und Proliferation fluorimetrisch mit dem *SYTOX Green*-Assay nachgewiesen. Ein Vergleich mit der

3 Ergebnisse und Diskussion

unbehandelten Kontrolle (Zellen ohne Nanopartikel) ergibt, dass die funktionalisierten Nanopartikel keinen signifikanten Einfluss auf die Zellproliferation bei den verwendeten Konzentrationen (10 nmol / L; 5 nmol / L und 1 nmol / L) besitzen. Je nach Epitop variiert aber die Zytotoxizität der Partikel. So zeigen die mit sulfatiertem Tyrosin und Tyramin koordinierten Goldnanopartikel bei der höchsten Konzentration (Tyrosin auch bei der niedrigsten Konzentration) einen signifikanten Anstieg der toten Zellen, während alle anderen Epitope keine Veränderung zeigen (Abb. 135).

Tabelle 16: Ergebnisse der Charakterisierung der erhaltenen Gold- und Silbernanopartikel.

funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	DLS (d_h / nm)	UV/Vis (λ_{max} / nm)
AuTyrS	7	11 ± 2	524
AuDPS	7	11 ± 2	526
AgDPS	5	10 ± 3	421
AuTyrOS	7	13 ± 4	524
AuOctOS	7	15 ± 3	526
AuTyrAS	7	13 ± 3	525
AgTyrAS	5	14 ± 2	422
AuL-DOPAS	7	30 ± 6	527
Au5OH-DPS	7	20 ± 5	525
Au6OH-DPS	7	20 ± 3	526

Der Einfluss des Partikelkerns der Edelmetallnanopartikel auf die Biokompatibilität der Clovamid-inspirierten Partikel wurde durch Inkubation der TyrAS-funktionalisierten Silbernanopartikel mit vier unterschiedlichen Konzentrationen (100, 50, 10 und 1 nmol/L) überprüft. Ein Vergleich der ca. 5 nm großen Silbernanopartikel mit den 7 nm großen Goldnanopartikeln bei Konzentrationen von 10 und 1 nmol/L (siehe Anhang Abb. 21 und Anhang Abb. 19) zeigt, dass bei beiden Konzentrationen keine Beeinflussung auf die Zytotoxizität und Zellproliferation durch die Silbernanopartikel besteht. Ab einer Konzentration von 50 nmol / L zeigen diese eine deutliche Hemmung der Zellproliferation. Eine Inkubation mit höheren Konzentrationen der Goldnanopartikel zum Vergleich war bedingt durch die Synthese nicht möglich, müsste aber in zukünftigen Arbeiten noch durchgeführt werden, um eine mögliche Abhängigkeit der Hemmung der Zellproliferation von der Konzentration der Edelmetallnanopartikel nachzuweisen.

3 Ergebnisse und Diskussion

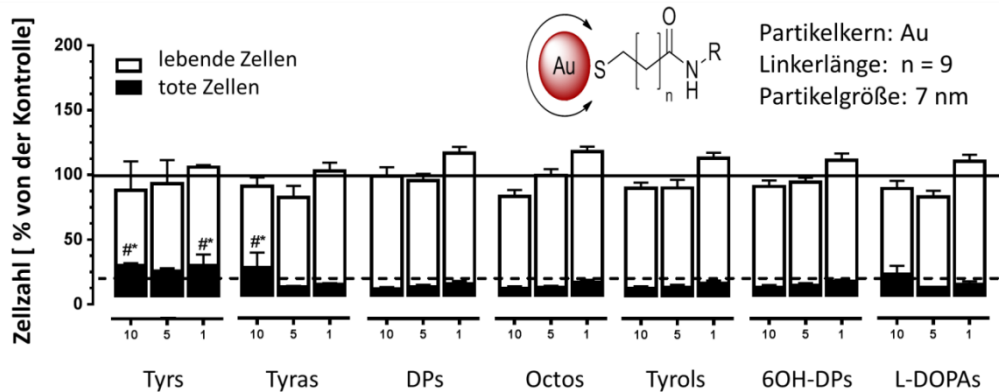


Abb. 135: Ergebnis der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der 7 nm großen Goldkolloide, die mit den unterschiedlichen sulfatierten Epitopen Tyrosin (Tyrs), Tyramin (Tyras), Dopamin (DPs), Octopamin (Octos), Tyrosinol (Tyrols), 6 Hydroxydopamin (6OH-DPs) und L-DOPAs funktionalisiert sind. *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit den Nanopartikeln (10, 5 und 1 nmol/L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX[®] Green Dead Cell Stain* erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der %-Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

3.7.3 Variation der Partikelgröße und Linkerlänge der Edelmetallnanopartikel

Neben der Untersuchung des Einflusses der unterschiedlichen Epitope auf die Biokompatibilität der Edelmetallnanopartikel, die mit vereinfachten Strukturen des Clovamids funktionalisiert waren, sollte auch der Einfluss der Partikelgröße und der Linkerlänge überprüft werden. Dazu wurde für die Klasse der Katechol-Liganden sulfatiertes Dopamin gewählt. Wegen der bereits bei niedrigen Konzentrationen auftretenden Toxizität des sulfatierten Tyrosins wurde als Vertreter dieser Gruppe sulfatiertes Tyramin gewählt. Zwar trat bei höheren Konzentrationen der Tyras-funktionalisierten Goldnanopartikel ebenfalls ein Anstieg der Toxizität auf, doch besitzen diese im Vergleich zu den Tyrols- und Octos-koordinierten Goldkolloiden eine höhere Stabilität.

3.7.3.1 Variation der Partikelgröße

Zur Untersuchung der Partikelgröße auf die Biokompatibilität wurden nach den bereits in den vorangegangenen Kapiteln beschriebenen Methoden DP- und Tyras-funktionalisierte Goldkolloide mit einem im Durchmesser 10 nm, 14 nm und 25 nm synthetisiert (Abb. 136). So erfolgte die Darstellung der 10 nm großen DP-koodinierten Goldkolloide durch Umsetzung des zuvor sulfatierten Dopamins durch HBTU/HOBt-Kopplung mit AuMUDA in DMSO, mit anschließender Überführung und Aufreinigung in Millipore-Wasser. Die Funktionalisierung der Goldnanopartikel mit Partikeldurchmessern > 10 nm wurde durch Ligandenaustauschreaktion mit den vollständig synthetisierten Liganden auf den Citrat-koodinierten Goldkolloiden durchgeführt.

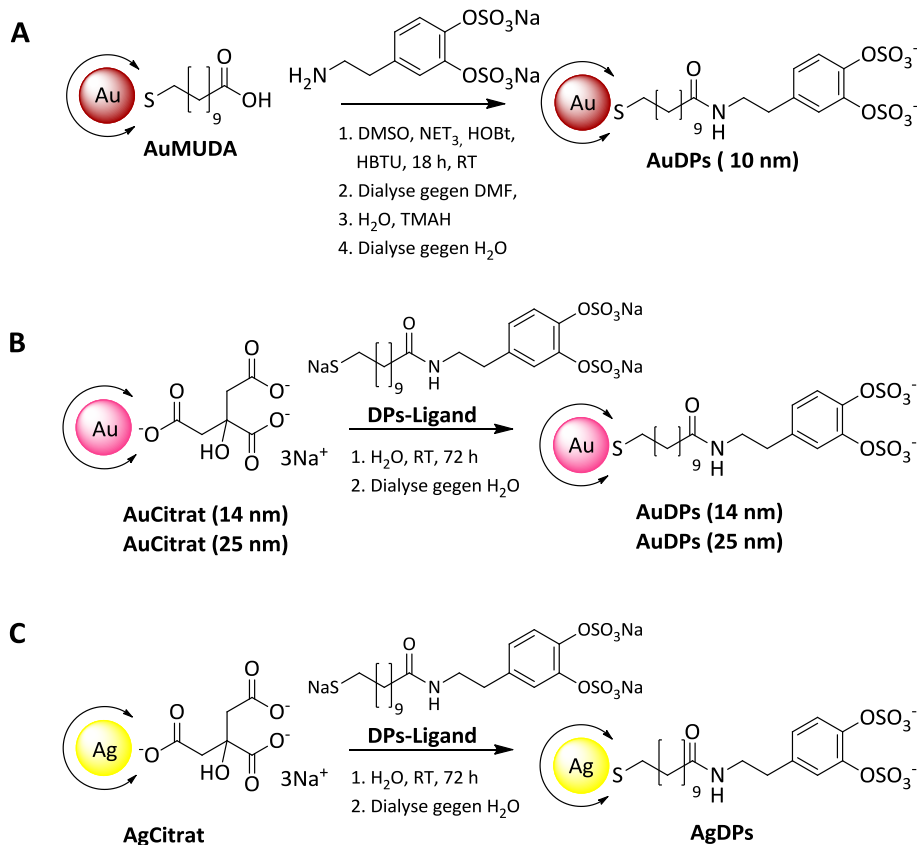


Abb. 136: Schematische Darstellung der Synthese DP-funktionalisierter Goldnanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser $d = 10$ nm (A) und $d = 14$ nm bzw. $d = 25$ nm (B), sowie DP-funktionalisierter Silbernanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser $d = 17$ nm.

3 Ergebnisse und Diskussion

Analog dazu konnten auch 17 nm große DPs-funktionalisierte Silbernanopartikel durch Ligandenaustauschreaktion erhalten werden. Ein erfolgreicher Ligandenaustausch konnte dabei durch spektroskopische Charakterisierung mittels IR und NMR nachgewiesen werden. Zusätzlich zeigten DLS-Messungen, UV/Vis-Absorptionsspektren und TEM-Aufnahmen keine Veränderung der Partikel (Tabelle 17).

Wegen der geringen Partikelkonzentration ($c = 0,5 \text{ nmol / L}$) der 25 nm großen funktionalisierten Goldkolloide war ein Biokompatibilitätstest nicht sinnvoll. Aus diesem Grund wurden nur die 14 nm großen Kolloide auf ihren Einfluss auf die Zytotoxizität und Zellproliferation getestet. Vergleicht man die erhaltenen Ergebnisse (siehe Anhang Abb. 22 (AuDPs) und Abb. 138 (AuMUDATyras)) mit den Ergebnissen der kleineren Partikel so kann daraus geschlossen werden, dass die Größe der Edelmetallnanopartikel die Biokompatibilität beeinflusst. Wie bei den kleineren Partikeln tritt eine signifikante toxische Wirkung der größeren Tyras-koordinierten Goldnanopartikel bei der höchsten Konzentration auf. Diese ist aber im Vergleich mit 1 nmol / L eine Größenordnung kleiner, sodass die größeren Partikel sich negativ auf die Biokompatibilität auswirken. Anhand der DPs-koordinierten Partikel lässt sich nachweisen, dass der Einfluss der Partikelgröße auch von den immobilisierten Liganden abhängt, da bei den DPs-koordinierten Partikeln keine signifikante Zelltoxizität nachgewiesen werden konnte. Bei beiden Epitopen wird die Zellproliferation durch die Partikelgröße nicht beeinflusst.

Tabelle 17: Ergebnisse der Charakterisierung der erhaltenen Partikel mit unterschiedlichen Partikelgrößen und Linkerlängen

funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	DLS (d_h / nm)	UV/Vis (λ_{max} / nm)
AuDPs	10	16 ± 4	529
AuDPs	14	23 ± 5	531
AuDPs	25	36 ± 8	538
AgDPs	17	34 ± 7	430
AuTyras	10	17 ± 3	527
AuTyras	25	37 ± 9	535

3.7.3.2 Variation der Linkerlänge und der Ankergruppe

Der Einfluss der Linkerlänge auf die Biokompatibilität der Edelmetallnanopartikel wurde durch unterschiedlich lange Tyras-Liganden ($n = 1, 4, 9$) überprüft. Dazu wurden diese zunächst in einer mehrstufigen Synthese ausgehend von der jeweiligen Bromocarbonsäure dargestellt. Im Anschluss wurden die Liganden durch Ligandenaustauschreaktion wie in Abb. 137 beschrieben, auf den 14 nm großen Goldkolloiden immobilisiert. Hierzu wurde der Ligand in Wasser gelöst und unter starkem Rühren zu der Kolloidlösung gegeben. Nach 72 h wurde die Kolloidlösung auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingengt und zur Aufreinigung gegen Millipore-Wasser dialysiert.

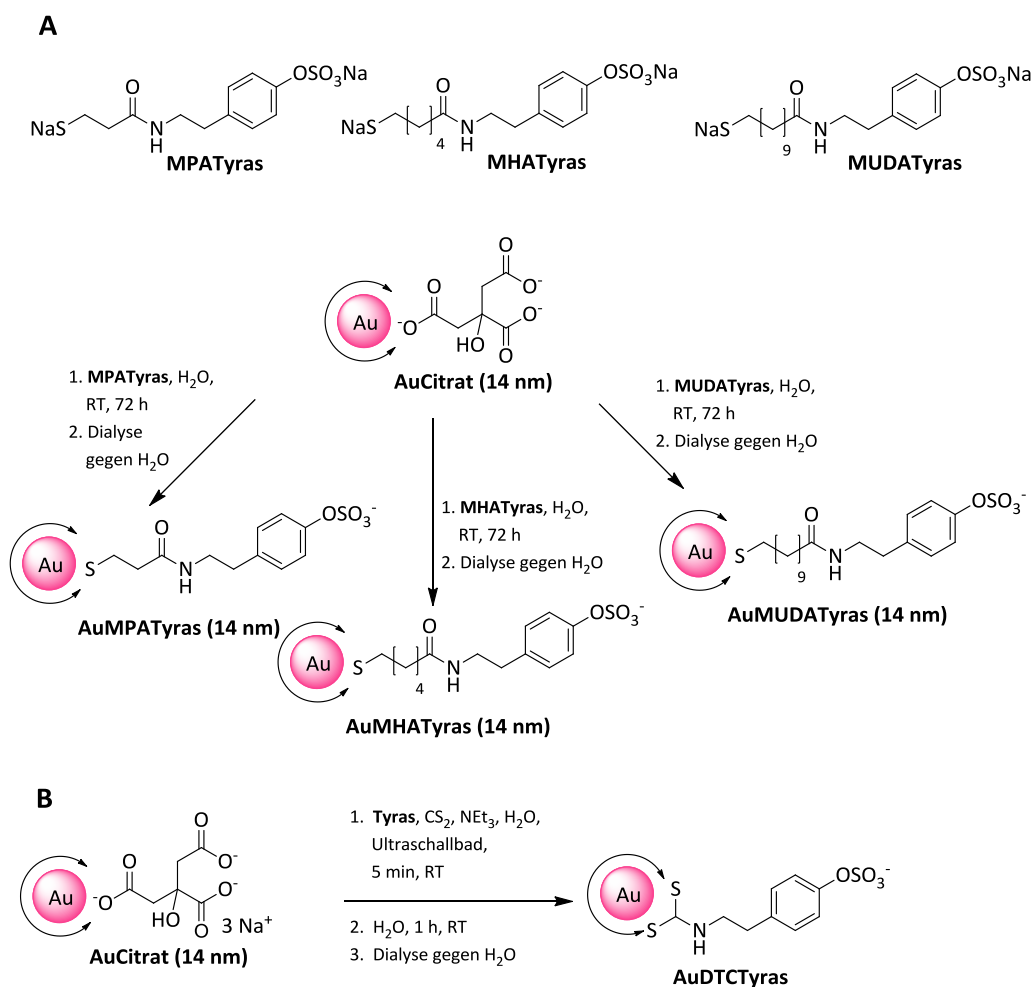


Abb. 137: Schematische Darstellung der Variationen der Linkerlänge am Beispiel von sTyra.

3 Ergebnisse und Diskussion

Zur Variation der Ankergruppe wurden zusätzlich Tyras und DPs durch den O-Linker Dithiocarbamat (DTC) auf der Partikeloberfläche immobilisiert (Abb. 137B). Die Synthese der DTC-funktionalisierten Goldkolloide erfolgte in zwei Stufen. Im ersten Schritt wurde der sulfatierte Ligand durch Zugabe von NEt_3 mit CS_2 in Wasser umgesetzt, bevor im zweiten Schritt die erhaltenen Dithiocarbamat-Liganden durch Ligandenaustauschreaktion auf die 14 nm großen Goldnanopartikel immobilisiert wurden.

Tabelle 18: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse der Tyras-kooordinierten Goldkolloide für die Überprüfung des Einflusses der Linkerlänge.

funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	DLS (d_h / nm)	UV/Vis (λ_{\max} / nm)
AuDTCTyras	14	20 ± 5	527
AuMPATyras	14	18 ± 4	528
AuMHATyras	14	18 ± 4	528
AuMUDATyras	14	21 ± 4	530
AuDTCDPs	14	24 ± 6	529

Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests ergaben keinen signifikanten Einfluss der Linkerlänge der Tyras-Liganden bei den drei getesteten Konzentrationen (0,1, 0,05, 0,01 nmol/L).

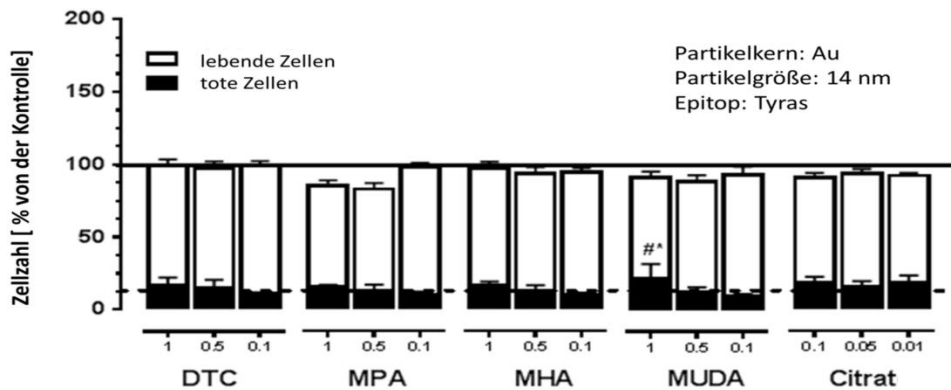


Abb. 138: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der Tyras-kooordinierten Goldnanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $d = 14$ nm und variierenden Linkerlängen und Ankergruppen. HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit den Nanopartikeln (1, 0,5 und 0,1 nmol/L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX® Green Dead Cell Stain erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der %-Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als $*p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder $\#*p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

3.7.4 Variation des Partikelkerns

Zur Überprüfung, ob die erhaltenen Testergebnisse auch auf andere Partikelarten übertragbar sind, wurden die vom Clovamid abgeleiteten Strukturen auch auf CdTe/ZnS-QDots und Eisenoxidnanopartikel immobilisiert.

3.7.4.1 Multivalente Präsentation auf CdTe/ZnS-QDots

Als Ausgangssubstanzen für die Immobilisierung auf den QDots wurden drei unterschiedlich große Partikel gewählt und durch eine Kombination aus EDC / sulfo-NHS mit den Epitopen funktionalisiert. In Abb. 139 ist die Funktionalisierung schematisch gezeigt.

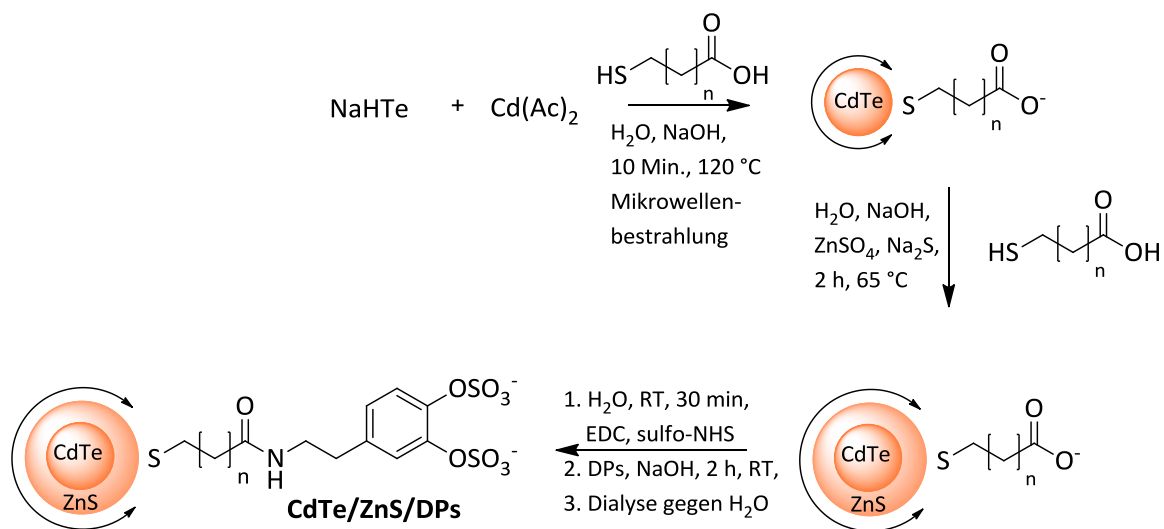


Abb. 139: Schematische Darstellung der Synthese von CdTe/ZnS-Qdots funktionalisiert mit Clovamid-inspirierten Liganden am Beispiel von DPs.

Die erfolgreiche Kupplung mit EDC / sulfo-NHS wurde mit NMR- und IR-Spektroskopie kontrolliert. Im IR-Spektrum erscheint die C-O Valenzschwingung der sekundären Amine zwischen 1630 und 1680 cm^{-1} und bestätigt dadurch die Ausbildung der Amidbindung. So zeigt z.B. das IR-Spektrum der 2,5 nm großen QDots funktionalisiert mit Tyras diese Bande bei 1644 cm^{-1} , während die Schwingungsbande bei denen koordiniert mit Tyrols bei

3 Ergebnisse und Diskussion

1645 cm^{-1} , beim Octos bei 1648 cm^{-1} und beim DPs bei 1647 cm^{-1} erscheint. Um sicherzustellen, dass diese Schwingung zur Amidbindung gehört, wurden die Spektren mit denen der Edukte verglichen. Keines der Edukte zeigt eine Bande in diesem Bereich des IR-Spektrums. Dennoch ist die C-O-Schwingung der freien Carboxylatfunktion der Mercaptocarbonsäure-funktionalisierten QDots noch sichtbar. Dies zeigt, dass bedingt durch sterische Effekte oder Coulomb-Abstoßung die Kupplung nicht vollständig verlaufen sein muss. Analog zur Synthese der funktionalisierten Goldkolloide könnte EAs zugesetzt werden, das mit den freien Carboxylatgruppen reagiert. Die Reaktionsparameter dafür müssten in zukünftigen Arbeiten untersucht werden.

Tabelle 19: Ergebnis der Charakterisierung der erhaltenen QDs

funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	UV/Vis (λ_{max} / nm)
CdTe/ZnS/MPA/Tyras	4	562
CdTe/ZnS/MHA/Tyras	3,5	489
CdTe/ZnS/MUDA/Tyras	2,5	459
CdTe/ZnS/MPA/DPs	4	542
CdTe/ZnS/MHA/DPs	3,5	489
CdTe/ZnS/MUDA/DPs	2,5	439
CdTe/ZnS/MPA/Octos	4	542
CdTe/ZnS/MHA/Octos	3,5	493
CdTe/ZnS/MUDA/Octos	2,5	440
CdTe/ZnS/MPA/Tyrols	4	542
CdTe/ZnS/MHA/Tyrols	3,5	492
CdTe/ZnS/MUDA/Tyrols	2,5	442
CdTe/ZnS/MHA/5OH-DPs	3,5	479
CdTe/ZnS/MHA/L-DOPAs	3,5	489
CdTe/ZnS/MHA/Tyrs	3,5	484

Die für die funktionalisierten QDots erhaltenen Ergebnisse der Biokompatibilitätstests (Abb. 140, Anhang Abb. 18, Anhang Abb. 23) zeigen eine Abhängigkeit von der Partikelgröße, der Konzentration und den sulfatierten Liganden für die Zytotoxizität und Zellproliferation. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Edelmetallnanopartikel zeigen die mit Tyrs und Tyras funktionalisierten QDots keine negative Beeinflussung der Zellen unabhängig von Partikelgröße und Konzentration. Auch die getesteten QDots mit L-DOPAs und 5OH-DPs wirken sich nicht negativ auf die Zellen aus. Dahingegen zeigen alle getesteten Octos-funktionalisierten QDots eine Hemmung der Zellproliferation, die je nach Partikelgröße und Linkerlänge bei unterschiedlichen Konzentrationen beginnt. So

3 Ergebnisse und Diskussion

zeigen die 2,5 nm großen Octos-funktionalisierten QDots (Linker: MUDA) bereits ab einer Konzentration von 10 nmol / L eine inhibierende Wirkung, während diese bei den größeren Partikeln erst bei höheren Konzentrationen (150 nmol / L für MHA (3,5 nm) bzw. 100 nmol / L für MPA (4 nm)) auftritt. Ähnliche Trends können bei den DP- und Tyrols koordinierten Partikeln beobachtet werden. Diese sind aber ab bestimmten Konzentrationen zusätzlich toxisch für die Zellen. Während die toxische Wirkung der DP-koordinierten Partikel eher moderat ansteigt, wurden für die 3,5 nm großen Tyrols-koordinierten QDots die höchsten Werte in allen Tests erhalten.

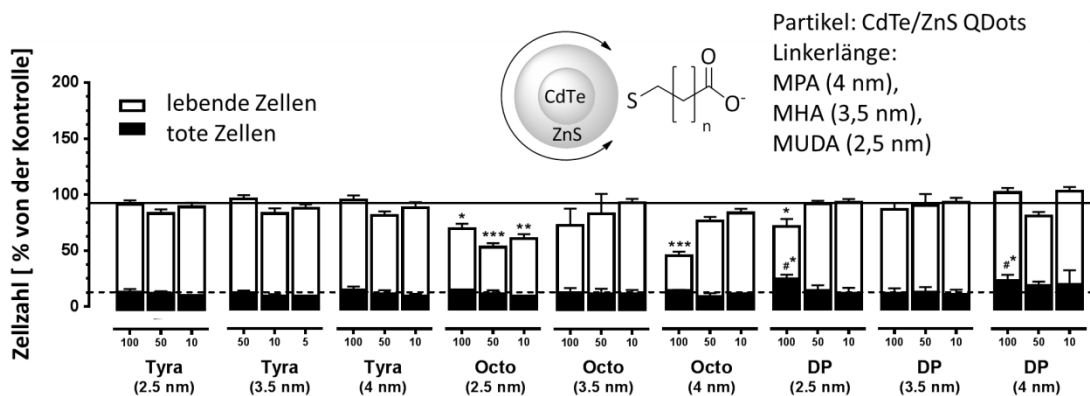


Abb. 140: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der mit unterschiedlichen Epitopen funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots (drei unterschiedliche Linkerlängen und damit verbunden drei unterschiedliche Partikelgrößen [MPA (4 nm), MHA (3,5 nm), MUDA (2,5 nm)]). HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit den Nanopartikeln (100, 50, 10, 1 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX® Green Dead Cell Stain erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der %-Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

3.7.4.2 Multivalente Präsentation auf magnetischen Eisenoxidnanopartikeln

Für die multivalente Präsentation von Clovamid-inspirierten Liganden durch magnetische Eisenoxidnanopartikel wurden diese zunächst frisch hergestellt und mit DMSA ins wässrige Medium überführt. Daran schloss sich die Kupplung der verschiedenen Epitope durch Umsetzung mit EDC / sulfo-NHS unter Ausbildung einer Amidbindung an. Die einzelnen Schritte der Immobilisierung sind in Abb. 141 am Beispiel von Tyras und DPs dargestellt. Für die Untersuchung der unterschiedlichen Einflüsse und ob sich die Trends der Ergebnisse der Edelmetallnanopartikel und Quantum Dots auch bei den magnetischen Eisenoxidnanopartikeln wiederfinden, wurden die verschiedenen Epitope (Tyras, Tyrols,

3 Ergebnisse und Diskussion

Octos, DPs, 5OH-DPs und L-DOPAs) auf 5 nm; 7 nm und 10 nm große Eisenoxidnanopartikel immobilisiert.

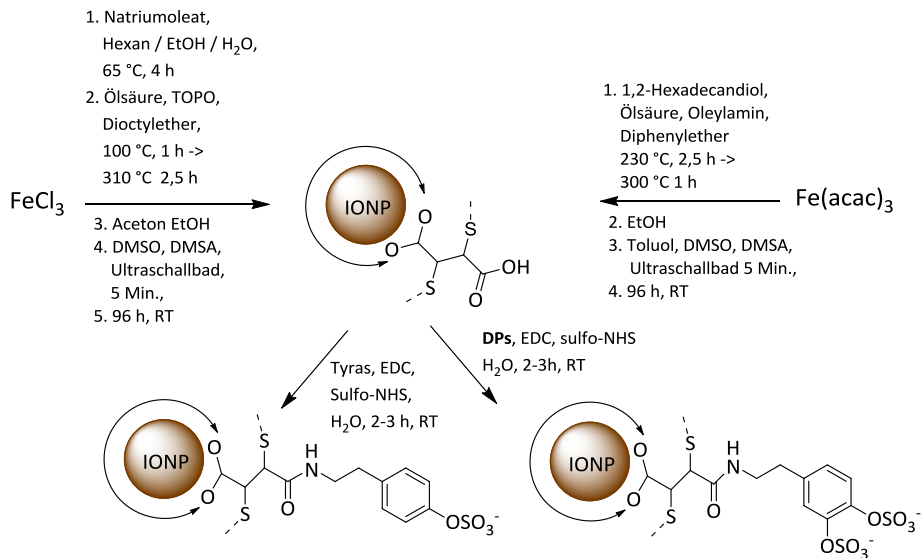


Abb. 141: Schematische Darstellung der mehrstufigen Synthese von Eisenoxidnanopartikeln und der anschließenden Immobilisierung von Clovamid-inspirierten Liganden auf deren Partikeloberfläche gezeigt am Beispiel von sulfatiertem Tyramin und Dopamin.

Die erfolgreiche Anbindung wurde dabei erneut anhand von IR-Spektren kontrolliert, während der Agglomerationsgrad und die Größe der Partikel mit TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen überprüft wurden.

Tabelle 20: Ergebnis der Charakterisierung der funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel

funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	DLS (d _h / nm)
ION/DMSA/Tyrs	7	-
ION/DMSA/DPS	5	16 ± 2
ION/DMSA/Tyras	5	12 ± 3
ION/DMSA/Tyrols	5	15 ± 2
ION/DMSA/Octos	5	13 ± 3
ION/DMSA/5OHDPs	5	14 ± 3
ION/DMSA/L-DOPAs	5	33 ± 6
ION/DMSA/DPS	7	27 ± 6
ION/DMSA/Tyras	10	23 ± 3
ION/DMSA/Tyras	12	44 ± 6

3 Ergebnisse und Diskussion

Die Biokompatibilitätstests ergaben für die unterschiedlich funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel bei den drei getesteten Konzentrationen (10; 5 und 1 nmol / L) keine signifikante Beeinflussung der Zellproliferation. Auch die Zytotoxizität wurde nicht durch die verschiedenen Parameter wie Partikelgröße und Epitope beeinflusst. Lediglich die höchste Konzentration der Octos-kooordinierten Partikel zeigte sowohl eine signifikante Zunahme der Zytotoxizität, wie auch eine signifikante Hemmung der Zellproliferation. Damit bestätigte sich der bereits bei den Tests mit den QDots auftretende Trend, dass sich eine Funktionalisierung mit Octos negativ auf die Biokompatibilität der Partikel auswirkt. Es könnte möglich sein, dass Octos unspezifisch mit den Zellen interagiert, durch eine geringere Stabilität Agglomeration der Partikel hervorruft oder sich in seiner Eigenschaft als „falscher Neurotransmitter“ negativ auf die Viabilität der Zellen auswirkt. Eine Aufgabe zukünftiger Arbeiten besteht darin, diese zytotoxischen Eigenschaften von Octopamin genauer zu untersuchen.

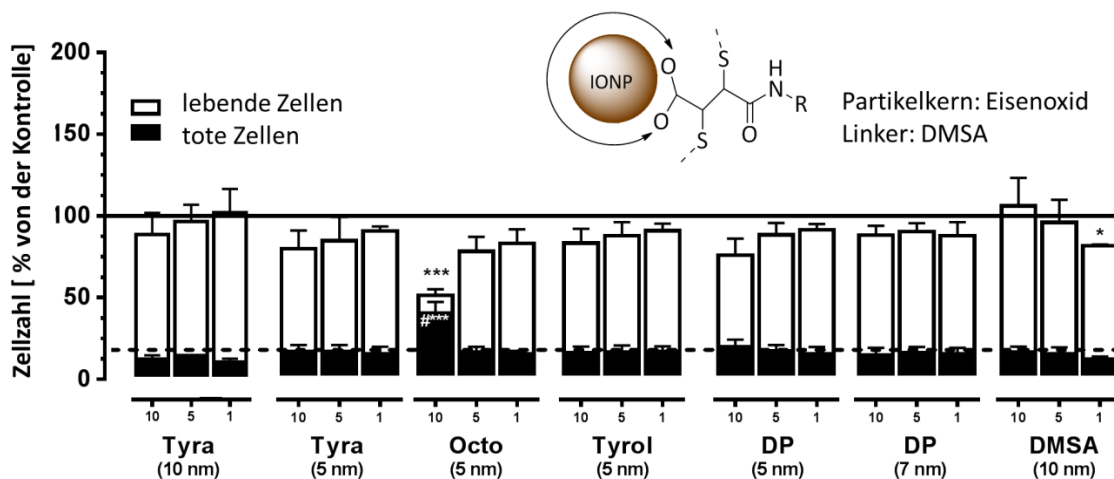


Abb. 142: Ergebnis der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der unterschiedlich großen Eisenoxidnanopartikel, die mit den sulfatierten Epitopen Tyramin (Tyra), Octopamin (Octo), Tyrosinol (Tyrol) und Dopamin (DP) funktionalisiert wurden. HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit den Nanopartikeln (10, 5 und 1 nmol / L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX[®] Green Dead Cell Stain erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben [Mittelwert und Standardabweichung der %-Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)]. Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

3.7.5 Fazit

In diesem Teilprojekt der vorliegenden Arbeit konnten zum ersten Mal vom Kakao-Polyphenol Clovamid abgeleitete vereinfachte Strukturen multivalent auf die drei bereits vorgestellten Partikelarten (Quantum Dots, Edelmetall- und Eisenoxidnanopartikel) präsentiert werden. Verschiedene Parameter wie die Partikelgröße, die Linkerlänge und die Ankergruppe wurden variiert, um einen möglichen Einfluss auf die Biokompatibilität zu untersuchen. Während der Synthese zeigte sich dabei, dass für die Immobilisierung der gewählten Katechol-Epitope (DP, 5OH-DP, 6OH-DP und L-DOPA) der Sulfatierungsschritt vor der Kupplung zwingend notwendig ist, um eine Agglomeration der Partikel zu vermeiden.

Soweit bekannt, wurden in der Literatur bisher noch keine Studien zur multivalenten Präsentation solcher Strukturen durch die Immobilisierung auf Nanopartikeln zur möglichen Selektin-Inhibierung durchgeführt. Die im Rahmen dieses Projekts erhaltenen Ergebnisse der Biokompatibilitätstests lassen aber den Schluss zu, dass diese Strukturen eine vielversprechende Ligandenklasse darstellen. In zukünftigen Arbeiten muss nun durch SPR-Messungen untersucht werden, ob die funktionalisierten Nanopartikel verbesserte Selektin-Bindungseigenschaften im Vergleich mit den monovalenten Polyphenolen Clovamid, *N*-Caffeoyldopamin und *N*-Coumaroyldopamin besitzen. Dies würde das Potenzial der Klasse der natürlichen Polyphenole als medizinische Wirkstoffe weiter ausbauen.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Neue Fortschritte im Verständnis des Entzündungsprozesses und dessen Beteiligung in einigen ernsten Erkrankungen, wie z.B. der Krebs-Metastasierung und verschiedenen (Auto)Immunerkrankungen (Asthma, Allergien, Morbus Crohn, rheumatoide Arthritis),^[1] haben die Entwicklung neuer antiinflammatorischer Therapieansätze in den letzten zwei Jahrzehnten rasant vorangetrieben. Dabei handelt es sich beim Entzündungsprozess um eine Kaskade verschiedener Reaktionen, deren Schlüsselschritt die Adhäsion der Leukozyten am vaskulären Endothel und deren Extravasation aus dem Blutstrom in das entzündete Gewebe darstellt. Eine entscheidende Rolle spielen hierbei die Wechselwirkungen einer Gruppe von kohlenhydratbindenden Adhäsionsmolekülen, die als Selektine bezeichnet werden, weswegen diese als interessante Wirkstofftargets gelten.

Untersuchungen bekannter natürlicher Selektinliganden, wie z.B. Heparin und der P-Selektin Glycoprotein Ligand-1 (PSGL-1), konnten zeigen, dass die geringe Affinität der Bindung zwischen Selektinen und ihren entsprechenden Liganden durch eine multivalente Präsentation der funktionellen Gruppen überwunden werden kann. Aus diesem Grund besitzen Nanopartikel wegen ihres enormen Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnisses großes Potenzial als mögliche Template für die Entwicklung effektiverer Selektin-Inhibitoren.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Oberfläche von kolloidalen Nanopartikeln (Edelmetall-, Halbleiter-, Eisenoxidnanopartikel) mit verschiedenen Strukturen zu funktionalisieren. Dabei müssen diese Strukturen die Partikel vor Agglomerationen in wässriger Umgebung schützen und zusätzlich Selektine binden. Neben der Stabilität der Ligandenhülle hängen die Eigenschaften der Nanopartikel stark von ihrer Partikelgröße, Partikelform, der Dispersität und ihrem Agglomerationsgrad ab, weswegen die Grundlage für die angestrebten Ziele die Synthese möglichst monodisperser, sphärischer Kolloide in unterschiedlichen Größen war. Im ersten Teil dieser Arbeit wurden durch Verbesserungen literaturbekannter und Entwicklung neuer Synthesewege monodisperse Kolloide mit Partikelgrößen je nach Material im Bereich von 1,5-25 nm und einer Größendispersität < 10% hergestellt. Die Charakterisierung der erhaltenen Nanopartikel wurde dabei mithilfe

von TEM-Aufnahmen, DLS-Messungen und Absorptions- bzw. Emissionsspektroskopie durchgeführt, während die Charakterisierung der organischen Ligandenhülle durch NMR- und IR-Spektroskopie erfolgte. Zur Bestimmung der immobilisierten Ligandenzahl auf der Partikeloberfläche wurde zusätzlich die Methode der thermogravimetrischen Analyse angewendet.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit wurde die Funktionalisierung der aus der Synthese erhaltenen, monodispersen Nanopartikel mit potenziellen Selektin-Inhibitoren vorgestellt. Die Modifikation der Partikeloberfläche erfolgte dabei durch Ligandenaustauschreaktionen und Reaktionen an der Ligandenperipherie durch Amidbindungsknüpfung. Dabei gelang es die aus früheren Arbeiten des Arbeitskreises bekannten azyklischen Aminoalkohole und Kohlenhydratmimetika^[212] unter Funktionserhalt auf neue Kernmaterialien (Halbleiter- und Eisenoxidnanopartikel) zu übertragen. Auf diese Weise lassen sich die guten Bindungseigenschaften (Bindungsverstärkungen um den Faktor 10^3) mit einer Erhöhung der Biokompatibilität und einer besseren Detektierbarkeit im biologischen System kombinieren. Auch konnte durch Variation der Stereochemie, der Ringgröße und der funktionellen Gruppe am C-1 der Kohlenhydratmimetika ein Einfluss der nicht-bindenden Strukturteile auf die Stabilität der Nanopartikel und auf die potenzielle Bindungsstärke nachgewiesen werden.

Ausgehend von den bekannten Vorbildern sLe^x und Heparinoide wurden im Rahmen dieser Arbeit weitere Strukturen als potenzielle Inhibitoren der Selektin-Ligand-Wechselwirkung auf der Nanopartikeloberfläche immobilisiert. Beginnend mit der Klasse der zyklischen Oligosaccharide wurde β -CD wegen seiner hohen Ladungsdichte^[260] auf der Partikeloberfläche immobilisiert und im Anschluss daran sulfatiert. Außerdem boten sich als zu testende Ligandenklasse vereinfachte, abgeleitete Strukturen der Kakao-Polyphenole (Clovamide) an, da sie einerseits für eine Hemmung der P-Selektin Expression in der Literatur bekannt sind^[330,331] und andererseits zusätzlich Tyrosin-Reste enthalten, die in sulfatierter Form auch in natürlichen Selektinliganden vorkommen. Eine dritte Substanzgruppe waren MUC1-Glycopeptide-Antigene, die zur Entwicklung von Krebsvakzinen eingesetzt werden könnten.^[233,255]

Durch Variation des Kernmaterials, der Partikelgröße, der Ankergruppe und der Linkerlänge wurde ein breites Spektrum an unterschiedlichen funktionalisierten

Nanopartikeln erhalten. Diese wurden im Rahmen der Arbeit ebenfalls auf ihre Biokompatibilität hin untersucht. Im Unterschied zu den meist als „Stand alone“ durchgeführten Toxizitätstests, die in der Literatur beschrieben werden,^[186] wurden in der vorliegenden Arbeit mehrere Parameter der Nanopartikel verändert. Dieser Einfluss wurde an einer einzelnen Charge *HUVEC*-Zellen getestet. Dabei zeigte sich, dass die zytotoxische und zellproliferationshemmende Wirkung der funktionalisierten Nanopartikel nicht auf das Kernmaterial und nur bedingt auf die Partikelgröße zurückzuführen war. Neben der Konzentration hatte die Stabilität der gebundenen Liganden den größten Einfluss auf die Toxizität. Hingegen zeigten Tests an mesenchymalen Stammzellen auch einen Einfluss der Partikelgröße. Zusätzlich wurden erste Untersuchungen zur Aufnahme der Partikel in die Zelle vorgestellt. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass unabhängig von der Partikelgröße und der Ligandenhülle die Nanopartikel über Endozytose in die Zellen aufgenommen werden.

Das Screening nach weiteren sulfatierten und negativ geladenen Verbindungen ist ein erfolgsversprechender Ansatz für die Suche nach potenziellen Inhibitoren der Selektin-Ligand-Wechselwirkung. Dabei könnte die vergleichbar niedrige Bindungsstärke zu Selektinen der monovalenten Liganden durch multivalente Präsentation auf Nanopartikeln erhöht werden. Im Hinblick auf spätere Anwendungsmöglichkeiten müssten in zukünftigen Arbeiten die Wechselwirkungen der Selektine und der funktionalisierten Nanopartikel weiter untersucht werden, um auf dieser Grundlage spezifischere und stärkere Bindungen zu erhalten. Dabei scheint die in der vorliegenden Arbeit begonnene multivalente Präsentation von Selektinbindenden-Liganden mit mehrzähligen Ankergruppen ein vielversprechender Ansatz für die Erhöhung der Stabilität der funktionalisierten Nanopartikel.

Aufbauend auf den in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnissen der *in vitro* Tests sind weitere ergänzende Experimente notwendig, um das Verhalten der funktionalisierten Nanopartikel in biologischen Systemen und deren Zellaufnahme zu verstehen. Neben der Reproduktion der erhaltenen Ergebnisse an anderen *HUVEC*-Chargen gehören insbesondere Langzeituntersuchungen der funktionalisierten Nanopartikel im Hinblick auf ihre enzymatische und chemische Stabilität dazu. So wäre eine genauere Einschätzung der toxischen Wirkung der funktionalisierten Nanopartikel möglich. Daran könnte sich als nächster Schritt die Untersuchung *in vivo* anschließen.

Wegen ihrer einzigartigen optischen, physikalischen und chemischen Eigenschaften könnten die in der vorliegenden Arbeit synthetisierten Selektin-bindenden Nanopartikel in Zukunft als mögliche nicht-invasive Marker für die Diagnose und Überwachung von Entzündungen eingesetzt werden.^[303,338,339] Im Unterschied zu der meist subjektiven Beurteilung der Patienten und bekannten Serummarkern können die biokompatiblen Nanopartikel das entzündete Gewebe lokalisieren. Zusätzlich können sie als mögliche Träger von Arzneistoffen diese direkt zum Entzündungsherd transportieren. Durch eine höhere Bioverfügbarkeit und Spezifität kann dies eine niedrigere medikamentöse Dosierung mit geringeren Nebenwirkungen bedeuten.

Zwar ist noch ein weiter Weg zu gehen. Dennoch handelt es sich bei der multivalenten Präsentation von bioaktiven Liganden durch Nanopartikel um einen vielversprechenden Ansatz für therapeutische und diagnostische Aspekte der medizinischen und biotechnologischen Anwendung, sodass in Zukunft funktionalisierte Nanopartikel in vielen Bereichen der Lebenswissenschaften Einzug halten werden.

5 Summary and Outlook

Recently inflammation has become one of the most rapidly developing areas of medical research, due to new studies indicating that inflammation mediate most chronic diseases (e.g. cancer, asthma, allergies, Crohn's disease, rheumatoid arthritis),^[1] which are accompanied by an ongoing extravasation of leukocytes from the blood vessels into the inflamed tissue. This involves a multistep adhesion process initialized by different selectins and their respective carbohydrate ligands. Because of this selectins are promising targets for an anti-inflammatory therapy to inhibit this key step of the inflammation cascade. Since selectins tend to bind only weakly to their complementary receptors, stronger binding affinities can be achieved by the use of multivalent interaction. Due to their remarkably high surface-to-volume ratio in combination with their high stability, nanoparticles are well suited as scaffolds for the multivalent immobilization of potential selectin-inhibitors.

The aim of this doctoral thesis was the synthesis of different types of monodisperse nanoparticles and their surface modification with bioactive molecules. These potential ligands have to fulfill some requirements, like good dispersibility and stability in a physiological environment to protect the particle core against agglomeration. In addition, they also should indicate a relative high binding affinity to selectins. The properties of functionalized nanoparticles are not only dependent on the ligand shell but also on their size, their shape, their dispersity and their agglomeration degree.

Therefore the first part of this thesis describes the syntheses of various types of spherical, nearly monodisperse nanoparticles. For this purpose literature known methods were improved and new synthetic strategies were developed, so that depending on the type, synthesized nanoparticles ranging in size from 1.5 to 25 nm with a dispersity < 10% were obtained. The characterization of the synthesized nanoparticles was carried out by various methods. TEM images, UV/Vis spectra and dynamic light scattering measurements were used to determine the average diameter, the shape, the agglomeration state and the size distribution of the synthesized nanoparticles, while the characterization of the organic

5 Summary and Outlook

ligand shell was performed by NMR and IR spectroscopy. In addition, thermogravimetric analysis measurements were performed to estimate the amount of surface bound ligands.

In the second part of this thesis the functionalization of the synthesized nanoparticles with selectin binding ligands was presented. The modification of the particle surface was achieved by ligand exchange reactions or by chemical binding of the ligands through formation of a stable amide bond. It was demonstrated that the transfer of a ligand shell to other nanostructured core materials (quantum dots, iron oxide nanoparticles) is possible under preservation of its function. This was tested using acyclic amino alcohols and aminopyrans already known from previous work.^[212] Thereby the good binding properties (an amplification of binding by a factor of 10^3) have been combined with further desirable attributes, like a higher biocompatibility and better detectability in biological systems. It was also demonstrated by the variation of stereochemistry, the ring size and the functional groups of C-1, that non-binding structures of the carbohydrate mimics also influence the potential binding affinities and the stability of nanoparticles.

Using the tetrasaccharide sialyl Lewis^x and heparinoids as lead compounds for selectin-binding ligands, further structures were identified as potential inhibitors and immobilized on the nanoparticle surface. Due to its high charge density the cyclic oligosaccharide β -CD was selected and bond on the nanoparticle surface and sulfated subsequently.^[260] Following the concept of simplified binding epitopes, a series of structures derived from cocoa polyphenols (clovamides),^[330,331] were also tested as potential selectin-binding ligands. Recent studies indicate that these clovamides are able to inhibit P-selectin expression and that they are derivatives of the amino acid L-tyrosine, which occur in sulfated form also in natural selectin ligands. A third group of substances were MUC1 glycopeptides antigens that may be used for the development of cancer vaccines.^[233,255]

Another scope of this thesis was the investigation of the biocompatibility of the functionalized nanoparticles. For this purpose several parameters like the core material, the particle diameter and a variety of surface modifications were taken into account to evaluate the potential cytotoxic effects of the functionalized nanoparticles on *HUVECs* of one single batch. This approach differs from most studies known in literature, which describe only a limited number of effects of a single nanoparticle type for a specific incubation protocol.^[186] The test results demonstrates that the core material have no

5 Summary and Outlook

influence on the cytotoxicity and cell proliferation, whereas the particle size show only small effects. The main influence of nanoparticles on *HUVECs* was accounted for the nanoparticle concentration and the stability of the ligands. On the other hand, *in vitro* tests on mesenchymal stem cells also indicate a toxic effect of the particle size. Beside the cytotoxicity of nanoparticles, the cell uptake of the nanoparticles was investigated in this thesis. It was demonstrated, that the nanoparticles penetrate into the cells by endocytosis. This is independent from their size and ligand shell.

A systematically screening for sulfated and negatively charged compounds is a promising approach in research of potential inhibitors of the selectin-ligand interaction. The comparatively low binding affinity of the monovalent inhibitors could be increased through multivalent presentation on nanoparticles.

Based on the results obtained in this work the aim of related work is to better understand the interactions of selectin and the functionalized nanoparticles and to optimize these interactions in order to improve the specific and strong binding properties of the functionalized nanoparticles. For this purpose the use of the presented multidentate anchoring groups seems to be a promising approach for increasing the nanoparticle stability. To get a deeper understanding of the nanoparticles behavior in biological systems and their cell uptake the presented *in vitro* tests have to be reproduced on other batches of *HUVECs* and should be expanded with long-term studies with regard to their enzymatic and chemical stability. Thus, a more accurate assessment of the toxic effect of the functionalized nanoparticles could be possible. This can be followed by *in vivo* investigations in the next step.

Due to their unique optical, physical and chemical properties functionalized nanoparticles are well suited to diagnose and monitor inflammation in a noninvasive manner in future applications. ^[303,338,339] In contrast to physical examinations and the determination of serum markers, biocompatible nanoparticles are able to provide information about the localization of the inflamed zone. Upon their value as potential markers of inflammation, the bioactive nanoparticles can be used for targeted drug delivery into the inflamed tissues, resulting in better specificity, better bioavailability as well as lower drug doses and side effects.

5 Summary and Outlook

Nevertheless, there is still along way to go, but the multivalent presentation of different bioactive ligands by nanoparticles hold great promises for various aspects of medical and biotechnological applications and will be very well represented in many areas of life sciences in the future.

6 Experimenteller Teil

6.1 Allgemeines

6.1.1 Arbeitstechniken

Alle Glasgeräte wurden vor Gebrauch mit Königswasser (Mischungsverhältnis 3:1 Salzsäure zu Salpetersäure) oder mit Peroxomonoschwefelsäure (Mischungsverhältnis 5:1 Schwefelsäure zu Wasserstoffperoxid) gesäubert und anschließend mit destilliertem Wasser mehrmals gespült, um etwaige Verunreinigungen an der Glaswand zu entfernen.

In Versuchen, bei denen unter Schutzgasatmosphäre gearbeitet wurde, sind grundsätzlich ausgeheizte Reaktionsgefäße verwendet worden. Dazu wurden die Gefäße mehrmals im Ölpumpenvakuum ausgeheizt und mit Argon geflutet. Hierbei wurde Argon 4.6 der Firma *Praxair Deutschland GmbH* (Düsseldorf, Deutschland) verwendet. Während der Reaktionsdurchführung wurde ein Argon-Überdruck aufrechterhalten. Lösungsmittel und Reagenzien wurden im Argon-Gegenstrom durch Injektionsspritzen und Kanülen, die vor Gebrauch mit Argon gespült wurden, in die Apparaturen eingebracht.

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Reaktionsansätze magnetisch gerührt.

Um eine Aussage über die Reproduzierbarkeit der in dieser Arbeit vorgestellten Synthesen machen zu können, wurden alle vorgestellten Synthesen mindestens dreimal durchgeführt und ihre Ergebnisse verglichen.

6.1.2 Verwendete Chemikalien

Alle bei der Arbeit unter Schutzgas verwendeten absolutierten Lösungsmittel wurden durch Erhitzen unter Rückfluss in Gegenwart eines geeigneten Trocknungsmittels und anschließender Destillation in Inertgas-Atmosphäre bzw. unter Verwendung der Lösungsmittel-trocknungsanlage *SPS-800* der Firma *MBraun* (Garching, Deutschland) erhalten und über 3 Å bzw. 4 Å Molekularsieb in Schutzgaskolben aufbewahrt.

Die Lösungsmittel Aceton, Acetonitril, Chloroform, Dichlormethan, *N,N*-Dimethylformamid (DMF), Ethanol, Ethylacetat, Hexan, Isopropanol, Methanol, Pentan und Toluol wurden vor der Verwendung mittels einfacher Destillation gereinigt. Die Lösungsmittel Benzol, Dimethylsulfoxid (DMSO) und 1-Octadecen wurden wie erhalten verwendet. Die 0,2 M H₂SO₄- und NaOH-Lösungen wurden bei der benötigten Reaktion frisch hergestellt.

Für alle kernresonanzspektroskopischen Messungen wurde [d₁]-Chloroform unter Zusatz von Tetramethylsilan (TMS), Deuteriumoxid und [d₆]-Dimethylsulfoxid als deuterierte Lösungsmittel verwendet.

Alle käuflichen Chemikalien wurden, soweit nicht anders vermerkt, ohne vorhergehende Reinigung eingesetzt.

Syn3 wurden im Arbeitskreis *Reißig* am Institut für Organische Chemie der freien Universität Berlin von *Joana Salta* synthetisiert und zur Verfügung gestellt. AP1, AP2, AP3, AP4 und AP5 wurden von *Maja Kandziora* synthetisiert und zur Verfügung gestellt. (2R,3S,4R,5S,6S)-4-amino-2,6-bis(hydroxymethyl)-7,7-dimethyloxepan-3,5-diol (AO-1), 2S, 3S, 4R,5S,6S)-4-Amino-2,6-bis(hydroxymethyl)-7,7-dimethyloxepan-3,5-diol (AO-2) und (1S,4S, 5S,8S,9S)-9-amino-4-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-2,6-dioxabicyclo[3.2.2]nonan-8-ol (AO-3) wurden von *Dr. Léa Bouché* synthetisiert und zur Verfügung gestellt.

Die Glycopeptide GP-01, GP-02, und GP-03 wurden von *Dr. Sebastian Hartmann* vom Institut für Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz synthetisiert und für das Kooperationsprojekt zur Verfügung gestellt.

6.1.3 Mikrowellensynthese

In dieser Arbeit erfolgte die mikrowellen-unterstützten Synthesen der verschiedenen QDots durch die Verwendung eines speziell für Forschungslaboratorien konzipierten Hochleistungsreaktors dem *Monowave 300* der Firma *Anton Paar GmbH (Graz, Österreich)*. Bei diesem handelt es sich um einen Monomode-Reaktor (2,45 Ghz, 850 W), welcher die Mikrowellenenergie von einem einzelnen Magnetron erzeugt und durch einen Hohlleiter zur Reaktionsmischung führt, die direkt im Hot Spot positioniert ist und somit

ein effizientes Aufheizen der kleinen Reaktionsvolumina ermöglicht.^[340] Alle Synthesen wurden nicht bei einer konstanten Leistung, sondern im Modus der Temperaturüberwachung durchgeführt. Dabei wurde die Gleichmäßigkeit der Reaktionstemperatur durch simultane Temperaturmessung mit einem externen, sich in den Kammerseitenwänden positionierten infrarot (IR)-Sensor und einem internen, in die Reaktionsmischung eintauchenden faseroptischen Sensor (Rubin-Thermometer) kontrolliert. Als Reaktionsgefäße wurden 10 mL und 30 mL fassende Mikrowellen-Gläschen aus Borosilikat-Glas verwendet, die durch Schnappkappen und teflonbeschichteten Silikonsepten verschlossen wurden. Alle Reaktionsmischungen wurden während der Synthesedurchführung bei 600 rpm gerührt und gleichzeitig mit Druckluft gekühlt.

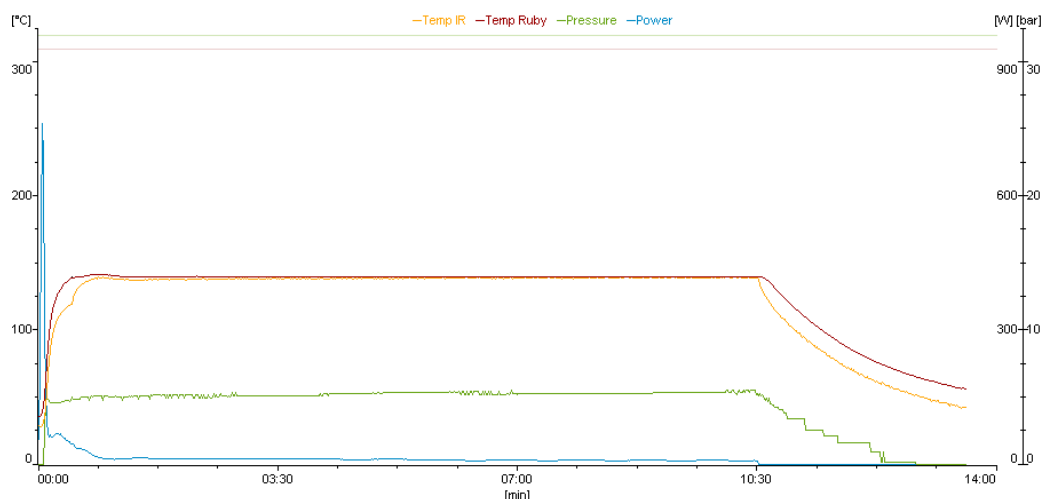


Abb. 143: Verlaufsprotokoll der mikrowellenunterstützten Qdot-Synthese. Temperatur IR-Sensor (orange); Rubin-Thermometer (rot); Druck (grün); Power (blau).

6.1.4 Aufreinigung der Nanopartikel

Eine Aufreinigung der Nanopartikel nach ihrer Synthese und der anschließenden Funktionalisierung ist zwingend notwendig, um eine möglichst geringe Konzentration der freien Liganden und weiteren Verunreinigungen in Lösung zu erhalten. Diese Eigenschaft ist wichtig, damit keine ungewollten Wechselwirkungen zwischen freiem Ligand und Targetmolekül auftreten, welche die erhaltenen Ergebnisse verfälschen könnten. Die

Aufreinigung der in dieser Arbeit synthetisierten Nanopartikel erfolgte durch Filtration, Fällung, Zentrifugation oder Dialyse.

Die Nanopartikel wurden durch wiederholtes Fällern und Redispersion aufgereinigt. Dazu wird das Reaktionsgemisch zunächst mit einem geeigneten Lösungsmittel gefällt und im Anschluss in einer Biofuge Primo Hochleistungszentrifuge der Firma *Heraeus* (Hanau, Deutschland) zentrifugiert (3500 rpm, 15 min). Der Überstand mit den Verunreinigungen wird durch Dekantieren entfernt und die Nanopartikel in einem geeigneten Lösungsmittel redispersiert. Der beschriebene Reinigungsschritt wurde meistens mehrmals wiederholt. Dabei war darauf zu achten, dass aufgrund des dynamischen Gleichgewichts von an der Partikeloberfläche gebundenen und frei gelösten Liganden zu häufiges Ausfällen und Wiederauflösen dazu führen kann, dass zu viele Liganden von der Partikeloberfläche entfernt wurden und die Partikel nicht wieder gelöst werden können.

Bei der Aufreinigung per Dialyse handelt es sich um einen konzentrationsgetriebenen Trennprozess, bei dem kleine Moleküle (Nebenprodukte, freie Liganden) ausgetauscht werden. Dabei wird die aufzuarbeitende Lösung in einen Dialyseschlauch, welcher aus einer semipermeablen Membran besteht, gefüllt, dieser verschlossen und vollständig in frisches Lösungsmittel getaucht. Durch den an der Dialysemembran vorliegenden Konzentrationsgradienten und die definierte Porengröße (*Molecular weight cut off*) der Membran erfolgt der Austausch der kleinen Moleküle durch die Membran in die schwächer konzentrierte Lösung. Durch mehrfachen Austausch des Lösungsmittels und den damit verbundenen erneuten Konzentrationsausgleich können nicht gebundene Liganden und weitere Verunreinigungen nahezu vollständig entfernt werden. Je nach Probe wurden entweder Dialyseschläuche mit unterschiedlichen Porengrößen (MWCO: 3,5-6 kDa und 6-8 kDa) aus regenerierter Zellulose *ZelluTrans* der Firma *Carl Roth GmbH* (Karlsruhe, Deutschland) oder Zelluloseester *Spectra/Por Biotech* (MWCO: 3,5-5 kDa) der Firma *Spectrum Laboratories Inc.* (Rancho Dominguez, CA, USA) verwendet.

Alle in dieser Arbeit durchgeführten Dialysen wurden nach einem gleichbleibenden Ablauf durchgeführt. Zunächst wurde der Dialyseschlauch ca. 30 min in destilliertes Wasser eingelegt, um Natriumazid- bzw. Ethanolrückstände zu entfernen. Dann wurde der Schlauch mit destilliertem Wasser abgespült, mit der Probe befüllt und die Luft vorsichtig

herausgedrückt, bevor der verschlossene Dialyseschlauch in das 100-fache Lösungsvolumen gelegt und der Dialysiervorgang gestartet wurde. Während der Dialyse wurde die Lösung mindestens dreimal (nach 2-4 h, 6-8 h und 9-12 h) gewechselt.

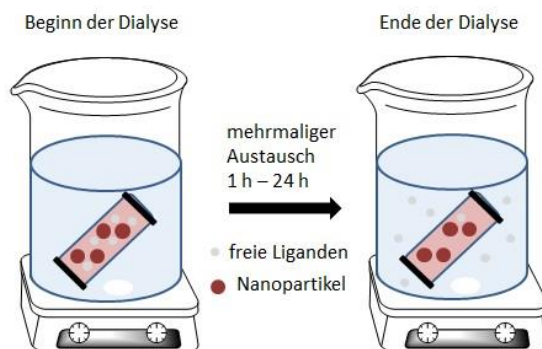


Abb. 144: Schematische Darstellung der Aufreinigung per Dialyse.

Die Citrat-kordinierten Nanopartikel wurden nach ihrer Synthese mit *Whatman SPARTAN 30 RC*-Spritzenvorsatzfilter (Porengröße: 0,2 μm) der Firma *GE Healthcare Life Sciences (Freiburg, Deutschland)* aufgereinigt.

6.1.5 Charakterisierung der Nanopartikel

6.1.5.1 Chromatographie

Lösungsmittelgemische (Lösungsmittel A / Lösungsmittel B), die für die Säulenchromatographie und Dünnschichtchromatographie (DC) verwendet wurden, sind in Volumenprozent (v/v) angegeben. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung der Liganden wurde *Kieselgel 60*, Korngröße 0,040-0,063 der Firma *Merck* (Darmstadt, Deutschland) verwendet. Die Kontrolle der Trennung erfolgte durch Dünnschichtchromatographie unter Verwendung von DC-Karten der Firma *Merck* (Darmstadt, Deutschland). Die Detektion erfolgte durch UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm} / 366 \text{ nm}$) oder durch folgende Anfärbereagenzien:

Iod:	Iodkammer
Ninhydrin-Lösung:	Ninhydrin in Ethanol
Permanganat-Lösung:	KMnO ₄ und K ₂ CO ₃ in destilliertem Wasser
Molybdatophosphorsäure-Lösung:	MoO ₃ ·H ₃ PO ₄ in Ethanol

6.1.5.2 Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Zur Bestimmung der Größenverteilung wurden DLS-Messungen durchgeführt. Diese wurden am STABISIZER® der Firma *Particle Metrix GmbH* (Meerbusch, Deutschland) gemacht. Dazu wurden pro Messung drei Durchgänge, die insgesamt 10 min dauerten, gemessen und anschließend der Mittelwert der Durchgänge bestimmt. Zur Kontrolle wurden von allen Proben drei Messungen durchgeführt und miteinander verglichen.

6.1.5.3 Elementaranalyse (CHN-Analyse)

Elementaranalysen wurden an der JLU Gießen mit einem *Carlo-Erba 1106 CHN* von Anja Burckhardt durchgeführt.

6.1.5.4 Fluoreszenzspektroskopie (Emissionsspektren):

Emissionsspektren der QDot-Proben wurden mit einem Spectrofluorometer FP-8300 (Messbereich: 200 – 900 nm, max. Auflösung 1 nm) der Firma *Jasco (Gross-Umstadt, Detuschland)* aufgenommen.

6.1.5.5 IR-Spektroskopie

Von Proben mit entsprechend aussagekräftigen funktionellen Gruppen wurden IR-Spektren aufgenommen. Diese wurden an den FTIR-Spektrometern *IFS25* (Messbereich: 7000 – 400 cm⁻¹, max. Auflösung: 2 cm⁻¹) und *IFS48* (Messbereich: 7000 - 400 cm⁻¹, mit ATR-Messeinheit („Golden Gate“, Diamant, 1 Reflexion)) der Firma *Bruker Optik GmbH*

(Ettlingen, Deutschland) von Frau G. Stammler durchgeführt. Die Art der Schwingung wurde mit ν (Valenzschwingung) und δ (Deformationsschwingung) und die Lage der Absorptionsbanden (ss = sehr stark, s = stark, m = mittel und w = schwach) wurde in Wellenzahlen (cm^{-1}) angegeben.

6.1.5.6 Massenspektrometrie

Alle Massenspektren mit Direkteinlass und Elektronenstoßionisation (EI) wurden an einem *MAT 95 (Thermo Finnigan Mat, Bremen, Deutschland)* Sektorfeld-Massenspektrometer durch Herrn Dr. E. Röcker und Friederike Gasiorek durchgeführt, Massenspektren mit Elektronenspray-Ionisation (ESI) wurden an einem *FINNIGAN LCQDuo (Thermo Finnigan)* durchgeführt. ESI-Exakte Masse Bestimmungen und LC-MS Messungen erfolgten an einem *MicroToF* der Firma Bruker Daltonics (*Bremen, Deutschland*) durchgeführt, wobei die Massenkalisierung unmittelbar vor der Probenmessung mit Natriumformiat-Clustern erfolgte.

6.1.5.7 NMR-Spektroskopie

Sämtliche Kernmagnetresonanz-Spektren wurden an den Multikernresonanzspektrometern Avance II 200 „Microbay“ (^1H bei 200 Mhz, ^{13}C bei 50 MHz), Avance II 400 WB (^1H bei 400 Mhz, ^{13}C bei 100 MHz) und Avance III 600 (^1H bei 600 Mhz, ^{13}C bei 150 MHz) der Firma *Bruker BioSpin GmbH (Rheinstetten, Deutschland)* von Frau G. Stammler, Frau A. Pospiech und Frau Dr. H. Hausmann durchgeführt. Alle Messungen erfolgten bei Raumtemperatur. Die chemischen Verschiebungen (δ -Skala) wurden auf die in der Tabelle angegebenen Standards (Angabe in ppm) bezogen. Diese internen Standards sind durch die Resonanzsignale der Restprotonen des eingesetzten Lösungsmittels festgelegt. Zusätzlich wurde Tetramethylsilan als interner Standard (0.00 ppm) bei CDCl_3 festgelegt.

Lösungsmittel	¹ H-Signal des Restprotonengehalts / ppm	¹³ C-Signal des Lösungsmittels / ppm
CDCl ₃	7,26	77,00
DMSO-d ₆	2,50	39,52
D ₂ O	4,29	

Tabelle 21: Chemische Verschiebung der internen Standards.¹⁾

Die Auswertung der Spektren erfolgte mit Hilfe der Software TopSpin (Bruker), wobei die Auflistung der Signale im Protonenspektrum bei hohem Feld beginnt und die Beschreibung der Signale der Protonenspektren in folgender Form angegeben ist: Wert der chemischen Verschiebung in ppm (Multiplizität, Kopplungskonstante(n)²⁾ in Hertz, Integral, Zuordnung) Bei den ¹³C-NMR-Spektren wird der Wert der chemischen Verschiebung in ppm, dann die Zuordnung aufgelistet. Die Zuordnungen der einzelnen Signale erfolgte in Anlehnung an simulierte Spektren, die mit der Software *ChemBioDraw 12.0 (Cambridgesoft, England)* gewonnen wurden und sind -sofern nicht anders angegeben- nicht abgesichert.

Die Multiplizitäten der Signale im ¹H-NMR-Spektrum werden folgendermaßen abgekürzt: s (Singulett), d (Duplett), t (Triplet), q (Quartett), quin (Quintett), m (Multipllett), b (breit).

¹⁾ Gottlieb, H.E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A., *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7512-7515.

²⁾ so weit möglich

6.1.5.8 Transmissionselektronenmikroskopie

Zur Bestimmung der Größe und Form der Nanopartikel wurden TEM-Aufnahmen am Transmissionselektronenmikroskop *Philips CM30/STEM* (LaB6 Kathode, 300 kV) gemacht. Pro Aufnahme wurde der Durchmesser von 75 Partikeln bestimmt, mit deren Hilfe der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet wurden. TEM-EDX-Spektren am *CM30 TEM/STEM* wurden mit einem EDX-System der Firma *EDAX* (Si/Li-Detektor) aufgenommen.

6.1.5.9 UV/Vis-Spektroskopie (Absorptionsspektren)

Zur Bestimmung des Absorptionsmaximums der Nanopartikel Größe der Partikel wurden UV/Vis-Messungen durchgeführt. Dazu wurden einige Tropfen der zu messenden Probe in Einmalküvetten gegeben und mit dem entsprechenden Lösungsmittel aufgefüllt. Die

Messungen wurden am UV/Vis-Spektrophotometer *Agilent 8453* der Firma Agilent Technologies (*Santa Clara Kalifornien, USA*) durchgeführt.

6.1.6 Berechnung der Partikelkonzentration

Die Konzentration der Goldkolloidlösungen wurde unter der Annahme, dass sich bei der Reaktion das eingesetzte Triphenylphosphingold-Salz oder die Tetrachlorgoldsäure vollständig umsetzen, berechnet. Zur Berechnung wurde folgender Rechenweg verwendet:

$$\text{Masse pro Nanopartikel : } m_{\text{NP}} = \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3$$

$$\text{Mol Au pro Nanopartikel : } n_{\text{Au pro NP}} = \frac{m_{\text{NP}}}{M(\text{Au})}$$

$$\text{Gesamtanzahl Nanopartikel : } N_{\text{NPgesamt}} = \frac{n_{\text{Au eingesetzt}}}{n_{\text{Au pro NP}}}$$

$$\text{Konzentration der Nanopartikel : } c_{\text{NP}} = \frac{N_{\text{NPgesamt}}}{N_{\text{A}} \cdot V}$$

$$\rho(\text{Au}) = 19.32 \text{ g/cm}^3 \quad M(\text{Au}) = 197 \text{ g/mol} \quad N_{\text{A}} = 6.022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$$

Zur Berechnung der Partikelkonzentrationen der Silbernanopartikel, QDots und der magnetischen Eisenoxidnanopartikel wurden folgende Werte angenommen:

$$\rho(\text{Ag}) = 10,49 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}; \quad M(\text{Ag}) = 107,87 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\rho(\text{CdSe}) = 5,81 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}; \quad M(\text{CdSe}) = 191,36 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\rho(\text{CdTe}) = 5,85 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}; \quad M(\text{CdTe}) = 240,01 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\rho(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 5,2 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}; \quad M(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 231,54 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

6.1.7 Bestimmung der Anzahl der Liganden auf der Partikeloberfläche (Thermogravimetrische Analyse)

Für die Anwendung der verschiedenen Selektin-bindenden Nanopartikel im biologischen System ist neben der vollständigen Charakterisierung von Partikelkern und Ligandenhülle auch die Kenntnis der Anzahl der auf der Partikeloberfläche immobilisierten Epitope von essenzieller Bedeutung, um eine Aussage über die multivalenten Eigenschaften treffen zu können. Hierzu kann eine thermogravimetrische Analyse (TGA) durchgeführt werden. Bei geeigneter Wahl des Temperaturprofils desorbieren die Liganden von der Kolloidoberfläche und von den verunreinigungsfreien Partikeln bleibt im Idealfall nur das Kernmaterial zurück. Der daraus resultierende Gewichtsverlust der Probe stellt den enthaltenen Massenanteil des organischen Materials in der Probe dar. Bei Kenntnis der durchschnittlichen Partikelgröße kann aus diesen Daten die Anzahl der Liganden pro Nanopartikel wie folgt berechnet werden.

$$\text{Masse eines Nanopartikel: } m_{\text{Partikel}} = \rho \left(\frac{4}{3}\right) \pi (r)^3$$

$$\text{Masse der organischen Hülle: } m_{\text{Hülle}} = m_{\text{Partikel}} \times \left(\frac{a}{100 - a}\right)$$

$$\text{Anzahl der Liganden: } N_{\text{Liganden}} = m_{\text{Hülle}} \times \left(\frac{N_A}{M_{\text{Ligand}}}\right)$$

Dabei entspricht ρ der Dichte des Kernmaterials, r dem Radius des Partikelkerns, a dem Gewichtsverlusts (bestimmt aus TGA), N_A der Avogadrozahl und M_{Ligand} dem Molekulargewicht des Liganden. Thermogravimetrische Analysen wurden an der JLU Gießen von Herrn Hubert Wörner an einer Thermowaage *STA 409 PC Luxx*[®] der Firma *Netsch Gerätebau GmbH (Selb, Deutschland)* durchgeführt. Die Aufheizrate betrug 10 K / min. Der Temperaturbereich und das Temperaturprofil wurden der jeweiligen Probe angepasst.

6.1.8 Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute

Zur Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute wurde die auf Arbeiten von *Williams et al.*^[203] basierende vergleichende Methode verwendet. Diese beruht auf dem Vergleich mit gut charakterisierten Referenzproben mit bekannten Werten. Als Referenzproben wurden in dieser Arbeit Rhodamin G6 und Chininsulfat verwendet. Alle Proben wurden bei einer Wellenlänge von 350 nm angeregt. Von der Referenz und der Probe wurde zunächst eine Konzentrationsreihe hergestellt. Dabei musste der Konzentrationsbereich so gewählt werden, dass die spätere Extinktion zwischen 0,01 und 0,1 betrug. Im Anschluss daran wurden die Absorptionsspektren und Fluoreszenzspektren aufgenommen. Die Quantenausbeute wurde mit folgender Gleichung bestimmt:

$$QY_{NP} = QY_{Ref} \cdot \left(\frac{F_{NP}}{F_{Ref}}\right) \cdot \left(\frac{A_{Ref}}{A_{NP}}\right) \cdot \left(\frac{\eta_{NP}}{\eta_{Ref}}\right)^2$$

QY_{NP} = Quantenausbeute Probe; QY_{Ref} = Quantenausbeute Referenz;

F_{NP} = gemessene Fluoreszenz der Probe; F_{Ref} = gemessene Fluoreszenz der Referenz;

A_{NP} = gemessene Absorption der Probe; A_{Ref} = gemessene Absorption der Referenz;

η = Brechungsindizes der Lösungsmittel

6.1.9 Biokompatibilitätstests

6.1.9.1 Kompetitiver SPR-basierender Bindungsassay

Die Experimente wurden mit dem Gerät *BIACORE X* der Firma *Biacore AB* am Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie der Charité Berlin nach einem bekannten Protokoll durchgeführt.^[341] Die Temperatur während der Experimente betrug 25 °C. Als Puffer wurde 20 mM HEPES-Puffer, versetzt mit 150 mM NaCl und 1 mM CaCl_2 , verwendet.

Für die Messung verschiedener Inhibitorkonzentrationen beim kompetitiven Bindungsassay wurde eine Stammlösung der Kolloide auf die jeweilige Konzentration verdünnt. Hierzu wurde Selektin-IgG auf AuNP mit einem mittleren Durchmesser von ca. 13 nm immobilisiert. Nach Inkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen eines Inhibitors wurden diese dann über einen Selektin-bindenden Chip geleitet. Dies führte zu einem Signal, welches in Abwesenheit eines Inhibitors 100% Bindung der Selektin-funkt. Au-NP an der Chipoberfläche entspricht. Die Bindung eines Inhibitors an die Selektin-funkt. Au-NP verhindert die Bindung dieser Partikel an der Chipoberfläche und führte somit zu einem reduzierten Bindungssignal. Bei dem in dieser Arbeit zur Charakterisierung des Bindungsverhaltens verglichenen IC_{50} -Wert handelt es sich um die Inhibitor-konzentration, bei der das Bindungssignal noch 50 % der Ausgangsstärke beträgt.

6.1.9.2 Zelltests

6.1.9.2.1 Verwendete Zellkulturen und Kultivierung

Für die in dieser Arbeit durchgeführten *in vitro* Experimente wurden zwei unterschiedliche Zellkulturen verwendet.

6.1.9.2.1.1 Zelltests mit HUVECs

Bei den HUVECs (engl.: *Human Umbilical Vein Endothelial Cells*) handelt es sich um humane Endothelzellen, die aus der Nabelschnurvene gewonnen wurden. Diese wurden von der Firma *PromoCell* (Heidelberg, Deutschland) bezogen. Die Kultivierung erfolgte in *Endothelial Cell Growth Medium* (PromoCell, Heidelberg), das 2% Serum enthält, und unter Zugabe von 1% Penicillin und Streptomycin (= Vollmedium), bei 37 °C und 5% CO₂ in Zellkulturflaschen kultiviert wurde. Die Passagierung erfolgte in Abstand von 3 bis 4 Tagen durch Trypsinierung und Aussaat in neue Zellkulturflaschen.

Durchführung Viabilitäts- und Zytotoxizitätstests:

Zellviabilitäts- und Zytotoxizitätstests wurden mit einem fluorimetrischen *SYTOX® Green Assay* (Life Technologies GmbH, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Dazu wurden die HUVECs mit einer Saatedichte von $1 \cdot 10^5$ Zellen pro Well auf mit Fibronectin beschichteten 48-Well-Platten ausplattiert und 24 h lang inkubiert. Anschließend wurde das Zellmedium durch neues ausgetauscht. Dieses enthielt unterschiedliche Konzentrationen an Nanopartikeln. Für Kontrollmessungen wurde ebenfalls frisches Zellmedium ohne Nanopartikel verwendet. Nach einem weiteren Inkubationsschritt (48 h), wurden die adhärenen Zellen mit dem Farbstoff *SYTOX® Green* versetzt. Dieser permeiert zunächst ausschließlich in die toten bzw. geschädigten Zellen und bindet intrazellulär an die DNA. Die Intensität des gebildeten Farbstoff/DNA-Komplexes wurde fluorimetrisch (Ex 485 nm/Em 538 nm) im Multiplatten-Reader (*Fluoroskan Ascent, LabSystems, Deutschland*) gemessen. Durch Zugabe von 1% Triton X-100 in isotonischer NaCl-Lösung wurde die Lyse der Zellen hervorgerufen, was den Farbstoff für alle Zellen zugänglich machte. Dadurch wurde der Anteil der lebenden Zellen erfasst. Die Bildung dieser DNA / Fluoreszenzfarbstoff-Komplexe ist direkt proportional zu der Anzahl der proliferierenden Zellen. Anhand einer vorher erstellten Eichkurve (Zellzahlen zwischen $1 \cdot 10^3$ und $1 \cdot 10^5$) konnte dann dem gemessenen Wert eine Zellzahl zugeordnet werden. Die Gesamtzellzahl der Kontrolle wurde auf 100% (durchgezogene Linie) festgelegt und der prozentuale Anteil der toten Zellen in den Kontrollzellen (gestrichelte Linie) wurde im Vergleich zur Gesamtzellzahl bestimmt. Der Prozentsatz lebender Zellen wurde aus der Differenz der Gesamtzellzahl und der toten Zellen berechnet.

Statistik:

Statistische Analyse der Zelltests wurden mit der Software *GraphPad Prism 6.0.2* (San Diego, CA, USA) durchgeführt. Statistische Vergleiche wurden durch Zweiwege-Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt von einem *Bonferroni-Test* (Post-Hoc-Test) durchgeführt. Alle Ergebnisse sind als Mittelwert \pm Standardabweichung aus Doppelbestimmungen von drei unabhängigen Experimenten angegeben. Statistisch signifikant Unterschiede wurden als * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$ verdeutlicht.

6.1.9.2.1.2 Mesenchymale Stammzellen

Die verwendeten primären mesenchymalen Stammzellen wurden aus humanem Bohrmehl (ZK26P3, ZK13P6, ZK20P4) gewonnen. Die Zellen wurden in einer Dichte von 10000 Zellen pro cm^2 ausgesät und in F12K Medium mit 20% FKS, 0,05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Streptomycin, 0,05 U/mL bei 37 °C in 95% Luft mit 5% CO_2 Atmosphäre inkubiert.

6.1.9.3 Quarzkristall-Mikrowaage

QCM-Messungen zur Bestimmung der Wechselwirkungen der MUC1-antigen-funktionalisiertem Goldnanopartikel mit SM3-Antikörper wurden von *Timo Schüler* aus der Arbeitsgruppe von *Herrn Prof. Dr. W. Tremel* am Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt. Die Messungen erfolgten an einer QSense[®] D3000 Mikrowaage der Firma *Q-Sense* (Västra Frölunda, Schweden). Hierzu wurden die Quarzkristalle QSX 301 (Q-Sense) mit einer 100 nm dicken Goldschicht und einer Resonanzgrundschiwingung von 5 MHz verwendet. Alle Experimente wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Zunächst wurde die Messkammer mit PBS-Puffer befüllt, die Resonanzfrequenz gesucht und gewartet, bis sich das System im Gleichgewicht befand. Dann wurde der SM3-Antikörper bzw. die MUC1-antigen-funktionalisierten Goldkolloide zugegeben und der Abfall der Resonanzfrequenz beobachtet. Abschließend wurde solange mit Waschpuffer gewaschen bis die Resonanzfrequenz wieder konstant war.

6.1.9.4 Immunoblot (Dot Blot-Immunoassay)

Für eine immunologische Bewertung der erhaltenen MUC1-antigen-funktionalisierten Goldnanopartikel wurde in dieser Arbeit ein neu entwickeltes Immunoblot-Protokoll verwendet. Alle Messungen wurden in dreifacher Ausführung durchgeführt.

Verwendete Puffer:

PBS (salzhaltiger Phosphatpuffer): in destilliertem Wasser

70 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 150 mM NaCl, mit HCl auf pH 7,2 einstellen

Waschpuffer: PBS-Puffer (pH 7,2) + 0,1% Tween20

Blockierlösung: PBS-Puffer (pH 7,2) + 1% Milchpulver

Inkubationspuffer: PBS-Puffer (pH 7,2) + 0,1% Tween20 + 0,5% Rinderserumalbumin (BSA)

Natriumacetatpuffer (pH 4,5): 18 mM Natriumacetat, 32 mM Essigsäure

Substratlösung (frisch hergestellt):

1 mL TMB-Lösung (1,2 mg 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin gelöst in DMSO) wird mit Natriumacetatpuffer auf 10 mL aufgefüllt und mit 0,05% H_2O_2 versetzt

Antikörper:

anti-MUC1 Primärantikörper: Der Antikörper wurde von der Firma *Sigma Aldich* bezogen. Es handelte sich um den monoklonalen Antikörper Anti-MUC1, Klon 1D1 (Maus *IgG1* isotyp) (Katalognr.: SAB4200017)

Sekundärantikörper: Der Antikörper wurde von der Firma *Biozym* (Hessisch Oldendorf, Deutschland) bezogen. Es handelte sich um einen HRP gekoppelten Ziege-Anti-Maus sekundären Antikörper (Art-Nr.: 541088).

Durchführung:

20 μL der zu testenden funktionalisierten Goldnanopartikel wurden auf eine vorbereitete Nitrozellulosemembran transferiert und bei 4 C über Nacht inkubiert. Anschließend wurde dreimal mit Waschpuffer gewaschen, bevor die freien Bindungsstellen der Membran mit der Blockierlösung durch Inkubation für 2 h bei Raumtemperatur blockiert wurden. Dann wurde erneut dreimal mit dem Waschpuffer gewaschen. Als Nächstes wurde der Primärantikörper mit einer Konzentration von 2 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (20 μL Antikörperlösung in 10 mL PBS-Puffer pH 7,2) zugegeben und die Membran mit dem Antikörper erneut 1 h inkubiert.

6 Experimenteller Teil

Nach der Inkubation wurde die Membran dreimal mit Waschpuffer gewaschen. Danach wurde der sekundäre Antikörper (1:10000 mit Inkubationspuffer verdünnt) zugegeben und für 1 h bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde wiederum dreimal mit Waschpuffer gewaschen, bevor die Membran mit Substratlösung bedeckt und 15 Min. im Dunkeln inkubiert wurde.

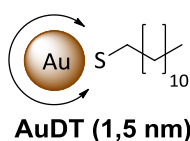
6.2 Experimente

6.2.1 Synthese der Goldnanopartikel

6.2.1.1 Synthese Dodecanthiol-kordinierter Goldnanopartikel (AuDT)

6.2.1.1.1 Synthese Dodecanthiol-koord.-Goldnanopartikel ($\varnothing = 1,5$ nm)

(Nach einer Literaturvorschrift von *Stucky et al* [69])



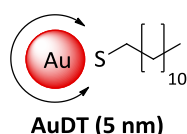
0,055 g (0,11 mmol, 1 Äq.) $[\text{PPh}_3]\text{AuCl}$ wurden in 2,8 mL Chloroform gelöst. Dazu wurden 66 μL (0,27 mmol, 2,5 Äq.) Dodecanthiol getropft, bevor unter starkem Rühren schnell eine Lösung bestehend aus 0,094 g (1,10 mmol, 10 Äq.) tert -Butylamin-Boran-Komplex in 2,9 mL Chloroform und 1,1 mL Ethanol zugegeben wurde. Die Reaktionsmischung wurde 5 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend erfolgte die Aufarbeitung der Nanopartikel mittels Dialyse (MWCO: 3500-6000 Da, drei mal 3 h gegen jeweils 400 mL Chloroform). Zur Lagerung wurde die dialysierte Kolloidlösung mit Chloroform auf 25 mL verdünnt und im Kühlschrank bei 4 °C gelagert. Es wurde eine braune Kolloidlösung mit einer Konzentration von $c = 5,19 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten.

Charakterisierung:

TEM: $d = 1,42 \pm 0,12$ nm (7%) DLS: $d_h = 1,5 \pm 0,3$ nm
 UV/Vis: —
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,81$ (t, 3H, CH_3), 1,14-1,42 (m, H, CH_2); 2,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2921,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1451,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1389,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$).

6.2.1.1.2 Synthese Dodecanthiol-koord. Goldnanopartikel ($\varnothing = 3$ nm bzw. $\varnothing = 5$ nm)

(Nach einer Literaturvorschrift von *Stucky et al* [69])



Zur Synthese 3,5 nm (bzw. 5 nm) großer Dodecanthiol-koordinierter Goldnanopartikel wurden $[\text{PPh}_3]\text{AuCl}$ (0,124 g, 0,25 mmol, 1 Äq.) und Dodecanthiol (188 μL , 0,75 mmol, 2 Äq.) [bzw. 125 μL , 0,50 mmol, 2 Äq.] in 10 mL Chloroform (Benzol) gelöst und mit 0,217 g (2,50 mmol, 10 Äq.) tert Butylamin-Boran-Komplex als Pulver versetzt. Die klare Reaktionslösung wurde 5 h auf 65 °C unter Rückfluss erhitzt (1 h bei Raumtemperatur gerührt). Zur Aufreinigung wurden die Nanopartikel mit 20 mL Ethanol gefällt. Der dabei entstehende schwarze Niederschlag wurde abzentrifugiert (1500 rpm, 10 min) und dreimal mit Ethanol gewaschen. Abschließend wurde der schwarze Rückstand im Vakuum getrocknet, in 20 mL Chloroform aufgenommen und im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt. Es wurde eine klare rötliche Kolloidlösung mit einer Konzentration von $c = 6,9 \mu\text{mol} / \text{L}$ ($c = 2,3 \mu\text{mol} / \text{L}$) Nanopartikel erhalten.

Charakterisierung $d = 3,5 \text{ nm}$:

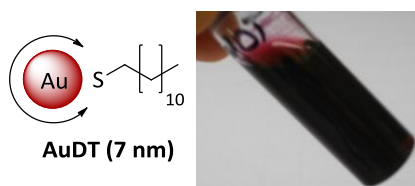
TEM:	$d = 3,9 \pm 0,4 \text{ nm}$ (11%)	DLS:	$d_h = 4 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 520 \text{ nm}$		
ATR-IR (Diamant-Einfachrechnung)	2920,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2849,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1384,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1260,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1021,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$).		

Charakterisierung $d = 5 \text{ nm}$:

TEM:	$d = 5,7 \pm 0,3 \text{ nm}$ (5%)	DLS:	$d_h = 6 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 522 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,85$ (t, 3H, CH_3); 1,19-1,45 (bs, 20H, CH_2); 1,58 (bs, 2H, CH_2) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 14,13$ (CH_3); 22,70 (CH_2); 24,69 (CH_2); 28,40 (CH_2); 29,09 (CH_2); 29,35 (CH_2); 29,53 (CH_2); 29,60 (CH_2); 29,63 (CH_2); 29,65 (CH_2); 31,91 (CH_2); 34,09 (CH_2) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	2916,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2847,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1465,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1435,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$).		

6.2.1.1.3 Synthese Dodecanthiol-koordinierte Goldnanopartikel ($\varnothing = 7 \text{ nm}$)

(Nach einer Literaturvorschrift von *Stucky et al* [69])



Zu Beginn wurden 0,120 g (0,24 mmol, 1 Äq.) $[\text{PPh}_3]\text{AuCl}$ in 20 mL Benzol gelöst. Anschließend wurden 0,125 mL (0,50 mmol, 2 Äq.) Dodecanthiol zugetropft. Dann wurden 0,213 mg (2,41 mmol, 10 Äq.) tert Butylamin-Boran-Komplex als Pulver zugegeben und die Reaktionsmischung bei 55 °C für eine Stunde unter Rückfluss gerührt. Dabei färbte sich die Lösung zuerst braun, bevor ein Farbwechsel zu violett auftrat. Als Nächstes wurde die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 20 mL Ethanol gefällt. Der

dabei entstehende schwarze Niederschlag, wurde abzentrifugiert (1500 rpm, 10 Min.) und dreimal mit Ethanol gewaschen. Abschließend wurde der schwarze Rückstand im Vakuum getrocknet und in 20 mL Chloroform aufgenommen. Es wurde eine dunkelrote Kolloidlösung mit einer Konzentration von $c = 1,33 \mu\text{mol} / \text{L}$ Nanopartikel erhalten und im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert.

Charakterisierung :

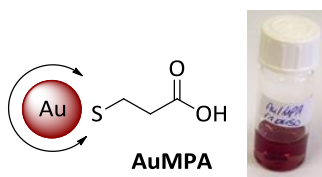
TEM:	$d = 6,8 \pm 0,2 \text{ nm}$ (3,6%)	DLS:	$d_h = 7 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 522 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,88$ (t, 3H, CH_3); 1,26-1,38 (bs, 20H, CH_2); 1,59 (bs, 2H, CH_2) ppm $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = d = 14,10$ (CH_3); 22,67 (CH_2); 24,65 (CH_2); 28,36 (CH_2); 29,06 (CH_2); 29,32 (CH_2); 29,50 (CH_2); 29,57 (CH_2); 29,60 (CH_2); 29,62 (CH_2); 31,89 (CH_2); 34,04 (CH_2) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	$2916,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2849,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1455,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1433,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1404,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1378,4 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{CH}_3)$); $720,5 \text{ cm}^{-1}$ (w, CH_2 -rocking).		

6.2.1.2 Synthese von Mercaptocarbonsäure-koordinierten Goldnanopartikeln

6.2.1.2.1 Allgemeine Synthesevorschrift für die Herstellung von Mercaptocarbonsäure-koordinierten Goldnanopartikeln

Das Goldsalz $[\text{PPh}_3]\text{AuCl}$ und die angegebenen Äquivalente Mercaptocarbonsäure wurden in 10 mL DMSO gelöst und mit tert. Butylamin-Boran-Komplex als Pulver versetzt. Die Reaktionslösung wurde 3,5 h bei $65 \text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Die Lösung wurde dabei innerhalb von 30 min über braun langsam rot. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung mittels Dialyse (MWCO: 3500-6000, drei mal drei Stunden gegen jeweils 400 mL DMSO) oder durch Fällern mit Acetonitril aufgereinigt. Für die Aufreinigung durch Fällern wurden 20 mL Acetonitril zur Kolloidlösung gegeben. Der dabei entstehende schwarze Niederschlag, wurde abzentrifugiert (3000 rpm., 10 min), dreimal mit Acetonitril gewaschen, im Vakuum getrocknet und abschließend wurde der schwarze Rückstand, in 10 mL DMSO aufgenommen.

6.2.1.2.2 Synthese von 3-Mercaptopropionsäure(MPA)-koordinierter Goldnanopartikel ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)



6 Experimenteller Teil

0,056 g (0,11 mmol, 1 Äq.) [PPh₃]AuCl; 29 µL (0,33 mmol, 3 Äq.) 3-Mercaptopropionsäure; 0,097g (1,11 mmol, 10 Äq.) ^{tert.}Butylamin-Boran-Komplex.

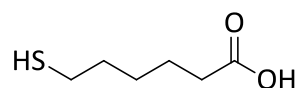
Es wurde eine klare dunkelrote Lösung mit einer Konzentration $c = 2,85 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,9 \pm 0,4 \text{ nm}$ (8%) DLS: $d_h = 6 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 521 \text{ nm}$
NMR: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 2,30$ (t, 2H, CH₂-CO); 2,65 (t, 2H, CH₂-S) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2923,3 cm⁻¹ (s, ν_{sym} (C-H)); 1710,0 cm⁻¹ (s, ν (C=O)); 1479,5 cm⁻¹ (m, δ (C-H)); 1435,3 cm⁻¹ (m, δ (C-H)); 1374,1 cm⁻¹ (s, ν (C-O)) 1180,6 cm⁻¹ (m, δ (O-H)); 1099,0 cm⁻¹ (m, ν (C-O)).

6.2.1.2.3 Synthese von Mercaptohexansäure (MHA)

(Nach einer Literaturvorschrift von Y. Chevolot *et al.* [342])



MHA (M = 148,22 g/mol)

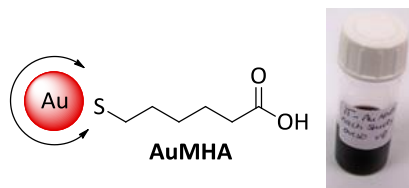
Eine Mischung aus 13,6 g (120 mmol, 1,1 Äq.) ϵ -Caprolactam, 8,40 g (110 mmol, 1 Äq.) Thioharnstoff und 6,6 mL 48% Bromwasserstoffsäure (9,80 g, 120 mmol, 1,1 Äq.) wurden unter Rückfluss auf 120 °C erhitzt und 9 h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur abgekühlt, und solange mit Natronlauge versetzt, bis die Lösung klar wurde. Die Reaktionslösung wurde für weitere 3 h bei 100 °C gerührt, bevor diese erneut auf Raumtemperatur abgekühlt und anschließend mit Schwefelsäure versetzt wurde, bis sich ein pH-Wert von 1 einstellte. Die klare Lösung wurde dreimal mit 20 mL Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden anschließend dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet, bevor das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt wurde. Abschließend wurde das erhaltene Rohprodukt (gelbes Öl) unter reduziertem Druck destilliert. Es wurde 4,47 g (30,2 mmol, 27%) eines klaren, farblosen Öls erhalten, welches bis zur Verwendung im Kühlschrank aufbewahrt wurde.

Charakterisierung:

NMR: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 1,49$ (t, 1H, SH); 1,59 (m, 2H, CH₂), 1,73-1,82 (m, 4H, CH₂); 2,49 (t, 2H, CH₂COOH); 2,63 (m, 2H, HSCH₂) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 24,36$ (CH₂); 24,63 (CH₂); 28,77 (CH₂); 33,91 (CH₂); 34,54 (CH₂); 176,85 (CO) ppm.
IR (Film): 3443,2 (s, ν (O-H)); 2935,4 cm⁻¹ (s, ν (C-H)); 2861,0 cm⁻¹ (s, ν (C-H)); 2550,0 cm⁻¹ (w, ν (S-H)); 1707,6 cm⁻¹ (s, ν (C=O)); 1411,8 cm⁻¹ (m, δ (C-H)); 1309,6 cm⁻¹ (w, δ (C-H)); 1269,3 cm⁻¹ (m, δ (O-H)); 1220,5 cm⁻¹ (s, ν (C-O)); 1054,4 cm⁻¹ (w, ν (C-O)); 720,5 cm⁻¹ (w, CH₂-rocking).

6 Experimenteller Teil

6.2.1.2.4 Synthese von 6-Mercaptohexansäure(MHA)-koordinierte Goldnanopartikel ($\varnothing = 8 \text{ nm}$)



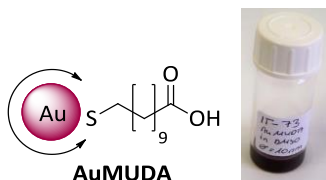
0,056 g (0,11 mmol, 1 Äq.) $[\text{PPh}_3]\text{AuCl}$; 31 μL (0,22 mmol, 2 Äq.) 6-Mercaptohexansäure; 0,097 g (1,11 mmol, 10 Äq.) tert -Butylamin-Boran-Komplex

Es wurde eine klare dunkelrote Lösung mit einer Konzentration $c = 0,7 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten.

Charakterisierung:

TEM: $d = 8,0 \pm 0,4 \text{ nm}$ (6%) DLS: $d_h = 9 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 523 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,29$ (quin, 2H, CH_2); 1,47 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,60 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,07 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,66 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2922,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2852,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1708,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1491,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1437,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1403,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1377,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1259,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1120,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 722,7 cm^{-1} (w, $\text{CH}_2\text{-rocking}$).

6.2.1.2.5 Synthese von 11-Mercaptoundecansäure-koord. Goldnanopartikel ($\varnothing = 10 \text{ nm}$)



0,031 g (0,06 mmol, 1 Äq.) $[\text{PPh}_3]\text{AuCl}$ in 5,5 mL DMSO; 0,026 g (0,12 mmol, 2 Äq.) 11-Mercaptoundecansäure; 0,053 g (0,61 mmol, 10 Äq.) tert -Butylamin-Boran-Komplex als Pulver.

Es wurde eine dunkelrote Kolloidlösung mit einer Konzentration von $c = 0,2 \mu\text{mol} / \text{L}$ an Nanopartikeln erhalten.

Charakterisierung:

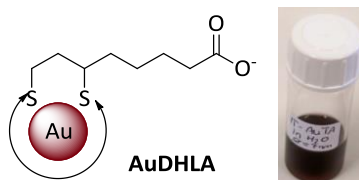
TEM: $d = 9,5 \pm 0,4 \text{ nm}$ (4%) DLS: $d_h = 12 \pm 2 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,24\text{-}1,43$ (m, 12H, CH_2); 1,55 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 2,05 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,43 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 24,55$ ($\text{CH}_2\text{-S}$); 25,60 ($\text{CH}_2\text{-CO}$); 28,35 (CH_2); 28,51 (CH_2); 28,74 (CH_2); 29,01 (CH_2), 29,03 (CH_2); 29,24 (CH_2); 33,71 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 35,97 (CH_2CO); 169,24 (CO) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 3407,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); 2916,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1659,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$);

6 Experimenteller Teil

Einfachreflexion): 1492,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1436,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1406,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$);
1314,1 cm^{-1} (m,v(C-O)); 1180,3 cm^{-1} (w, $\delta(\text{O-H})$); 1016,3 cm^{-1} (m,v(C-O)).

6.2.1.2.6 Synthese von Dihydroliponsäure (DHLA)-koord. Goldnanopartikeln ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Abad et al.*^[171])



Dihydroliponsäure-koordinierte Goldnanopartikel wurden in Anlehnung an eine zweistufige literaturbekannte Synthese hergestellt.^[171] Dazu wurden zunächst Tetraoctylammonium-bromid (TOAB)-koordinierte Goldnanopartikel synthetisiert, indem 3 mL einer wässrigen 30 mM (0,030 g, 0,09 mmol, 1 Äq.) Tetrachlorogoldsäure-Lösung mit einer 50 mM TOAB-Lösung (0,128 g, 0,40 mmol, 4 Äq.) in 8 mL Toluol versetzt und anschließend mit 2,5 mL einer frisch hergestellten wässrigen Natriumborhydridlösung (0,038 g, 0,001 mol, 11 Äq.) reduziert wurde. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht gerührt, bevor die wässrige Phase abgetrennt und die organische Phase jeweils zweimal mit 50 mL 0,1 M H_2SO_4 und dest. H_2O gewaschen wurde. Im zweiten Schritt wurde die Kolloidlösung mit 100 mL einer 0,1 M Liponsäurelösung in Toluol versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die in Toluol unlöslichen Partikel wurden zentrifugiert und anschließend zur Aufreinigung dreimal mit Toluol und einmal mit Isopropanol gewaschen, um mögliche Nebenprodukte zu entfernen. Der schwarze Rückstand wurde abschließend in 10 mL Wasser ($\text{pH} = 11$) gelöst. Es wurde eine klare rote Lösung mit einer Konzentration $c = 2,33 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten und im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt.

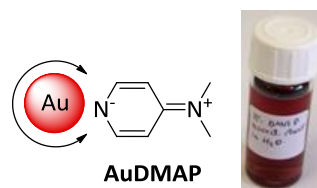
Charakterisierung:

TEM: $d = 5,8 \pm 0,6 \text{ nm}$ (11%) DLS: $d_h = 13 \pm 4 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,31$ (m, 2H, CH_2);
1,66 (m, 4H, CH_2); 1,85 (m, 2H, CH_2); 2,25 (t, 1H, CH-CO); 2,48 (m, 1H, CH-S);
2,68 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm

6.2.1.3 Synthese von Amin-koordinierten Goldnanopartikeln

6.2.1.3.1 Synthese von 4-Dimethylaminopyridin-koord. Goldnanopartikel ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)

(nach einer Literaturvorschrift von *Gittins und Caruso*^[172])



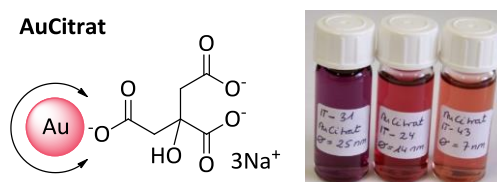
Zunächst wurden 0,064 g (0,16 mmol, 1 Äq.) Tetrachlorgoldsäure in 5 mL dest. Wasser gelöst. Dazu wurde eine Lösung von 0,348 g (0,64 mmol, 4 Äq.) TOAB in 12,5 mL Toluol gegeben. Nach ca. 2 Min. wurde eine frisch hergestellte wässrige NaBH₄-Lösung (0,060 g, 1,59 mmol, 10 Äq., in 3,8 mL dest. H₂O) langsam zu dem Zwei-Phasen-System zugetropft. Beim Zutropfen der NaBH₄-Lösung färbte sich die Reaktionsmischung rot. Die Reaktionsmischung wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend wurde die wässrige Phase abgetrennt und die organische Phase jeweils zweimal mit 50 mL 0,1 M H₂SO₄ und dest. H₂O gewaschen. Dann wurde die Kolloidlösung mit 60 mL einer 0,1 M 4-Dimethylaminopyridin-Lösung versetzt und 2 h gerührt. Dabei fand ein vollständiger Phasentransfer der Kolloide in die wässrige Phase statt. Die wässrige Phase wurde von der organischen Phase getrennt und mit einem Spritzenaufsatzfilter (0,2 µm) filtriert. Es wurde eine klare rote Lösung mit einer Konzentration von 0,48 µmol / L Nanopartikel erhalten. Die Lagerung der Kolloidlösung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank.

Charakterisierung:

TEM: $d = 5,1 \pm 0,4$ nm (7%) DLS: $d_h = 6 \pm 1$ nm
 UV/Vis: $\lambda_{\max} = 521$ nm
 NMR: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 2,97$ (s, 6H, CH₃); 6,64 (d, 2H, CH); 8,04 (d, 2H, CH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 3035,6 cm⁻¹ (m, ν(C=C-H)); 2904,3 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 2827,3 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 1642,0 cm⁻¹ (m, ν(C=C)); 1600,0 cm⁻¹ (s, ν(C=C)); 1562,1 cm⁻¹ (m, ν(C=C)); 1518,2 cm⁻¹ (s, ν(C=C)); 1443,6 cm⁻¹ (s, δ(C-H)); 1377,1 cm⁻¹ (m, δ(CH₃)); 804,5 cm⁻¹ (s, δ(C-H)).

6.2.1.4 Synthese von Citrat-koordinierten Goldnanopartikeln



6.2.1.4.1 Mit einem mittleren Partikeldurchmesser < 10 nm

(in Anlehnung an eine Literaturvorschrift von *Sivaraman et al.*^[174])

Die Synthese von Citrat-koordinierten Goldnanopartikeln mit einem mittleren Partikeldurchmesser $d < 10$ nm erfolgte im Vergleich zur *Turkevich-Methode*^[72] durch

umgekehrte Reihenfolge der Eduktzugabe. Dazu wurden zunächst 0,023 g (0,079 mmol, 6 Äq.) Trinatriumcitrat-Dihydrat in 45 mL destilliertem Wasser gelöst und 20 Min. unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Unter starkem Rühren wurde dann schnell eine Lösung aus 0,005 g (0,013 mmol, 1 Äq.) Tetrachlorogoldsäure in 5 mL destilliertem Wasser hinzugegeben und anschließend nochmals 3 h bei 80 °C gerührt. Im Anschluss daran wurde die Reaktionslösung mithilfe eines Eisbads auf 0 °C abgekühlt und zur Aufreinigung durch einen Spritzenaufsatzfilter (0,2 µm) filtriert. Die klare, rote Kolloidlösung mit einer Konzentration von $c = 0,88 \mu\text{mol} / \text{L}$ wurde unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,3 \pm 0,4 \text{ nm}$ (7%) DLS: $d_h = 4 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 523 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2.57$ (s, 2H, CH_2), 2.64 (s, 2H, CH_2) ppm.

6.2.1.4.2 Mit einem mittleren Partikeldurchmesser $\varnothing = 14 \text{ nm}$

(nach einer Literaturvorschrift von *Porta et al.*^[103])

Zur Darstellung Citrat-funktionalisierter Goldnanopartikel mit einem mittleren Durchmesser von $d = 14 \text{ nm}$ wurde zuerst eine Lösung bestehend aus 0,023 g (0,06 mmol, 1 Äq.) $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ in 180 mL dest. Wasser hergestellt und 20 min unter Rückfluss bis zum Sieden erhitzt. Unter starkem Rühren wurde dann schnell eine Lösung von Trinatriumcitrat-Dihydrat (0,101 g, 0,34 mmol, 5,6 Äq.) in 1,5 mL dest. Wasser zugegeben und 3 h bei 80 °C gerührt. Dabei färbte sich die Lösung langsam von gelb zu rot. Die Lösung wurde nach 3 h mit einem Eisbad schnell auf 0 °C abgekühlt und mit einem Spritzenaufsatzfilter (0,2 µm) filtriert. Die klare, rote Kolloidlösung mit einer Konzentration von $c = 1,72 \text{ nmol} / \text{L}$ Nanopartikel wurde unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

Charakterisierung:

TEM: $d = 14,8 \pm 0,7 \text{ nm}$ (5%) DLS: $d_h = 18 \pm 4 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,58$ (s, 2H, CH_2), 2,65 (s, 2H, CH_2), 3,17 (bs, 1H, **OH**) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion) $3246,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{O-H})$); $2963,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2920,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1577,8 \text{ cm}^{-1}$; $1488,4 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1415,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1384,0 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1303,4 \text{ cm}^{-1}$; $1270,4 \text{ cm}^{-1}$; $1078,1 \text{ cm}^{-1}$.

6.2.1.4.3 Mit einem mittleren Partikeldurchmesser $\phi = 25$ nm)

(in Anlehnung an eine Literaturvorschrift von *Panigrahi et al.*^[173])

Eine Lösung von $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0,036 g, 0,09 mmol, 1 Äq.) in 360 mL Wasser wurde 10 Min. unter Rückfluss bis zum Sieden erhitzt. Unter starkem Rühren wurde dann schnell eine Lösung von Trinatriumcitrat-Dihydrat (0,045 g, 0,15 mmol, 1,5 Äq.) in 5 mL Wasser zugegeben und 30 Min. bei 80 °C gerührt. Direkt nach Zugabe färbte sich die Lösung zunächst bläulich und im weiteren Verlauf der 30 Min. wurde die Reaktionslösung dann violett. Die Lösung wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und mit einem Spritzenaufsatzfilter (0,2 μm) filtriert. Die klare, violette Kolloidlösung mit einer Konzentration von $c = 0,25$ nmol / L Nanopartikel wurde bei 4 °C und unter Lichtausschluss im Kühlschrank gelagert.

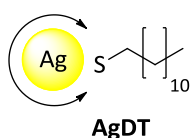
Charakterisierung:

TEM: $d = 25,3 \pm 1,2$ nm (5%) DLS: $d_h = 30 \pm 8$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 531$ nm

6.2.2 Synthese von Silbernanopartikeln

6.2.2.1 Synthese Dodecanthiol-kordinierter Silbernanopartikel ($\phi = 4$ nm)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Li et al.*^[177])



Zu Beginn wurden 0,051 g (0,3 mmol, 1 Äq.) Silbernitrat, 2 mL (6 mmol, 20 Äq.) Oleylamin, 1 mL (3 mmol, 10 Äq.) Ölsäure und 10 mL Phenylether in einem 100 mL Zweihalskolben unter Schutzgasatmosphäre gemischt und unter Rückfluss auf 150 °C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde 5 h bei dieser Temperatur gerührt. Danach wurde die Mischung schnell auf Raumtemperatur abgekühlt und 0,5 mL (0,4 mmol, 1,3 Äq.) Dodecanthiol zugegeben. Zur Aufreinigung wurden die Partikel mit Ethanol gefällt und der dabei entstehende Niederschlag wurde abzentrifugiert (1500 rpm, 10 min) und dreimal mit Ethanol gewaschen. Abschließend wurde der Rückstand im Ölpumpenvakuum getrocknet und in 50 mL Hexan aufgenommen. Es wurde eine dunkelgelbe Kolloidlösung mit einer Konzentration von $c = 1,57$ μM Nanopartikel erhalten.

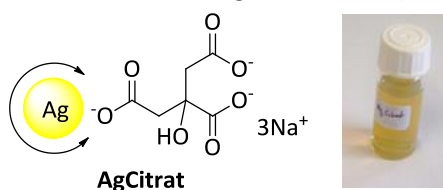
Charakterisierung:

TEM: $d = 4,4 \pm 0,5$ nm DLS: $d_h = 6 \pm 1$ nm

UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 418 \text{ nm}$
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,88$ (t, 3 H, CH_3); 1,26-1,48 (bs, 18 H, CH_2); 1,61 (bs, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 2,16 (t, 2 H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 14,11$ (CH_3); 22,67 (CH_2); 25,81 (CH_2); 27,20 (CH_2); 29,12 (CH_2); 29,26 (CH_2); 29,30 (CH_2); 29,51 (CH_2); 29,68 (CH_2); 29,75 (CH_2); 31,89 (CH_2); 36,92 (CH_2) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	2914,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2847,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1464,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1433,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1388,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1377,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{CH}_3)$); 719,2 cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).

6.2.2.2 Synthese von Citrat-koordinierten Silbernanopartikel

(in Anlehnung an eine Literaturvorschrift von *Panigrahi et al.* ^[84])

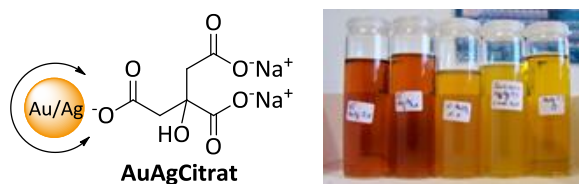


Eine Lösung von 0,006 g (0,04 mmol, 1 Äq.) AgNO_3 in 150 ml Wasser wurde 20 Minuten unter Rückfluss bis zum Sieden erhitzt. Unter starkem Rühren wurde dann schnell eine Lösung von Trinatriumcitrat-Dihydrat (0,078 g, 0,22 mmol, 5,5 Äq.) in 0,75 mL Wasser zugegeben und 3 h bei 80 °C gerührt. Direkt nach Zugabe färbte sich die Lösung langsam gelb und änderte sich bis zum Ende der Reaktionszeit nicht. Zum Abbruch der Reaktion wurde die Reaktionslösung mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und mit einem Spritzenaufsatzfilter filtriert. Es wurde eine klare, gelbe Lösung mit einer Konzentration von $c = 1,77 \text{ nmol / L}$ an Nanopartikeln erhalten. Zur Lagerung wurde die Kolloidlösung unter Lichtausschluss im Kühlschrank aufbewahrt.

Charakterisierung:

TEM:	d = 16,7 ± 3,2 nm	DLS:	d _h = 17 ± 3 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 417 \text{ nm}$		

6.2.3 Synthese nanoskaliger Gold-/Silber-Legierungen (d = 20 nm)



Allgemeine Synthesevorschrift:

Für die Synthese der nanoskaligen Gold-/Silber-Legierungen wurde zunächst die entsprechende Menge Tetrachlorogoldsäure in 150 mL Milliporewasser gelöst und 20 Minuten unter Rückfluss bis zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde unter starkem Rühren zuerst eine Lösung der entsprechenden Menge Silbernitrat in 200 μL

Milliporewasser zugegeben und sofort danach erfolgte die Zugabe des Natriumcitrats, gelöst in 750 μL Milliporewasser. Die Temperatur wurde langsam auf 80 °C reduziert und die Reaktionslösung insgesamt drei Stunden gerührt. Dabei färbte sich je nach Gold-/ Silber-Verhältnis die Lösung langsam dunkelgelb bzw. gelborange. Zur Beendigung der Reaktion wurde die Lösung mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und mit einem Spritzenaufsatzfilter (0.2 μm) filtriert. Die klare Lösung wurde im Kühlschrank unter Lichtausschluss gelagert.

Au/Ag-3:1-Nanopartikel:

AgNO₃ 0,002 g (0,009 mmol, 1 Äq.)
 HAuCl₄·3H₂O 0,011 g (0,027 mmol, 3 Äq.)
 Trinatrium-citrat-Dihydrat 0,078 g (0,22 mmol, 24 Äq.)

Charakterisierung:

TEM: $d = 24 \pm 4 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 492 \text{ nm}$
 DLS: $d_{\text{h}} = 29 \pm 7 \text{ nm}$

Au/Ag-1:1-Nanopartikel:

AgNO₃ 0,003 g (0,018 mmol, 1 Äq.)
 HAuCl₄·3H₂O 0,008 g (0,018 mmol, 1 Äq.)
 Trinatrium-citrat-Dihydrat 0,078 g (0,22 mmol, 24 Äq.)

Charakterisierung:

TEM: $d = 19 \pm 3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 458 \text{ nm}$
 DLS: $d_{\text{h}} = 22 \pm 6 \text{ nm}$

Au/Ag-1:3-Nanopartikel:

AgNO₃ 0,005 g (0,027 mmol, 1 Äq.)
 HAuCl₄·3H₂O 0,004 g (0,009 mmol, 3 Äq.)
 Trinatrium-citrat-Dihydrat 0,078 g (0,22 mmol, 24 Äq.)

Charakterisierung:

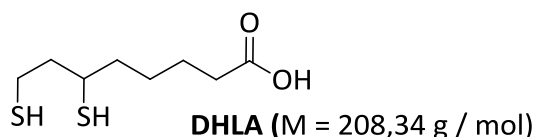
TEM: $d = 23 \pm 3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 430 \text{ nm}$
 DLS: $d_{\text{h}} = 28 \pm 6 \text{ nm}$

6.2.4 Synthese der fluoreszierenden Halbleiternanopartikel (QDots)

6.2.4.1 Synthese der Liganden

6.2.4.1.1 Synthese von Dihydroliponsäure (DHLA)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von Roux *et al.* [79])



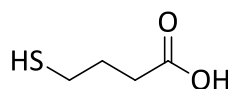
1,22 g (5,9 mmol, 1 Äq.) α -Liponsäure wurden in 45 mL einer wässrigen 0,25 M NaHCO₃-Lösung gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Danach wurden langsam 0,9 g (23,8 mmol, 4 Äq.) NaBH₄ zugegeben und die Reaktionslösung 3 h bei 0 °C gerührt. Dabei färbte sich die Lösung langsam gelb. Im Anschluss wurde die Lösung mit 9 mL 6 M HCl angesäuert (pH-Wert = 1) und das gebildete DHLA durch Extraktion mit dreimal je 50 mL Diethylether aus dem Rohprodukt isoliert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesium-

sulfat 1 h getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer und am Ölpumpenvakuum das Lösungsmittel entfernt. Es wurde 0,983 g (4,72 mmol, 80%) eines hellgelben Öls erhalten.

Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,36\text{-}1,71$ (m, 6H, CH_2); 1,85 (m, 2H, CH_2); 2,31 (t, 1H, CH-CO); 2,59 (m, 1H, CH-S); 2,65 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 22,31$ ($\text{CH}_2\text{-S}$), 28,61 (CH_2), 29,71 (CH_2), 33,71 (CH-S); 33,77 (CH_2), 34,60 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 42,77 (CH_2), 179,21 (CO) ppm.
 IR (Film): 2933,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2860,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2672,5 cm^{-1} (m, $\nu(\text{S-H})$); 2563,3 cm^{-1} (m, $\nu(\text{S-H})$); 1706,6 cm^{-1} (ss, $\nu(\text{C=O})$); 1412,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1283,7 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-O})$); 1088,3 cm^{-1} ; 936,2 cm^{-1} ; 744,6 cm^{-1} .

6.2.4.1.2 Synthese von Mercaptobutansäure (MBA)



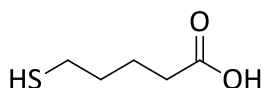
MBA (M = 120,17 g / mol)

Die Synthese des Liganden Mercaptobutansäure erfolgte durch Umsetzung von 1,990 g (11,9 mmol, 1 Äq.) 4-Bromobutansäure mit 1,190 g (15,6 mmol, 1,3 Äq.) Schwefelharnstoff in 15 mL Ethanol. Die Reaktionsmischung wurde 3 h unter Rückfluss bis zum Sieden erhitzt, bevor 11 mL einer 4 M Natronlauge zugegeben und weitere 2 h auf 90 °C unter Rückfluss erhitzt wurde. Nach dem Abkühlen der Reaktionsmischung wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand dreimal mit 20 mL Diethylether extrahiert. Anschließend wurde mit Hilfe einer 6 M Salzsäure der pH-Wert auf 1 eingestellt und die wässrige Phase erneut gegen Diethylether (dreimal je 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und anschließend am Ölpumpenvakuum entfernt. Es wurden 0,750 g (6,24 mmol, 52%) eines farblosen Feststoffes erhalten.

Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,30$ (t, 1H, SH); 1,88 (t, 2H $\text{CH}_2\text{-SH}$); 2,37-2,61 (m, 4H, CH_2) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 23,87$ ($\text{CH}_2\text{-SH}$), 28,66 (CH_2), 32,36 ($\text{CH}_2\text{-COOH}$), 179,29 (COOH) ppm.
 IR (Film): 2940,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2580,3 cm^{-1} (w, $\nu(\text{S-H})$); 1711,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1413,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1398,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1309,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1233,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1198,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1062,9 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.4.1.3 Synthese von Mercaptopentansäure (MPEA)



MPEA (M = 134,20 g / mol)

Der Ligand Mercaptopentansäure wurde durch eine literaturbekannte Synthese von hergestellt. Dazu wurden 0,700 g (9,1 mmol, 1,5 Äq.) Thioharnstoff und 1,070 g (5,9 mmol, 1 Äq.) 5-Bromovalerinsäure in 15 mL Ethanol gelöst und unter Rückfluss über Nacht bis zum Sieden erhitzt. Als Nächstes wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 15 mL einer 7,5 M Natronlauge aufgenommen. Die erhaltene Reaktionslösung wurde unter Rückfluss auf 90 °C erhitzt und 24 h bei dieser Temperatur gerührt. Nachdem die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde dreimal mit je 50 mL Dichlormethan extrahiert und die zusammengeführten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer und anschließend am Ölpumpenvakuum entfernt. Es wurden 0,880 g (6,55 mmol, 72%) eines farblosen Öls erhalten.

Charakterisierung:

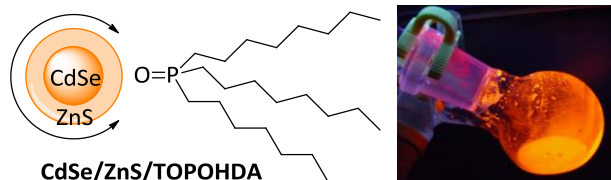
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,30$ (t, 1H, SH); 1,51-1,78 (m, 4H, CH_2); 2,31 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-COOH}$); 2,48 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-SH}$) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 23,25$ (CH_2), 24,20 (CH_2), 33,23 ($\text{CH}_2\text{-SH}$), 33,50 ($\text{CH}_2\text{-COOH}$), 179,82 (COOH) ppm.

IR (Film): 2936,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2858,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2675,1 cm^{-1} (w, $\nu(\text{S-H})$); 1709,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1413,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1284,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1233,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1073,4 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.4.2 Synthese der QDots in organischen Lösungsmitteln

6.2.4.2.1 Zweistufige Synthese von TOPO/HDA koordinierten CdSe/ZnS-QDots

(nach einer Synthesevorschrift von Talapin et al. ^[90])



In einem ausgeheizten 100 mL Dreihalskolben wurden 10 g (25,9 mmol, 18,5 Äq.) Trioctylphosphinoxid (TOPO) und 5 g (20,7 mmol, 14,8 Äq.) Hexadecylamin (HDA) unter Schutzgas zunächst bei 180 °C für 2 h getrocknet. Danach wurden 0,08 g (1,0 mmol, 0,7 Äq.) Selenpulver in 5 mL (11,2 mmol, 8,0 Äq) Trioctylphosphin (TOP) gelöst und mit 0,36 g (1,4 mmol, 1 Äq.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ versetzt. Die HDA/TOPO-Mischung wurde auf 300 °C

erhitzt und die CdSe-Prekursorlösung zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 5 Min. im Temperaturbereich zwischen 250 – 300 °C gehalten und anschließend schnell mit Hilfe eines Eisbades abgekühlt. Zur Aufreinigung wurden die Partikel in abs. Toluol aufgenommen, durch einen 0,2 µm Spritzenaufsatzfilter filtriert und mit abs. Methanol gefällt. Im zweiten Schritt erfolgte die Aufbringung der ZnS-Hülle durch Zugabe von 5 g (12,9 mmol, 32,3 Äq.) TOPO, 2,5 g (10,3 mmol, 25,8 Äq.) HDA und einer ZnS-Prekursorlösung (0,25 g (0,4 mmol, 1 Äq.) Zinkstearat und 0,016 g (0,5 mmol, 1,25 Äq.) Schwefelpulver in 3 mL (6,7 mmol, 16,8 Äq.) TOP) zu 2,5 mL der CdSe-Partikellösung. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung 1 h bei 200 °C erhitzt, bevor sie erneut mit Hilfe eines Eisbades auf Raumtemperatur abgekühlt wurde. Die Partikel wurden in abs. Toluol aufgenommen, mit abs. Methanol gefällt und erneut in abs. Toluol aufgenommen, um überschüssige, freie Liganden aus der Lösung zu entfernen. Die erhaltene klare orange-rote Partikellösung wurde unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert. Dabei war die Lösung über Wochen optisch stabil.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 5,3 \pm 0,4 \text{ nm}$ (8%)	DLS:	$d_h = 14 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 578 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 3,8 \text{ nm}$)		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,89$ (t, 9H, CH_3); 1,19 (m, 24H, CH_2); 1,30-1,33 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$); 1,34-1,53 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-P}$); 1,56-1,62 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-P}$) ppm.		

6.2.4.2.2 Zweistufige Synthese TOPO/HDA-kordinierten CdTe/ZnS-QDots

(nach einer Synthesevorschrift von Talapin et al. ^[90])



In einem ausgeheizten Schlenkkolben wurden 14,2 g (59 mmol, 45 Äq.) entgastes HDA und 7 mL (16 mmol, 12,3 Äq.) TOP vorgelegt und die Reaktionsmischung auf 50 °C erhitzt. Dann wurde die Cd-Prekursorlösung bestehend aus 0,42 g (1,6 mmol, 1,2 Äq.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ in 7 mL TOP, und 0,16 g (1,3 mmol, 1 Äq.) Tellurpulver hinzugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung für 2 h auf 185 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die erhaltenen Partikel in Toluol aufgenommen und zur Aufreinigung mit abs. Methanol gefällt. Zur Passivierung mit einer ZnS-Hülle wurde eine Lösung der erhaltenen Partikel (1 mmol Qdots in 5 mL abs. Toluol) im nächsten Schritt auf 200 °C erhitzt und mit 5,0 g (12,9 mmol, 12,9 Äq.) getrocknetes TOPO, 2,5 g (14,7 mmol, 14,7 Äq.) HDA und einer ZnS-Prekursorlösung (0,25 g (0,4 mmol, 0,4 Äq.) Zinkstearat, 0,02 g (0,5 mmol, 0,5 Äq.) Schwefelpulver in 3 mL TOP) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 1 h bei 210 °C gehalten, bevor sie mit Hilfe eines Eisbades schnell auf Raumtemperatur gebracht wurde. Zur

Aufreinigung wurden die Partikel in abs. Toluol aufgenommen, mit abs. Methanol gefällt und wieder in 5 mL abs. Toluol gelöst. Die erhaltene orange-rot fluoreszierende Partikellösung ($c = 0,30 \text{ mmol/L}$) wurde unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,5 \pm 0,3 \text{ nm}$ (7%) DLS: $d_h = 14 \pm 3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 588 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 3,6 \text{ nm}$)
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,81$ (t, 9H, CH_3); 1,14-1,27 (m, 24H, CH_2); 1,28-1,36 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$); 1,44-1,53 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-P}$); 1,54-1,64 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-P}$) ppm.

6.2.4.2.3 Einstufige Synthese von TOPO/HDA-kordinierten CdTe/ZnS QDots

(nach einer Synthesevorschrift von *Park et al.*^[190])

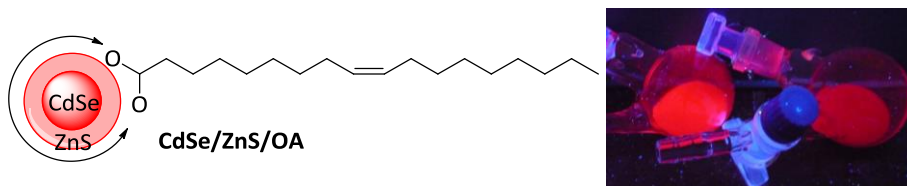


In einem ausgeheizten Schlenkrohr wurden 1,940 g (8,0 mmol, 80 Äq.) zuvor getrocknetes getrocknetes HDA und 1,940 g (5,0 mmol, 50 Äq.) TOPO auf 200 °C erhitzt. Danach wurden 0,026 g (0,1 mmol, 1 Äq) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ in 0,227 g (0,8 mmol, 8 Äq) Stearinsäure hinzugegeben und die Reaktionslösung auf 285 °C erhitzt. Nachdem die Reaktionslösung eine Temperatur von 285 °C erreicht hatte, wurden 0,080 g (1,0 mmol, 10 Äq) Selenpulver in 2 mL (4,5 mmol, 45 Äq.) TOP hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde auf 200 °C abgekühlt und für ca. 3 min bei dieser Temperatur gehalten. Es wurden 0,101 g (0,2 mmol, 2 Äq.) Zinkstearat und 0,006 g (0,2 mmol, 2 Äq) Schwefelpulver in 2 mL TOP hinzugegeben. Im Anschluss wurde die Reaktionsmischung 1 h auf 180 °C gehalten, bevor sie schnell mit Hilfe eines Eisbades auf Raumtemperatur abgekühlt wurde. Die erhaltenen Partikel wurden in Toluol aufgenommen. Überschüssiges HDA und TOPO wurden durch Fällung mit Methanol entfernt. Die erhaltene klare gelbe Lösung wurde unter Lichtausschluss im Kühlschrank gelagert. Dabei war sie mehrere Wochen optisch stabil.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,8 \pm 0,9 \text{ nm}$ (19%) DLS: $d_h = 14 \pm 2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 463 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 2,1 \text{ nm}$)

6.2.4.2.4 Einstufige Synthese von OA-kordinierten CdSe/ZnS QDots



In einem ausgeheizten Schlenkrohr wurden unter Schutzgasatmosphäre 0,107 g (0,4 mmol, 1 Äq.) Cadmiumacetat, 0,878 g (4 mmol, 10 Äq.) Zinkacetat und 5,6 mL (17,6 mmol, 44 Äq.) Ölsäure (OA) in 20 mL 1-Octadecen gelöst und 20 Min. bei 150 °C entgast. Als Nächstes wurde die Reaktionsmischung auf 310 °C erhitzt und schnell 0,032 g (0,4 mmol, 1 Äq.) Selenpulver und 0,128 g (4 mmol, 10 Äq.) Schwefelpulver gelöst in je 3 mL TOP zugegeben. Nach der Injektion wurde die Temperatur zur Unterstützung des Partikelwachstums auf 300 °C eingestellt. Nach einer Reaktionszeit von 10 Min. wurde die Reaktion schnell mit Hilfe eines Eisbades durch Abkühlen auf Raumtemperatur beendet. Zur Aufreinigung der Partikel wurden diese durch Zugabe von 20 mL abs. Chloroform und einem Überschuss an Aceton gefällt. Der Aufreinigungsschritt wurde min. dreimal wiederholt, bevor der orangerote Rückstand am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde und abschließend in 10 mL abs. Chloroform gelöst wurde. Es wurde eine rote Lösung ($c = 1,49 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,9 \pm 0,4 \text{ nm}$ (6%)	DLS:	$d_h = 8 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 635 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 6,6 \text{ nm}$)		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,88$ (t, 3H, CH_3); 1,21-1,58 (m, 24H, CH_2); 2,18 (q, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}$); 5,82 (m, 2H, CH=CH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 14,14$ (CH_3), 22,71 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 28,96 (CH_2), 29,18 (CH_2), 29,38 (CH_2), 29,53 (CH_2), 29,71 (CH_2), 31,94 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 33,84 ($\text{CH}_2\text{-COO-}$), 139,31 ppm.		

6.2.4.3 „Wässrige“ Synthese der QDots

6.2.4.3.1 Synthese der Vorstufen

6.2.4.3.1.1 Synthese der Se-Vorstufe (NaHSe)

Die Synthese der Se-Vorstufe erfolgte in Anlehnung an eine literaturbekannte Methode.^[343] Dazu wurden 0,032 g (0,4 mmol, 1 Äq.) Selen-Pulver und 0,030 g (1 mmol, 2,5 Äq.) NaBH_4 in 10 mL dest. Wasser gelöst und bei 0 °C für 4 h unter Schutzgasatmosphäre gerührt. Nach ca. 1 h löste sich das schwarze Selen-Pulver auf und es entstand ein farbloser Niederschlag ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$). Im Anschluss wurde die klare Se-

Vorstufe von dem farblosen Niederschlag abgetrennt, indem die Lösung in einen ausgeheizten Kolben überführt wurde. Die Se-Vorstufe musste vor der Synthese frisch hergestellt werden, da eine Lagerung der Lösung nicht möglich war.

6.2.4.3.1.2 Synthese der Te-Vorstufe (NaHTe)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Gu et al.*^[344])

Zur Darstellung der Te-Vorstufe wurden 0,052 g (0,4 mmol, 1 Äq.) Tellur-Pulver und 0,037 g (1 mmol, 2,5 Äq.) NaBH₄ in 10 mL entgastem Wasser gelöst und 1 h bei 75 °C unter Schutzgasbedingungen gerührt. Dabei färbte sich die Reaktionslösung nach ca. 30 min tiefrot. Die Te-Vorstufe musste vor der Partikelsynthese frisch hergestellt werden, da eine Lagerung der Vorstufe nicht möglich war

6.2.4.3.2 Allgemeine Synthesevorschrift für die Synthese CdSe- und CdTe-QDots nach der konventionellen Reaktionsdurchführung (A)

Unter Argon wurden in einem Dreihalskolben mit aufgesetztem Rückflusskühler und Innenthermometer 0,2 mmol (2 Äq.) Cd(OAc)₂·2H₂O in 20 mL destilliertem Wasser gelöst und anschließend mit 0,48 mmol (4,8 Äq.) der jeweiligen Mercaptocarbonsäure versetzt. Zum Lösen der Mercaptocarbonsäure wurde mit 1 M Natronlauge bzw. TMAH der pH-Wert auf >10 eingestellt, sodass eine klare Lösung entstand. Die Reaktionslösung wurde 1 h entgast und anschließend auf 100 °C erhitzt. Nun wurden unter starkem Rühren 0,1 mmol (1 Äq.) der Se- bzw. Te-Vorstufe schnell zur Reaktionslösung gegeben und weitere 2 – 24 h gerührt. Dabei färbte sich die Reaktionslösung gelb bis orange. Zum Abbruch der Reaktion wurde die Reaktionslösung mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Die Aufreinigung der Partikel erfolgte durch Fällung und mehrmaligen Waschen mit entgastem Isopropanol bzw. einem Aceton/Ethylacetat-Gemisch (1:1) und anschließendem Zentrifugieren (4000 rpm, 10 min). Abschließend wurden die Nanopartikel in 10 mL destilliertem Wasser aufgenommen und bei 4 °C im Kühlschrank im Dunkeln aufbewahrt.

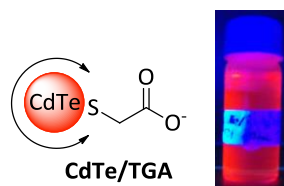
6.2.4.3.3 Allgemeine Synthesevorschrift für die Passivierung der QDots mit einer ZnS-Hülle (B)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Xu et al.*^[195])

Zur Passivierung der synthetisierten CdTe-QDots mit einer ZnS-Hülle, wurden zunächst in einem ausgeheizten Kolben 0,04 mmol (4 Äq.) der frisch synthetisierten CdTe-QDots in 15 mL dest. Wasser vorgelegt und 30 min bei Raumtemperatur im Argonstrom entgast.

Währenddessen wurden in zwei weiteren ausgeheizten Kolben die Zn-Vorstufe und S-Vorstufe vorbereitet. Dazu wurden in einem der Kolben 0,8 mL (0,01 mmol, 1 Äq.) einer 1,25 mmol / L ZnSO₄-Lösung mit 0,06 mmol der entsprechenden Mercaptocarbonsäure versetzt und im Argonstrom entgast. In dem anderen Kolben wurden 0,8 mL (0,01 mmol, 1 Äq.) einer 1,25 mmol / L Na₂S-Lösung 30 min im Argonstrom entgast. Anschließend wurden die Zn-Vorstufe und S-Vorstufe unter starkem Rühren schnell zur CdTe-Lösung gegeben und die Reaktionslösung mind. 2 h bei 65 °C gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde die Reaktionslösung mithilfe eines Eisbads schnell auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Aufreinigung der CdTe/ZnS-QDots erfolgte dann durch Fällern mit Isopropanol bzw. Aceton. Danach wurden die CdTe/ZnS-QDots am Ölpumpenvakuum getrocknet und abschließend in 10 mL dest. Wasser aufgenommen. Die Partikellösungen wurden bei 4 °C unter Lichtausschluss im Kühlschrank gelagert.

6.2.4.3.4 Synthese von TGA-kordinierten CdTe-QDots (∅ = 4 nm)



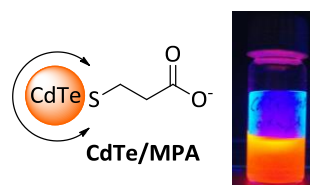
Synthesevorschrift A: 0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) Cd(OAc)₂·2H₂O; 28 µL (0,48 mmol, 4,8 Äq.) Thioglykolsäure (TGA); 1 M NaOH; 20 mL H₂O; 2,5 mL (0,1 mmol, 1 Äq.) NaHTe.

Es wurde eine klare orange Lösung mit einer Konzentration $c = 4,7 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) orangerot fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 4,1 \pm 0,3 \text{ nm}$ (7%)	DLS:	$d_h = 9 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 552 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 3,3 \text{ nm}$)		
Emission:	$\lambda_{\text{max}} = 607 \text{ nm}$		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion)	3178,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); 1647,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); 1568,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); 1428,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 908,4 cm^{-1} .		

6.2.4.3.5 Synthese von MPA-kordinierten CdTe-QDots (∅ = 4 nm)



Synthesevorschrift A: 0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) Cd(OAc)₂·2H₂O; 34 µL (0,48 mmol, 4,8 Äq.) MPA; 1 M NaOH; 20 mL H₂O; 2,5 mL (0,1 mmol, 1 Äq.) NaHTe.

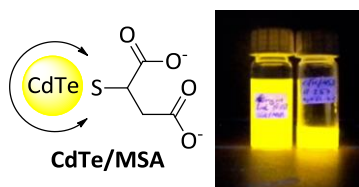
6 Experimenteller Teil

Es wurde eine klare orange Lösung mit einer Konzentration $c = 9,8 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) orange fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 3,8 \pm 0,2 \text{ nm}$ (5%)	DLS:	$d_h = 10 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 549 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 3,2 \text{ nm}$)		
Emission:	$\lambda_{\text{max}} = 564 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,54$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-COO}^-$); $2,86$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.		
ATR-IR (Diamant- Einfachreflexion):	$3441,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{O-H})$); $2925,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1630,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C=O})$); $1563,5 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C=O})$); $1485,3 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\delta(\text{C-H})$); $1423,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{C-H})$); $1047,9 \text{ cm}^{-1}$.		

6.2.4.3.6 Synthese von MSA-kordinierten CdTe-QDots ($\phi = 4 \text{ nm}$)



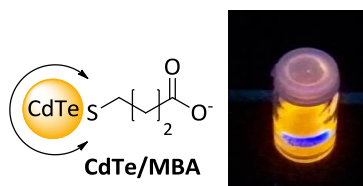
Synthesevorschrift A: $0,057 \text{ g}$ ($0,2 \text{ mmol}$, 2 \AA q.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $0,072 \text{ g}$ ($0,48 \text{ mmol}$, $4,8 \text{ \AA q.}$) Mercaptobernsteinsäure (MSA); 1 M NaOH ; $20 \text{ mL H}_2\text{O}$; $2,5 \text{ mL}$ ($0,1 \text{ mmol}$, 1 \AA q.) NaHTe .

Es wurde eine klare gelbe Lösung mit einer Konzentration $c = 5,3 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 3,3 \pm 0,3 \text{ nm}$ (9%)	DLS:	$d_h = 6 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 493 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 3,1 \text{ nm}$)		
Emission:	—		
ATR-IR (Diamant- Einfachreflexion):	$3442,5 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{O-H})$); $2920,9 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2852,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1634,3 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C=O})$); $1427,0 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\delta(\text{C-H})$); $1259,9 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{C-H})$); $1162,7 \text{ cm}^{-1}$; $1109,0 \text{ cm}^{-1}$; $1063,5 \text{ cm}^{-1}$; $896,7 \text{ cm}^{-1}$.		

6.2.4.3.7 Synthese von MBA-kordinierten CdTe-QDots ($\phi = 3,5 \text{ nm}$)



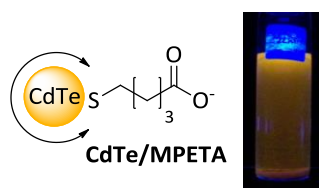
Synthesevorschrift A: $0,057 \text{ g}$ ($0,2 \text{ mmol}$, 2 \AA q.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $0,058 \text{ g}$ ($0,48 \text{ mmol}$, $4,8 \text{ \AA q.}$) Mercaptobutansäure (MBA); 1 M NaOH ; $20 \text{ mL H}_2\text{O}$; $2,5 \text{ mL}$ ($0,1 \text{ mmol}$, 1 \AA q.) NaHTe .

Es wurde eine klare gelbe Lösung mit einer Konzentration $c = 7,6 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelborange fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 3,4, \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 6 \pm 94 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 486 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 1,9 \text{ nm}$)
 Emission: $\lambda_{\text{max}} = 549 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant- 2921,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1547,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); 1393,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$);
 Einfachreflexion): 1259,1 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); 1136,9 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); 1017,3 cm^{-1} ; 995,7 cm^{-1} ;
 797,5 cm^{-1} .

6.2.4.3.8 Synthese von MPETA-kordinierten CdTe-QDots ($\phi = 3,5 \text{ nm}$)



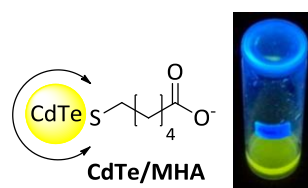
Synthesevorschrift A: 0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,064 g (0,48 mmol, 4,8 Äq.) Mercaptopentansäure (MPETA); 1 M NaOH; 20 mL H_2O ; 2,5 mL (0,1 mmol, 1 Äq.) NaHTe.

Es wurde eine klare gelbe Lösung mit einer Konzentration $c = 6,8 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelborange fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 3,2 \pm 0,3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 485 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 1,9 \text{ nm}$)
 Emission: $\lambda_{\text{max}} = 574 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,21-1,78$ (bm, 6H, CH_2); 2,18 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-COOH}$);
 2,84 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-SH}$) ppm.
 ATR-IR (Diamant- 2925,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1555,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1406,2 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$);
 Einfachreflexion): 1317,3 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1255,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1201,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.4.3.9 Synthese von MHA-kordinierten CdTe-QDots ($\phi = 3 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift A: 0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 66 μL (0,48 mmol, 4,8 Äq.) MHA; 1 M NaOH; 20 mL H_2O ; 2,5 mL (0,1 mmol, 1 Äq.) NaHTe.

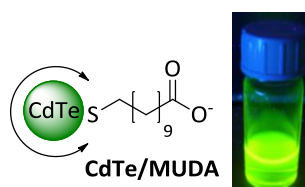
6 Experimenteller Teil

Es wurde eine klare gelbe Lösung mit einer Konzentration $c = 19,0 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte

Charakterisierung:

TEM: $d = 3,1 \pm 0,2 \text{ nm}$ (6%) DLS: $d_h = 31 \pm 8 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 463 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße $d = 2,9 \text{ nm}$)
Emission: $\lambda_{\text{max}} = 569 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,33$ (quin, 2H, CH_2); 1,45 (m, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,69 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,37 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,66 (t, 2H; $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $2923,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1632,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1566,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1414,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1112,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.4.3.10 Synthese von MUDA-kordinierten CdTe-QDots ($\varnothing = 2,5 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift A: 0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,104 g (0,48 mmol, 4,8 Äq.) MUDA; 1 M NaOH; 20 mL H_2O ; 2,5 mL (0,1 mmol, 1 Äq.) NaHTe.

Es wurde eine klare gelbe Lösung mit einer Konzentration $c = 29,2 \mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) grün fluoreszierte

Charakterisierung:

TEM: $d = 2,5 \pm 0,2 \text{ nm}$ (8%) DLS: $d_h = 5 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 434 \text{ nm}$
Emission: $\lambda_{\text{max}} = 550 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,08$ -1,22 (bm, 10H, CH_2); 2,02 (m, 4H, CH_2); 3,59 (q, 4H, CH_2); 4,08 (q, 2H, CH_2)
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $3424,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{O-H})$); $2920,5 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2850,5 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1568,6 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C=O})$); $1443,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{C-H})$); $1384,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $948,6 \text{ cm}^{-1}$; $880,7 \text{ cm}^{-1}$.

6.2.4.3.11 Allgemeine Synthesevorschrift für CdTe-Quantum Dots in der Mikrowelle



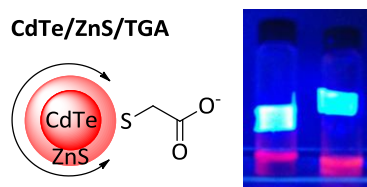
0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und 0,48 mmol der jeweiligen Mercaptocarbonsäure wurden in einem ausgeheizten Kolben in 15 mL dest. Wasser

gelöst, indem 1 M NaOH solange zugegeben wurde bis eine klare Lösung entstand (pH-Wert > 10). Anschließend wurde die Lösung 1 h bei Raumtemperatur im Argonstrom entgast. Als Nächstes wurden 2,5 mL (0,1 mmol, 1 Äq.) der Te-Vorstufe schnell zugegeben und die Reaktionslösung im Argon-Gegenstrom in ein Mikrowellengläschen überführt. Danach wurde die Reaktionslösung 10 min bei 130 °C und 300 W in der Mikrowelle erhitzt und direkt im Anschluss wurde die erhaltene Partikellösung dreimal mit Isopropanol bzw. einem Ethanol/Ethylacetat-Gemisch (1:1) gefällt, zentrifugiert und gewaschen. Die erhaltenen CdTe-QDots wurden am Ölpumpenvakuum getrocknet und abschließend in 10 mL dest. Wasser resuspendiert. Die Lagerung der Partikellösung erfolgte im Kühlschrank bei 4 °C unter Lichtausschluss. Dabei veränderte sich die Partikellösung über Monate hinweg optisch nicht.

Charakterisierung

QDots	TEM (d / nm)	d_{ber} (nm)	DLS (d_h / nm)	UV/Vis (λ_{max} / nm)	Emission
CdTe/TGA	$4,7 \pm 0,3$	3,1	9 ± 2	542	
CdTe/MPA	$3,5 \pm 0,3$	2,6	11 ± 3	512	
CdTe/MSA	$3,9 \pm 0,2$	2,8	7 ± 2	522	
CdTe/MBA	$3,4 \pm 0,3$	2,1	6 ± 180	494	
CdTe/MPTEA	$3,2 \pm 0,3$	1,7	15 ± 130	481	565
CdTe/MHA	$3,2 \pm 0,2$	-	10 ± 116	470	506
CdTe/MUDA	$2,5 \pm 0,2$	-	10 ± 3	431	

6.2.4.3.12 Synthese TGA-koord. CdTe/ZnS-QDots ($\phi = 5$ nm)



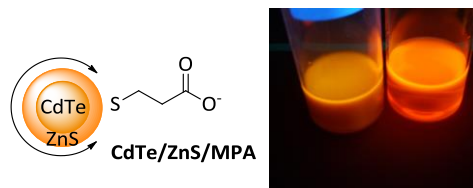
Synthesevorschrift B: 0,048 g (0,2 mmol, 4 Äq.) CdTe/TGA; 6 μ L (0,075 mmol, 1,5 Äq.) TGA; 1 M NaOH; 15 mL H₂O; 40 mL (1,25 mmol / L; 0,05 mmol; 1 Äq.) ZnSO₄-Lösung; 40 mL (1,25 mmol / L; 0,05 mmol; 1 Äq.) Na₂S-Lösung.

Es wurde eine klare orange Lösung mit einer Konzentration erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366$ nm) rot fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 5,0 \pm 0,2$ nm
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 565$ nm

6.2.4.3.13 Synthese MPA-koord. CdTe/ZnS-QDots ($\varnothing = 4 \text{ nm}$)



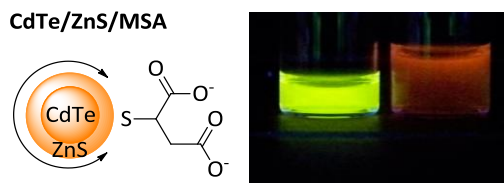
Synthesevorschrift B: 2 mL (0,04 mmol, 4 Äq.) CdTe/MPA; 2 μL (0,02 mmol, 1,5 Äq.) MPA; 1 M NaOH; 15 mL H_2O ; 8 mL (1,25 mmol / L; 0,01 mmol; 1 Äq.) ZnSO_4 -Lösung; 8 mL (1,25 mmol / L; 0,01 mmol; 1 Äq.) Na_2S -Lösung.

Es wurde eine klare orange Lösung mit einer Konzentration erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) orange fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 3,8 \pm 0,3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 551 \text{ nm}$

6.2.4.3.14 Synthese MSA-koord. CdTe/ZnS-QDots



Synthesevorschrift B: 0,011 g (0,06 mmol, 4 Äq.) CdTe/MSA; 0,004 g (0,023 mmol, 1,5 Äq.) MSA; 1 M NaOH; 15 mL H_2O ; 12 mL (1,25 mmol / L; 0,015 mmol; 1 Äq.) ZnSO_4 -Lösung; 12 mL (1,25 mmol / L; 0,015 mmol; 1 Äq.) Na_2S -Lösung.

Es wurde eine klare gelbe Lösung erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) orange fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 3,6 \pm 0,4 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 515 \text{ nm}$

6.2.4.3.15 Synthese MHA koord. CdTe/ZnS-QDots ($\varnothing = 3,5 \text{ nm}$)



6 Experimenteller Teil

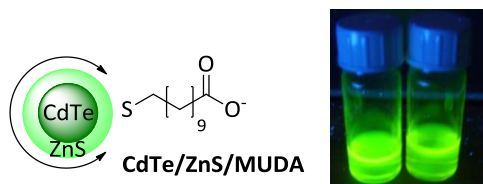
Synthesevorschrift B: 0,034 g (0,14 mmol, 4 Äq.) CdTe/MHA; 20 μ L (0,21 mmol) MHA; 1 M NaOH; 15 mL H₂O; 2,8 mL (1,25 mmol / L; 0,035 mmol; 1 Äq.) ZnSO₄-Lösung; 2,8 mL (1,25 mmol / L; 0,035 mmol; 1 Äq.) Na₂S-Lösung .

Es wurde eine klare gelbe Lösung erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366$ nm) dunkelgelb fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 3,5 \pm 0,2$ nm $d_h = 30 \pm 6$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 483$ nm

6.2.4.3.16 Synthese MUDA-koord. CdTe/ZnS-QDots



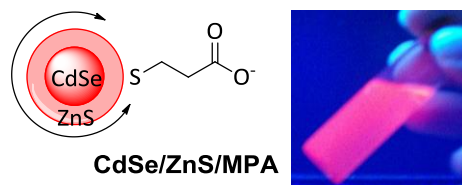
Synthesevorschrift B: 0,020 g (0,08 mmol, 4 Äq.) CdTe/MUDA; 0,007 g (0,03 mmol, 1,5 Äq.) MUDA; 1 M NaOH; 15 mL H₂O; 16 mL (1,25 mmol / L; 0,02 mmol; 1 Äq.) ZnSO₄-Lösung; 16 mL (1,25 mmol / L; 0,02 mmol; 1 Äq.) Na₂S-Lösung .

Es wurde eine klare gelbe Lösung erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366$ nm) grün fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 2,6 \pm 0,2$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 431$ nm

6.2.4.3.17 Synthese von MPA-koordinierten CdSe-Qdots



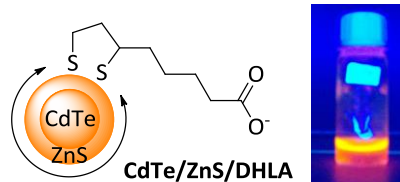
Die Synthese der CdSe/ZnS/MPA-QDots erfolgte analog zur beschriebenen Durchführung für CdTe-QDots. Zunächst wurden nach der konventionellen Methode MPA-koordinierte CdSe-QDots hergestellt, indem 0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) Cd(OAc)₂·2H₂O mit 34 μ L (0,48 mmol, 4,8 Äq.) MPA und 2,5 mL (0,1 mmol, 1 Äq.) NaHSe 5 h unter Rückfluss erhitzt wurden. Nach der Aufarbeitung durch Fällen mit abs. Isopropanol wurden die QDots in 10 mL Millipore-Wasser aufgenommen und anschließend in einen zuvor ausgeheizten Kolben überführt. Zur Passivierung mit einer ZnS-Hülle, wurde die Zn-Vorstufe [20 mL

(0,025 mmol, 1 Äq.) einer 1,25 mmol / L. ZnSO_4 -Lösung versetzt mit 0,06 mmol MPA] und die S-Vorstufe [20 mL (0,025 mmol, 1 Äq.) einer 1,25 mmol / L Na_2S -Lösung] unter starkem Rühren schnell zur CdTe-Lösung hinzugegeben und die Reaktionslösung mind. 2 h bei 65 °C unter Schutzgasatmosphäre gerührt. Die Aufreinigung der CdTe/ZnS-QDots erfolgte dann durch Fällen mit Aceton. Danach wurden die CdTe/ZnS-QDots am Ölpumpenvakuum getrocknet und abschließend in 10 mL dest. Wasser aufgenommen. Es wurde eine orange Lösung erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) rot fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 5,2 \pm 0,6 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 36 \pm 8 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 593 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße: $d = 4,2 \text{ nm}$)

6.2.4.3.18 Synthese Dihydroliponsäure-koordinierter CdTe/ZnS-Qdots ($\phi = 3,5 \text{ nm}$)



Die zweistufige Synthese der Dihydroliponsäure (DHLA)-koordinierten CdTe/ZnS-QDots ist schematisch in Abb. 49 gezeigt. Im ersten Schritt wurden zunächst durch den mikrowellenunterstützten Syntheseweg DHLA-koordinierte QDots hergestellt, indem 0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) $\text{Cd}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und 0,100 g (0,48 mmol, 4,8 Äq.) DHLA in 15 mL dest. Wasser gelöst wurden. Dazu wurde solange 1 M NaOH zugegeben bis eine klare Lösung entstand (pH-Wert > 10). Anschließend wurde die Lösung 1 h bei Raumtemperatur im Argonstrom entgast. Als Nächstes wurden 2,5 mL (0,1 mmol, 1 Äq.) der Te-Vorstufe schnell zugegeben und die Reaktionslösung 10 min bei 130 °C und 300 W in der Mikrowelle erhitzt. Direkt im Anschluss wurde die erhaltene Partikellösung dreimal mit einem Ethanol/Ethylacetat-Gemisch (1:1) gefällt, zentrifugiert (3500 rpm, 10 min) und gewaschen. Die erhaltenen CdTe-QDots wurden am Ölpumpenvakuum getrocknet und abschließend in 10 mL dest. Wasser resuspendiert. Im zweiten Schritt wurde zur Passivierung mit einer ZnS-Hülle, 0,04 mmol (4 Äq.) der frisch synthetisierten CdTe-QDots in 15 mL dest. Wasser vorgelegt und 30 min bei Raumtemperatur im Argonstrom entgast. Währenddessen wurden die Zn-Vorstufe [8 mL (0,01 mmol, 1 Äq.) einer 1,25 mmol / L ZnSO_4 -Lösung mit 0,01 g (0,06 mmol) DHLA versetzt] und S-Vorstufe [8 mL (0,01 mmol, 1 Äq.) einer 1,25 mmol / L Na_2S -Lösung] vorbereitet. Anschließend wurde die Zn-Vorstufe und die S-Vorstufe unter starkem Rühren schnell zur CdTe-Lösung gegeben und die Reaktionslösung 2,5 h bei 65 °C gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde die Reaktionslösung mithilfe eines Eisbads schnell auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Aufreinigung der CdTe/ZnS-QDots erfolgte dann durch Fällen mit Isopropanol. Danach wurden die CdTe/ZnS-QDots am Ölpumpenvakuum getrocknet und abschließend in 10 mL

dest. Wasser aufgenommen. Es wurde eine orange Lösung erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) orange fluoreszierte.

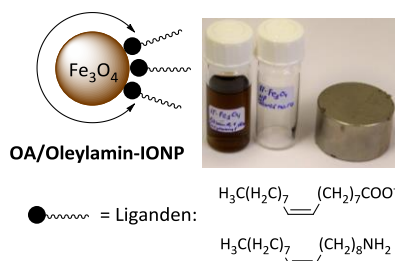
Charakterisierung:

TEM: $d = 3,5 \pm 0,3 \text{ nm}$ (9%) DLS: $d_h = 7 \pm 48 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 568 \text{ nm}$ (berechnete Partikelgröße: $d = 3,4 \text{ nm}$)

6.2.5 Synthese magnetischer Eisenoxidnanopartikel

6.2.5.1 Allgemeine Synthesevorschrift für die Darstellung von Oleylamin/Ölsäure-koordinierter Eisenoxidnanopartikel

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von Xie *et al.* ^[178])



0,2 mmol (1 Äq.) $\text{Fe}(\text{acac})_3$ wurden mit 10 mmol (50 Äq.) 1,2-Hexadecandiol, 6 mmol (30 Äq.) Ölsäure und 6 mmol (30 Äq.) Oleylamin in 20 mL des angegebenen Lösungsmittels gemischt und unter Schutzgasatmosphäre stufenweise erhitzt (2 h auf 200 °C, 1 h 300 °C). Anschließend wurde die Reaktionsmischung schnell auf Raumtemperatur abgekühlt und 40 mL Ethanol zugegeben. Die Eisenoxidnanopartikel wurden durch Zentrifugation (30 Min., 3500 rpm) von der Lösung getrennt und der erhaltene schwarze Rückstand in 10 mL Hexan, 0,05 mL Oleylamin und 0,05 mL Ölsäure gelöst. Nicht dispergierte Rückstände wurde durch Zentrifugation entfernt, bevor die Eisenoxidnanopartikel erneut mit Ethanol gefällt wurden. Der schwarze Rückstand wurde am Ölpumpenvakuum getrocknet. Zur Aufbewahrung wurden die Eisenoxidnanopartikel in Chloroform (Stammlösung 5 mg / mL) redispergiert und im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt.

6.2.5.2 Synthese Oleylamin/Ölsäure-koordinierter Eisenoxidnanopartikel ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)

0,706 g (0,2 mmol, 1 Äq.) $\text{Fe}(\text{acac})_3$ wurden mit 2,584 g (10 mmol, 50 Äq.) 1,2-Hexadecandiol, 1,9 mL (6 mmol, Äq.) Ölsäure und 1,9 mL Oleylamin in 20 mL Diphenylether gemischt.

Es wurde eine dunkelbraune, magnetische Kolloidlösung erhalten.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,3 \pm 0,6$ nm (14%) DLS: $d_h = 7 \pm 1$ nm
ATR-IR(Diamant-
Einfachreflexion): $3004,6$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C}=\text{C}-\text{H})$); $2919,9$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); $2851,2$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$);
 $1641,2$ cm^{-1} ; $1559,8$ cm^{-1} ; $1463,9$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$); $1376,8$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{O}-\text{H})$);
 $1258,7$ cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}-\text{O})$); $720,1$ cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).

6.2.5.3 Synthese Ölsäure/Oleylamin-koordinierter Eisenoxidnanopartikel ($\varnothing = 8$ nm)

0,708 g (0,2 mmol, 1 Äq.) $\text{Fe}(\text{acac})_3$ wurden mit 2,564 g (10 mmol, 50 Äq.) 1,2-Hexadecandiol, 1,9 mL (6 mmol, 30 Äq.) und 2 mL (6 mmol, 30 Äq.) Oleylamin in 40 mL Octadecen gemischt und unter Schutzgasatmosphäre stufenweise erhitzt (2 h auf 230 °C, 45 Min. auf 310 °C).

Es wurde eine dunkelbraune, magnetische Kolloidlösung erhalten.

Charakterisierung:

TEM: $d = 8,4 \pm 0,3$ nm (4%) DLS: $d_h = 11 \pm 2$ nm
ATR-IR(Diamant-
Einfachreflexion): $3328,6$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{O}-\text{H})$); $3003,3$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C}=\text{C}-\text{H})$); $2953,1$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C}-\text{H})$);
 $2916,4$ cm^{-1} (s, $\nu_{\text{sym}}(\text{C}-\text{H})$); $2847,9$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); $1718,1$ cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}=\text{O})$);
 $1522,9$ cm^{-1} (s); $1485,7$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$); $1378,4$ cm^{-1} (s, $\delta(\text{O}-\text{H})$); $1258,7$ cm^{-1}
(m, $\nu(\text{C}-\text{O})$); $1089,9$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C}-\text{H})$); $1014,2$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$).

6.2.5.4 Synthese Ölsäure/Oleylamin-koordinierter Eisenoxidnanopartikel ($\varnothing = 10$ nm)

0,706 g (0,2 mmol, 1 Äq.) $\text{Fe}(\text{acac})_3$ wurden mit 2,590 g (12,8 mmol, 64 Äq.) 1,2-Dodecandiol, 1,9 mL (6 mmol, 30 Äq.) und 1,9 mL (6 mmol, 30 Äq.) Oleylamin in 20 mL Diphenylether gemischt und unter Schutzgasatmosphäre stufenweise erhitzt (2 h auf 200 °C, 1 h 300 °C).

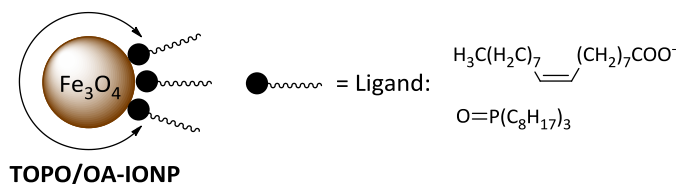
Es wurde eine dunkelbraune, magnetische Kolloidlösung erhalten.

Charakterisierung:

TEM: $d = 10,3 \pm 0,5$ nm (5%) DLS: $d_h = 13 \pm 3$ nm
ATR-IR(Diamant-
Einfachreflexion): $2919,9$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); $2851,2$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); $1641,2$ cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}=\text{O})$);
 $1559,8$ cm^{-1} (m); $1463,9$ cm^{-1} (s, $\delta(\text{C}-\text{H})$); $1376,8$ cm^{-1} (s, $\delta(\text{C}-\text{H})$);
 $720,1$ cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).

6.2.5.5 Synthese OA/TOPO-kordinierter Eisenoxidnanopartikel ($\varnothing = 13 \text{ nm}$)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Xu et al.* [208])



Zur Darstellung Ölsäure/TOPO-kordinierter Eisenoxidnanopartikeln mit einem Partikeldurchmesser $> 10 \text{ nm}$ wurde zunächst ein Eisenoleat-Komplex hergestellt. Dazu wurden $0,65 \text{ g}$ (4 mmol , 1 Äq.) FeCl_3 mit $3,65 \text{ g}$ (12 mmol , 3 Äq.) Natriumoleat in 14 mL Hexan, 8 mL Ethanol, 6 mL dest. Wasser gemischt und unter Schutzgasatmosphäre 4 h bei $65 \text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Nachdem die organische Phase von der wässrigen Phase getrennt wurde, wurde die organische Phase dreimal mit 20 mL dest. Wasser gewaschen und anschließend der Rückstand *in vacuo* getrocknet. In einem anschließenden Schritt wurden $0,4 \text{ g}$ ($0,44 \text{ mmol}$, 4 Äq.) des Eisenoleat-Komplexes mit $35 \mu\text{L}$ ($0,031 \text{ g}$, $0,11 \text{ mmol}$, Äq.) und $0,031 \text{ g}$ ($0,08 \text{ mmol}$, 1 Äq.) in 10 mL Dioctylether gelöst und 1 h bei $100 \text{ }^\circ\text{C}$ gerührt, um mögliche Lösungsmittelrückstände aus dem ersten Schritt zu entfernen. Danach wurde die Reaktionsmischung bei $310\text{-}320 \text{ }^\circ\text{C}$ unter starkem Rühren $2,5 \text{ h}$ erhitzt. Bei einer Temperatur von $280 \text{ }^\circ\text{C}$ konnte ein Farbwechsel der Reaktionsmischung zu dunkelbraun beobachtet werden. Nach $2,5 \text{ h}$ wurde die Reaktionsmischung schnell auf Raumtemperatur abgekühlt und die Eisenoxidnanopartikel durch Zugabe von Aceton aus der Lösung gefällt. Durch Zentrifugation und dreimaligem Waschen mit Aceton wurde ein schwarzer Feststoff erhalten, der am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde. Zur Aufbewahrung wurden die Eisenoxidnanopartikel in Chloroform (Stammlösung 5 mg / mL) resuspendiert und bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ im Kühlschrank aufbewahrt.

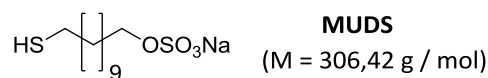
Charakterisierung:

TEM:	$d = 13,3 \pm 0,4 \text{ nm}$ (3%)	DLS:	$d_h = 15 \pm 2 \text{ nm}$
ATR-IR(Diamant-Einfachreflexion):	$3445,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{O-H})$); $3003,8 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\nu(\text{C=C-H})$); $2921,6 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\nu(\text{C-H})$); $2851,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1597,7 \text{ cm}^{-1}$ (m); $1529,0 \text{ cm}^{-1}$ (m); $1412,6 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1257,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1174,9 \text{ cm}^{-1}$ (w, (m, $\nu(\text{C-O})$)); $1094,2 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\delta(\text{C-H})$); $1049,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1024,6 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$).		

6.2.6 Ligandenaustauschreaktionen zur Immobilisierung verschiedener Liganden auf die Nanopartikeloberfläche

6.2.6.1 Ligandenaustauschreaktionen mit MUDS

6.2.6.1.1 Synthese von Natrium-11-Mercaptoundecanylsulfat (MUDS)

(nach einer Synthesevorschrift von M. Roskamp^[165])

Die Synthese von Natrium-11-Mercaptoundecanylsulfat erfolgte in zwei Stufen. In der ersten Stufe wurde zunächst Natrium-11-Bromoundecanylsulfat aus Bromoundecanol synthetisiert. Dazu wurden 1,256 g (5 mmol, 1 Äq.) Bromoundecanol in 30 mL absolutem DMF gelöst und unter starkem Rühren tropfenweise mit 1,150 g (7,5 mmol, 1,5 Äq.) SO₃-DMF Komplex gelöst in 10 mL abs. DMF versetzt. Anschließend wurde die Lösung 2 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt wurde. Danach wurde der Rückstand in 15 mL Natronlauge (1 M) gelöst. Nach wenigen Minuten bildete sich ein farbloser Niederschlag. Die Suspension wurde über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. Am nächsten Tag wurde der Niederschlag abfiltriert und am Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 1,307 g (3,7 mmol, 74%) eines farblosen Feststoffes erhalten, der in der nächsten Stufe mit Kaliumthioacetat in DMF zum 11-Mercaptoundecanylsulfat umgesetzt wurde.

Dazu wurden 0,700 g (2 mmol, 1 Äq.) 11-Bromoundecanylsulfat in 80 mL wasserfreiem DMF gelöst und mit einem Eisbad auf 0 °C gekühlt, bevor eine Lösung von Kaliumthioacetat (0,274 g, 2,4 mmol, 1,2 Äq.) in 25 mL wasserfreiem DMF langsam zugetropft wurde. Die Reaktionsmischung wurde im Anschluss 8 h bei Raumtemperatur gerührt. Als Nächstes wurden 50 mL einer 0,1 M Natronlauge zugegeben und dreimal mit je 100 mL Ethylacetat extrahiert. Das Lösungsmittel wurde zunächst am Rotationsverdampfer, dann im Ölpumpenvakuum entfernt, bevor der Rückstand erneut in 100 mL einer 0,1 M Natronlauge gelöst und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt wurde. Dann wurde erneut mit Ethylacetat (dreimal 100 mL) extrahiert und das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt. Es wurden 0,264 g (0,86 mmol, 43%) eines farblosen Feststoffes erhalten.

Charakterisierung 11-Bromoundecanylsulfat:

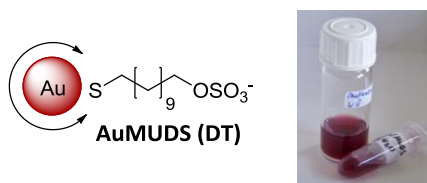
NMR: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1,23-1,43 (m, 14H, CH₂); 1,56 (quin, 2H, CH₂-CH₂-OSO₃Na); 1,74 (quin, 2H, CH₂-CH₂-Br); 3,51 (t, 2H, CH₂-Br); 3,69 (t, 2H, CH₂-OSO₃Na) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 25,49 (CH₂-CH₂-CH₂-OSO₃Na), 27,48 (CH₂), 28,06 (CH₂), 28,73 (CH₂), 28,84 (CH₂), 28,86 (CH₂), 28,94 (CH₂), 29,03 (CH₂), 32,21 (CH₂-CH₂-Br); 35,21 (CH₂-Br), 65,42 (CH₂-OSO₃Na) ppm.

IR (KBr-Pressling): 3427,0 cm⁻¹ (s, ν(O-H)); 2917,6 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 2850,2 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 1625,9 cm⁻¹ (m, ν(C-O)); 1495,8 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1470,2 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1355,9 cm⁻¹ (w, δ(C-H)); 1276,6 cm⁻¹ (m, δ(C-O)); 1250,6 cm⁻¹ (s, δ(C-O)); 1218,5 cm⁻¹ (m, δ(C-O)); 1114,4 cm⁻¹; 1062,7 cm⁻¹; 722,7 cm⁻¹ (CH₂-rocking).

Charakterisierung Natrium-11-Mercaptoundecanylsulfat:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,21\text{-}1,40$ (m, 14H, CH_2); 1,54-1,70 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$); 2,37 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-SH}$); 3,59 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 25,49$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$), 27,49 (CH_2), 28,07 (CH_2), 28,74 (CH_2), 28,85 (CH_2), 28,95 (CH_2), 29,04 (2x CH_2), 32,22 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$); 35,21 ($\text{CH}_2\text{-SH}$), 65,39 ($\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$) ppm.
IR (KBr-Pressling):	2915,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2850,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1642,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1470,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1437,3 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1397,6 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1271,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-O})$); 1258,4 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-O})$); 1216,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-O})$); 1114,8 cm^{-1} ; 1026,8 cm^{-1} ; 719,4 cm^{-1} (CH_2 -rocking).

6.2.6.1.2 Darstellung von Mercaptoundecanylsulfat-koordinierter Goldkolloide durch Ligandenaustauschreaktion mit AuDT (AuMUDS(DT)); $\varnothing = 7$ nm)



0,030 g (0,1 mmol, $3 \cdot 10^5$ Äq.) MUDS wurden in 5 mL Millipore-Wasser gelöst und 0,05 mL (0,14 mmol, $4,2 \cdot 10^5$ Äq.) TMAH zugegeben. Im Anschluss wurden unter starkem Rühren 1 mL AuDT (3 nmol, 1 Äq.; $d = 7$ nm) zugegeben und das Zwei-Phasensystem 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei fand ein vollständiger Phasentransfer der Goldnanopartikel von der organischen in die wässrige Phase statt, der durch einen Farbwechsel der wässrigen Phase von farblos in dunkelrot sichtbar wurde. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase zur Aufreinigung gegen Millipore-Wasser dialysiert (MWCO: 3500-6000 Da, dreimal je 400 mL Millipore-Wasser, jeweils 3 h). Es wurde eine klare dunkelrote Lösung ($c = 0,6 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,8 \pm 0,3$ nm	DLS:	$d_h = 11 \pm 2$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 526$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,18\text{-}1,24$ (m, 12H, CH_2), 1,54-1,70 (m, 6H, CH_2); 2,48 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-COSO}_3^-$); 3,85 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.		

6.2.6.1.3 Darstellung von Mercaptoundecanylsulfat-koordinierten Goldkolloiden durch Ligandenaustausch mit AuDMAP (AuMUDS(DMAP)); $\varnothing = 5$ nm)

Zu einer wässrigen Lösung AuDMAP (4 mL einer $0,48 \mu\text{mol} / \text{L}$ Lösung, 1,92 nmol Nanopartikel, 1 Äq.; $d = 5$ nm) wurde unter starkem Rühren eine Lösung von MUDS (0,030 g, 0,1 mmol, $5,2 \cdot 10^4$ Äq.) in 3 mL dest. Wasser gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde gegen Millipore-Wasser dialysiert (MWCO:

3500-6000 Da, dreimal je 300 mL Millipore-H₂O, jeweils 3 h). Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen ca. 8 mL. Abschließend wurde die Kolloidlösung am Ölpumpenvakuum auf 5 mL eingengt. Es wurde eine klare, rote Lösung ($c = 0,38 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Tage optisch nicht veränderte.

Charakterisierung:

TEM:	d = $5,1 \pm 0,4$ nm	DLS:	d _h = 7 ± 1 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 521$ nm		
NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, D ₂ O): $\delta = 1,21-1,40$ (m, 12H, CH ₂), 1,56 (m, 6H, CH ₂); 2,43 (t, 2H, CH ₂ -COSO ₃ ⁻); 3,83 (t, 2H, CH ₂ -S) ppm.		

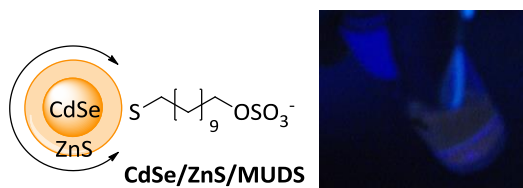
6.2.6.1.4 Darstellung von Mercaptoundecanysulfat-koordinierten Goldkolloiden durch Ligandenaustausch mit AuCitrat (AuMUDS(Citrat); $\varnothing = 14$ nm)

Zu 30 mL ($1,72 \text{ nmol} / \text{L}$, 1 Äq.; d = 14 nm) AuCitrat wurde eine Lösung von MUDS (0,028 g, 0,09 mmol, $5,2 \cdot 10^4$ Äq.) in 2 mL dest. Wasser gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel auf 15 mL reduziert und die Kolloidlösung zur Aufreinigung dialysiert (MWCO: 3500-6000 Da, dreimal je 800 mL Millipore-H₂O, jeweils 3 h). Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen 17 mL. Es wurde eine klare rote Kolloidlösung ($c = 3 \text{ nmol} / \text{L}$) erhalten, die bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt wurde und mehrere Wochen sich optisch nicht veränderte.

Charakterisierung:

TEM:	-	DLS:	d _h = 19 ± 4 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 529$ nm		

6.2.6.1.5 Darstellung von MUDS koordinierten CdSe/ZnS-Kern-Schale-Partikel durch Ligandenaustausch (CdSe/ZnS/MUDS; $\varnothing = 6$ nm)



In einen ausgeheizten Kolben wurden unter Schutzgasatmosphäre 0,018 g (0,1 mmol, 1 Äq.) MUDS in 2 mL entgastem Wasser vorgelegt und unter starkem Rühren mit einer Lösung aus 0,015 g (0,1 mmol, 1 Äq.) TOPO/HDA koordinierten CdSe/ZnS-Kern/Schale-Partikel in 1 mL absolutem Chloroform versetzt. Die Lösung wurde 2,5 h bei Raumtemperatur gerührt, bis der Phasentransfer vollständig verlaufen war. Die wässrige Phase wurde von der organischen Phase abgetrennt und zur Aufreinigung sechsmal mit Ethylacetat gefällt, zentrifugiert und erneut in 5 mL entgastem Wasser aufgenommen. Es

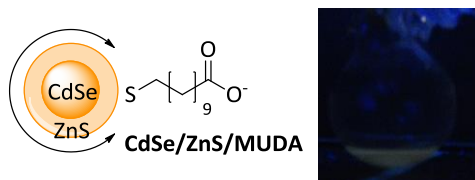
6.2.6.2.2 Darstellung von MUDA-kordinierten Goldkolloiden durch Ligandenaustauschreaktion mit AuCitrat ($\varnothing = 25$ nm)

Zur Darstellung von 25 nm großen MUDA-kordinierten Goldkolloiden wurde eine wässrige Lösung AuCitrat (30 mL einer 0,25 nM Kolloidlösung, 0,0075 nmol Nanopartikel) vorgelegt und unter starkem Rühren 0,082 g (0,375 mmol, $5 \cdot 10^7$ Äq.) MUDA und 0,20 mL (2,25 mmol, $30 \cdot 10^7$ Äq.) TMAH zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Kolloidlösung zur Aufreinigung im nächsten Schritt gegen Wasser dialysiert (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 800 mL H₂O, jeweils 3 h). Nach der Dialyse betrug das Volumen der Kolloidlösung 32 mL. Dieses wurde am Ölpumpenvakuum auf 15 mL eingengt. Es wurde eine klare violette Lösung mit einer Konzentration von $c = 0,5$ nM an Nanopartikeln erhalten. Die Kolloidlösung wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung der 25 nm großen Partikel:

TEM: $d = 25,3 \pm 1,2$ nm
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 536$ nm
 NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1,20$ - $1,40$ (m, 12H, CH₂); $1,54$ - $1,70$ (m, 4H, CH₂-CH₂-COO⁻, CH₂-CH₂-S); $2,37$ (t, 2H, CH₂-COO⁻); $2,55$ (t, 2H, CH₂-S) ppm.

6.2.6.2.3 Synthese von MUDA koordinierten CdSe/ZnS-Kern-Schale-Partikel durch Ligandenaustausch(CdSe/ZnS/MUDA)

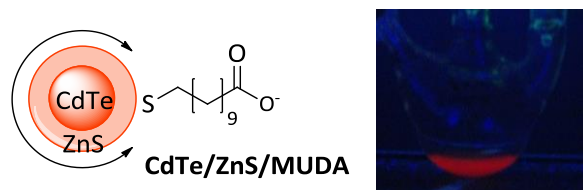


0,035 g (0,2 mmol, 1 Äq.) TOPO/HDA-kordinierte CdSe/ZnS-Kern-Schale Partikel wurden in 2 mL absolutem Chloroform gelöst und mit 0,100 g (0,5 mmol, 2,5 Äq.) MUDA in 1 mL entgastem Millipore-Wasser und wenig TMAH (pH > 10) versetzt. Die Lösung wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Phasentransfer wurde die wässrige Phase von der organischen Phase abgetrennt. Die Partikel wurden mit abs. Methanol gefällt und der Rückstand zweimal mit abs. Methanol gewaschen. Abschließend wurden die Partikel in 5 mL entgastem Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare orange Lösung mit einer Konzentration von $c = 0,01$ mmol/L erhalten, die unter dem UV-Licht ($\lambda = 366$ nm) leicht orange fluoresziert.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,7 \pm 0,3$ nm
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 560$ nm
 NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1,21$ - $1,60$ (m, 16H, CH₂, CH₂-CH₂-COO⁻, CH₂-CH₂-S); $2,05$ (t, 2H, CH₂-COO⁻); $2,64$ (t, 2H, CH₂-S) ppm.

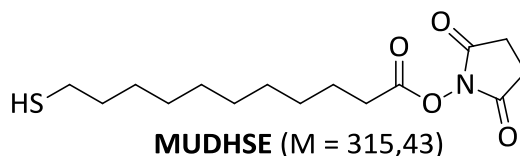
6.2.6.2.4 Synthese von MUDA-kordinierten CdTe/ZnS Quantum Dots durch Ligandenaustauschreaktion (CdTe/ZnS/MUDA)



0,024 g (0,10 mmol, 1 Äq.) TOPO koordinierte CdTe/ZnS Quantum Dots wurden in 3 mL abs. Chloroform gelöst und mit 0,03 g (0,14 mmol, 1,4 Äq.) MUDA versetzt. Die Reaktionslösung wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 3 mL Milliporewasser zugegeben und mit TMAH auf einen pH-Wert > 10 eingestellt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht gerührt, um einen vollständigen Phasentransfer zu ermöglichen. Als Nächstes wurde die wässrige Phase von der organischen Phase getrennt und zur Aufreinigung mit einer Mischung aus Ethanol:Ethylacetat (1:1) gefällt, zentrifugiert und dreimal gewaschen. Abschließend wurden die Partikel in 3mL Milliporewasser aufgenommen. Es wurde eine orangegelbe Lösung mit einer Konzentration von $c = 40 \mu\text{M}$ an Nanopartikeln erhalten, die unter dem UV-Licht bei 366 nm Wellenlänge orange fluoreszierte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,8 \pm 0,9 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 45 \pm 11 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 582 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,61\text{-}1,98$ (m, 16H, CH_2 , $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); $2,37$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-COO}^-$); $2,42$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.

6.2.6.3 Ligandenaustauschreaktionen mit MUDHSE6.2.6.3.1 Synthese 11-Mercaptoundecansäure-*N*-hydroxysuccinimidester (MUDHSE)

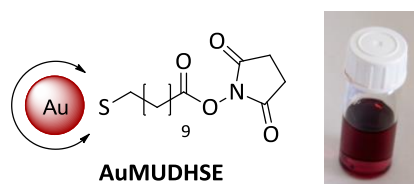
0,501 g (4,4 mmol, 1 Äq.) *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) wurden in 250 mL Dichlormethan gelöst. Als Nächstes wurden 0,952 g (4,4 mmol, 1 Äq.) 11-Mercaptoundecansäure in 5 mL Dichlormethan gelöst und zu der klaren NHS-Lösung gegeben. Dann wurde eine Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) (0,988 g, 4,8 mmol, 1,1 Äq.) in 25 mL Dichlormethan langsam unter starkem Rühren mit Hilfe eines Tropftrichters zugetropft. Nach 20 Min. wurde die Reaktionsmischung langsam trüb. Die Reaktionsmischung wurde für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor der farblose Niederschlag durch Filtration abgetrennt wurde. Das Lösungsmittel des Überstands wurde anschließend am

Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in wenig DMF aufgenommen. Der sich dabei nicht lösende Rückstand wurde durch Filtration abgetrennt und abschließend wurde das DMF am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurden 1,24 g (3,94 mmol, 89%) eines farblosen Feststoffs erhalten, der noch Reste von Dicyclohexylharnstoff enthielt. Um diese abzutrennen, wurde das Rohprodukt in Aceton gelöst und der sich nicht lösende Rückstand durch Filtration abgetrennt. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der erhaltene farblose Feststoff erneut am Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 0,865 g (2,75 mmol, 62%) eines farblosen Feststoffes erhalten.

Charakterisierung:

NMR:
 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,26-1,35 (m, 12H, CH_2); 1,49-1,64 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$); 2,23 (m, 1H, **SH**); 2,46 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,66 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-SH}$); 2,81 (s, 4H, CH_2) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ = 23,72 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 24,25 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 27,71 (CH_2), 27,95 (CH_2), 28,43 (CH_2), 28,73 (CH_2), 28,81 (CH_2), 30,15 (CH_2), 30,74 (CH_2), 33,36 ($\text{CH}_2\text{-SH}$), 35,75 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 162,27 (**CO**), 168,97 (**CO**), 170,23 (**CO**) ppm.
IR (KBr-Pressling): 2917,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2849,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1812,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); 1783,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); 1727,5 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); 1651,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1525,4 cm^{-1} (w, $\nu(\text{O=C-N})$); 1371,6 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1309,6 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1201,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1070,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.6.3.2 Synthese von MUDHSE-koordinierten Goldnanopartikeln (AuMUDHSE)



Allgemeine Synthesevorschrift:

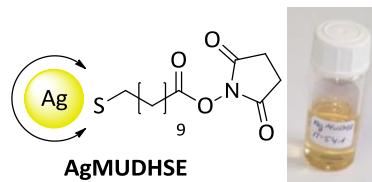
0,191 g (0,31 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) MUDHSE wurden in 40 mL abs. DMF gelöst. Dazu wurde unter starkem Rühren eine Lösung AuDT (1 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) in Chloroform getropft. Nachdem die Reaktionslösung 10 Min. gerührt wurde, wurde die schwarze Lösung am Ölpumpenvakuum auf 30 mL eingengt und weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei wurde die Lösung nach 4 h langsam heller. Als Nächstes wurde die rote Partikellösung gegen DMF dialysiert (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 600 mL DMF, jeweils 3 h). Es wurde eine klare rote Lösung mit einer Konzentration von 0,2 μM erhalten, die in abs. DMF überführt und im Kühlschrank aufbewahrt wurde. Die Lösung blieb 2-4 Tage optisch stabil.

Charakterisierung ($\varnothing = 4$ nm):

TEM:	$d = 3,9 \pm 0,4$ nm-	DLS:	$d_h = 8 \pm 2$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 520$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,25-1,41$ (m, 12H, CH_2); 1,52 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,61 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,22 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-COO}$); 2,65 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,79 (s, 4H, CH_2) ppm.		
ATR-IR (Diamant Einfachreflexion):	2922,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2851,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1738,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1726,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1518,4 cm^{-1} (w, $\nu(\text{CON})$); 1441,8 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1406,3 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1201,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C O})$); 721,0 cm^{-1} (w, $\text{CH}_2\text{-rocking}$).		

Charakterisierung ($\varnothing = 7$ nm):

TEM:	$d = 6,8 \pm 0,3$ nm-	DLS:	$d_h = 11 \pm 2$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 524$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,19-1,72$ (m, 16H, CH_2 , $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,19 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,58 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,67 (s, 4H, CH_2) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, , DMSO- d_6): $\delta = 23,13$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 25,68 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 26,16 (CH_2), 26,46 (CH_2), 26,53 (CH_2), 27,88 (CH_2), 28,07 (CH_2), 28,45 (CH_2), 29,40 (CH_2), 31,09 (2x CH_2), 33,47 ($\text{CH}_2\text{-SH}$), 35,95 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 159,99 (CO), 167,94 (CO) ppm.		
ATR-IR (Diamant Einfachreflexion):	2916,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2848,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1726,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1651,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1572,1 cm^{-1} (w, $\nu(\text{CON})$); 1463,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1422,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1198,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1068,1 cm^{-1} ; 721,4 cm^{-1} (w, $\text{CH}_2\text{-rocking}$).		

6.2.6.3.3 Synthese von MUDHSE-koord. Silbernanopartikeln (AgMUDHSE, $\varnothing = 5$ nm)

Analog der Synthese von AuMUDHSE wurden 4 mL AgDT (1,57 $\mu\text{mol} / \text{L}$, 1 Äq. in Hexan, $d = 5$ nm) zu einer unter Schutzgasatmosphäre vorgelegten MUDHSE-Lösung (0,095 g, 0,6 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq. in 20 mL abs. DMF) getropft und bei Raumtemperatur 15 min gerührt. Im Anschluss daran wurde der größte Teil des Hexans am Ölpumpenvakuum entfernt und die Reaktionslösung weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Als Nächstes wurde die gelbe Partikellösung zur Aufreinigung gegen DMF dialysiert (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 600 mL DMF, jeweils 3 h). Es wurde eine klare, gelbe Lösung mit einer Konzentration von 0,4 $\mu\text{mol} / \text{L}$ erhalten, die in 15 mL abs. DMF überführt und im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt wurde. Die Lösung blieb 2-4 Tage optisch stabil.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 4,6 \pm 0,3$ nm-	DLS:	$d_h = 11 \pm 2$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 420$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,24-1,33$ (m, 12H, CH_2); 1,46 (quin, 2H,		

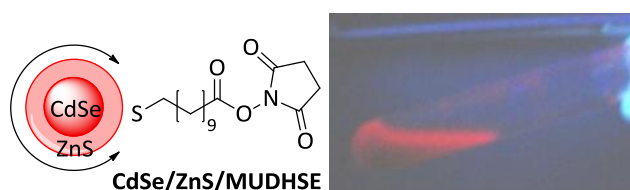
6 Experimenteller Teil

$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$); 1,61 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,22 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-COO}^-$); 2,55 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,78 (s, 4H, CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, , DMSO- d_6): δ = 24,63 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 25,18 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 25,40 (CH_2), 27,66 (CH_2), 28,47 (CH_2), 28,52 (CH_2), 28,86 (CH_2), 30,32 (CH_2), 30,72 (CH_2), 32,28 (2x CH_2), 34,69 ($\text{CH}_2\text{-SH}$), 36,92 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 162,28 (CO), 172,75 (CO) ppm.

ATR-IR (Diamant Einfachreflexion): 2925,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2853,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1742,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1723,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1523,0 cm^{-1} (w, $\nu(\text{CON})$); 1466,2 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1408,1 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1381,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{CH}_3)$); 1209,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1070,8 cm^{-1} , 722,0 cm^{-1} (w, $\text{CH}_2\text{-rocking}$).

6.2.6.3.4 Synthese von MUDHSE-kordinierten CdSe/ZnS Quantum Dots (CdSe/ZnS/MUDHSE, $\varnothing = 6$ nm)



Zur Darstellung von MUDHSE-funktionalisierten CdSe/ZnS-Kern-Schale-QDots wurden 1,57 mL ($3,18 \cdot 10^{-6}$ mol/L in abs. Toluol) OA-kordinierte CdSe/ZnS-QDots in 20 mL abs. Toluol mit 0,016 g ($5,0 \cdot 10^{-5}$ mol, $1 \cdot 10^4$ Äq.) MUDHSE unter Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach zwölfstündiger Reaktionszeit, wurde die Reaktionslösung durch Zugabe von abs. Methanol gefällt. Die Lösung wurde zentrifugiert (3500 rpm, 20 Min.) und im Anschluss der Rückstand mit abs. Methanol erneut gewaschen. Die Aufreinigung wurde dreimal wiederholt, um nichtgebundene Liganden zu entfernen. Anschließend wurden die Partikel in 5 mL abs. DMF aufgenommen. Es wurde eine klare, orange Lösung erhalten ($c = 1 \mu\text{mol} / \text{L}$), die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366$ nm) orangefarben fluoreszierte. Zur Aufbewahrung wurde die Kolloidlösung bei 4 °C unter Lichtausschluss im Kühlschrank gelagert. Die Kolloidlösung war mehrere Monate optisch stabil.

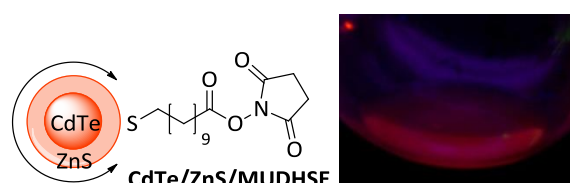
Charakterisierung:

TEM: $d = 6 \pm 1$ nm-

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 592$ nm

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,39-1,71 (m, 16H, CH_2); 2,16 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,54 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,77 (s, 4H, CH_2) ppm.

6.2.6.3.5 Synthese von MUDHSE-koord. CdTe/ZnS-QDots (CdTe/ZnS/MUDHSE; $\varnothing = 5$ nm)

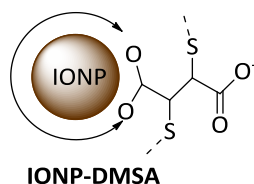


0,0005 g (0,086 $\mu\text{mol/L}$, 1 $\text{\AA}\text{q.}$) TOPO/HDA-koord. CdTe/ZnS-QDots wurden in 3 mL abs. Toluol gelöst. Es wurden 0,051 g (0,16 mmol, $6,2 \cdot 10^5$ $\text{\AA}\text{q.}$) MUDHSE hinzugegeben und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Partikel wurden mit abs. Methanol gefällt, zentrifugiert (3500 rpm, 20 Min.) und im Anschluss der Rückstand mit abs. Methanol erneut gewaschen. Die Aufreinigung wurde dreimal wiederholt, um nichtgebundene Liganden zu entfernen. Danach wurden sie wieder in 3 mL abs. Toluol aufgenommen. Es wurde eine klare, orange Lösung erhalten ($c = 0,086 \mu\text{mol/L}$), die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) orangerot fluoreszierte. Zur Aufbewahrung wurde die Kolloidlösung bei 4°C unter Lichtausschluss im Kühlschrank gelagert. Die Kolloidlösung war mehrere Monate optisch stabil.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,8 \pm 0,9 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 582 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,37\text{-}1,52$ (m, 12H, CH_2); $1,53\text{-}1,65$ (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO,CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); $2,22$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); $2,65$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); $2,80$ (s, 4H, CH_2) ppm.

6.2.6.4 Ligandenaustauschreaktion von hydrophoben Eisenoxidnanopartikeln mit Dimercaptobornsteinsäure



Der Ligandenaustausch von Ölsäure/Oleylamin-kordinierten Eisenoxidnanopartikeln mit Dimercaptobornsteinsäure (DMSA) erfolgt durch Zugabe von 0,01 g (0,7 nmol, 1 $\text{\AA}\text{q.}$) der Eisenoxidpartikel gelöst in 2 mL Toluol zu einer vorgelegten DMSA-Lösung (0,400 g, 2,2 mmol, $3,1 \cdot 10^6$ $\text{\AA}\text{q.}$; in 10 mL DMSO) unter starkem Rühren. Die Reaktionslösung wurde für 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss daran wurde die Reaktionslösung zentrifugiert (12000 rpm, 30 Min) und die Eisenoxidnanopartikel durch einen Magneten von der Lösung abgetrennt. Der so erhaltenen schwarzen Rückstand wurde dreimal mit Ethanol gewaschen und abschließend der schwarze Feststoff am Ölpumpenvakuum getrocknet.

Charakterisierung ($\varnothing = 5 \text{ nm}$):

TEM: $d = 4,4 \pm 0,6 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 13 \pm 3 \text{ nm}$
 ATR-IR(Diamant-Einfachreflexion): $2963,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1714,3 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C=O})$); $1557,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $1379,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1262,2 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1028,6 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$).

Charakterisierung ($\varnothing = 8 \text{ nm}$):

TEM: $d = 8,4 \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 16 \pm 2 \text{ nm}$

6 Experimenteller Teil

ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2912,6 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 1704,3 cm⁻¹ (m, ν(C=O)); 1589,5 cm⁻¹ (m, ν(N-H)); 1395,3 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1204,2 cm⁻¹ (m, ν(C-O)).

Charakterisierung (Ø = 10 nm):

TEM: d = 10,4 ± 0,5 nm
DLS: d_h = 24 ± 5 nm
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 1588,8 cm⁻¹ (m, ν(N-H)); 1394,2 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1181,4 cm⁻¹ (m, ν(C-O)); 1130,0 cm⁻¹ (s, ν(C-O)).

Charakterisierung (Ø = 12 nm):

TEM: d = 13,3 ± 0,4 nm
DLS: d_h = 44 ± 7 nm
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2920,7 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 2850,7 cm⁻¹ (m, ν(C-H)); 1720,1 cm⁻¹ (m, ν(C=O)); 1594,9 cm⁻¹ (s, ν(N-H)); 1395,3 cm⁻¹ (s, δ(C-H)); 1257,7 cm⁻¹ (m, ν(C-O)); 1178,7 cm⁻¹ (m, ν(C-O)); 1132,3 cm⁻¹ (m, ν(C-O)).

6.2.6.5 Austausch mit Polymeren PAA und PEI

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von Xu et al. ^[208])

Zur Darstellung Polymer-funktionalisierter Eisenoxidnanopartikel wurden 1 mL (0,005 g, 2·10⁻¹¹ mol, 1 Äq.) der in Chloroform gelösten 12 nm großen Eisenoxidnanopartikel (IONP-OA/TOPO) mit 50 mL DMSO versetzt und 30 Min. bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 0,020 g PAA (bzw. 20 mg PEI) zugegeben und die Reaktionslösung 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss daran wurde die Reaktionslösung zentrifugiert (12000 rpm, 30 min) und die Eisenoxidnanopartikel durch einen Magneten von der Lösung abgetrennt. Der so erhaltenen schwarzen Rückstand wurde dreimal mit Aceton gewaschen und abschließend der schwarze Feststoff am Ölpumpenvakuum getrocknet.

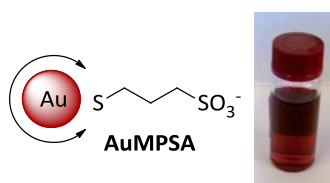
Charakterisierung PAA (Ø = 12 nm):

TEM: D = 12,4 ± 0,4 nm
DLS: d_h = 62 ± 18 nm
ATR-IR(Diamant-Einfachreflexion): 3272,8 cm⁻¹ (s, ν(O-H)); 1579,8 cm⁻¹ (m); 1378,0 cm⁻¹ (s, δ(C-H)); 1348,4 cm⁻¹ (s, δ(C-H)); 1014,5 cm⁻¹ (m, ν(C-O)).

Charakterisierung PEI (Ø = 12 nm):

TEM: d = 12,4 ± 0,4 nm
DLS: d_h = 55 ± 13 nm

6.2.6.5.1 Synthese MPSA–koord. Goldnanopartikel aus AuDT (AuMPSA, Ø = 7 nm)



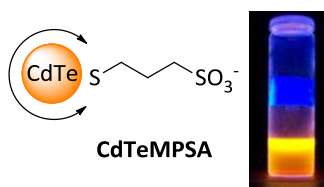
Zu einer wässrigen Natrium-3-Mercaptopropansulfonat-Lösung (MPSA; 0,018 g, 0,1 mmol, 3·10⁴ Äq., in 5 mL Millipore-Wasser) wurden 50 µL (0,14 mmol, 4,2 · 10⁵ Äq.) TMAH und

1 mL in CHCl₃ gelöste AuDT (3 nmol, 1 Äq.; d = 7 nm) getropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht gerührt. Dabei trat ein Farbwechsel der wässrigen Phase von farblos zu dunkelrot auf. Im Anschluss wurde die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase zur Aufreinigung gegen Millipore-Wasser (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 500 mL H₂O, jeweils 3 h). dialysiert. Es wurde eine klare, rote Kolloidlösung (c = 0,6 µmol / L) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung:

TEM:	d = 6,8 ± 0,3 nm	DLS:	d _h = 9 ± 2 nm
UV/Vis:	λ _{max} = 521 nm		
NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, D ₂ O): δ = 1,78 (m, 2H, CH ₂); 2,56 (m, 2H, CH ₂ -S); 3,18 (t, 2H, CH ₂ -SO ₃ ⁻) ppm.		

6.2.6.5.2 Synthese MPSA– koordinierter QDots

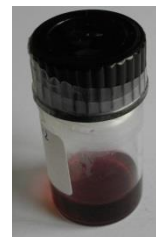
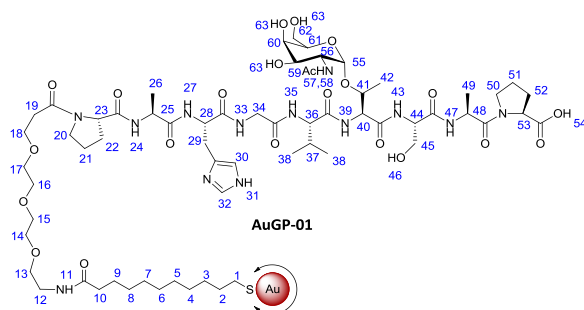


In einem ausgeheizten Kolben wurden 0,057 g (0,2 mmol, 2 Äq.) Cd(OAc)₂·2H₂O in 15 mL entgastem Wasser gelöst und mit 0,071 g (0,4 mmol, 4 Äq.) Natrium-3-Mercaptopropansulfonat (MPSA) versetzt. Als Nächstes wurde durch Zugabe von 1 M NaOH der pH-Wert auf 11 eingestellt und die Lösung 1 h bei Raumtemperatur unter Schutzgas gerührt. Danach wurde die Te-Vorstufe zugegeben [2,5 mL NaHTe (0,1 mmol, 1 Äq.)], die Reaktionslösung in ein Mikrowellengläschen überführt und 10 min bei 130 °C in der Mikrowelle behandelt. Im Anschluss daran wurde die Reaktionslösung mit Isopropanol gefällt, zentrifugiert (3500 rpm, 10 min) und erneut mit Isopropanol gewaschen. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Abschließend wurde der erhaltene gelbe Feststoff in 10 mL entgastem Wasser aufgenommen. Es wurde eine gelbe Lösung erhalten, die unter der UV-Lampe (λ = 366 nm) orange leuchtete. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C. Die MPSA-koord. CdTe-QDots zeigten über Wochen keine optische Veränderung.

Charakterisierung:

TEM:	d = 3,3 ± 0,2 nm (6%)	DLS:	d _h = 6 ± 1 nm
UV/Vis:	λ _{max} = 545 nm (berechnete Partikelgröße d = 3,2 nm)		
NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, D ₂ O): δ = 1,84 (m, 2H, CH ₂); 2,43 (m, 2H, CH ₂ -S); 3,12 (t, 2H, CH ₂ -SO ₃ ⁻) ppm.		
	¹³ C-NMR (100 MHz, D ₂ O): δ = 23,70 (CH ₂), 30,36 (CH ₂), 54,86 (CH ₂) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	2941,1 cm ⁻¹ (s, ν(C-H)); 1692,0 cm ⁻¹ ; 1415,6 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1355,7 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1245,2 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1135,6 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)).		

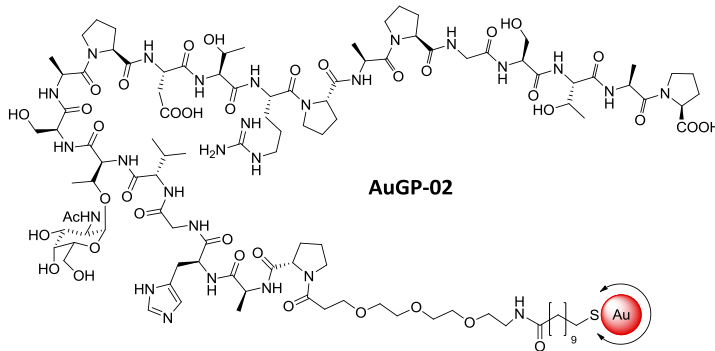
6.2.7 Synthese von Glycopeptid-koordinierten Goldnanopartikeln

6.2.7.1 GP-01-funktionalisierter Goldnanopartikel ($\varnothing = 7$ nm)

0,017 g (0,013 mmol, $1,3 \cdot 10^4$ Äq.) GP-01 wurden in 2 mL absolutem DMF gelöst. Dazu wurde anschließend eine Lösung von AuMUDHSE (1 nmol Nanopartikel, $d = 7$ nm) in 5 mL absolutem DMF gegeben und die Reaktionslösung 30 Min. bei Raumtemperatur gerührt. Als Nächstes wurden 15 μ L (0,11 mmol, $1,1 \cdot 10^5$ Äq.) Triethylamin zugegeben und die Reaktionslösung für weitere 72 h gerührt. Anschließend wurde zur Aufreinigung die klare, rote Reaktionslösung gegen DMF dialysiert (MWCO: 4000 – 6000 Da, dreimal je 300 mL DMF, jeweils 1,5 h). Danach wurde das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt und die Partikel in 8 mL dest. Wasser resuspendiert. Abschließend wurde die Nanopartikellösung nochmals gegen dest. Wasser dialysiert (MWCO: 4000 – 6000 Da, dreimal je 300 mL dest. Wasser, jeweils 2 h), um noch vorhandene Verunreinigungen wie z.B. DMF zu entfernen. Es wurde eine klare, rote Lösung mit einer Konzentration von 0,13 μ M erhalten, die mehrere Wochen im Kühlschrank bei 4 °C optisch stabil war.

Charakterisierung:

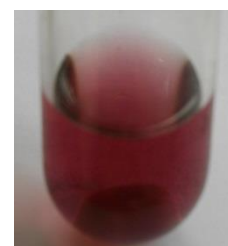
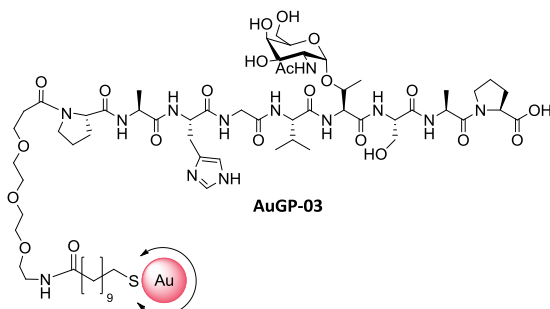
TEM:	$d = 6,9 \pm 0,7$ nm	$d_h = 23 \pm 4$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 523$ nm	
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6 , COSY-DQF, HSQC): $\delta = 1,18$ (d, 6H, CH_3 (38)); 1,25 (d, 3H, CH_3 (42)) ; 1,32-1,41 (m, 12H, CH_2 (3-8)); 1,46 (d, 6H, CH_3 (26, 49)); 1,55 (quin, 4H, CH_2 (2, 9)); 1,74 (m, 4H, CH_2 (21, 51)); 1,98 (m, 1H, CH (41)); 2,01 (m, 4H, CH_2 (22, 52)); 2,17 (t, 2H, CH_2 (10)); 2,26 (t, 2H, CH_2 (19)); 2,45 (m, 1H, CH (37)); 2,55 (t, 2H, CH_2 (1)); 2,94 (d, 2H, CH_2 (29)); 3,18 (q, 2H, CH_2 (12)); 3,38 (t, 2H, CH_2 (13)); 3,45 (t, 4H, CH_2 (20, 50)); 3,50 (bm, 8H, CH_2 (14-17)); 3,65 (t, 2H, CH_2 (18)); 3,76 (s, 3H, CH_3 (57)); 3,91 (q, 1H, CH (56)); 3,95 (d, 2H, CH_2 (34)); 4,12 (d, 1H, CH (53)); 4,15 (t, 2H, CH_2 (45)); 4,24 (q, 1H, CH (61)); 4,27 (d, 1H, CH (23)); 4,29 (d, 2H, CH (62)); 4,38 (m, 2H, CH (59, 60)); 4,43-4,48 (m, 4H, CH (28, 36, 40, 44)); 4,51 (m, 2H, CH (25, 48)); 4,72 (d, 1H, CH (55)); 4,92 (bs, 5H, OH (46, 63)); 7,77 (t, 1H, NH , 11); 7,85 (d, 1H, CH (30)); 7,98 (d, 1H, CH (32)); 8,17 (d, 7H, NH (24, 27, 35, 39, 43, 47, 58)); 8,33 (d, 1H, NH (33)) ppm	
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion)	$3273,0$ cm^{-1} (m; $\nu(\text{N-H})$); $2925,6$ cm^{-1} (s; $\nu(\text{C-H})$); $2853,4$ cm^{-1} (s; $\nu(\text{C-H})$); $2324,5$ cm^{-1} (w); $2164,8$ cm^{-1} (w); $1782,6$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C=O})$); $1626,1$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); $1527,1$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); $1450,8$ cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); $1398,8$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1339,4$ cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); $1201,2$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); $1125,3$ cm^{-1} (w); $1076,5$ cm^{-1} (w); $1044,5$ cm^{-1} (w); $718,2$ cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).	

6.2.7.2 GP-02-funktionalisierte Goldnanopartikel ($\phi = 7$ nm)

Zu einer $0,2 \mu\text{M}$ ($1,6 \text{ nmol}$ Nanopartikel, 8 mL absolutes DMF) Lösung von AuMUDHSE wurde unter starkem Rühren eine Lösung von $0,036 \text{ g}$ ($0,016 \text{ mmol}$, $1 \cdot 10^4$ Äq.) GP-02 in 2 mL absolutem DMF getropft und bei Raumtemperatur für 20 Min. gerührt. Anschließend wurden $15 \mu\text{L}$ ($0,11 \text{ mmol}$, $6,9 \cdot 10^4$ Äq.) Triethylamin zugegeben. Nach weiteren 15 h Rühren wurde die klare, dunkelrote Lösung gegen DMF dialysiert (MWCO: $4000 - 6000 \text{ Da}$, zweimal je 600 mL DMF, jeweils 3 h). Nach der Dialyse wurde das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt und der Rückstand in 5 mL dest. H_2O resuspendiert. Diese Kolloidlösung wurde abschließend gegen dest. Wasser dialysiert (MWCO: $4000 - 6000 \text{ Da}$, dreimal je 500 mL dest. H_2O , jeweils 2 h). Es wurde eine klare, rote Lösung mit einer Nanopartikelkonzentration von $0,32 \mu\text{M}$ erhalten, die im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ für mehrere Wochen optisch stabil war.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 7,0 \pm 0,2 \text{ nm}$	$d_h = 34 \pm 7 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 524 \text{ nm}$	
NMR:	Wegen der geringen Konzentration der NMR-Probe und der großen Anzahl an Protonen konnten die Signale nicht einzeln zugeordnet werden. Durch einen Spektrenvergleich von freiem GP-02, GP-02-kordinierten Goldnanopartikeln und Aktivester-funktionalisierten Goldnanopartikeln konnte eine erfolgreiche Anbindung nachgewiesen werden, da die Signale der entstandenen Amidbindung ($7,76 \text{ ppm. (NH)}$; $3,25 \text{ ppm. (q, CH}_2)$; $3,39 \text{ ppm. (t, CH}_2)$) im Spektrum der GP-02-kordinierten Goldnanopartikeln gefunden wurden.	

6.2.7.3 GP-03 funktionalisierte Goldnanopartikel ($\phi = 14$ nm)

Zu einer wässrigen Lösung AuCitrat (20 mL einer 1,72 μ M Lösung, 0,034 nmol Nanopartikel) wurde eine Lösung von GP-03 (0,015 g, 0,01 mmol, $2,9 \cdot 10^5$ Äq.) in 3 mL dest. Wasser gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei begann die Lösung nach einigen Minuten dunkler zu werden. Dann wurde gegen dest. Wasser dialysiert (MWCO: 4000 – 6000 Da, dreimal je 600 mL dest. H₂O, jeweils 2 h). Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen ca. 25 mL. Abschließend wurde die Nanopartikellösung im Hochvakuum auf 10 mL eingengt. Es wurde eine klare, violette Lösung mit einer Konzentration von 3,4 nM erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt wurde und mehrere Tage optisch stabil war.

Charakterisierung:

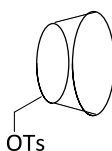
TEM:	$d = 14,0, \pm 0,6$ nm	$d_h = 19 \pm 4$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 531$ nm	
NMR:	Wegen der geringen Konzentration der NMR-Probe konnten die Signale nicht einzeln zugeordnet werden. Durch Vergleich der Spektren von freiem GP-03, GP-03 AuNP und GP-01 AuNP konnte eine erfolgreiche Anbindung nachgewiesen werden, da die Signale der neuen Amidbindung (7,81 ppm. (NH); 3,18 ppm. (q, CH ₂); 3,42 ppm. (t, CH ₂)) im Spektrum der GP-03-kooordinierten Goldnanopartikeln vorhanden waren.	

6.2.8 Multivalente Präsentation von Cyclodextrin- und Adamantan-kooordinierten Nanopartikeln

6.2.8.1 Synthese des Cyclodextrin-Liganden

6.2.8.1.1 Synthese von Mono-[6-desoxy-6-(*p*-toluolsulfonyl)]- β -cyclodextrin (Ts-CD)

(nach einer Synthesevorschrift von W. Tang & S.-C. Ng^[268])



Ts-CD (M = 1295,95 g/mol)

Zur Darstellung von Ts-CD wurden zunächst in einem ausgeheizten Dreihalskolben unter Schutzgasatmosphäre 25,00 g (0,022 mol, 1 Äq.) β -Cyclodextrin in 350 mL wasserfreiem Pyridin vorgelegt und mit Hilfe eines Eisbades auf 0 °C gekühlt. Unter starkem Rühren wurde innerhalb 1 h eine Lösung bestehend aus 4,71 g (0,025 mol, 1,1 Äq.) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in 25 mL wasserfreiem Pyridin zugegeben und anschließend die Reaktionslösung bei Raumtemperatur für weitere 24 h gerührt. Danach wurde das Pyridin

am Ölpumpenvakuum entfernt und der ölige Rückstand in 500 mL Aceton gelöst. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur 1 h gerührt, bevor diese filtriert und der erhaltene farblose Feststoff dreimal mit 100 mL Aceton gewaschen wurde. Abschließend wurde das Rohprodukt durch Umkristallisierung in destilliertem Wasser aufgereinigt und am Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 9,12 g (7,04 mmol, 32%) eines farblosen Feststoffes erhalten, der unter Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur mehrere Monate aufbewahrt werden konnte.

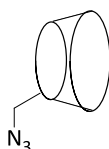
Charakterisierung (erhaltene Ergebnisse wurden mit Literaturangaben verglichen):

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 2,43$ (s, 3H, CH_3); 3,19-3,43 (m, 14H); 3,50-3,64 (m, 6H); 4,16-4,33 (m, 7H); 4,76-4,84 (m, 14H); 7,42 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,75 (d, 2H, CH_{Ar}) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 21,16$ (CH_3); 59,96; 69,64; 71,99; 72,36; 72,69; 72,99; 73,17; 81,48; 82,69; 101,89; 125,45 (CH_{Ar}); 127,55 (CH_{Ar}); 129,85 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-CH}_3$); 132,61 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-S}$) ppm.

IR (KBr-Pressling): 3374,6 (s, $\nu(\text{O-H})$); 2926,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1638,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}_{\text{Ar}}\text{-C}_{\text{Ar}})$); 1597,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}_{\text{Ar}}\text{-C}_{\text{Ar}})$); 1403,7 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1364,2 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1298,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1241,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1190,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1176,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1156,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-S-O})$); 1078,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1028,8 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.8.1.2 Synthese von Mono-6-Azido-6-desoxy- β -Cyclodextrin ($\text{N}_3\text{-CD}$)

(nach einer Synthesevorschrift von W. Tang & S.-C. Ng ^[268])



$\text{N}_3\text{-CD}$ ($M = 1159,99$ g/mol)

7,15 g (5,51 mmol, 1 Äq.) Ts-CD und 7,10 g (0,110 mol, 20 Äq.) Natriumazid wurden in 600 mL entgastem Wasser unter Schutzgas in einem Zweihalskolben gelöst und über Nacht bei 100 °C unter Rückfluss erhitzt. Nachdem die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt wurde, wurde diese filtriert und das Filtrat auf 45 mL eingengt. Im nächsten Schritt wurden 7,15 mL (0,0715 mmol) 1,1,2,2-Tetrachlorethan unter starkem Rühren zum eingengten Filtrat gegeben und 30 Min. bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die organische Phase von der wässrigen Phase durch Zentrifugieren (3000 rpm, 10 Min.) abgetrennt und anschließend wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt. Abschließend wurde das Rohprodukt durch Umkristallisieren in destilliertem Wasser von Verunreinigungen getrennt und der erhaltene farblose Feststoff am Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 5,48 g

(4,72 mmol, 86%) eines hellgelben Feststoffs erhalten, der unter Schutzgas bei Raumtemperatur aufbewahrt wurde.

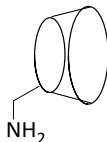
Charakterisierung (erhaltene Ergebnisse wurden mit Literaturangaben verglichen):

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 3,29\text{-}3,46$ (m); $3,55\text{-}3,76$ (m); $4,82\text{-}4,87$ (m); $5,72\text{-}4,79$ (m) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 55,97$; $59,85$; $71,97$; $72,35$, $72,99$; $74,87$; $81,48$; $82,69$; $101,88$ ppm.

IR (KBr-Pressling): $3379,4$ (s, $\nu(\text{O-H})$); $2925,8$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); $2104,0$ cm^{-1} (s, $\nu(-\text{N}_3)$); $1638,2$ cm^{-1} (m); $1414,0$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1366,6$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1334,0$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1299,4$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); $1202,5$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); $1078,7$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); $1029,2$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.8.1.3 Synthese von Mono-6-amino-6-desoxy- β -Cyclodextrin ($\text{NH}_2\text{-CD}$)

(nach einer Synthesevorschrift von W. Tang & S.-C. Ng ^[268])



$\text{NH}_2\text{-CD}$ ($M = 1133,5$ g/mol)

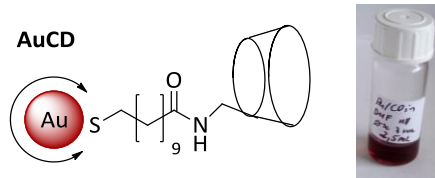
Zur Synthese von $\text{NH}_2\text{-CD}$ wurden 5,31 g (4,60 mmol, 1 Äq.) des Eduktes in 10 mL absolutem DMF vorgelegt und mit Triphenylphosphan versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor im Anschluss 1 mL destilliertes Wasser zugegeben wurde und die Reaktionslösung weitere 3 h bei 90 °C unter Rückfluss erhitzt wurde. Nach dem Abkühlen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur erfolgte die Aufreinigung des Produktes durch Fällung mit 100 mL Aceton und anschließendem dreimaligen Waschen mit Aceton. Das farblose Produkt wurde schließlich am Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 4,23 g (3,73 mmol, 81%) eines farblosen Feststoffs erhalten, der mehrere Monate unter Schutzgas gelagert werden konnte.

Charakterisierung (erhaltene Ergebnisse wurden mit Literaturangaben verglichen):

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 3,30\text{-}3,38$ (m, 16H); $3,55\text{-}3,66$ (m, 28H); $4,45\text{-}4,47$ (m, 6H); $4,82\text{-}4,84$ (m, 7H); $5,70\text{-}5,75$ (m, 14H) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 59,87$; $72,00$; $72,38$, $73,01$; $81,49$; $101,90$ ppm.

IR (KBr-Pressling) $3381,3$ (s, $\nu(\text{O-H})$); $2925,4$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); $1659,0$ cm^{-1} (m); $1412,1$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1387,4$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1298,5$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1253,0$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); $1202,0$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); $1079,0$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); $1029,6$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$).

ESI-MS gemessen: 1134,2
(m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$: berechnet: 1134,3
Elementaranalyse bestimmt: 39,27% (C); 6,53% (H); 1,30% (N)
(CHN): berechnet: 41,55% (C); 5,89% (H); 1,15% (N)

6.2.8.2 Multivalente Präsentation von β -Cyclodextrin auf Goldnanopartikeln6.2.8.2.1 Synthese von β -CD-koordinierten Goldkolloiden ($\varnothing = 4$ nm bzw. $\varnothing = 7$ nm)

Allgemeine Synthesevorschrift:

Zu Beginn wurden in einem ausgeheizten Kolben $0,15 \mu\text{mol} / \text{L}$ (1 nmol Nanopartikel) AuMUDHSE vorgelegt und unter starkem Rühren mit $0,018 \text{ g}$ ($1,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $1,5 \cdot 10^4 \text{ Äq.}$) $\text{NH}_2\text{-CD}$, gelöst in 1 mL abs. DMF, versetzt. Die Reaktionslösung wurde 40 Min. bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde zu der klaren, dunkelroten Lösung $20 \mu\text{L}$ ($0,14 \text{ mmol}$, $1,4 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) NEt_3 gegeben und die Reaktionslösung weitere 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Die klare, rote Reaktionslösung wurde abschließend gegen DMF dialysiert (MWCO: $4000\text{-}6000 \text{ Da}$, dreimal je 500 mL DMF, jeweils 3 h). Das Lösungsmittel wurde am Ölpumpenvakuum entfernt und die Partikel in 5 mL abs. DMF resuspendiert. Es wurde eine klare, rote Lösung mit einer Konzentration von $c = 0,20 \mu\text{M}$ an Nanopartikeln erhalten, die im Kühlschrank gelagert wurde.

Charakterisierung (4 nm):

TEM: $d = 3,6 \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 8 \pm 2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 523 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz , $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 1,24\text{-}1,60$ (bm, 16H); $2,24$ (t, 2H); $2,56$ (t, 2H); $3,27\text{-}3,40$ (m, 16H); $3,58$ (m, 28H); $3,86$ (m, 1H; CH-NH); $4,48$ (m, 6H); $4,78$ (m, 7H); $5,68\text{-}5,79$ (m, 14H); $7,95$ (bs, 1H, NH) ppm.

Charakterisierung (7 nm):

TEM: $d = 7,3 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 10 \pm 2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz , $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 1,31\text{-}1,51$ (bm, 14H); $1,58$ (quin, 2H); $2,22$ (t, 2H); $2,67$ (t, 2H); $3,29\text{-}3,40$ (m, 16H); $3,54\text{-}3,66$ (m, 28H); $3,94$ (m, 1H; CH-NH); $4,44\text{-}4,48$ (m, 6H); $4,82$ (m, 7H); $5,68\text{-}5,79$ (m, 14H); $7,95$ (bs, 1H, NH) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz , $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 24,63$; $28,47$; $28,86$; $32,29$; $36,65$; $59,83$ (CH-NH); $71,99$; $72,37$; $73,01$; $81,47$; $101,94$; $162,29$ (NHC=O) ppm.
 ATR-IR (Diament-Einfachreflexion): $3289,6$ (s, $\nu(\text{O-H})$); $2923,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2852,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1651,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1386,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1257,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1151,0 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\nu(\text{C-O})$); $1078,9 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1026,3 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\nu(\text{C-O})$).

dreimal mit je 200 mL DMF, jeweils 3 h) dialysiert. Das Lösungsmittel wurde dann im Ölpumpenvakuum entfernt und die Partikel anschließend in 3 mL dest. Wasser resuspendiert. Abschließend wurde die Kolloidlösung gegen Millipore-Wasser (MWCO: 4000-6000 Da, zweimal je 500 mL Millipore-Wasser, jeweils 2 h) dialysiert. Es wurde eine klare, rote Lösung ($c = 0,1 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert wurde.

Charakterisierung ($\varnothing = 7 \text{ nm}$):

TEM: $d = 7,3 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 19 \pm 5 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,15\text{-}1,40$ (bm, 14H); 1,55 (m, 2H); 2,33 (t, 2H); 2,96 (t, 2H); 3,48-3,61 (m, 16H); 3,81-3,84 (m, 29H, CH-NH wird überlagert); 4,01 (m, 6H); 5,23 (bm, 14H) ppm. [Signal (4,88-4,90 (m, 7H)) wird durch Lösungsmittelpeak (4,79) überlagert]

Charakterisierung ($\varnothing = 10 \text{ nm}$):

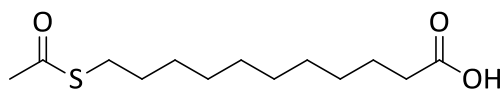
TEM: $d = 9,2 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 35 \pm 7 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 530 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,23\text{-}1,61$ (bm, 16H); 2,33 (t, 2H); 2,82 (t, 2H); 3,48-3,61 (m, 16H); 3,81-3,84 (m, 29H, CH-NH wird überlagert); 4,12 (m, 6H); 5,23 (bm, 14H) ppm. [Signal (4,88-4,90 (m, 7H)) wird durch Lösungsmittelpeak (4,79) überlagert]

6.2.8.3 Synthese von Adamantan-kordinierten Goldkolloiden

6.2.8.3.1 Synthese des Adamantan-Liganden

6.2.8.3.1.1 Synthese von 11-Acetylsulfanylundecansäure

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *N. M. Tahir et al.*)^[345]



$M = 260,39 \text{ g / mol}$

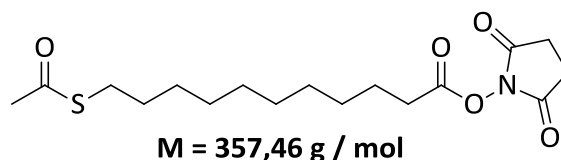
In einem ausgeheizten Kolben wurden 0,520 g (4,56 mmol, 2,4 Äq.) Kaliumthioacetat in 8 mL abs. DMF gelöst. In einem zweiten ausgeheizten Kolben wurden 0,500 g (1,89 mmol, 1 Äq.) 11-Bromundecansäure in 70 mL abs. DMF gelöst und anschließend die Kaliumacetat-Lösung langsam zu dieser Lösung getropft. Die Reaktionslösung wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei färbte sich die Lösung langsam gelb. Nach 2 h wurde dest. Wasser zugegeben bis die Lösung deutlich trüb wurde. Der Niederschlag wurde

abfiltriert, mit dest. Wasser gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 0,383 g (1,47 mmol, 78%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

Charakterisierung:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,27 (bm, 12H, CH_2); 1,58 (quin, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 2,30 (s, 3H, CH_3); 2,33 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,85 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 9,77 (bs, 1H, OH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 24,63($\text{CH}_2\text{-S}$); 28,75 (CH_2); 28,99 (CH_2); 29,03 (CH_2); 29,12 (CH_2); 29,15 (CH_2); 29,28 (CH_2); 29,34 (CH_2); 29,44(CH_3); 30,62 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 34,03 (CH_2CO); 180,03 (COOH); 196,17 (COS) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3368,3 (s, $\nu(\text{O-H})$); 2917,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2848,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1687,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1462,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1407,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1355,7 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1288,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1262,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1133,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 721,2 cm^{-1} (w, $\text{CH}_2\text{-rocking}$).
Elementaranalyse (CHN):	bestimmt: 59,70% (C); 9,21% (H); 0% (N) berechnet: 59,96% (C); 9,29% (H); 0% (N)

6.2.8.3.1.2 Synthese von 11-Acetylsulfanylundecansäure-Aktivester



Zuerst wurden 0,186 g (1,62 mmol, 1,1 Äq.) NHS in 100 mL Dichlormethan gelöst und mit 0,380 g (1,47 mmol, 1 Äq.) S-Acetylsulfanylundecansäure versetzt. Als Nächstes wurden 0,335 g (1,62 mmol, 1,1 Äq.) DCC in 7,5 mL Dichlormethan gelöst und unter starkem Rühren langsam zu der Reaktionslösung getropft. Die Reaktionslösung wurde anschließend 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei begann die Lösung nach einer Stunde langsam trüb zu werden. Nach 18 h wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der erhaltene hellgelbe Feststoff in wenig Dichlormethan gelöst. Danach wurde der sich nicht lösende Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel des Filtrats am Rotationsverdampfer erneut entfernt. Der erhaltene Feststoff wurde mit Pentan gewaschen und am Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 0,498 g (1,39 mmol, 95 %) eines farblosen Feststoffes erhalten.

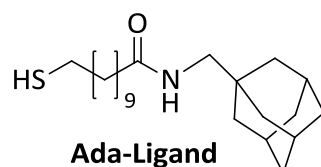
Charakterisierung:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,25-1,41 (bm, 12H, CH_2); 1,53 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,73 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,32 (s, 3H, CH_3); 2,59 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,83 (s, 4H, $\text{CH}_{2\text{NHS}}$); 2,87 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 24,48 ($\text{CH}_2\text{-S}$); 25,20 ($\text{CH}_{2\text{NHS}}$); 25,60 ($\text{CH}_{2\text{NHS}}$); 28,74 (CH_2); 28,78 (CH_2); 29,04 (CH_2); 29,15 (CH_2); 29,23 (CH_2); 29,48 (CH_2); 30,66 (CH_2); 30,94 (CH_3); 32,24 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 32,97 (CH_2CO); 168,69 (2x CO_{NHS}); 169,19 (CON); 196,11 (COS) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3343,3 (s, $\nu(\text{O-H})$); 2916,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2848,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1687,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1462,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1407,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1355,7 cm^{-1}

6 Experimenteller Teil

	(m, $\delta(\text{C-H})$); 1288,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1262,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1133,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 721,2 cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).
Elementaranalyse (CHN):	bestimmt: 57,14% (C); 7,87% (H); 4,50% (N) berechnet: 57,12% (C); 7,61% (H); 3,92% (N)

6.2.8.3.1.3 Synthese des Adamantanliganden (Ada-Ligand)

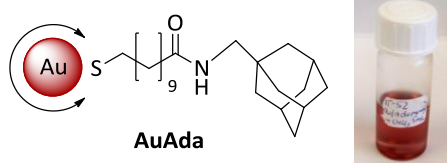


0,380 g (1,06 mmol, 1 Äq.) *S*-Acetylsulfanylundecansäure-*N*-hydroxysuccinimidester wurden in 10 mL abs. DMF gelöst. Anschließend wurden 300 μL (1,65 mmol, 1,5 Äq.) 1-Adamantylmethylamin, zugegeben und die Reaktionslösung bei Raumtemperatur für 16 h gerührt. Nach ca. 1 h begann die Lösung trüb zu werden. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt und 5 mL 1M NaOH und 50 mL dest. Wasser zugegeben. Die Reaktionslösung wurde unter Rückfluss zum Sieden erhitzt und 3 h gerührt. Nachdem die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt wurde, wurde diese dreimal mit 50 mL Chloroform extrahiert. Danach wurden die vereinten organischen Phasen 2 h über MgSO_4 getrocknet und im Anschluss das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wurde der hellgelbe Feststoff am Ölpumpenvakuum getrocknet und unter Schutzgasatmosphäre bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

Charakterisierung:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,16-1,41 (bm, 14H, CH_2 , $\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 1,47-1,78 (m, 18H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$, $\text{CH}_{2\text{Ad}}$, CH_{Ad}); 2,08 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,82 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,19 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,59 (t, 1H, NH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 24,48 ($\text{CH}_2\text{-S}$); 25,45 (C_{Ad}); 25,79 (CH_2); 27,67 (CH_2); 28,06 (CH_2); 28,29 (CH_{Ad}), 28,44 (CH_{Ad}); 28,57 (CH_{Ad}); 28,64 (CH_2); 28,77 (CH_2); 28,89 (CH_2); 29,06 (CH_2); 30,54 (CH_2); 33,60 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 35,32 (CH_2CO); 36,32 ($\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 36,52 ($\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 36,77 ($\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 40,09 (2x $\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 49,93 ($\text{CH}_2\text{-NH}$); 172,20 (CON) ppm.
IR (Film)	3323,4 (s, $\nu(\text{O-H})$); 2924,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2849,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1693,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1550,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1449,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1383,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1346,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1310,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1231,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1107,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 725,6 cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).

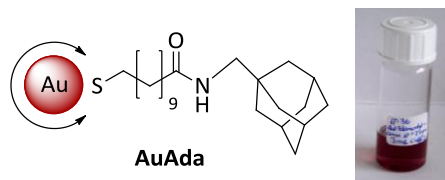
6.2.8.3.2 Synthese Adamantan-koordinierten Goldkolloide ($\varnothing = 4 \text{ nm}$)



0,021 g (0,06 mmol, $1 \cdot 10^4$ Äq.) Ada-Ligand wurden in 3 mL absolutem Chloroform in einem ausgeheizten Kolben vorgelegt. Dazu wurde unter starkem Rühren 1,1 mL (5,5 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel) AuDT zugetropft und weitere 30 Min. bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden 20 μL (0,14 mmol, $2,3 \cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 zugegeben und die Reaktionslösung 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufreinigung wurde die Kolloidlösung gegen CHCl_3 dialysiert (MWCO: 3500-6000 Da, dreimal je 300 mL CHCl_3 , jeweils 2 h). Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und die Partikel in 5 mL wasserfreiem DMF resuspendiert. Es wurde eine rote Kolloidlösung ($c = 0,12 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten. Diese wurde mithilfe von $^1\text{H-NMR}$ -, $^{13}\text{C-NMR}$ - und IR-Spektren auf ihre Amidbindung hin untersucht.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 4,4 \pm 0,2 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 6 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 519 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,13\text{-}1,35$ (bm, 14H, CH_2 , $\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 1,52-1,83 (m, 18H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$, $\text{CH}_{2\text{Ad}}$, CH_{Ad}); 2,23 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,79 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,47 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 8,07 (t, 1H, NH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 23,53$ ($\text{CH}_2\text{-S}$); 25,20 (C_{Ad}); 26,14 (CH_2); 27,76 (CH_2); 28,21 (CH_2); 28,57 (CH_{Ad}), 28,94 (CH_{Ad}); 29,18 (CH_{Ad}); 29,59 (CH_2); 30,00 (CH_2); 30,32 (CH_2); 30,45 (CH_2); 30,54 (CH_2); 33,68 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 36,67 (CH_2CO); 37,26 (3x $\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 39,43 ($\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 40,27 ($\text{CH}_{2\text{Ad}}$); 50,96 ($\text{CH}_2\text{-NH}$); 173,22 (CON) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	$2917,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1640,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1486,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1401,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1003,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).		

6.2.8.3.3 Synthese Adamantan-koordinierten Goldkolloide ($\varnothing = 7 \text{ nm}$)

Zu 2 mL (0,2 μmol , 0,4 nmol Nanopartikel) einer AuMUDHSE-Lösung in abs. DMF wurden unter starkem Rühren 10 μL (0,6 mmol, $1,5 \cdot 10^5$ Äq.) 1-Adamantylmethylamin gegeben und weitere 30 Min. bei Raumtemperatur gerührt, bevor Triethylamin (15 μL , 0,11 mmol, $2,7 \cdot 10^5$ Äq.) zugegeben wurde. Nach weiteren 18 h Rühren wurde die Reaktionsmischung zur Aufreinigung gegen DMF dialysiert (MWCO: 3500-6000 Da, dreimal je 400 mL DMF, jeweils 3 h). Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und die Partikel in 5 mL wasserfreiem DMF resuspendiert. Es wurde eine rote Kolloidlösung ($c = 0,08 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten. Diese wurde mithilfe von $^1\text{H-NMR}$ -, $^{13}\text{C-NMR}$ - und IR-Spektren auf ihre Amidbindung hin untersucht.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 7,3 \pm 0,2 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 8 \pm 2 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 525 \text{ nm}$		

Verlauf der Reaktion wurde mit DLS-Messungen, UV/Vis-Absorptionsspektren und TEM-Aufnahmen kontrolliert.

Charakterisierung (7 nm AuCD + 7 nm AuAda):

TEM: Agglomerate mit Durchmessern 100 - 200 nm

UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 523 \text{ nm}$ (vor Zugabe)	DLS:	$d_h = 92 \pm 8 \text{ nm}$ (1 h)
	$\lambda_{\max} = 538 \text{ nm}$ (3 h)		$d_h = 156 \pm 27 \text{ nm}$ (3 h)
	$\lambda_{\max} = 553 \text{ nm}$ (8 h)		$d_h = 272 \pm 116 \text{ nm}$ (8 h)
			($d_h = 11 \pm 2 \text{ nm}$ vor Zugabe)

Charakterisierung (10 nm AuCD + 4 nm AuAda):

TEM: Agglomerate mit Durchmessern 100 - 200 nm

UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 529 \text{ nm}$ (vor Zugabe)	DLS:	$d_h = 82 \pm 28 \text{ nm}$ (1 h)
	$\lambda_{\max} = 544 \text{ nm}$ (3 h)		$d_h = 228 \pm 109 \text{ nm}$ (3 h)
	$\lambda_{\max} = 567 \text{ nm}$ (8 h)		$d_h = 333 \pm 69 \text{ nm}$ (8 h)
			($d_h = 19 \pm 4 \text{ nm}$ vor Zugabe)

6.2.9 Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika auf die Goldoberfläche

6.2.9.1 Allgemeine Synthesevorschriften

6.2.9.1.1 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der verschiedenen Kohlenhydratmimetika auf Goldnanopartikel ($\varnothing = 7 \text{ nm}$) mit anschließendem Sulfatierungsschritt (A)

Die Synthese der Kohlenhydratmimetika-funktionalisierten Goldnanopartikel mit einem Partikeldurchmesser von 7 nm ist in Abb. 94 am Beispiel des Syn3 gezeigt und wurde für alle in dieser Arbeit verwendeten Kohlenhydratmimetika analog durchgeführt. Zu einer Lösung des zu immobilisierenden Epitops ($0,02 \text{ mmol}$, $1 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) in $0,5 \text{ mL}$ abs. DMF wurde eine Lösung von 11-Mercaptoundecansäure-*N*-hydroxysuccinimidester-koordinierten Gold-nanopartikeln ($0,2 \text{ }\mu\text{M}$, 1 nmol Nanopartikel; $d = 7 \text{ nm}$, AuMUDHSE) in 5 mL absolutem DMF getropft. Die Reaktionslösung wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt bevor Triethylamin ($20 \text{ }\mu\text{L}$, $0,14 \text{ mmol}$, $1 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) zugegeben wurde. Nach weiteren 24 h Rühren wurde etwas Ethanolamin zugegeben, die Reaktionsmischung weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt und dann zur Aufreinigung gegen DMF dialysiert (MWCO: 3500-6000 Da, dreimal je 300 mL DMF, jeweils 3 h). Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und die Partikel in 5 mL wasserfreiem DMF resuspendiert. Es wurde eine hellrote Lösung mit einer Konzentration

von 0,2 μM an Nanopartikeln erhalten und mithilfe von ^1H -NMR-, ^{13}C -NMR- und IR-Spektren auf ihre Amidbindung hin untersucht. Im nächsten Schritt erfolgte die Sulfatierung der Nanopartikel durch langsames Zutropfen einer Lösung von $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex (0,030 g, 0,2 mmol, $2\cdot 10^5$ Äq.) in 1 mL abs. DMF zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung der Aminopyran-funktionalisierten Goldkolloide (1 nmol Nanopartikel, $d = 7$ nm) in 5 mL abs. DMF. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung gegen DMF (MWCO: 3500-6000 Da, dreimal mit je 400 mL DMF, jeweils 3 h) dialysiert. Das Lösungsmittel wurde dann im Ölpumpenvakuum entfernt und die Partikel anschließend in 3 mL dest. Wasser resuspendiert. Abschließend wurde die Kolloidlösung gegen Millipore-Wasser (MWCO: 3500-6000 Da, zweimal je 200 mL Millipore-Wasser, jeweils 2 h) dialysiert.

6.2.9.1.2 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der sulfatierten Aminopyrane auf Goldkolloide ($\varnothing = 10$ nm) durch HBTU / HOBt-Kupplung (B)

Die Synthese der sulfatierten Aminopyran-funktionalisierten Goldnanopartikel mit einem Partikeldurchmesser von 10 nm ist in Abb. 96 für Syn3s (analoge Durchführung für Glucas) gezeigt und wurde nach folgender Synthesevorschrift durchgeführt. In einem ausgeheiztem Kolben wurden 3 mL (0,197 μM , 0,6 nmol, 1 Äq. in DMSO) Mercaptocarbonsäure-kordinierte Goldkolloide vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Gleichzeitig wurden in einem zweiten ausgeheiztem Kolben 0,004 g ($2,65\cdot 10^{-5}$ mol, $4,4\cdot 10^4$ Äq.) HOBt und 0,011 g ($2,65\cdot 10^{-5}$ mol, $4,4\cdot 10^4$ Äq.) HBTU gelöst und in einem weiteren Kolben Syn3s bzw. Glucas ($2,64\cdot 10^{-5}$ mol, $4,4\cdot 10^4$ Äq.), jeweils in 2 mL DMSO gelöst und am Vakuum 30 min entgast, bevor die Kolben wieder mit Argon geflutet wurden. Unter starkem Rühren wurde die HOBt / HBTU-Lösung zu der Kolloidlösung gegeben. Im nächsten Schritt wurden 7,5 μL ($5,29\cdot 10^{-5}$ mol, $8,8\cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 langsam zugetropft, bevor dann die Epitop-Lösung zugegeben wurde. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der Fortgang der Reaktion wurde per DC-Kontrolle überprüft. Zur Aufreinigung des Rohproduktes wurde zuerst gegen DMSO (MWCO: 3500-6000 Da, 600 mL DMSO, 2 h) und dann gegen DMF (3500-6000 Da, dreimal je 600 mL DMF, jeweils 3 h) dialysiert. Am Ölpumpenvakuum wurde dann im Anschluss das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 5 mL abs. DMF gelöst.

6.2.9.1.3 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der zuvor hergestellten Liganden auf Citrat-kordinierten Goldnanopartikel ($\varnothing = 14$ nm) durch Ligandenaustauschreaktion (C)

Zu einer wässrigen Lösung Citrat-koordinierter Goldnanopartikel (15 mL einer 1,72 nM Lösung = 0,024 nmol Nanopartikel) wurde unter starkem Rühren eine Lösung des kompletten Liganden (0,11 mmol, $4,6 \cdot 10^6$ Äq.) in 1 mL dest. Wasser gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde gegen Wasser dialysiert (MWCO: 3500-6000, dreimal je 600 mL dest. Wasser, jeweils 2 h). Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen ca. 17 mL. Abschließend wurde die Lösung auf 10 mL am Ölpumpenvakuum eingengt. Es wurde eine klare rote Lösung mit einer Konzentration von 2,4 nM Nanopartikel erhalten, die im Kühlschrank gelagert wurde.

6.2.9.1.4 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der zuvor hergestellten Liganden auf der Partikeloberfläche von Citrat-koordinierten Goldnanopartikeln ($\varnothing = 25$ nm) durch Ligandenaustauschreaktion (D)

Zu Beginn wurden 50 mL (0,25 nM, $d = 25$ nm) einer wässrigen Lösung Citrat-koordinierter Goldnanopartikel mit einer Lösung des kompletten Ligandens (0,2 mmol, $1,6 \cdot 10^7$ Äq.) versetzt und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss daran wurde zur Aufreinigung gegen Wasser dialysiert (MWCO: 3500-6000, dreimal je 800 mL dest. Wasser, jeweils 3 h). Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen ca. 53 mL. Die Kolloidlösung wurde am Ölpumpenvakuum auf 25 mL eingengt und die erhaltene Lösung durch einen Spritzenaufsatzfilter (0,2 μ m) filtriert. Es wurde eine klare violette Lösung mit einer Nanopartikelkonzentration von $c = 0,5$ nM erhalten, welche sich bei Lagerung im Kühlschrank bei 4 °C mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

6.2.9.1.5 Allgemeine Synthesevorschrift für die Sulfatierung von Gluca und *Syn3* (E)

In einen ausgeheizten Schutzgaskolben wurden unter Argon 0,25 mmol des zu sulfatierenden Ligandens und eine adäquate Menge des $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ -Komplexes in 10 mL absolutem DMF gelöst und zwei bis fünf Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand mit 5 mL 1 M Natronlauge versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufreinigung wurde Ethanol hinzugegeben, um Verunreinigungen durch Fällung und Zentrifugation (3500 rpm, 15 min) zu entfernen. Falls benötigt wurde das Wasser am Ölpumpenvakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt ohne weitere Aufarbeitung verwendet.

6.2.9.1.6 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der sulfatierten Liganden auf die QDots durch eine Kupplungsreaktion mit EDC / sulfo-NHS (F)

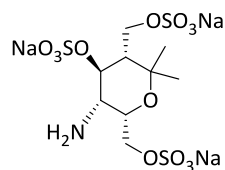
Zur Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika auf CdTe/ZnS-QDots wurde ein Verhältnis der Kupplungsreagenzien von 1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS) gewählt. Der allgemeine Syntheseverlauf sah dabei zunächst die Vorbereitung der Lösungen vor. Dazu wurde 6 nmol (1 Äq.) der CdTe/ZnS-QDots in 3 mL H₂O gelöst und 1 h bei Raumtemperatur im Argonstrom entgast. Analog dazu wurden in zwei ausgeheizten Kolben $6 \cdot 10^{-6}$ mol ($1 \cdot 10^3$ Äq.) EDC bzw. $1,5 \cdot 10^{-5}$ mol ($2,5 \cdot 10^3$ Äq.) sulfo-NHS in je 1 mL H₂O gelöst und bei Raumtemperatur unter Schutzgasbedingungen 30 min gerührt. Danach wurden zur Aktivierung der Partikellösung die EDC-Lösung und die sulfo-NHS-Lösung zugegeben und unter Schutzgasbedingungen 30 min gerührt. Währenddessen wurden $3 \cdot 10^{-5}$ mol ($3 \cdot 10^3$ Äq.) Ligand in 3 mL 1 M NaOH gelöst, kurz entgast und im Anschluss unter starkem Rühren zu der aktivierten Partikellösung gegeben. Die Reaktionslösung wurde 2 h bei Raumtemperatur im Dunkeln gerührt. Zur Aufreinigung wurde die Partikellösung dialysiert (Zellulosester (MWCO: 3500-5000 Da, dreimal je 500 mL Millipore-H₂O, dreimal 1 h). Nach der Dialyse wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt und die funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen.

6.2.9.1.7 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der sulfatierten Liganden auf Eisenoxidnanopartikel (IONP) (G)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Xiong et al.* ^[346])

Die Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika auf die Eisenoxidnanopartikel erfolgte ebenfalls durch Kupplung mit EDC / sulfo-NHS. Dazu wurden 0,002 g (1 Äq.) der Eisenoxidnanopartikel in 10 mL Millipore-Wasser gelöst. Unter starkem Rühren wurden 0,05 mmol EDC und 0,05 mmol NHS in je 1 mL Millipore-Wasser zugegeben. Nach 15 min wurde die Zugabe von EDC und NHS wiederholt und die Reaktionslösung weitere 15 min gerührt. Anschließend wurden 0,15 mmol Ligand (gelöst in 1 mL Millipore-Wasser) zugetropft und die Reaktionslösung 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufarbeitung der funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel erfolgte durch Zentrifugation (12000 rpm, 25 min), Abdekandieren des Lösungsmittels und Waschen mit Ethanol. Der Vorgang wurde dreimal wiederholt. Die erhaltenen Eisenoxidnanopartikel wurden am Ölpumpenvakuum getrocknet und in 2 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Falls notwendig erfolgte ein weiterer Aufreinigungsschritt durch Dialyse (MWCO: 6000-8000 Da, 500 mL Millipore-Wasser, 3 h).

6.2.9.2 Synthese der Liganden

6.2.9.2.1 Synthese von sulfatiertem *Syn3* (Syn3s)

Syn3s (M = 511,39 g/mol)

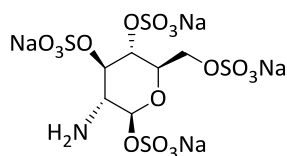
Synthesevorschrift E: 0,051 g (0,25 mmol, 1 Äq.) Syn3; 0,134 g (0,875 mmol, 3,5 Äq.) SO₃-DMF-Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierungsreaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 1,18 (s, 6H, CH₃); 1,51 (d, 1H, CH); 2,71 (t, 1H, CH), 3,58-3,62 (m, 5H, CH₂,CH); 3,64 (d, 1H, CH) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ = 26,88 (CH₃); 46,63 (CH-C-CH₃); 65,01 (CH₂), 66,68 (CH); 66,95 (CH₂); 72,18 (CH-CH₂); 72,85 (CH-CH₂); 82,71 (CH-NH₂) ppm.

6.2.9.2.2 Synthese von sulfatiertem Glucosamin (Glucas)



Glucas (M = 587,35 g / mol)

Synthesevorschrift E: 0,045 g (0,25 mmol, 1 Äq.) Glucosamin; 0,172 g (0,219 mmol, 4,5 Äq.) SO₃-DMF-Komplex in 10 mL DMF

Es wurde ein hellgelber Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Reaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

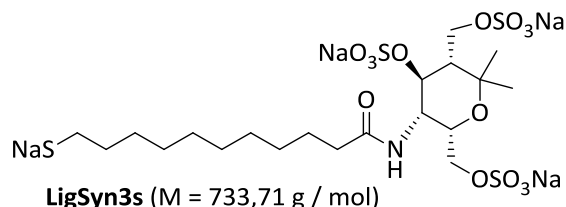
Charakterisierung:

ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 3441,3 cm⁻¹ (s, ν(N-H), ν(O-H)); 2931,2 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 2819,6 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 1599,9 cm⁻¹ (s, δ(N-H)); 1449,2 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1386,3 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1354,6 cm⁻¹ (m, δ(O-H)); 1304,4 cm⁻¹ (m, ν(C-O)); 1241,6 cm⁻¹ (m, ν(C-O)); 1138,32 cm⁻¹ (m, ν(C-O)).
 NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 3,49 (q, 1H, CH-CH₂), 3,72 (m, 1H CH-NH₂); 3,82 (d, 2H, CH₂-OSO₃Na); 3,97 (t, 2H, CH); 4,95 (d, 2H, NH₂); 5,43 (d, 1H, CH-O) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ = 54,24 (CH-NH₂); 60,27 (CH₂-OSO₃Na); 69,64 (CH-CH₂-OSO₃Na); 71,52 (CH); 76,11 (CH); 92,68 (CH-O) ppm.

6 Experimenteller Teil

HRMS (ESI): $m/z = 587,73 [M+H]^+$ (berechnet für $[C_6H_9NNa_4O_{17}S_4 + H]^+ = 587,83$)

6.2.9.2.3 Umsetzung von Syn3 mit S-Acetylsulfanylundecansäure-N-hydroxysuccinimidester mit anschließendem Sulfatierungsschritt (LigSyn3s)



S-Acetylsulfanylundecansäure-N-hydroxysuccinimidester (0,081 g, 0,23 mmol, 1 Äq.) wurde in 2 mL abs. DMF gelöst und mit einer Lösung aus Syn3 (0,070 g, 0,34 mmol, 1,5 Äq.) in 2,5 mL abs. DMF versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor 5 mL dest. Wasser zugegeben wurden. Der farblose Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und am Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 0,056 g (0,13 mmol, 38%) eines farblosen Feststoffes erhalten.

Im nächsten Schritt wurden der farblose Feststoff (0,056 g, 0,13 mmol, 1 Äq.) in 3 mL abs. DMF gelöst und tropfenweise mit einer SO_3 -DMF-Komplex-Lösung (0,078 g, 0,51 mmol, 4 Äq., gelöst in 5 mL abs. DMF) versetzt. Die Reaktionslösung wurde anschließend 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 20 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingeengt und der Rückstand mit Ethanol verdünnt. Dabei fiel ein farbloser Niederschlag aus. Die Suspension wurde 48 h im Kühlschrank gelagert, bevor der Niederschlag abfiltriert und am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde. Es wurden 0,067 g (0,09 mmol, 70%) eines farblosen Feststoffes erhalten.

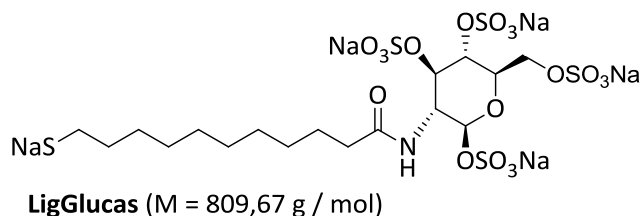
Charakterisierung:

NMR: 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,13$ (s, 6H, CH_3); 1,22-1,33 (bm, 12H, CH_2); 1,48 (quin, 2H, CH_2); 1,61 (quin, 2H, CH_2); 1,71 (m, 1H, CH); 2,11 (m, 1H, CH); 2,15 (t, 2H, CH_2); 2,81 (t, 2H, CH_2); 3,60 (m, 4H, CH_2); 3,88 (q, 1H, CH); 4,33 (t, 1H, CH) ppm.

IR (KBr-Pressling): 3501,8 cm^{-1} (s, $\nu(O-H)$); 3328,1 cm^{-1} (s, $\nu(N-H)$); 2964,3 cm^{-1} (m, $\nu(C-H)$); 2916,5 cm^{-1} (s, $\nu(C-H)$); 2847,8 cm^{-1} (s, $\nu(C-H)$); 1816,9 cm^{-1} (s); 1788,7 cm^{-1} (s, $\nu(C=O)$); 1736,0 cm^{-1} (s, $\nu(C=O)$); 1682,0 cm^{-1} (s, $\nu(C=O)$); 1577,1 cm^{-1} (m); 1464,9 cm^{-1} (m, $\delta(C-H)$); 1425,5 cm^{-1} (w, $\delta(C-H)$); 1413,7 cm^{-1} (m, $\delta(C-H)$); 1366,8 cm^{-1} (m); 1208,1 cm^{-1} (s, $\nu(C-O)$); 1129,9 cm^{-1} (w); 1076,4 cm^{-1} (w); 722,4 cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).

Elementaranalyse: Ergebnisse des nicht sulfatierten Liganden:
bestimmt: 58,81% (C); 9,57% (H); 4,86%(N)
berechnet: 59,03% (C); 9,23% (H); 3,13%(N)

6.2.9.2.4 Umsetzung von Glucosamin (GlucA) mit S-Acetylsulfanylundecansäure-N-hydroxysuccinimidester mit anschließendem Sulfatierungsschritt (LigGlucas)



0,260 g (1 mmol, 1 Äq.) S-Acetylsulfanylundecansäure wurden in 20 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden 0,197 g (1,1 mmol, 1,1 Äq.) Glucosamin, 0,149 g (1,1 mmol, 1,1 Äq.) HOBt und 0,152 mL (1,1 mmol, 1,1 Äq.) NEt₃ gegeben und 15 min. gerührt, bevor im Anschluss die Reaktionslösung mit 0,211 g (1,1 mmol, 1,1 Äq.) EDC versetzt wurde. Nachdem die Reaktionslösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde die Lösung je dreimal mit 0,5 M Zitronensäure und gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurde über MgSO₄ 2 h getrocknet und danach filtriert, bevor das Lösungsmittel des Filtrats am Rotationsverdampfer entfernt wurde. Abschließend wurde der farblose Feststoff am Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 0,235 g (0,56 mmol, 51%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

Charakterisierung:

NMR:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,24-1,31 (bm, 10H, CH₂); 1,48-1,62 (m, 4H, CH₂); 1,86 (quin, 2H, CH₂-CH₂-S); 2,31 (s, 3H, CH₃); 2,37 (t, 2H, CH₂-CO); 3,12 (t, 2H, CH₂-S); 3,56 (d, 1H, CH-NH); 4,16 (t, 1H, CH-CH₂); 4,27 (t, 1H, CH); 4,52 (d, 2H, CH₂); 5,56 (d, 1H, CH-O); 7,41 (d, 1H, NH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 24,12 (CH₂-CH₂-CO), 28,71 (CH₂), 28,86 (CH₂), 28,99 (CH₂), 29,18 (CH₂-S), 29,24 (CH₂), 29,29 (CH₂), 29,42 (CH₂), 30,59 (CH₃), 33,75 (CH₂-CH₂-S), 35,00 (CH₂-CO), 59,10 (CH-NH), 62,54 (CH₂-OH), 65,29 (CH-CH₂-OH), 70,59 (CH), 74,71 (CH), 99,95 (CH-O), 178,18 (CO-NH), 196,07 (CO-S) ppm.

Im nächsten Schritt wurde der farblose Feststoff (0,100 g, 0,24 mmol, 1 Äq.) in 5 mL abs. DMF gelöst und tropfenweise mit einer SO₃-DMF-Komplex-Lösung (0,164 g, 1,08 mmol, 4,5 Äq., gelöst in 5 mL abs. DMF) versetzt. Die Reaktionslösung wurde anschließend 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 25 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum eingengt und der Rückstand mit Ethanol verdünnt. Dabei fiel ein farbloser Niederschlag aus. Die Suspension wurde 48 h im Kühlschrank gelagert, bevor der Niederschlag abfiltriert und am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde.

Es wurden 0,083 g (0,01 mmol, 42%) eines farblosen Feststoffes erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierung auf die Nanopartikel verwendet wurde.

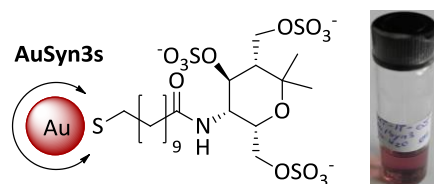
Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,29\text{-}1,44$ (bm, 12H, CH_2); 1,58-1,62 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,71-1,73 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 1,87 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,67 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,56 (d, 1H, CH-NH); 3,67 (t, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-O}$); 3,96 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$); 4,38 (t, 1H, CH); 4,63 (t, 1H, CH); 5,28 (d, 1H, CH-O); 7,92 (d, 1H, NH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 24,45$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 28,71 (CH_2), 28,07 (CH_2), 28, 29 (CH_2), 28,41 (CH_2), 28,50 (CH_2), 28,67 (CH_2), 28,77 (CH_2), 29,07 (CH_2), 33,61 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 38,82 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 58,38 (CH-NH), 62,17 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 75,71 ($\text{CH-CH}_2\text{-OH}$), 84,70 (CH), 85,90 (CH), 109,53 (CH-O), 174,47 (CO-NH) ppm.

6.2.9.3 Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika auf die Goldnanopartikel

6.2.9.3.1 Synthese von sulfatierten Syn3-koordinierten Goldnanopartikeln ($\varnothing = 7$ nm)



Synthesevorschrift A: 0,004 g (0,02 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) Syn3; 5 mL (0,2 μM , 1 nmol Nanopartikel) AuMUDHSE, 20 μL (0,14 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 , 0,03 g (0,2 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) $\text{SO}_3\text{-DMF}$ -Komplex.

Es wurde eine klare, hellrote Lösung mit einer Konzentration von 0,33 mol / L erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde und sich mehrere Monate optisch nicht veränderte

Charakterisierung:

TEM: $d = 6,9 \pm 0,5$ nm

DLS: $d_h = 11 \pm 2$ nm

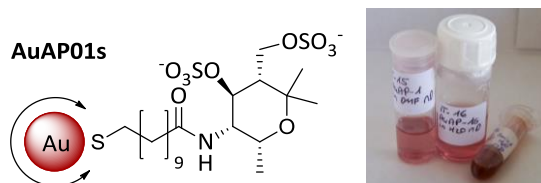
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 521$ nm

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,11$ (s, 6H, CH_3); 1,22-1,39 (bm, 12H, CH_2); 1,41 (d, 2H, CH_2); 1,57 (m, 2H, CH_2); 1,66 (m, 2H, CH_2); 1,80 (d, 1H, CH); 2,21 (m, 1H, CH); 2,29 (t, 2H, CH_2); 2,64 (t, 2H, CH_2); 3,03 (d, 4H, CH_2); 3,85 (m, 1H, CH) ppm.

6.2.9.3.2 Synthese von sulfatierten Syn3-koordinierten Goldnanopartikeln ($\varnothing = 10$ nm)

6 Experimenteller Teil

6.2.9.3.5 Synthese sulfatierter AP01 funktionalisierter Goldnanopartikel ($\varnothing = 7 \text{ nm}$) (AuAP01s)



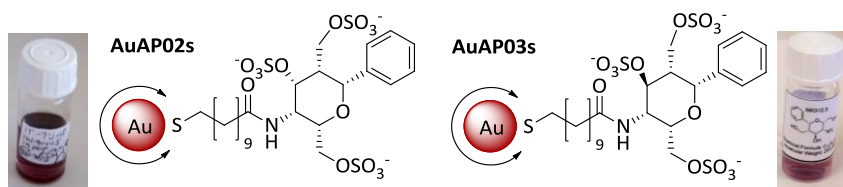
Synthesevorschrift A: 0,0035 g (0,018 mmol, $2,3 \cdot 10^4$ Äq.) AP01; 4 mL (0,2 $\mu\text{mol/L}$, 0,8 nmol NP) AuMUDHSE; 20 μL (0,14 mmol, $1,75 \cdot 10^5$ Äq.) NEt₃; 0,03 g (0,2 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq.) SO₃·DMF-Komplex.

Es wurden 5 mL einer roten Kolloidldösung ($c = 0,16 \mu\text{mol/L}$) erhalten, die bei 4 °C im Kühlschrank gelagert wurde und mehrere Monate optisch stabil war.

Charakterisierung:

TEM: $d = 6,9 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 16 \pm 3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 522 \text{ nm}$
 NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1,24\text{-}1,36$ (bm, 19H, CH₂, CH₃); 1,45-1,48 (m, 2H, CH₂-CH₂-CO); 1,57-1,62 (m, 2H, CH₂-CH₂-S); 1,75 (d, 1H, CH); 1,94 (t, 2H, CH₂-CO); 2,24 (t, 2H, CH₂-S); 3,43 (d, 2H, CH₂-OSO₃⁻); 3,67 (t, 1H, CH-NH); 4,56 (d, 1H, CH), 4,63 (d, 1H, CH), 7,90 (d, 1H, NH) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): $\delta = 16,65$ (CH₃), 24,49 (CH₂-CH₂-CO), 25,15 (CH₂), 27,70 (CH₃), 28,12 (CH₂), 28,48 (CH₂), 28,63 (CH₂), 28,92 (CH₂), 29,17 (CH₂), 29,60 (CH₂), 34,59 (CH₂-CH₂-S), 35,71 (CH₂-CO), 53,78 (CH-CH₂-OSO₃⁻), 59,88 (CH-NH), 64,12 (CH₂-OSO₃⁻), 69,02 (CH), 73,92 (CH-O), 77,41 (CH), 177,68 (CO-NH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2921,6 cm⁻¹ (s, ν (C-H)); 2851,7 cm⁻¹ (s, ν (C-H)); 1662,3 (s, ν (C=O)), 1592,9 cm⁻¹ (s, ν (N-H)); 1435,2 cm⁻¹ (m, δ (C-H)); 1385,9 cm⁻¹ (m, δ (C-H)); 1232,0 cm⁻¹ (m, ν (C-O)); 1015,7 cm⁻¹ (s, ν (C-O)).

6.2.9.3.6 Immobilisierung der Epitope AP02 und AP03 auf Goldkolloide ($\varnothing = 7 \text{ nm}$) mit anschließendem Sulfatierungsschritt



Synthesevorschrift A: AP02 [0,0053 g (0,02 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.)]; 5 mL (0,2 μM , 1 nmol NP) AuMUDHSE, 20 μL (0,14 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) NEt₃, 0,03 g (0,2 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) SO₃·DMF-Komplex

6 Experimenteller Teil

Es wurden 5 mL einer dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert wurde und einige Wochen stabil war.

Synthesevorschrift A: 0,0056 mg (0,02 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) AP03; 5 mL (0,2 μM , 1 nmol NP) AuMUDHSE, 20 μL (0,14 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 , 0,03 g (0,2 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ -Komplex

Es wurden 5 mL einer roten Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert wurde und einige Wochen stabil war.

Charakterisierung:

AuAP02s:

TEM: $d = 6,9 \pm 0,3 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$

DLS: $d_h = 21 \pm 5 \text{ nm}$

NMR

(von AP02s):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,23\text{-}1,32$ (bm, 10H, CH_2); 1,45 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}(\text{CH}_2)_2\text{-S}$); 1,54 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,62 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,14 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,26 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,66 (t, 1H, CH); 3,24 (d, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,66 (t, 1H, CH-NH); 3,98 (d, 1H, CH-CO), 4,64 (t, 1H, CH), 4,91 (d, 1H, CH); 7,24 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,43 (t, 3H, CH_{Ar}); 8,20 (d, 1H, NH) ppm.

AuAP03s konnte nach dem Aufreinigen nicht mehr agglomerationsfrei in deuteriertes Lösungsmittel überführt werden.

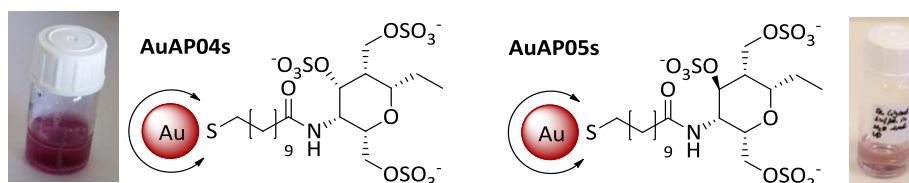
AuAP03s:

TEM: $d = 6,9 \pm 0,3 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 528 \text{ nm}$

DLS: $d_h = 25 \pm 6 \text{ nm}$

6.2.9.3.7 Immobilisierung der Epitope AP04 und AP05 auf Goldkolloide ($\varnothing = 7 \text{ nm}$) mit anschließendem Sulfatierungsschritt



Synthesevorschrift A: 0,0042 g (0,017 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) AP04; 5 mL (0,2 μM , 1 nmol Nanopartikel) AuMUDHSE; 20 μL (0,14 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 ; 0,030 g (0,2 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ -Komplex.

Nach dem Dialyseschritt wurden 3 mL AuAP04s ($c = 0,33 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten. Die Kolloidlösung wurde im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert.

Synthesevorschrift A: 0,0039 g (0,015 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) AP05; 5 mL (0,2 μM , 1 nmol Nanopartikel) AuMUDHSE; 20 μL (0,14 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 ; 0,030 g (0,2 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ -Komplex.

Nach dem Dialyseschritt wurden 3 mL AuAP05s ($c = 0,33 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten. Die Kolloidlösung wurde im Kühlschrank bei 4°C gelagert.

Charakterisierung:

AuAP04s:

TEM: $d = 7,2 \pm 0,2 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 525 \text{ nm}$

DLS: $d_h = 22 \pm 4 \text{ nm}$

NMR(von AUAP05s): $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,03$ (t, 3H, CH_3); 1,18 (bm, 10H, CH_2); 1,34 (m, 2H, CH_2 - $(\text{CH}_2)_2$ -S); 1,49 (m, 2H, CH_2 - CH_2 -CO); 1,78 (m, 2H, CH_2 - CH_2 -S); 1,94 (t, 1H, CH); 1,98 (t, 2H, CH_2 -CO); 2,69 (t, 2H, CH_2 -S); 3,51 (d, 4H, CH_2 - OSO_3^-); 3,67 (t, 1H, CH-NH); 4,78 (t, 1H, CH); 7,78 (d, 1H, NH) ppm.

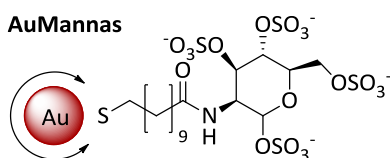
AuAP05s:

TEM: $d = 7,2 \pm 0,2 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$

DLS: $d_h = 31 \pm 5 \text{ nm}$

6.2.9.3.8 Synthese von sulfatierten Mannosamin-koordinierten Goldnanopartikeln (AuMannas, $\varnothing = 7 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift A: 0,0043 g (0,02 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) Mann; 5 mL (0,2 μM , 1 nmol NP) AuMUDHSE, 20 μL (0,14 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 , 0,030 g (0,2 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ -Komplex

Es wurden 5 mL einer klaren, roten Partikellösung ($c = 0,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei 4°C gelagert wurde und mehrere Monate stabil war.

Charakterisierung:

TEM: $d = 7,1 \pm 0,3 \text{ nm}$

DLS: $d_h = 19 \pm 5 \text{ nm}$

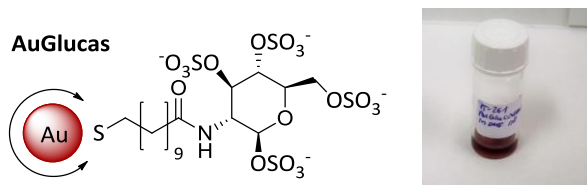
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 521 \text{ nm}$

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,24$ (bm, 12H, CH_2); 1,57 (m, 4H, CH_2 - CH_2 -CO, CH_2 - CH_2 -S); 2,07 (t, 2H, CH_2 -CO); 2,29 (t, 2H, CH_2 -S); 3,29 (d, 2H, CH_2 - OSO_3^-); 3,52 (t, 1H, CH-NH); 3,92 (d, 1H, CH), 4,29 (t, 2H, CH); 5,10 (d, 1H, CH-CO); 7,90 (d, 1H, NH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 16,65$ (CH_3), 23,47 (CH_2 - CH_2 -CO), 25,78 (CH_2), 28,12 (CH_2), 28,71 (CH_2), 28, 97 (CH_2), 29,19 (CH_2), 29,34 (CH_2), 29,90 (CH_2), 32,61 (CH_2 - CH_2 -S), 35,25 (CH_2 -CO), 61,81 (CH-NH), 69,31 (CH_2 - OSO_3^-), 76,89 (CH), 90,08 (CH), 92,49 (CH), 100,52 (CH); 172,96 (CO-NH) ppm.

ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2921,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2851,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1650,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$), 1637,8 cm^{-1} , 1527,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1451,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1393,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1210,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1087,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$), 719,7 cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).

6.2.9.3.9 Synthese von sulfatierten Glucoseamin-funktionalisierten Goldnanopartikeln (AuGlucas, $\varnothing = 7$ nm)



Synthesevorschrift A: 0,0049 g (0,02 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) Glucosamin; 5 mL (0,2 μ M, 1 nmol NP) AuMUDHSE, 20 μ L (0,14 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 , 0,030 g (0,2 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) SO_3 -DMF-Komplex.

Es wurde eine klare, rote Kolloidlösung ($c = 0,33 \mu\text{M}$) erhalten, die mehrere Monate stabil

Charakterisierung:

TEM:	d = $7,1 \pm 0,3$ nm	DLS:	d _h = 15 ± 3 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 523$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,24\text{-}1,37$ (bm, 12H, CH_2); 1,54 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,62 (quin, 2H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,14 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,68 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,62 (d, 2H, $\text{CH-CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,93 (t, 1H, CH-NH); 4,28 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 4,74 (t, 1H, CH); 6,42 (t, 1H, CH); 7,32 (d, 1H, CH-CO); 8,18 (d, 1H, NH) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	$2922,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2851,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1632,5 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$), $1530,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $1451,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1399,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1258,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1222,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1065,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$), $1032,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$), $720,1 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\text{CH}_2\text{-rocking}$).		

6.2.9.3.10 Synthese von Glucas-funktionalisierten Goldnanopartikeln ($\varnothing = 10$ nm)

Synthesevorschrift B: 3 mL (0,197 μM , 0,6 nmol, 1 Äq. in DMSO) AuMUDA; 0,004 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.) HOBt, 0,011 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.) HBTU, Glucas (0,015 g, $2,55 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,3 \cdot 10^4$ Äq.), 7,5 μL ($5,29 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,8 \cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 , 6 mL DMSO .

Es wurde eine klare, rote Kolloidlösung ($c = 0,12 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die mehrere Wochen stabil war.

Charakterisierung:

TEM:	d = $9,6 \pm 0,3$ nm	DLS:	d _h = 16 ± 3 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 526$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,10\text{-}1,28$ (bm, 12H, CH_2); 1,65 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,77 (quin, 2H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,04 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,70 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,57 (q, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,63 (t, 1H, CH-NH); 3,70 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 5,79 (t, 1H, CH); 6,01 (t, 1H, CH); 6,42 (d, 1H, CH-CO); 7,90 (d, 1H, NH) ppm.		

6.2.9.3.11 Synthese von sulfatierten Glucosamin- funktionalisierten Goldnanopartikeln
(AuGlucas $\varnothing = 14$ nm)

Synthesevorschrift C: 15 mL (1,72 nM, 0,024 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AuCitrat (d = 14 nm); 0,020 g (0,025 mmol, $1 \cdot 10^6$ Äq.) LigGlucas; Millipore-Wasser.

Es wurden 10 mL einer klaren, roten Lösung (c = 2,4 nmol / L) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt und war mehrere Wochen optisch stabil.

Charakterisierung:

TEM: - DLS: $d_h = 20 \pm 6$ nm
 UV/Vis: $\lambda_{max} = 528$ nm
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,07\text{-}1,17$ (bm, 12H, CH_2); 1,31 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,71 (m, 2H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,77 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,28 (q, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,65 (t, 1H, CH-NH); 3,89 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 4,57 (t, 1H, CH); 4,59 (t, 1H, CH); 5,24 (d, 1H, CH-CO); 7,93 (d, 1H, NH) ppm.

6.2.9.3.12 Synthese von sulfatierten Glucosamin- funktionalisierten Goldnanopartikeln
(AuGlucas $\varnothing = 25$ nm)

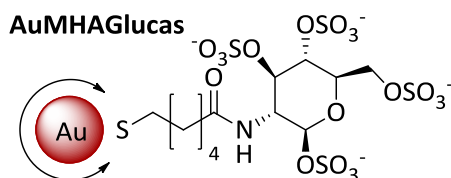
Synthesevorschrift D: 50 mL (0,25 nM, 0,013 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AuCitrat (d = 25 nm); 0,020 g (0,025 mmol, $1,9 \cdot 10^6$ Äq.) LigGlucas; Millipore-Wasser.

Es wurde eine klare, violette Kolloidlösung (c = 0,52 nmol / L) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM: - DLS: $d_h = 33 \pm 8$ nm
 UV/Vis: $\lambda_{max} = 535$ nm

6.2.9.3.13 Immobilisierung von Glucas auf AuMHA (AuMHAGlucas, $\varnothing = 8$ nm)



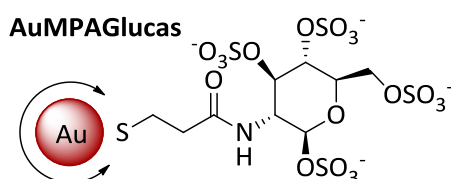
Synthesevorschrift B (analog AuMUDA): 3 mL (0,7 μM , 2,1 nmol, 1 Äq. in DMSO) AuMHA; 0,004 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $1,3 \cdot 10^4$ Äq.) HOBt, 0,011 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $1,3 \cdot 10^4$ Äq.) HBTU, Glucas (0,016 g, $2,55 \cdot 10^{-5}$ mol, $1,3 \cdot 10^4$ Äq.), 7,5 μL ($5,29 \cdot 10^{-5}$ mol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 , 6 mL DMSO.

Es wurden 3 mL einer klaren, roten Lösung ($c = 0,7 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert wurde und mehrere Wochen stabil war.

Charakterisierung:

TEM: - DLS: $d_h = 10 \pm 2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 528 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,32$ (quin, 2H, CH_2); 1,48 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 1,59 (quin, 2H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,77 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,78 (q, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,85 (t, 1H, CH-NH); 3,99 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 4,49 (t, 1H, CH); 4,59 (t, 1H, CH); 5,41 (d, 1H, CH-CO); 7,82 (d, 1H, NH) ppm.

6.2.9.3.14 Immobilisierung von Glucas auf AuMPA (AuMPAGlucas, $\varnothing = 5 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift B (analog AuMUDA): 3 mL ($2,85 \mu\text{M}$, 9 nmol, 1 Äq. in DMSO) AuMPA; 0,004 g ($2,65 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $2,9 \cdot 10^4$ Äq.) HOBt, 0,011 g ($2,65 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $2,9 \cdot 10^4$ Äq.) HBTU, Glucas (0,016 g, $2,55 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $2,9 \cdot 10^4$ Äq.), $7,5 \mu\text{L}$ ($5,29 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $6 \cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 , 6 mL DMSO.

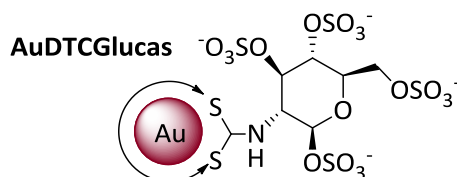
Es wurden 5 mL einer klaren, roten Lösung ($c = 1,8 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert wurde und mehrere Wochen stabil war.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,9 \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 31 \pm 8 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 522 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 2,32$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,67 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,81 (t, 1H, CH-NH); 4,12 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 4,40 (t, 1H, CH); 5,74 (t, 1H, CH); 5,80 (d, 1H, CH-CO); 7,93 (d, 1H, NH) ppm.
 Signal ($\text{CH-CH}_2\text{-OSO}_3^-$) wird durch Wasser-Signal (3,33) überdeckt

6.2.9.3.15 Synthese von AuDTCGlucas ($\varnothing = 14 \text{ nm}$)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von Kailasa *et al.*^[347])



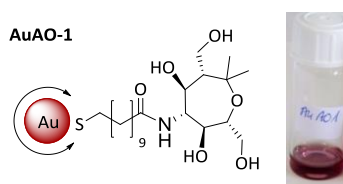
6 Experimenteller Teil

Zur Darstellung von AuDTCGlucas wurden zunächst 10 μL (0,17 mmol, $6,5 \cdot 10^6$ Äq.) Kohlenstoffdisulfid mit 0,024 g (0,17 mmol, $6,5 \cdot 10^6$ Äq.) Glucas und 15 μL (0,1 mmol, $3,8 \cdot 10^6$ Äq.) NEt_3 in 1 mL Millipore-Wasser gemischt und 10 min bei Raumtemperatur im Ultraschallbad behandelt. Im Anschluss daran wurde die Ligandlösung unter starkem Rühren zu einer 1,72 nmol AuCitrat-Lösung (15 mL, 0,026 nmol, 1 Äq.) gegeben und eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt, wobei diese langsam dunkler wurde. Danach wurde die Reaktionslösung mit Ethanol gefällt und zentrifugiert (3500 rpm, 10 min). Der erhaltene Rückstand wurde in 5 mL Millipore-Wasser resuspendiert und abschließend in einem weiteren Reinigungsschritt gegen Millipore-Wasser dialysiert (MWCO: 3500-6000 Da, 400 mL Millipore-Wasser, 3 h). Nach dem Dialyseschritt betrug das Lösungsmittelvolumen 5,4 mL. Somit wurde eine klare, rote Kolloidlösung mit einer Konzentration von 4,81 nmol / L an Nanopartikeln erhalten. Die Lösung wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

Charakterisierung:

TEM:	-	DLS:	$d_h = 19 \pm 5$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 528$ nm		
ATR-IR(Diamant-Einfachreflexion):	$3328,6$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); $3003,3$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C=C-H})$); $2953,1$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-H})$); $2916,4$ cm^{-1} (s, $\nu_{\text{sym}}(\text{C-H})$); $2847,9$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); $1718,1$ cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); $1522,9$ cm^{-1} (s); $1485,7$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1378,4$ cm^{-1} (s, $\delta(\text{O-H})$); $1258,7$ cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); $1089,9$ cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-H})$); $1014,2$ cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$).		

6.2.9.3.16 Synthese von AuAO-1-koordinierten Goldnanopartikeln (AuAO-1, $\varnothing = 7$ nm)



Synthesevorschrift A (analog zu AuSyn3s ohne Sulfatierungsschritt): 0,0047 g (0,02 mmol, $2,0 \cdot 10^4$ Äq.) AO1; 5 mL (0,2 μmol / L, 1 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AuMUDHSE; 20 μL (0,14 mmol, $1,4 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 .

Es wurden 5 mL (abs. DMF) einer roten Kolloidlösung ($c = 0,2$ μmol / L) erhalten, die bei 4 °C im Kühlschrank gelagert wurde und mehrere Monate optisch stabil war.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,7 \pm 0,3$ nm	DLS:	$d_h = 23 \pm 5$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 526$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,17$ - $1,37$ (bm, 18H, CH_3 , CH_2); 1,47 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,61 (quin, 2H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,17 (d, 1H, CH); 2,24 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,70 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,57 (q, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,73 (d, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$);		

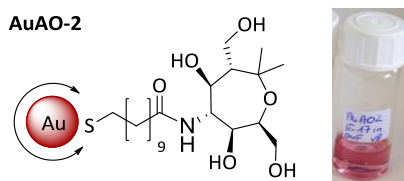
6 Experimenteller Teil

3,93 (t, 1H, CH-NH); 5,57 (t, 1H, CH); 5,59 (t, 1H, CH); 7,90 (d, 1H, NH) ppm.

Signal (CH-CO) wird durch Wasser-Signal (3,33) überdeckt

ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 3305,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{O-H})$); 2924,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2852,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1710,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1657,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1599,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$); 1437,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1385,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1255,7 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1229,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1163,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1093,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1063,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$), 720,3 cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).

6.2.9.3.17 Synthese von AO-2-funktionalisierten Goldnanopartikeln (AuAO-2, $\varnothing = 7 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift A (analog zu AuSyn3s ohne Sulfatierungsschritt): 0,0048 g (0,02 mmol, $2,0 \cdot 10^4$ Äq.) AO-2; 5 mL (0,2 $\mu\text{mol} / \text{L}$, 1 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AuMUDHSE; 20 μL (0,14 mmol, $1,4 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 .

Es wurden 5 mL (abs. DMF) einer roten Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die bei 4 °C im Kühlschrank gelagert wurde und mehrere Monate optisch stabil war.

Charakterisierung:

TEM: $d = 6,7 \pm 0,3 \text{ nm}$

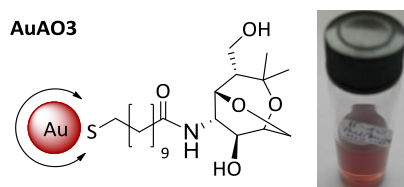
DLS: $d_h = 20 \pm 5 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 524 \text{ nm}$

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,05\text{-}1,56$ (bm, 22H, CH_3 , CH_2 , $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 1,99 (d, 1H, CH); 2,14 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,74 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,39 (q, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,45 (d, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,80 (m, 1H, CH-NH); 5,14 (t, 1H, CH); 5,70 (t, 1H, CH); 7,92 (d, 1H, NH) ppm.

Signal (CH-CO) wird durch Wasser-Signal (3,33) überdeckt

6.2.9.3.18 Immobilisierung von AO-3 auf Goldnanopartikel (AuAO-3, $\varnothing = 7 \text{ nm}$)

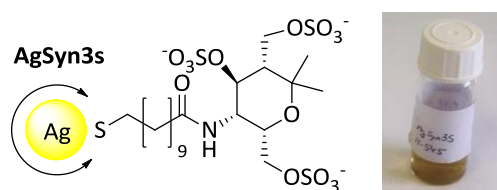


Synthesevorschrift A (analog zu AuSyn3s ohne Sulfatierungsschritt): 0,032 g (0,15 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq.) AO-3; 4 mL (0,15 $\mu\text{mol} / \text{L}$, 0,6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AuMUDHSE; 20 μL (0,14 mmol, $2,3 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 .

Es wurden 5 mL (abs. DMF) einer roten Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,8 \pm 0,3 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 60 \pm 16 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 549 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,25\text{-}1,77$ (bm, 22H, CH_3 , CH_2 , $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,17 (d, 1H, CH); 2,23 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,70 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,66 (d, 2H, CH_2); 3,74 (d, 2H, CH_2); 3,92 (q, 1H, CH-NH); 4,47 (t, 1H, CH); 4,69 (t, 1H, CH); 7,97 (d, 1H, NH) ppm. einige Signale (CH) werden durch Lösungsmittelsignal von DMF und Wasser-Signal (2,89; 3,33) überdeckt $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 25,20$ ($\text{CH}_2\text{-S}$), 25,53 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 28,08 (CH_2), 28,42 (CH_2), 28,71 (CH_2), 28,91 (CH_2), 29,11 (2x CH_3), 29,40 (CH_2), 30,08 (CH_2), 34,84 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 36,68 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 48,45 (CH), 53,29 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 59,80 (CH-NH), 65,98 (CH); 68,47 (CH), 72,21 (CH_2), 76,77 (CH), 81,75 (CH), 172,96 (CO-NH) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	$2924,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2852,9 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1709,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1657,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1435,3 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1386,6 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1218,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{O-H})$); $1154,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1123,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1017,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).		

6.2.9.4 Multivalente Präsentation der Kohlenhydratmimetika durch Silbernanopartikel6.2.9.4.1 Synthese von AgSyn3s ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift A (analog zu AuNP): 0,004 g (0,02 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) *Syn3*; 2,5 mL (0,4 μmol / L, 1 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AgMUDHSE; 20 μL (0,14 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 , 0,03 g (0,2 mmol, $2 \cdot 10^5$ Äq.) $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ -Komplex. 25 μL (0,18 mmol, $1,8 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 ; 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) 2-Aminoethyl-hydrogensulfat; 2 ml abs. DMF, 5 mL Milipore-Wasser

Es wurde eine klare, dunkelgelbe Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die mehrere Wochen stabil war.

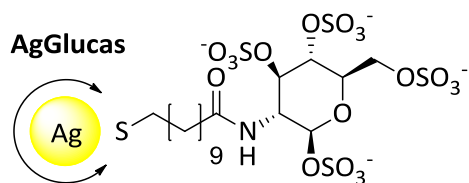
Charakterisierung:

TEM:	$d = 4,8 \pm 0,4 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 22 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 426 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,24\text{-}1,43$ (bm, 16H, CH_2, CH_3); 1,46 (quin, 2H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,64 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 1,70 (q, 1H, CH); 2,20 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,67 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,65 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,68 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,83 (q, 1H, CH-NH); 4,07 (q, 1H, CH); 4,15 (t, 1H, CH), 7,42 (d, 1H, NH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 24,33$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 26,27 (CH_2), 28,03 (2x CH_3), 28,26 (CH_2), 28,58 (CH_2), 28,94 (CH_2), 29,16 (CH_2), 29,44 (CH_2), 29,71 (CH_2), 32,83		

6 Experimenteller Teil

(CH₂-CH₂-S), 36,86 (CH₂-CO), 51,46 (CH-CH₂-OSO₃⁻), 56,80 (CH-NH), 62,31 (CH₂-OSO₃⁻), 67,02 (CH), 75,61 (CH), 76,52 (CH-O), 178,00 (CO-NH) ppm.

6.2.9.4.2 Synthese von AgGlucas (∅ = 5 nm)



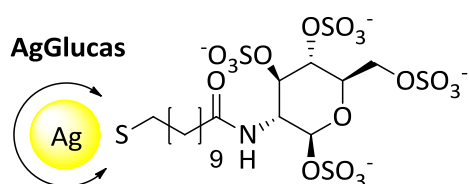
Synthesevorschrift A (analog zu AuNP): 0,005 g (0,02 mmol, 1·10⁵ Äq.) Glucosamin; 2,5 mL (0,4 µmol / L, 1 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AgMUDHSE; 20 µL (0,14 mmol, 2·10⁵ Äq.) NEt₃, 0,03 g (0,2 mmol, 2·10⁵ Äq.) SO₃·DMF-Komplex. 25 µL (0,18 mmol, 1,8·10⁵ Äq.) NEt₃; 0,002 g (0,014 mmol, 2,5·10⁴ Äq.) 2-Aminoethyl-hydrogensulfat; 2 ml abs. DMF, 5 mL Millipore-Wasser

Es wurde eine klare, dunkelgelbe Kolloidlösung (c = 0,2 µmol / L) erhalten, die mehrere Wochen stabil war.

Charakterisierung:

TEM:	d = 4,8 ± 0,4 nm	DLS:	–
UV/Vis:	–		
NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, DMSO-d ₆): δ = 1,15-1,48 (m, 12 H, CH ₂), 1,56 (quin, 2H, CH ₂ -CH ₂ -CO); 1,85 (quin, 2 H, CH ₂ -CH ₂ -S); 2,15 (t, 2 H, CH ₂ -CO); 2,63 (t, 2 H, CH ₂ -S); 3,64 (q, 1 H, CH-NH), 3,43 (t, 2H, C _H); 3,57 (t, 2 H CH); 3,70-3,76 (m, 4 H, CH, CH ₂); 7,29 (d, 1 H, CH-O); 8,43 (d, 1 H; NH) ppm.		
ATR-IR (Diamant- Einfachreflexion)	3372,2 cm ⁻¹ (s, ν(O-H)); 2918,1 cm ⁻¹ (s, ν(C-H)); 2849,5 cm ⁻¹ (s, ν(C-H)); 1688,1 cm ⁻¹ (m, ν(C=O)); 1643,5 cm ⁻¹ (m, ν(C=O)), 1538,2 cm ⁻¹ (s); 1468,2 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1400,7 cm ⁻¹ (s, δ(O-H)); 1225,0 cm ⁻¹ (m, ν(C-O)); 1090,7 cm ⁻¹ (w, ν(C-H)); 718,7 cm ⁻¹ (w, CH ₂ -rocking).		

6.2.9.4.3 Synthese von AgGlucas durch Ligandenaustauschreaktion (∅ = 17 nm)



Synthesevorschrift C (analog zu AuNP): 15 mL (1,77 nM, 0,027 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AgCitrat (d = 17 nm); 0,020 g (0,025 mmol, 1·10⁶ Äq.) LigGlucas; Millipore-Wasser.

Es wurden 10 mL einer klaren, gelben Lösung (c = 2,7 nmol / L) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt.

Charakterisierung:

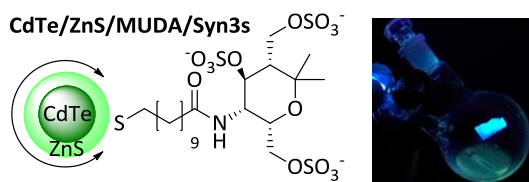
TEM:	–	DLS:	d _h = 31 ± 5 nm
------	---	------	----------------------------

6 Experimenteller Teil

UV/Vis: $\lambda_{\max} = 428 \text{ nm}$
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $2922,9 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2849,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1631,5 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C=O})$); $1137,4 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.9.5 Multivalente Präsentation der Kohlenhydratmimetika durch CdTe/ZnS-QDots

6.2.9.5.1 Immobilisierung von Syn3s auf MUDA-koord.-CdTe/ZnS-QDots ($\varnothing = 2,5 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 3 mL (2,35 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,015 g ($3 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Syn3s; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Syn3s-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) schwach grün leuchtete. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung:

TEM: $d = 2,5 \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 4 \pm 1 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\max} = 443 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,02\text{-}1,45$ (bm, 22H, CH_3 , CH_2 , $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 1,87 (q, 1H, CH); 2,33 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,52 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,28 (d, 2H, CH_2); 3,34 (d, 2H, CH_2); 3,56 (q, 1H, CH-NH); 3,63 (q, 1H, CH- $\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$); 3,92 (t, 1H, CH); 7,97 (d, 1H, NH) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 25,13$ ($\text{CH}_2\text{-S}$), 26,39 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 26,96 (CH_2), 28,01 (CH_2), 28,30 (CH_2), 29,03 (CH_2), 29,25 (2x CH_3), 29,73 (CH_2), 30,02 (CH_2), 34,89 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 36,63 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 48,71 (CH), 55,23 ($\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$), 60,08 (CH-NH), 65,68 (CH- $\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$); 70,89 (CH), 71,91 (CH_2), 79,83 (CH), 160,58 (CO-NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $2935,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1636,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1560,5 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $1463,5 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1380,0 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1262,2 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1056,7 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.9.5.2 Immobilisierung von Syn3s auf MHA-koord.-CdTe/ZnS-QDots ($\varnothing = 3,5 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL (5,79 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g

(0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,015 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Syn3s; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Syn3s-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung:

TEM: $d = 3,5 \pm 0,3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 486 \text{ nm}$

6.2.9.5.3 Immobilisierung von Syn3s auf TGA-koord.-CdTe/ZnS-QDots ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)

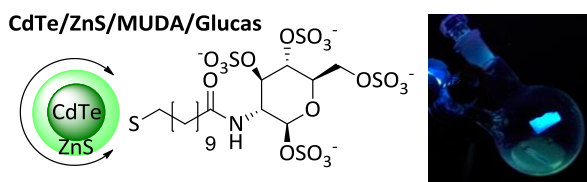
Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 5,6 mL ($1,07 \mu\text{mol} / \text{L}$, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/TGA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,015 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Syn3s; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Syn3s-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, orange Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) rot fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung:

TEM: $d = 5,0 \pm 0,2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 592 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $2930,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1651,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1576,4 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{N-H})$); $1402,9 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{C-H})$); $1258,0 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1106,9 \text{ cm}^{-1}$ $1056,7 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1046,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.9.5.4 Immobilisierung von Glucas auf MUDA-koord.-CdTe/ZnS-QDots ($\varnothing = 2,5 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 3 mL ($2,35 \mu\text{mol} / \text{L}$, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,018 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Syn3s; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Glucas-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) schwach grün leuchtete. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung:

TEM: $d = 2,5 \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: -
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 435 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,14\text{-}1,32$ (bm, 12H, CH_2); 1,65 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,42 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,77 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,89 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$); 3,87 (q, 1H, CH-NH); 4,23 (t, 1H, CH); 4,45-4,51 (m, 2H, CH); 7,92 (d, 1H, NH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $1640,5 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1543,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $1386,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1231,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1099,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.9.5.5 Immobilisierung von Glucas auf MHA-koord.-CdTe/ZnS-QDots ($\phi = 3,5 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL ($5,79 \mu\text{mol} / \text{L}$, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,015 g ($3 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Glucas; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Glucas-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung:

TEM: $d = 3,5 \pm 0,3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 499 \text{ nm}$ Emission: $\lambda_{\text{max}} = 512 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,27$ (m, 2H, CH_2); 1,87 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,89 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,26 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,71 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,17 (d, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,34 (q, 1H, CH-NH); 3,57 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,74 (m, 2H, CH); 7,92 (d, 1H, NH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $2928,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2853,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1600,5 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1417,1 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1238,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1114,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.9.5.6 Immobilisierung von Glucas auf TGA-koord.-CdTe/ZnS-QDots ($\phi = 5 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 5,6 mL ($1,07 \mu\text{mol} / \text{L}$, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/TGA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g

(0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,015 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Glucas; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

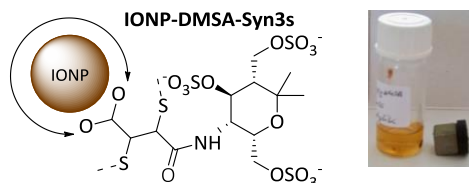
Die Glucas-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, orange Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) rot fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4°C .

Charakterisierung:

TEM: $d = 5,1 \pm 0,2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 584 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 3,08$ (s, 2H, CH_2); 3,11 (m, 1H, CH); 3,34 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 3,83 (m, 1H, CH-NH); 4,06 (t, 2H, CH); 7,92 (d, 1H, NH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $1653,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1558,7 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $1404,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1225,5 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1099,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1043,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.9.6 Multivalente Präsentation von Syn3s und Glucas durch Eisenoxidnanopartikel

6.2.9.6.1 Immobilisierung von Syn3s auf Eisenoxidnanopartikel ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)



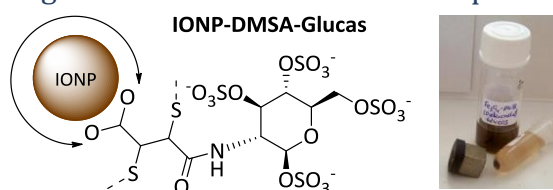
Synthesevorschrift G: 0,002 g (1 nmol Nanopartikel, 1 Äq., $d = 5 \text{ nm}$) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,043 g ($8,37 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,37 \cdot 10^4$ Äq.) Syn3s; Millipore-Wasser

Es wurde eine braune Kolloidallösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,2 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 12 \pm 3 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $2962,0 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1636,3 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C=O})$); $1584,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $1487,4 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1417,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1354,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1260,1 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1107,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1024,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.9.6.2 Immobilisierung von Glucas auf Eisenoxidnanopartikel ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)



6.2.10 Immobilisierung von azyklischen Aminen auf die Nanopartikeloberfläche

6.2.10.1 Allgemeine Synthesevorschriften

6.2.10.1.1 Allgemeine Synthesevorschrift zur Sulfatierung der Epitope (A)

1 mmol des zu sulfatierenden Epitops wurden mit der entsprechenden Menge $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ -Komplex in 20 mL absolutem DMF gelöst und 2,5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das DMF wurde im Anschluss am Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand wurde mit 5 mL 1 M Natronlauge versetzt. Die Mischung wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Ethanol gefällt, um mögliche Verunreinigungen abzutrennen. Das Rohprodukt wurde am Ölpumpenvakuum getrocknet und der erhaltene farblose bis hellgelbe Feststoff ohne weitere Aufarbeitung für die Kupplungsreaktionen verwendet.

6.2.10.1.2 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der sulfatierten Aminoalkohole auf die Edelmetallnanopartikel durch Kupplungsreaktionen mit Aktivester-koordinierten Gold- bzw. Silbernanopartikeln (B)

Der Syntheseverlauf der Immobilisierung der unterschiedlichen Aminoalkohole auf die Edelmetallnanopartikel ist in Abb. 115 gezeigt. Dazu wurden 0,34 nmol einer Lösung der MUDHSE-funktionalisierten Nanopartikel in einem ausgeheizten Kolben unter Schutzgasatmosphäre vorgelegt und mit einer Lösung aus der angegebenen Menge des primärenamins in 2 mL absolutem DMF versetzt. Unter starkem Rühren wurden nach 15 min 25 μL (0,18 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq) Triethylamin zugegeben und weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq) 2-Aminoethylhydrogensulfat zugegeben, um noch vorhandene Aktivesterfunktionen umzusetzen. Die klare, rote Reaktionslösung wurde weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend zuerst gegen DMF dialysiert (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 300 mL DMF, jeweils 3 h) und danach das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Abschließend wurden die Partikel in 5 mL Millipore-Wasser redispersiert und gegen Millipore-Wasser dialysiert (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 300 mL Millipore-Wasser, jeweils 3 h).

6.2.10.1.3 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der sulfatierten Aminoalkohole auf Goldkolloide ($\varnothing = 10$ nm) durch HBTU / HOBt-Kupplung (C)

In einen ausgeheizten Kolben wurden 3 mL (0,197 μM , 0,6 nmol, 1 Äq. in DMSO) MUDA-koordinierte Goldkolloide vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Gleichzeitig wurden

in einem zweiten ausgeheizten Kolben 0,004 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.) HOBt und 0,011 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.) HBTU gelöst und in einem weiteren Kolben das zu immobilisierende Epitop ($2,64 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.), jeweils in 2 mL DMSO gelöst und am Vakuum 30 min entgast, bevor die Kolben wieder mit Argon geflutet wurden. Unter starkem Rühren wurde die HOBt/HBTU-Lösung zu der Kolloidlösung gegeben. Im nächsten Schritt wurden 7,5 μ L ($5,29 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,8 \cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 langsam zugetropft, bevor dann die Epitop-Lösung zugegeben wurde. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der Fortgang der Reaktion wurde per DC-Kontrolle überprüft. Zur Aufreinigung des Rohproduktes wurde zuerst gegen DMSO (MWCO: 3500-6000 Da, 600 mL DMSO, 2 h) und dann gegen DMF (3500-6000 Da, dreimal je 600 mL DMF, jeweils 3 h) dialysiert. Am Ölpumpenvakuum wurde dann im Anschluss das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 5 mL Millipore-Wasser gelöst und abschließend noch einmal gegen Millipore-Wasser (3500-6000 Da, dreimal je 600 mL Millipore- H_2O , jeweils 2 h) dialysiert

6.2.10.1.4 Allgemeine Synthesevorschrift für die Ligandenaustauschreaktion an Citrat-koordinierten Edelmetallnanopartikel (D)

Zu einer wässrigen Lösung Citrat-koordinierter Edelmetallnanopartikel (50 mL einer 1,72 nM Lösung, 0,086 nmol Nanopartikel) wurde die Ligandenlösung (0,04 mmol, $1,6 \cdot 10^6$ Äq.; in 1 mL dest. Wasser) gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde gegen Wasser dialysiert (MWCO: 4000-6000, dreimal je 800 mL dest. Wasser, jeweils 3 h). Nach der Dialyse wurde die Nanopartikellösung im Ölpumpenvakuum eingeeengt.

6.2.10.1.5 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der sulfatierten azyklischen Aminoalkohole auf die QDots durch eine Kupplungsreaktion mit EDC / sulfo-NHS (E)

Zur Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika auf CdTe/ZnS-QDots wurde ein Verhältnis der Kupplungsreagenzien von 1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS) bzw. 1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS) gewählt. Der allgemeine Syntheseverlauf sah dabei zunächst die Vorbereitung der Lösungen vor. Dazu wurde 6 nmol (1 Äq.) der CdTe/ZnS-QDots in 3 mL H_2O gelöst und 1 h bei Raumtemperatur im Argonstrom entgast. Analog dazu wurden in zwei ausgeheizten Kolben $6 \cdot 10^{-6}$ mol ($1 \cdot 10^3$ Äq.) EDC bzw. $1,5 \cdot 10^{-5}$ mol ($2,5 \cdot 10^3$ Äq.) sulfo-NHS in je 1 mL H_2O gelöst und bei Raumtemperatur unter Schutzgasbedingungen 30 min gerührt. Danach wurden zur Aktivierung der Partikellösung die EDC-Lösung und die sulfo-NHS-Lösung zugegeben und unter Schutzgasbedingungen 30 min gerührt. Währenddessen wurden $3 \cdot 10^{-5}$ mol ($3 \cdot 10^3$ Äq.) Ligand in 3 mL 1 M NaOH gelöst, kurz entgast und im Anschluss unter starkem Rühren zu der aktivierten

Partikellösung gegeben. Die Reaktionslösung wurde 2 h bei Raumtemperatur im Dunkeln gerührt. Zur Aufreinigung wurde die Partikellösung dialysiert (Zelluloseester (MWCO: 3500-5000 Da, dreimal je 500 mL Millipore-H₂O, dreimal 1 h). Nach der Dialyse wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt und die funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen.

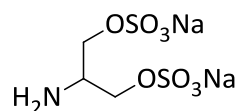
6.2.10.1.6 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der sulfatierten Liganden auf IONP (F)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Xiong et al.* ^[346])

Die Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika auf die Eisenoxidnanopartikel erfolgte ebenfalls durch Kupplung mit EDC /sulfo-NHS. Dazu wurden 0,002 g (1 Äq.) der Eisenoxidnanopartikel in 10 mL Millipore-Wasser gelöst. Unter starkem Rühren wurden 0,05 mmol EDC und 0,05 mmol NHS in je 1 mL Millipore-Wasser zugegeben. Nach 15 min wurde die Zugabe von EDC und NHS wiederholt und die Reaktionslösung weitere 15 min gerührt. Anschließend wurden 0,15 mmol Ligand (gelöst in 1 mL Millipore-Wasser) zugetropft und die Reaktionslösung 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufarbeitung der funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel erfolgte durch Zentrifugation (12000 rpm, 25 min), Abdekandieren des Lösungsmittels und Waschen mit Ethanol. Der Vorgang wurde dreimal wiederholt. Die erhaltenen Eisenoxidnanopartikel wurden am Ölpumpenvakuum getrocknet und in 2 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Falls notwendig erfolgte ein weiterer Aufreinigungsschritt durch Dialyse (MWCO: 6000-8000 Da, 500 mL Millipore-Wasser, 3 h).

6.2.10.2 Synthese der Liganden

6.2.10.2.1 Sulfatierung von Serinol (Sers)



Sers (M = 295,20 g / mol)

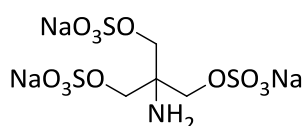
Synthesevorschrift A: 0,127 g (1,39 mmol, 1 Äq.) Serinol; 0,532 g (3,48 mmol, 2,5 Äq.) SO₃-DMF-Komplex in 11 mL DMF.

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierungsreaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 3,35$ (m, 1H, CH); 3,66 (d, 4H, CH_2) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 49,03$ (CH); 66,45 (CH_2); 68,18 (CH_2) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3454,4 (s, $\nu(\text{N-H})$); 2960,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2923,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2851,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1617,5 cm^{-1} (s, $\delta(\text{NH}_2)$); 1443,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1427,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1358,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1136,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1108,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).
MS (ESI):	$m/z = 249,86$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (berechnet für $[(\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_8\text{S}_2)^{2-} + \text{H}]^+ = 249,96$)

6.2.10.2.2 Sulfatierung von TRIS (TRISs)



TRISs (M = 427,27 g / mol)

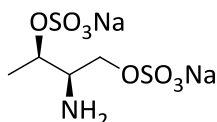
Synthesevorschrift A: 0,182 g (1,50 mmol, 1 Äq.) TRIS; 0,918 g (6,0 mmol, 4 Äq.) $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein hellgelber Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierungsreaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 4,02$ (s, 6H, CH_2); 8,44 (s, 2H, NH_2) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 54,04$ (C); 68,43 (CH_2) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3457,9 (s, $\nu(\text{N-H})$); 2961,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2817,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2733,3 cm^{-1} (w); 1603,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{NH}_2)$); 1466,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1384,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1355,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1255,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1109,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1070,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.2.3 Sulfatierung von L-Threoninol (Threos)



Threos (M = 309,23 g / mol)

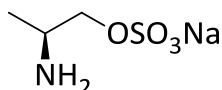
Synthesevorschrift A: 0,151 g (1,50 mmol, 1 Äq.) L-Threoninol; 0,573 g (3,75 mmol, 2,5 Äq.) $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierungsreaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, D ₂ O): δ = 1,16 (d, 3H, CH ₃); 2,74 (m, 1H, CH-NH ₂); 3,70 (d, 2H, CH ₂ -OSO ₃ Na); 4,10 (quin, 1H, CH-CH ₃) ppm. ¹³ C-NMR (100 MHz, D ₂ O): δ = 17,22 (CH ₃); 54,96 (CH-NH ₂); 68,22 (CH ₂ -OSO ₃ Na) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3442,1 (s, ν(N-H)); 1618,8 cm ⁻¹ (s, δ(NH ₂)); 1442,3 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1425,9 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1141,2 cm ⁻¹ (s, ν(C-O)).
MS (ESI):	m / z = 264,00 [M+H] ⁺ (berechnet für [(C ₄ H ₈ NO ₈ S ₂) ²⁻ + H] ⁺ = 263,98)

6.2.10.2.4 Sulfatierung von DL-Alaninol (Alans)



Alans (M = 177,15 g / mol)

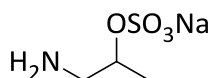
Synthesevorschrift A: 0,113 g (1,50 mmol, 1 Äq.) DL-Alaninol; 0,344 g (2,25 mmol, 1,5 Äq.) SO₃-DMF-Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierungsreaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, DMSO-d ₆): δ = 0,91 (d, 3H, CH ₃); 2,84-2,93 (m, 1H, CH-NH ₂); 3,47 (d, 2H, CH ₂ -OSO ₃ Na) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3439,2 (s, ν(N-H)); 2922,3 cm ⁻¹ (s, ν(C-H)); 2850,4 cm ⁻¹ (s, ν(C-H)); 1614,3 cm ⁻¹ (m, δ(NH ₂)); 1457,2 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1358,6 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1127,4 cm ⁻¹ (s, ν(C-O)).

6.2.10.2.5 Synthese von sulfatiertem Amino-2-propanol (IPAs)



IPAs (M = 177,15 g / mol)

Synthesevorschrift A: 0,113 g (1,50 mmol, 1 Äq.) Amino-2-propanol; 0,344 g (2,25 mmol, 1,5 Äq.) SO₃-DMF-Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierungsreaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

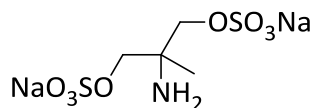
Charakterisierung:

NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, DMSO-d ₆): δ = 1,10 (d, 3H, CH ₃); 2,84 (q, 2H, CH ₂ -NH ₂); 3,97-4,19 (m, 1H, CH-OSO ₃ Na) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3405,0 (s, ν(N-H)); 2926,0 cm ⁻¹ (s, ν(C-H)); 2831,4 cm ⁻¹ (s, ν(C-H)); 1620,9 cm ⁻¹

6 Experimenteller Teil

(m, $\delta(\text{NH}_2)$); $1431,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1361,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1112,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.2.6 Sulfatierung von Ammediol (AMPDs)



AMPDs (M = 309,23 g / mol)

Synthesevorschrift A: 0,158 g (1,50 mmol, 1 Äq.) Ammediol; 0,573 g (3,75 mmol, 1,5 Äq.) $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex in 10 mL DMF.

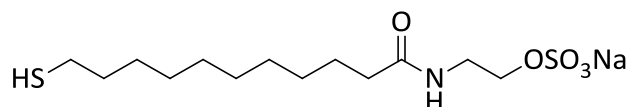
Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierungsreaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 0,95$ (d, 3H, CH_3); 3,54 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$) ppm.

IR (KBr-Pressling) $3444,8$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $2925,1 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1606,5 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{NH}_2)$); $1351,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1113,7 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.2.7 EDC / HOBt-Kupplung von EA mit S-Acetylsulfanylundecansäure mit anschließendem Sulfatierungsschritt (LigEAs)



LigEAs (M = 363,47 g / mol)

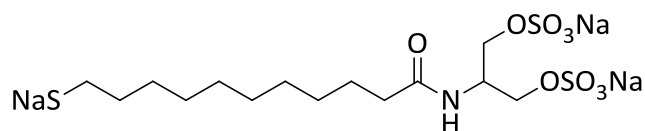
0,132 g (0,5 mmol, 1 Äq.) S-Acetylsulfanylundecansäure wurden in 25 mL Dichlormethan gelöst und auf 0°C abgekühlt. Unter starkem Rühren wurde zu der Reaktionslösung 0,034 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) Ethanolamin, 76 μL (0,55 mmol, 1,1 Äq.) NEt_3 und 0,074 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) HOBt gegeben. Nach 5 min wurden 0,105 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) EDC zugegeben und die Reaktionslösung über Nacht gerührt. Als Nächstes wurde die Reaktionslösung je zweimal mit 0,5 M Zitronensäure und gesättigter NaHCO_3 -Lösung extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt am Ölpumpenvakuum getrocknet. Im anschließenden Sulfatierungsschritt wurden 0,04 g des Rohprodukts mit 0,070 g (0,49 mmol) $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex in 5 mL DMF 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 25 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum eingengt und der Rückstand mit Ethanol verdünnt.

Dabei fiel ein farbloser Niederschlag aus. Die Suspension wurde 48 h im Kühlschrank gelagert, bevor der Niederschlag abfiltriert und am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde. Es wurde ein farbloser Feststoff (0,41 mmol, 81%) erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierung auf die Nanopartikel verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, DMSO-d ₆): δ = 1,24-1,37 (bm, 12H, CH ₂); 1,49 (m, 4H, CH ₂ -CH ₂ -CO, CH ₂ -CH ₂ -S); 2,05 (t, 2H, CH ₂ -CO); 2,81 (t, 2H, CH ₂ -S); 3,37 (t, 2H, CH ₂ -OSO ₃ ⁻); 3,68 (q, 2H, CH ₂ -NH); 3,92 (d, 1H, CH); 7,41 (t, 1H, NH) ppm. ¹³ C-NMR (100 MHz, DMSO-d ₆): δ = 24,44 (CH ₂ -CH ₂ -CO), 25,29 (CH ₂), 27,72 (CH ₂), 28,09 (CH ₂), 28, 29 (CH ₂), 28,44 (CH ₂), 28,62 (CH ₂), 28,76 (CH ₂), 33,32 (CH ₂ -CH ₂ -S), 35,38 (CH ₂ -CO), 38,85 (CH ₂ -NH), 60,17 (CH ₂ -CH ₂ -NH), 172,06 (CO-NH) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3286,1 cm ⁻¹ (s, v(O-H)); 2920,6 cm ⁻¹ (m, v(C-H)); 2850,5 cm ⁻¹ (s, v(C-H)); 1692,7 cm ⁻¹ (s, v(C=O)); 1638,3 cm ⁻¹ (s, v(C=O)); 1544,2 cm ⁻¹ (m); 1468,7 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1416,1 cm ⁻¹ (w, δ(C-H)); 1386,3 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1232,2 cm ⁻¹ (s, v(C-O)); 1232,2 cm ⁻¹ (s, v(C-O)); 1134,0 cm ⁻¹ (s, v(C-O)); 1073,1 cm ⁻¹ (s, v(C-O)); 714,6 cm ⁻¹ (w, CH ₂ -rocking).
Elementaranalyse (CHN):	Ergebnis nicht sulfatierter Ligand: bestimmt: 60,73% (C); 9,39% (H); 5,49% (N) berechnet: 59,37% (C); 9,63% (H); 4,62% (N)

6.2.10.2.8 EDC / HOBt-Kupplung von Serinol mit S-Acetylsulfanylundecansäure mit anschließendem Sulfatierungsschritt (LigSers)



LigSers (M = 517,52 g / mol)

0,132 g (0,5 mmol, 1 Äq.) S-Acetylsulfanylundecansäure wurden in 25 mL Dichlormethan gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Unter starkem Rühren wurde zu der Reaktionslösung 0,061 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) Serinol, 76 µL (0,55 mmol, 1,1 Äq.) NEt₃ und 0,074 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) HOBt gegeben. Nach 5 min wurden 0,105 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) EDC zugegeben und die Reaktionslösung über Nacht gerührt. Als Nächstes wurde die Reaktionslösung je zweimal mit 0,5 M Zitronensäure und gesättigter NaHCO₃-Lösung extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet.

Im Anschluss wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt am Ölpumpenvakuum getrocknet. Im anschließenden Sulfatierungsschritt wurden 0,04 g des Rohprodukts mit 0,070 g (0,49 mmol) SO₃-DMF-Komplex in 5 mL DMF 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 25 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum eingengt und der Rückstand mit Ethanol verdünnt.

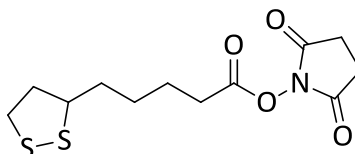
Dabei fiel ein farbloser Niederschlag aus. Die Suspension wurde 48 h im Kühlschrank gelagert, bevor der Niederschlag abfiltriert und am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde. Es wurden 0,083 g (0,059 g, 0,14 mmol, 59%) eines farblosen Feststoffs erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierung auf die Nanopartikel verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,14\text{-}1,40$ (bm, 12H, CH_2); 1,61 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,26 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,74 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,67 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 4,12 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 7,92 (bs, 1H, NH) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 24,66$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 25,71 (CH_2), 28,35 (CH_2), 28,80 (CH_2), 28,93 (CH_2), 29,03 (CH_2), 29,11 (CH_2), 29,21 (CH_2), 34,02 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 36,74 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 50,36 (CH-NH), 62,34 ($\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$), 63,52 ($\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$), 174,21 (CO-NH) ppm.

IR (KBr-Pressling) 3300,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); 2925,1 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-H})$); 2850,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1697,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1641,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1546,9 cm^{-1} (m); 1468,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1415,5 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1385,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1232,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1206,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1136,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1074,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1051,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.2.9 Synthese des Liponsäure-Aktivesters (TA-NHS)



TA-NHS (M = 303,40 g / mol)

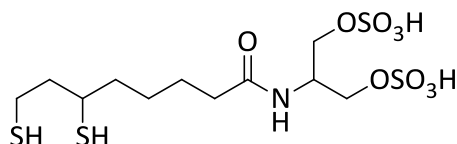
Zur Darstellung des Liponsäure-Aktivesters wurden 0,54 g (2,62 mmol, Äq.) Liponsäure in 10 mL abs DMF gelöst und mit 0,33 g (2,88 mmol, 1,1 Äq.) NHS und 0,55 g (2,88 mmol, 1,1 Äq.) EDC versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Als Nächstes wurden 50 mL Ethylacetat zugegeben und die Reaktionslösung je zweimal mit 50 mL H_2O und 50 mL NaHCO_3 gewaschen. Danach wurde die Lösung über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurden 0,588 g (1,93 mmol, 73%) eines gelben Feststoffs erhalten.

Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,25$ (quin, 2H, CH_2); 1,56 (m, 4H, CH_2); 1,76 (quin, 1H, CH_2); 1,94 (quin, 1H, CH_2); 2,48 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,64 (t, 4H, $\text{CH}_{2\text{NHS}}$); 3,07 (m, 1H, CH); 3,18 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 24,35$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 25,59 (2x $\text{CH}_{2\text{NHS}}$), 28,31 (CH_2), 30,77 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 34,41 (CH_2), 38,51 ($\text{CH}_2\text{-S}$), 40,15 (CH_2), 56,09 (CH), 168,43 (CO-NH), 169,15 (CO_{NHS}) ppm.

Elementaranalyse (CHN): bestimmt: 47,64% (C); 5,58% (H); 4,83% (N)
 berechnet: 47,50% (C); 5,65% (H); 4,62% (N)

6.2.10.2.10 Darstellung des Liganden DHLA-Sers durch Umsetzung des Liponsäure Aktivesters mit Serinol und anschließendem Sulfatierungsschritt (DHLA-Sers)



DHLA-Sers (M = 441,55 g / mol)

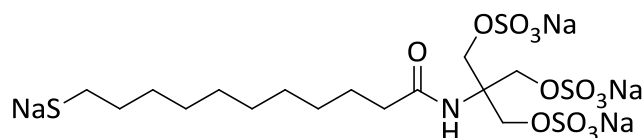
Zu Beginn wurden 0,550 g (1,81 mmol, 1 Äq.) Liponsäure-Aktivesters in 25 mL abs. Dichlormethan gelöst und unter starkem Rühren mit 0,190 g (1,98 mmol, 1,1 Äq.) Serinol versetzt. Nach 15 min, wurden dann 520 µL (3,75 mmol, 2 Äq.) NEt₃ zugetropft. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, wobei der Reaktionsverlauf per DC-Kontrolle am nächsten Tag überprüft wurde. Als Nächstes wurde die Reaktionslösung je zweimal mit 50 mL 0,5 M Zitronensäure und 50 mL NaHCO₃ gewaschen. Danach wurde die Lösung über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurden 0,151 g (0,54 mmol, 30 %) gelbes Öl erhalten.

Charakterisierung:

NMR: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,45 (quin, 2H, CH₂); 1,67 (m, 4H, CH₂); 1,94 (m, 2H, CH₂); 2,23 (t, 2H, CH₂-CO); 2,36 (t, 2H, CH₂-S) 2,50 (m, 1H, CH); 3,58 (m, 1H, CH-NH); 3,70 (d, 4H, CH₂-OH) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 25,29 (CH₂-CH₂-CO), 28,74 (CH₂), 34,57 (CH₂), 36,40 (CH₂-CO), 38,52 (CH₂-S), 40,28 (CH₂), 50,30 (CH-NH), 56,41 (CH), 61,89 (CH₂-OH), 62,54 (CH₂-OH), 173,17 (CO) ppm.

Im nächsten Schritt wurden 0,131 g (0,47 mmol, 1 Äq.) des erhaltenen Produkts in 5 mL DMF gelöst und tropfenweise mit einer SO₃-DMF-Komplex-Lösung (0,180 g, 1,18 mmol, 2,5 Äq., gelöst in 2 mL abs. DMF) versetzt. Die Reaktionslösung wurde anschließend 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt in einem Lösungsmittelgemisch bestehend aus 1 mL Methanol und 3 mL 0,25 M wässriger NaHCO₃-Lösung wieder gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt bevor 0,068 g (1,8 mmol, 3,8 Äq.) NaBH₄ zugegeben wurden. Die Reaktionslösung wurde weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde diese mit 6 M HCl angesäuert und mit Toluol extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und abschließend das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum entfernt. Es wurden 0,043 g (0,15 mmol, 31%) eines hellgelben Feststoffs erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung direkt mit AuDT umgesetzt wurde (siehe 6.2.10.3.2.5).

6.2.10.2.11 EDC / HOBt-Kupplung von TRIS mit S-Acetylsulfanylundecansäure mit anschließendem Sulfatierungsschritt (LigTRISs)

**LigTRISs** (M = 649,59 g / mol)

0,132 g (0,5 mmol, 1 Äq.) S-Acetylsulfanylundecansäure wurden in 25 mL Dichlormethan gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Unter starkem Rühren wurde zu der Reaktionslösung 0,066 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) TRIS, 76 µL (0,55 mmol, 1,1 Äq.) NEt₃ und 0,074 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) HOBt gegeben. Nach 5 min wurden 0,105 g (0,55 mmol, 1,1 Äq.) EDC zugegeben und die Reaktionslösung über Nacht gerührt. Als Nächstes wurde die Reaktionslösung je zweimal mit 0,5 M Zitronensäure und gesättigter NaHCO₃-Lösung extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt am Ölpumpenvakuum getrocknet.

Im anschließenden Sulfatierungsschritt wurden 0,04 g des Rohproduktes mit 0,070 g (0,49 mmol) SO₃·DMF-Komplex in 5 mL DMF 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 25 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum eingeeengt und der Rückstand mit Ethanol verdünnt. Dabei fiel ein farbloser Niederschlag aus. Die Suspension wurde 48 h im Kühlschrank gelagert, bevor der Niederschlag abfiltriert und am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde. Es wurden 0,083 g (0,01 mmol, 42%) eines farblosen Feststoffes (0,41 mmol, 81%) erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierung auf die Nanopartikel verwendet wurde.

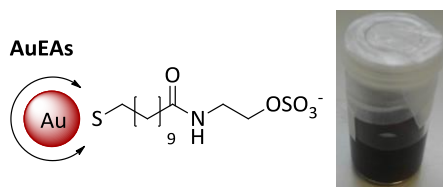
Charakterisierung:

NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, D ₂ O): δ = 1,23-1,33 (bm, 12H, CH ₂); 1,47 (m, 4H, CH ₂ -CH ₂ -CO, CH ₂ -CH ₂ -S); 2,11 (t, 2H, CH ₂ -CO); 2,83 (t, 2H, CH ₂ -S); 3,32 (s, 6H, CH ₂ -OSO ₃ Na); 7,14 (bs, 1H, NH) ppm. ¹³ C-NMR (100 MHz, D ₂ O): δ = 24,28 (CH ₂ -CH ₂ -s), 25,30 (CH ₂ -CH ₂ -CO), 28,08 (CH ₂), 28,30 (CH ₂), 28,43 (CH ₂), 28, 53 (CH ₂), 28,74 (CH ₂), 28,82 (CH ₂), 29,08 (CH ₂), 30,67 (CH ₂ -CH ₂ -S), 35,82 (CH ₂ -CO), 60,73 (CH-NH), 62,18 (3x CH ₂ -OSO ₃ Na), 173,79 (CO-NH) ppm.
IR (KBr-Pressling)	3295,8 cm ⁻¹ (s, v(O-H)); 2917,2 cm ⁻¹ (m, v(C-H)); 2851,1 cm ⁻¹ (s, v(C-H)); 1685,0 cm ⁻¹ (s, v(C=O)); 1637,1 cm ⁻¹ (s, v(C=O)); 1560,1 cm ⁻¹ (s, v(N-H)); 1470,6 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1417,7 cm ⁻¹ (w, δ(C-H)); 1385,0 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1288,2 cm ⁻¹ (m, v(C-O)); 1243,0 cm ⁻¹ (m, v(C-O)); 1125,8 cm ⁻¹ (m, v(C-O)); 1048,5 cm ⁻¹ (s, v(C-O)); 1025,9 cm ⁻¹ (s, v(C-O)); 719,3 (w, CH ₂ -rocking).
Elementaranalyse (CHN):	Ergebnisse des unsulfatierten Liganden: bestimmt: 55,98% (C); 9,00% (H); 3,99% (N) berechnet: 56,17% (C); 9,15% (H); 3,85% (N)

6.2.10.3 Multivalente Präsentation der Aminoalkohole durch Edelmetallnanopartikel

6.2.10.3.1 Synthese EAs-kordinierter Edelmetallnanopartikel

6.2.10.3.1.1 EAs-kordinierte Goldnanopartikel (AuEAs, $\varnothing = 7$ nm)



Synthesevorschrift B: EAs (0,014 g, 0,1 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.); 5 mL, AuMUDHSE (0,2 μmol / L, 1 nmol Nanopartikel, $d = 7$ nm), 20 μL (0,14 mmol, $1,4 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 .

Nach dem Dialyseschritt wurden 5 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,2$ μmol / L) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,8 \pm 0,2$ nm	DLS:	$d_h = 10 \pm 2$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 525$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,21-1,43$ (bs, 12H, CH_2) 1,43 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,68 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,19 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,65 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,07 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 3,91 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 7,73 (bs, 1H; NH) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	2918,1 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-H})$); 2849,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1686,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1639,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1549,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-CO})$); 1464,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1452,1 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1396,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1232,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1227,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1152,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1078,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 718,7 cm^{-1} (w, $\text{CH}_2\text{-rocking}$).		

6.2.10.3.1.2 EAs-kordinierte Goldnanopartikel (AuEAs, $\varnothing = 10$ nm)

Synthesevorschrift C: 3 mL (0,197 μM , 0,6 nmol, 1 Äq. in DMSO) AuMUDA; 0,004 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.) HOBt, 0,011 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.) HBTU, EAs (0,004 g, $2,55 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,3 \cdot 10^4$ Äq.), 7,5 μL ($5,29 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,8 \cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 , 6 mL DMSO; Millipore-Wasser.

Nach dem Dialyseschritt wurde eine dunkelrote Kolloidlösung ($c = 0,12$ μmol / L) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde und sich optisch über Monate nicht veränderte.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 9,6 \pm 0,3$ nm	DLS:	$d_h = 18 \pm 4$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 529$ nm		

6.2.10.3.1.5 EAs koordinierte Silbernanopartikel (AgEAs; $\varnothing = 17 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift C (analog zu AuNP): 15 mL (1,77 nM, 0,027 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AgCitrat ($d = 17 \text{ nm}$); 0,010 g (0,025 mmol, $1 \cdot 10^6$ Äq.) LigEAs; Millipore-Wasser.

Es wurden 10 mL einer klaren, gelben Lösung ($c = 2,7 \text{ nmol / L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ aufbewahrt

Charakterisierung:

TEM: - DLS: $d_h = 17 \pm 4 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 427 \text{ nm}$

6.2.10.3.1.6 EAs-koordinierte Gold-Silber-Legierungen (AuAgEAs)

Zu einer wässrigen Lösung Au/AgCitrat-wurde die Ligandenlösung (0,01 g; 0,025 mmol; in 1 mL dest. Wasser) gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde gegen Wasser dialysiert (MWCO: 4000-6000, dreimal je 800 mL dest. Wasser, jeweils 3 h). Nach der Dialyse wurde die Nanopartikellösung im Ölpumpenvakuum eingengt.

Au/Ag-3:1-Nanopartikel:

Au/AgCitrat 15 mL ($d = 24 \text{ nm}$)
 LigEAs 0,010 g (0,025 mmol)

Charakterisierung:

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 495 \text{ nm}$

Au/Ag-1:1-Nanopartikel:

Au/AgCitrat 15 mL ($d = 19 \text{ nm}$)
 LigEAs 0,010 g (0,025 mmol)

Charakterisierung:

UV/Vis:TEM: $\lambda_{\text{max}} = 463 \text{ nm}$

Au/Ag-1:3-Nanopartikel:

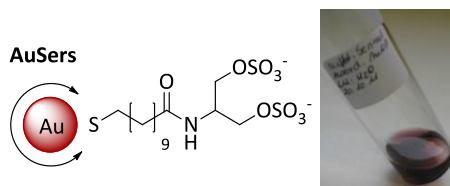
Au/AgCitrat 15 mL ($d = 23 \text{ nm}$)
 LigEAs 0,010 g (0,025 mmol)

Charakterisierung:

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 425 \text{ nm}$

6.2.10.3.2 Synthese Sers-koordinierter Edelmetallnanopartikel

6.2.10.3.2.1 Sers-koordinierte Goldnanopartikel (AuSers; $\varnothing = 7 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift B: 2 mL (0,34 nmol Nanopartikel, 0,2 $\mu\text{mol} / \text{L}$) AuMUDHSE; 0,010 g (0,035 nmol; $1 \cdot 10^5$ Äq.) Sers; 25 μL (0,18 mmol, $5,3 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 ; 0,002 g (0,014 mmol, $4,1 \cdot 10^4$ Äq) EAs; abs. DMF, Millipore-Wasser.

Nach der Dialyse wurden 5 mL einer klaren, roten Kolloidlösung ($c = 0,07 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

Charakterisierung:

TEM:	d = $6,9 \pm 0,3$ nm	DLS:	d _h = 11 ± 3 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 525$ nm		
NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, D ₂ O): $\delta = 1,30\text{-}1,41$ (bs, 12H, CH ₂); 1,58 (quin, 2H, CH ₂); 1,71 (quin, 2H, CH ₂); 2,28 (t, 2H, CH ₂); 2,59 (t, 2H, CH ₂); 3,74 (d, 4H, CH ₂); 3,89 (m, 1H, CH) ppm.		
ATR-IR (Diamant- Einfachreflexion):	2926,6 cm ⁻¹ (s, $\nu(\text{C-H})$); 1683,2 cm ⁻¹ (s, $\nu(\text{C=O})$); 1653,6 cm ⁻¹ (s, $\nu(\text{C=O})$); 1490,4 cm ⁻¹ (s, $\delta(\text{C-H})$); 1420,4 cm ⁻¹ (s, $\delta(\text{C-H})$); 1216,4 cm ⁻¹ (s, $\nu(\text{C-O})$); 1059,5 cm ⁻¹ .		

6.2.10.3.2.2 Sers-kordinierte Goldnanopartikel (AuSers; $\varnothing = 10$ nm)

Synthesevorschrift C: 3 mL (0,197 μM , 0,6 nmol, 1 Äq. in DMSO) AuMUDA; 0,004 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.) HOBt, 0,011 g ($2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,4 \cdot 10^4$ Äq.) HBTU, Sers (0,008 g, $2,65 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,3 \cdot 10^4$ Äq.), 7,5 μL ($5,29 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,8 \cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 , 6 mL DMSO; Millipore-Wasser.

Nach dem Dialyseschritt wurde eine dunkelrote Kolloidlösung ($c = 0,12 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde und sich optisch über Monate nicht veränderte.

Charakterisierung:

TEM:	d = $9,6 \pm 0,4$ nm	DLS:	d _h = 17 ± 4 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 528$ nm		
NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, D ₂ O): $\delta = 1,24\text{-}1,43$ (bm, 12H, CH ₂); 1,60 (m, 4H, CH ₂ -CH ₂ -CO, CH ₂ -CH ₂ -S); 2,23 (t, 2H, CH ₂ -CO); 2,70 (t, 2H, CH ₂ -S); 4,04 (m, 1H, CH ₂ -NH); 4,33 (d, 4H, CH ₂ -OSO ₃ ⁻); 7,86 (bs, 1H, NH) ppm. ¹³ C-NMR (100 MHz, D ₂ O): $\delta = 24,20$ (CH ₂ -CH ₂ -CO), 25,32 (CH ₂), 28,14 (CH ₂), 28,74 (CH ₂), 29,25 (CH ₂), 29,76 (CH ₂), 30,11 (CH ₂), 30,53 (CH ₂), 33,78 (CH ₂ -CH ₂ -S), 35,07 (CH ₂ -CO), 50,12 (CH-NH), 61,41 (CH ₂ -OSO ₃ Na), 69,45 (CH ₂ -OSO ₃ Na), 175,70 (CO-NH) ppm.		
ATR-IR (Diamant- Einfachreflexion):	2923,9 cm ⁻¹ (s, $\nu(\text{C-H})$); 2852,5 cm ⁻¹ (s, $\nu(\text{C-H})$); 1683,2 cm ⁻¹ (s, $\nu(\text{C=O})$);		

6 Experimenteller Teil

Einfachreflexion): 1653,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}=\text{O})$); 1538,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{NCO})$); 1490,4 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1465,1 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1452,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1369,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1248,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1151,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1062,4 cm^{-1} ; 722,7 cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).

6.2.10.3.2.3 Sers-koordinierte Goldnanopartikel (AuSers; $\varnothing = 14 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift D: 15 mL (1,72 nM, 0,024 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AuCitrat ($d = 14 \text{ nm}$); 0,013 g (0,025 mmol, $1 \cdot 10^6$ Äq.) LigSers; Millipore-Wasser.

Es wurden 10 mL einer klaren, roten Lösung ($c = 2,4 \text{ nmol / L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt und war mehrere Wochen optisch stabil

Charakterisierung:

TEM: $d = 14,5 \pm 0,7 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 19 \pm 4 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 531 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,19\text{-}1,43$ (bm, 12H, CH_2); 1,55 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,22 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,69 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 4,01 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 4,18 (d, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 7,82 (q, 1H, NH) ppm.

6.2.10.3.2.4 Sers-koordinierter Goldnanopartikel (AuSers; $\varnothing = 25 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift C: 50 mL (0,25 nM, 0,013 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AuCitrat ($d = 25 \text{ nm}$); 0,013 g (0,025 mmol, $1,9 \cdot 10^6$ Äq.) LigSers; Millipore-Wasser.

Es wurde eine klare, violette Kolloidlösung ($c = 0,52 \text{ nmol / L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

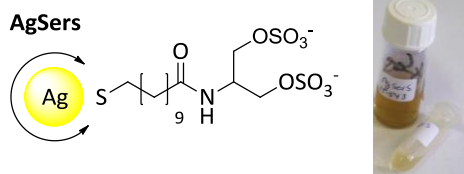
Charakterisierung:

TEM: $d = 25,3 \pm 1,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 27 \pm 9 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 533 \text{ nm}$

6.2.10.3.2.5 DHLASers-koordinierter Goldnanopartikel (AuDHLASers $\varnothing = 7 \text{ nm}$)

Die Darstellung von AuDHLASers erfolgte durch eine Ligandenaustauschreaktion im Zweiphasensystem mit AuDT (Abb. 122). Dazu wurden 0,043 g (0,15 mmol, Äq.) DHLASers in 5 mL Milliporewasser vorgelegt. Unter starkem Rühren wurden 1 mL ($1,33 \mu\text{mol / L}$, 1,33 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AuDT zugegeben und die Reaktionslösung 72 h bei

6.2.10.3.2.7 Synthese Sers-koordinierter Silbernanopartikel (AgSers; $\varnothing = 5$ nm)



Synthesevorschrift B (analog zu AuNP): 2,5 mL (0,4 μmol / L, 1 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AgMUDHSE; 0,030 g ($1 \cdot 10^{-4}$ mol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) Sers; 25 μL (0,18 mmol, $1,8 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 ; 0,002 g; 2 mL abs. DMF; 5 mL Milipore-Wasser

Es wurde eine klare, dunkelgelbe Kolloidlösung ($c = 0,2$ μmol / L) erhalten, die mehrere Wochen stabil war.

Charakterisierung:

TEM:	d = $4,9 \pm 0,4$ nm	DLS:	d _h = 9 ± 2 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 424$ nm		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	2921,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2850,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1632,4 (m, $\nu(\text{C=O})$), 1595,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1488,7 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1418,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1361,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1222,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1104,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1063,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).		

6.2.10.3.2.8 Sers koordinierte Silbernanopartikel (AgSers; $\varnothing = 17$ nm)

Synthesevorschrift C (analog zu AuNP): 15 mL (1,77 nM, 0,027 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AgCitrat (d = 17 nm); 0,013 g (0,025 mmol, $1 \cdot 10^6$ Äq.) LigSers; Millipore-Wasser.

Es wurden 10 mL einer klaren, gelben Lösung ($c = 2,7$ nmol / L) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt

Charakterisierung:

TEM:	-	DLS:	d _h = 18 ± 5 nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 425$ nm		

6.2.10.3.2.9 Sers-koordinierter Gold-Silber-Legierungen (AuAgSers)

Zu einer wässrigen Lösung AuAgCitrat-wurde die Ligandenlösung (0,01 g; 0,025 mmol; in 1 mL dest. Wasser) gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde gegen Wasser dialysiert (MWCO: 4000-6000, dreimal je 800 mL dest. Wasser, jeweils 3 h). Nach der Dialyse wurde die Nanopartikellösung im Ölpumpenvakuum eingengt.

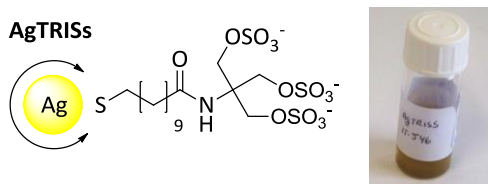
6 Experimenteller Teil

Es wurden 10 mL einer klaren, roten Lösung ($c = 2,4 \text{ nmol / L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ aufbewahrt und war mehrere Wochen optisch stabil.

Charakterisierung:

TEM: $d = 14,1 \pm 0,8 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 37 \pm 10 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 532 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,14\text{-}1,56$ (bm, 26H, CH_2 , $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,68 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,83 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,17 (s, 6H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$); 7,75 (bs, 1H, NH) ppm.

6.2.10.3.3 TRISs-koordinierte Silbernanopartikel (AgTRISs; $\varnothing = 5 \text{ nm}$)



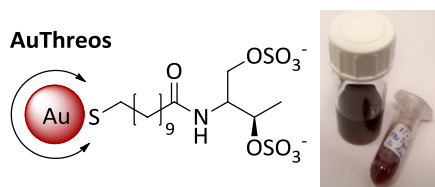
Synthesevorschrift B (analog zu AuNP): 2,5 mL ($0,4 \text{ } \mu\text{mol / L}$, 1 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AgMUDHSE; 0,043 g ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$, $1 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) TRISs; 25 μL ($0,18 \text{ mmol}$, $1,8 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) NEt_3 ; 0,002 g; 2 mL abs. DMF; 5 mL Milipore-Wasser

Es wurde eine klare, dunkelgelbe Kolloidlösung ($c = 0,2 \text{ } \mu\text{mol / L}$) erhalten, die mehrere Wochen stabil war.

Charakterisierung:

TEM: $d = 4,9 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 16 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 430 \text{ nm}$

6.2.10.3.4 Threos koordinierte Goldnanopartikel (AuThreos; $\varnothing = 7 \text{ nm}$)

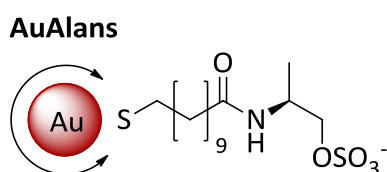


Synthesevorschrift B: Threos ($0,031 \text{ g}$, $0,1 \text{ mmol}$, $1 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$); 5 mL, AuMUDHSE ($0,2 \text{ } \mu\text{mol / L}$, 1 nmol Nanopartikel, $d = 7 \text{ nm}$), 20 μL ($0,14 \text{ mmol}$, $1,4 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) NEt_3 .

Nach dem Dialyseschritt wurden 5 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,2 \text{ } \mu\text{mol / L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,8 \pm 0,3 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 12 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 524 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,06\text{-}1,45$ (bm, 15H, CH_2 , CH_3); 1,61 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,70 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,56 (m, 1H, CH-NH); 3,75 (d, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 7,91 (d, 1H, NH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 17,09$ (CH_3); 24,86 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 25,57 (CH_2), 27,50 (CH_2), 28,01 (CH_2), 28,52 (CH_2), 28,85 (CH_2), 29,17 (CH_2), 29,49 (CH_2), 30,00 (CH_2), 33,09 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 35,21 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 61,81 (CH-NH), 72,35 ($\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$), 170,98 (CO-NH) ppm.		

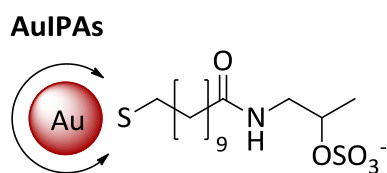
6.2.10.3.5 Alans-koordinierter Goldnanopartikel (AuAlans; $\emptyset = 7 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift B: Alans (0,018 g, 0,1 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.); 5 mL, AuMUDHSE (0,2 μmol / L, 1 nmol Nanopartikel, $d = 7 \text{ nm}$), 20 μL (0,14 mmol, $1,4 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 .

Nach dem Dialyseschritt wurden 5 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,9 \pm 0,3 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 13 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 525 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,06\text{-}1,45$ (bm, 15H, CH_2 , CH_3); 1,61 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,70 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,56 (m, 1H, CH-NH); 3,75 (d, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 7,91 (d, 1H, NH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 17,09$ (CH_3); 24,86 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$), 25,57 (CH_2), 27,50 (CH_2), 28,01 (CH_2), 28,52 (CH_2), 28,85 (CH_2), 29,17 (CH_2), 29,49 (CH_2), 30,00 (CH_2), 33,09 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 35,21 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 61,81 (CH-NH), 72,35 ($\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$), 170,98 (CO-NH) ppm.		

6.2.10.3.6 IPAs-koordinierte Goldnanopartikel (AuIPAs; $\emptyset = 7 \text{ nm}$)

6 Experimenteller Teil

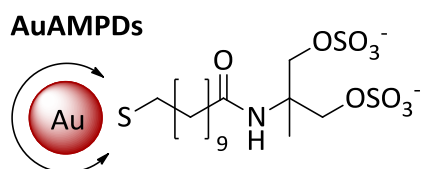
Synthesevorschrift B: IPAs (0,018 g, 0,1 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.); 5 mL AuMUDHSE (0,2 μmol / L, 1 nmol Nanopartikel, $d = 7$ nm), 20 μL (0,14 mmol, $1,4 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 .

Nach dem Dialyseschritt wurden 5 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4°C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM: $d = 6,8 \pm 0,3$ nm DLS: $d_h = 14 \pm 3$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 527$ nm
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2917,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2849,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1628,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$), 1537,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1489,9 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1454,3 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1396,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1220,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1079,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1030,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.3.7 Synthese AMPDs- koordinierter Goldnanopartikel (AuAMPDs; $\phi = 7$ nm)



Synthesevorschrift B: AMPDs (0,031 g, 0,1 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.); 5 mL AuMUDHSE (0,2 μmol / L, 1 nmol Nanopartikel, $d = 7$ nm), 20 μL (0,14 mmol, $1,4 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 .

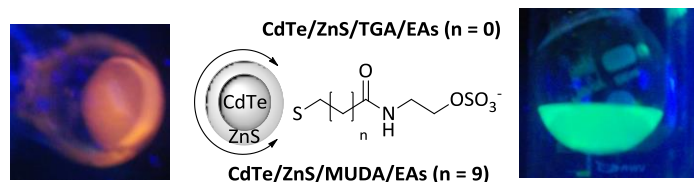
Nach dem Dialyseschritt wurden 5 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4°C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM: $d = 6,8 \pm 0,4$ nm DLS: $d_h = 18 \pm 4$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 528$ nm
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2920,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2850,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1633,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$), 1536,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1488,8 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1463,3 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1396,0 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1257,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1091,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.4 Multivalente Präsentation der azyklischen Amine durch CdTe/ZnS-QDots

6.2.10.4.1 Synthese EAs-kordinierter CdTe/ZnS-QDots



CdTe/ZnS/MUDA/EAs (n = 9):

Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1,55 mL (6,43 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,016 g (0,1 mmol, 10000 Äq.) EDC; 0,055 g (0,25 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,042 g ($3 \cdot 10^{-4}$ mol, $3 \cdot 10^4$ Äq.) EAs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die EAs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 2,0 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) grün leuchtete. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MUDA/EAs:

TEM: $d = 2,6 \pm 0,2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 436 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2942,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2843,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1615,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$), 1537,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1421,2 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1394,0 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1333,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1248,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1116,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1063,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

CdTe/ZnS/TGA/EAs (n = 0):

Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 2,9 mL (3,50 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/TGA; 0,016 g (0,1 mmol, 10000 Äq.) EDC; 0,055 g (0,25 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,042 g ($3 \cdot 10^{-4}$ mol, $3 \cdot 10^4$ Äq.) EAs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die EAs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 2,0 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) orange leuchtete. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

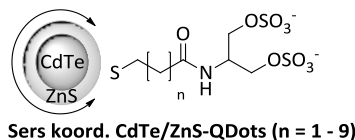
Charakterisierung CdTe/ZnS/TGA/EAs:

TEM: $d = 5,0 \pm 0,2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 581 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2942,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1635,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$), 1560,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$);

6 Experimenteller Teil

Einfachreflexion): $1393,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{C-H})$); $1264,8 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1059,2 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $972,9 \text{ cm}^{-1}$.

6.2.10.4.2 Synthese Sers-koordinierter CdTe/ZnS-QDots



CdTe/ZnS/MPA/Sers (n = 1):

Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 4,4 mL (2,29 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 \AA q.) CdTe/ZnS/MPA; 0,017 g (0,1 mmol, 10000 \AA q.) EDC; 0,054 g (0,25 mmol, 25000 \AA q.) sulfo-NHS; 0,022 g ($7 \cdot 10^{-5}$ mol, $7 \cdot 10^4$ \AA q.) Sers; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Sers-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, hellgelbe Partikellösung ($c = 2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten

Charakterisierung CdTe/ZnS/MPA/Sers:

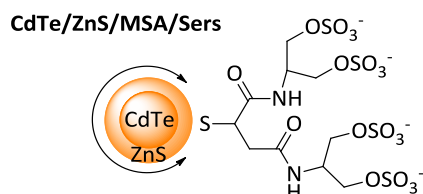
TEM: $d = 3,8 \pm 0,3 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 565 \text{ nm}$

ATR-IR (Diamant- 2959,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1654,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$), 1489,0 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$);

Einfachreflexion): 1454,3 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1395,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1215,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1002,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

CdTe/ZnS/MSA/Sers (n = 1):



Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 2,5 mL (8,05 μmol / L, 20 nmol Nanopartikel, 1 \AA q.) CdTe/ZnS/MSA; 0,030 g (0,19 mmol, 10000 \AA q.) EDC; 0,103 g (0,48 mmol, 25000 \AA q.) sulfo-NHS; 0,035 g ($1,2 \cdot 10^{-4}$ mol, $6 \cdot 10^3$ \AA q.) Sers; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Sers-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 4 \mu\text{mol}$ / L) erhalten.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MSA/Sers:

TEM: $d = 3,2 \pm 0,4$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\max} = 517$ nm
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,94$ (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}$); 3,27 (t, 1H, CH-CH_2); 3,61 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 3,95 (s, 8H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 8,23 (bs, 2H, **NH**) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2920,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2849,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1642,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); 1587,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{CN-H})$); 1414,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1356,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1229,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1062,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

CdTe/ZnS/MHA/Sers (n = 4):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL (5,79 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,009 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Sers; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Sers-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MHA/Sers:

TEM: $d = 3,5 \pm 0,3$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\max} = 487$ nm
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,33$ (bm, 2H, CH_2); 1,65 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,76 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,38 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,67 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,42 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 4,00 (m, 1H, **CH-NH**); 8,23 (bs, 1H, **NH**) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 1595,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{CN-H})$); 1431,1 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1391,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1068,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

CdTe/ZnS/DHLA/Sers (n = 4):

Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 2 mL (4,92 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/DHLA; 0,016 g (0,1 mmol, 10000 Äq.) EDC; 0,055 g (0,25 mmol, 25000 Äq.) sulfo-NHS; 0,089 g ($3 \cdot 10^{-4}$ mol, $3 \cdot 10^4$ Äq.) Sers; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Sers-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 2,0 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurden.

Charakterisierung CdTe/ZnS/DHLA/Sers:

Charakterisierung:

6 Experimenteller Teil

TEM:	$d = 3,5 \pm 0,3$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 567$ nm
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,34$ (m, 2H, CH_2); 1,67 (m, 4H, CH_2); 1,87 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,32 (m, 1H, CH-S); 2,60 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,26 (d, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 4,10 (m, 1H, CH-NH); 7,54 (bs, 1H, NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion)	2940,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2862,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1634,5 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$), 1556,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{CN-H})$); 1446,0 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1376,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1255,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1040,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

CdTe/ZnS/MUDA/Sers (n = 9):

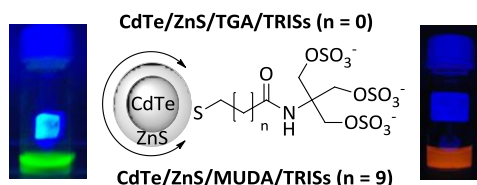
Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1,55 mL (6,43 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,016 g (0,1 mmol, 10000 Äq.) EDC; 0,055 g (0,25 mmol, 25000 Äq.) sulfo-NHS; 0,089 g ($3 \cdot 10^{-4}$ mol, $3 \cdot 10^4$ Äq.) Sers; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Sers-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 2,0 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MUDA/Sers:

TEM:	$d = 2,6 \pm 0,2$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\max} = 439$ nm
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,23\text{-}1,43$ (bm, 12H, CH_2); 1,64 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,34 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,82 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,15 (m, 1H, CH-NH); 3,61 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 8,23 (bs, 1H, NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	2920,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2849,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1641,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$), 1584,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{CN-H})$); 1384,8 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1351,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1152,5 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1053,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.4.3 Synthese TRISs-kordinierter CdTe/ZnS QDots



CdTe/ZnS/TGA/TRISs:

Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 5,6 mL (1,77 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/TGA; 0,016 g (0,1 mmol, 10000 Äq.) EDC; 0,055 g (0,25 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,128 g ($3 \cdot 10^{-4}$ mol, $3 \cdot 10^4$ Äq.) TRISs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die TRISs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, orange Partikellösung ($c = 2,0 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) orange leuchtete. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung TGA (n = 0):

TEM: $d = 5,1 \pm 0,3 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 565 \text{ nm}$

ATR-IR (Diamant- 2945,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1646,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$), 1389,3 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); Einfachreflexion): 1051,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 850,8 cm^{-1} .

CdTe/ZnS/MUDA/TRISs (n = 9):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 3 mL ($2,35 \mu\text{mol} / \text{L}$, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,013 g ($3 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $5 \cdot 10^3 \text{ Äq.}$) TRISs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die TRISs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) grün leuchtete. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung MUDA (n = 9):

TEM: $d = 2,6 \pm 0,3 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 439 \text{ nm}$

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,23\text{-}1,41$ (bm, 12H, CH_2); 1,50 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,28 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,90 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,48 (s, 6H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3\text{Na}$); 7,81 (bs, 1H, **NH**) ppm.

6.2.10.4.4 Synthese Threos-kordinierter CdTe/ZnS Quantum Dots

CdTe/ZnS/MPA/Threos (n = 1):

Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 25000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 12,5 mL ($0,8 \mu\text{mol} / \text{L}$, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MPA; 0,017 g (0,1 mmol, 10000 Äq.) EDC; 0,054 g (0,25 mmol, 25000 Äq.) sulfo-NHS; 0,022 g ($7 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $7 \cdot 10^4 \text{ Äq.}$) Threos; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Threos-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, hellgelbe Partikellösung ($c = 2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten.

6 Experimenteller Teil

Charakterisierung 5 nm:

TEM: $d = 5,2 \pm 0,4$ nm DLS: $d_h = 13 \pm 3$ nm
ATR-IR (Diamant- 1648,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}=\text{O})$); 1584,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N}-\text{H})$); 1488,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$);
Einfachreflexion): 1385,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$); 1013,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{O})$).

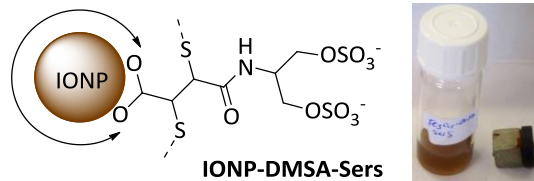
Charakterisierung 7 nm:

TEM: $d = 7,4 \pm 0,2$ nm DLS: $d_h = 24 \pm 4$ nm
ATR-IR (Diamant- 2960,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); 2922,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); 2852,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$);
Einfachreflexion): 1640,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}=\text{O})$); 1562,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N}-\text{H})$); 1450,7 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C}-\text{H})$);
1411,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$); 1254,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}-\text{O})$); 1114,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}-\text{O})$);
1068,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}-\text{O})$); 1021,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{O})$).

Charakterisierung 12 nm:

TEM: $d = 12,2 \pm 0,2$ nm DLS: $d_h = 56 \pm 14$ nm
ATR-IR (Diamant- 1587,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N}-\text{H})$); 1438,0 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$); 1381,5 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$);
Einfachreflexion): 1349,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}-\text{O})$); 1016,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{O})$).

6.2.10.5.2 Immobilisierung von Sers auf Eisenoxidnanopartikeln (IONP-DMSA-Sers)



Synthesevorschrift : 1 nmol (1 Äq.) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel;
0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS;
0,020 g ($6,7 \cdot 10^{-5}$ mol, $6,7 \cdot 10^4$ Äq.) Sers; Millipore-Wasser

Es wurde eine dunkelbraune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung 5 nm:

TEM: $d = 5,2 \pm 0,4$ nm DLS: $d_h = 14 \pm 2$ nm
ATR-IR (Diamant- 2970,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); 1646,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}=\text{O})$); 1565,3 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N}-\text{H})$);
Einfachreflexion): 1442,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$); 1251,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}-\text{O})$); 1140,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{O})$).

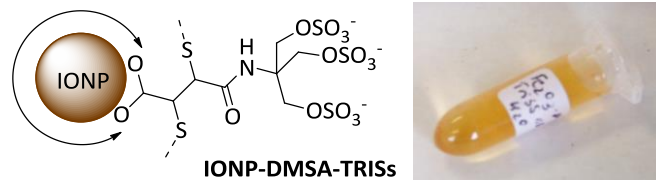
Charakterisierung 7 nm:

TEM: $d = 7,4 \pm 0,4$ nm DLS: $d_h = 24 \pm 3$ nm
ATR-IR (Diamant- 2949,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); 2916,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$); 2848,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}-\text{H})$);
Einfachreflexion): 1734,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}=\text{O})$); 1654,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C}=\text{O})$); 1542,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N}-\text{H})$);
1508,5 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N}-\text{H})$); 1458,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C}-\text{H})$); 1374,6 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C}-\text{H})$);
1212,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}-\text{O})$); 1009,5 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C}-\text{O})$).

Charakterisierung 12 nm:

TEM: $d = 12,2 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 47 \pm 9 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant- 2967,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1647,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1561,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$);
 Einfachreflexion): 1397,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1258,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1102,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$);
 1017,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.5.3 Immobilisierung von TRISs auf Eisenoxidnanopartikeln ($\phi = 5 \text{ nm}$)

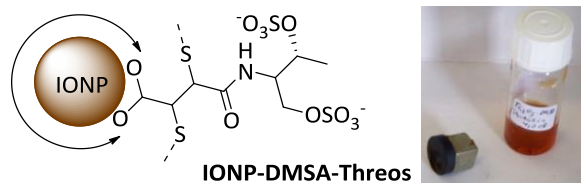


Synthesevorschrift : 0,002 g (1 nmol Nanopartikel, 1 Äq., $d = 5 \text{ nm}$) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,035 g ($8,0 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,0 \cdot 10^4$ Äq.) TRISs; Millipore-Wasser
 Es wurde eine dunkelbraune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte

Charakterisierung:

TEM: $d = 5,2 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 15 \pm 2 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant- 1650,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1585,0 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$); 1487,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$);
 Einfachreflexion): 1380,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1259,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1104,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.10.5.4 Immobilisierung von Threos auf Eisenoxidnanopartikeln ($\phi = 5 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift : 0,002 g (1 nmol Nanopartikel, 1 Äq., $d = 5 \text{ nm}$) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,025 g ($8,37 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,37 \cdot 10^4$ Äq.) Threos; Millipore-Wasser
 Es wurde eine dunkelbraune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung:

TEM: $d = 5,2 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 15 \pm 4 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant- 1643,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1585,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$); 1487,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$);
 Einfachreflexion): 1381,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1101,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.11 Synthese von Clovamid inspirierten Liganden und deren multivalente Präsentation durch verschiedene Nanopartikel

6.2.11.1 Allgemeine Synthesevorschriften

6.2.11.1.1 Allgemeine Synthesevorschrift zur Sulfatierungsreaktion der Epitope (A)

1 mmol des zu sulfatierenden Epitops wurden mit der entsprechenden Menge $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex in 20 mL absolutem DMF gelöst und 2,5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das DMF wurde im Anschluss am Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand wurde mit 5 mL 1 M Natronlauge versetzt. Die Mischung wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Ethanol gefällt, um mögliche Verunreinigungen abzutrennen. Das Rohprodukt wurde am Ölpumpenvakuum getrocknet und der erhaltene farblose bis hellgelbe Feststoff ohne weitere Aufarbeitung für die Kupplungsreaktionen verwendet.

6.2.11.1.2 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der verschiedenen Clovamid-inspirierten Liganden auf die Goldoberfläche durch Kupplungsreaktionen mit Aktivester-koordinierten Goldkolloiden ($\varnothing = 7 \text{ nm}$)

Zur Immobilisierung der verschiedenen sulfatierten Epitope auf die Goldkolloide mit einem mittleren Durchmesser von 7 nm wurden 3 mL (0,34 nmol) einer 1,13 $\mu\text{mol/L}$ Lösung der MUDHSE funktionalisierten Goldkolloide in einem ausgeheizten Kolben unter Schutzgasatmosphäre vorgelegt und mit einer Lösung aus der angegebenen Menge des primären Amins in 2 mL absolutem DMF versetzt. Unter starkem Rühren wurden nach 15 min 25 μL (0,18 mmol, $2,5\cdot 10^5 \text{ \AA}q$) Triethylamin zugegeben und weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 0,002 g (0,014 mmol, $2,5\cdot 10^4 \text{ \AA}q$) 2-Aminoethylhydrogensulfat zugegeben, um noch vorhandene Aktivesterfunktionen umzusetzen. Die klare, rote Reaktionslösung wurde weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend zuerst gegen DMF dialysiert (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 300 mL DMF, jeweils 3 h) und danach das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Abschließend wurden die Partikel in 5 mL Millipore-Wasser redispersiert und gegen Millipore-Wasser dialysiert (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 300 mL Millipore-Wasser, jeweils 3 h).

6.2.11.1.3 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der verschiedenen Clovamid-inspirierten Liganden durch Kupplungsreaktionen mit MUDA-koordinierten Goldkolloiden (C)

Zur multivalenten Präsentation Clovamid-inspirierter Liganden auf der Partikeloberfläche der 10 nm großen Goldkolloide, wurden 3 mL MUDA-koordinierte Goldkolloidlösung (0,228 $\mu\text{mol/L}$) in einem ausgeheizten Kolben unter Schutzgasatmosphäre vorgelegt. In einem zweiten ausgeheizten Kolben wurden 0,004 g (2,6 mmol, $4 \cdot 10^4$ Äq.) HOBt und 0,011 g (2,6 mmol, $4 \cdot 10^4$ Äq.) HBTU in 2 mL DMSO gegeben und 30 Min. bei Raumtemperatur gerührt. In einem weiteren ausgeheizten Kolben wurden 1,3 mmol ($2 \cdot 10^4$ Äq.) des sulfatierten Epitops in 2 mL DMSO gelöst und ebenfalls 30 Min. bei Raumtemperatur gerührt. Als Nächstes wurde die Kolloidlösung unter starkem Rühren zur HOBt/HBTU-Lösung gegeben. Nach 15 Min. wurden 7,5 μL (5,2 mmol, $8 \cdot 10^4$ Äq.) Triethylamin zugetropft und gleich im Anschluss die Lösung mit dem sulfatierten Liganden zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor sie gegen DMF dialysiert wurde (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 300 mL DMF, jeweils 3 h). Das DMF wurde am Ölpumpenvakuum entfernt und die Nanopartikel in 5 mL Millipore-Wasser redispergiert. Die Nanopartikel-Lösung wurde abschließend gegen Millipore-Wasser dialysiert (MWCO: 4000-6000 Da, dreimal je 300 mL Millipore-Wasser, jeweils 3 h). Es wurde eine klare, rote Lösung mit einer Konzentration von 0,137 μM an Nanopartikeln erhalten, die im Kühlschrank gelagert wurden und mehrere Monate optisch stabil waren.

6.2.11.1.4 Allgemeine Synthesevorschrift der Ligandenaustauschreaktion von Citrat-koordinierten Nanopartikeln (D)

Zu einer wässrigen Lösung Citrat-koordinierter Goldnanopartikel (30 mL einer 1,72 nM Lösung = 0,052 nmol Nanopartikel) wurde unter starkem Rühren eine Lösung des zuvor synthetisierten Liganden (0,11 mmol, $4,6 \cdot 10^6$ Äq.) in 1 mL dest. Wasser gegeben und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde gegen Wasser dialysiert (MWCO: 3500-6000, dreimal je 600 mL dest. Wasser, jeweils 2 h). Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen ca. 17 mL. Abschließend wurde die Lösung auf 10 mL am Ölpumpenvakuum eingengt. Es wurde eine klare rote Lösung mit einer Konzentration von 2,4 nM Nanopartikel erhalten, die im Kühlschrank gelagert wurde.

6.2.11.1.5 Allgemeine Synthesevorschrift für die Immobilisierung der sulfatierten Liganden auf IONP (F)

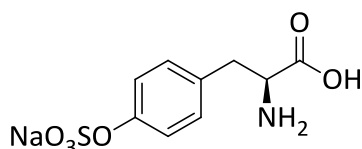
(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Xiong et al.* ^[346])

Die Immobilisierung der Kohlenhydratmimetika auf die Eisenoxidnanopartikel erfolgte ebenfalls durch Kupplung mit EDC /sulfo-NHS. Dazu wurden 0,002 g (1 Äq.) der Eisenoxidnanopartikel in 10 mL Millipore-Wasser gelöst. Unter starkem Rühren wurden 0,05 mmol EDC und 0,05 mmol NHS in je 1 mL Millipore-Wasser zugegeben. Nach 15 min

wurde die Zugabe von EDC und NHS wiederholt und die Reaktionslösung weitere 15 min gerührt. Anschließend wurden 0,15 mmol Ligand (gelöst in 1 mL Millipore-Wasser) zugetropft und die Reaktionslösung 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufarbeitung der funktionalisierten Eisenoxidnanopartikel erfolgte durch Zentrifugation (12000 rpm, 25 min), Abdekandieren des Lösungsmittels und Waschen mit Ethanol. Der Vorgang wurde dreimal wiederholt. Die erhaltenen Eisenoxidnanopartikel wurden am Ölpumpenvakuum getrocknet und in 2 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Falls notwendig erfolgte ein weiterer Aufreinigungsschritt durch Dialyse (MWCO: 6000-8000 Da, 500 mL Millipore-Wasser, 3 h).

6.2.11.2 Synthese der Liganden

6.2.11.2.1 Sulfatierung von L-Tyrosin (TyrS)



TyrS (M = 283,23 g/mol)

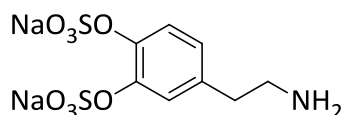
Synthesevorschrift A: 0,181 g (1 mmol) L-Tyrosin 0,151 g; 0,234 g (1,5 mmol) SO₃-DMF Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufarbeitung für die Immobilisierungsreaktionen mit den Nanopartikeln verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ= 2,92-3,01 (m, 2H, CH₂); 3,92 (t, 1H, CH); 6,78 (t, 1H, CH); 6,95 (s, 1H, CH), 7,22-7,32 (m, 5H, CH, NH₂) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ= 36,88 (CH₂); 52,61 (CH); 121,66 (CH); 123,26 (CH); 126,46 (CH); 129,84 (CH); 130,13 (C-(CH₂)₂-NH₂); 152,68 (COSO₃Na); 181,85 (CO) ppm.

6.2.11.2.2 Sulfatierung von Dopamin (DPs)



DPs (M = 357,27 g/mol)

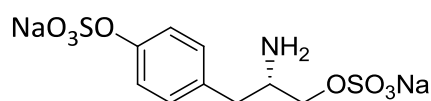
Synthesevorschrift A: 0,190 g (1 mmol, 1 Äq.) Dopaminhydrochlorid; 0,383 g (2,5 mmol, 2,5 Äq.) SO₃-DMF Komplex, DMF

Es wurde ein gelber Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufreinigung als Rohprodukt in weiteren Reaktionen verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,85$ (d, 2H, CH_2); 2,93 (m, 2H, CH_2); 6,48 (d, 1H, CH); 6,78 (d, 1H, CH), 6,95 (s, 1H, CH) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 39,89$ (CH_2); 40,15 (CH_2); 117,31 (CH); 119,29 (CH); 123,35 (CH); 141,69 ($\text{C}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$); 142,68 (COSO_3Na) ppm.
 IR (KBr-Pressling): 3441,0 (s, $\nu(\text{N-H})$); 1630,7 cm^{-1} (s, $\delta(\text{NH}_2)$); 1442,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1426,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1141,7 cm^{-1} .
 MS (ESI): $m/z = 312,33$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (berechnet für $[(\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_8\text{S}_2) + \text{H}]^+ = 311,98$)

6.2.11.2.3 Sulfatierung von L-Tyrosinol (Tyrols)



Tyrols (M = 371,30 g/mol)

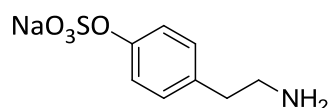
Synthesevorschrift A: 0,204 g (1 mmol) L-Tyrosinol Hydrochlorid; 0,383 g (2,5 mmol) SO_3 -DMF Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufreinigung als Rohprodukt in weiteren Reaktionen verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,59$ -2,67 (m, 1H, CH); 2,86 (d, 1H, CH_2); 3,25-3,29 (m, 1H, CH); 3,62 (d, 1H, CH_2); 3,88 (d, 1H, CH_2); 6,58 (d, 1H, CH), 6,99 (d, 1H, CH); 7,27 (d, 2H, CH); 7,60 (bs, 2H, NH_2) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 40,53$ (CH_2); 49,59 (CH); 85,35 (CH); 121,40 (CH); 128,02 ($\text{C}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$); 153,26 (COSO_3Na) ppm.
 IR: 3440,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$, $\nu(\text{O-H})$); 2927,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1708,5 cm^{-1} ; 1618,5 cm^{-1} (s, $\delta(\text{N-H})$); 1508,7 cm^{-1} (s, $\delta(\text{N-H})$); 1442,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1426,0 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1139,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 995,9 cm^{-1} ; 876,2 cm^{-1} .
 MS (ESI): $m/z = 348,98$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (berechnet für $[(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NNaO}_8\text{S}_2) + \text{H}]^+ = 348,98$)

6.2.11.2.4 Sulfatierung von Tyramin (Tyras)



Tyras (M = 239,22 g/mol)

Synthesevorschrift A: 0,137 g (1 mmol, 1 Äq.) Tyramin; 0,234 g (1,5 mmol, 1,5 Äq.) SO_3 -DMF Komplex in 10 mL.

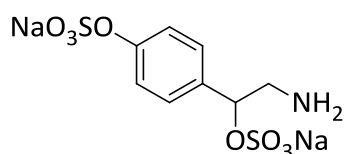
6 Experimenteller Teil

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufreinigung für die Immobilisierung auf die unterschiedlichen Partikeloberflächen verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,82$ (t, 2H, CH_2); 2,91 (t, 2H, CH_2); 6,83 (d, 2H, CH); 7,13 (t, 2H, NH_2) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 39,36$ (CH_2); 42,48 (CH_2); 115,46 (CH); 115,52 (CH); 129,25 (CH); 129,41 (CH); 130,81 ($\text{C-(CH}_2)_2\text{-NH}_2$); 154,25 (COSO_3Na) ppm.
IR (KBr-Pressling):	3378,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$, $\nu(\text{O-H})$); 2971,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2923,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2850,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-H})$); 1645,2 cm^{-1} (s, $\delta(\text{N-H})$); 1566,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{N-H})$); 1442,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1408,4 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1260,1 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1140,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 995,4 cm^{-1} ; 872,0 cm^{-1} .
MS (ESI):	$m/z = 216,07$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (berechnet für $[(\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_4\text{S}) + \text{H}]^+ = 216,07$)

6.2.11.2.5 Sulfatierung von Octopamin (Octos)



Octos (M = 357,27 g/mol)

Synthesevorschrift A: 0,194 g (1 mmol) Octopamin Hydrochlorid; 0,383 g (2,5 mmol) $\text{SO}_3\text{-DMF}$ Komplex in 10 mL DMF.

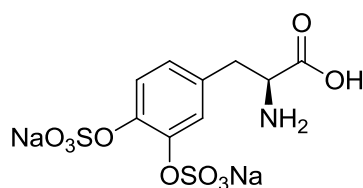
Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufreinigung für die Immobilisierung auf die unterschiedlichen Partikeloberflächen verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 3,54$ (q, 2H, CH_2); 5,33 (t, 1H, CH); 7,25-7,52 (m, 4H, CH), 8,03 (bs, 2H, NH_2) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 43,42$ (CH_2); 74,28 (CH); 120,20 (CH); 127,52 (CH); 132,63 ($\text{C-CH-CH}_2\text{-NH}_2$); 158,58 (COSO_3Na) ppm.
IR:	3408,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$, $\nu(\text{O-H})$); 2971,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2925,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1643,9 cm^{-1} (s, $\delta(\text{N-H})$); 1569,7 cm^{-1} (s, $\delta(\text{N-H})$); 1513,0 cm^{-1} ; 1463,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1442,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1405,7 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1261,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1141,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1048,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$), 995,7 cm^{-1} ; 866,2 cm^{-1} ; 837,5 cm^{-1} .
MS (ESI):	$m/z = 311,13$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (berechnet für $[(\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_8\text{S}_2) + \text{H}]^+ = 311,29$)

6 Experimenteller Teil

6.2.11.2.6 Sulfatierung von Levodopa (L-DOPAs)



L-DOPAs (M = 401,28 g/mol)

Synthesevorschrift A: 0,197 g (1 mmol) 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanin; 0,383 g (2,5 mmol) SO₃-DMF Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufreinigung für die Immobilisierung auf die unterschiedlichen Partikeloberflächen verwendet wurde.

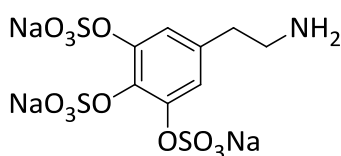
Charakterisierung:

NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 3,01 (d, 2H, CH₂); 3,95 (t, 1H, CH); 7,23 (d, 1H, CH); 7,41 (s, 1H, CH), 7,44 (d, 1H, CH); 7,49 (bs, 2H, NH₂) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ = 37,50 (CH₂-NH₂); 56,82 (CH₂); 122,02 (CH); 122,64 (CH); 122,81 (CH); 127,76 (C-(CH₂)₂-NH₂); 141,27 (C-OSO₃Na); 142,51 (C-OSO₃Na), 179,15 (CO) ppm.

IR (KBr-Pressling): 3444,6 cm⁻¹ (s, ν(N-H)); 2818,2 cm⁻¹ (s, ν(C-H)); 1598,7 cm⁻¹ (s, δ(N-H)); 1505,1 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1424,6 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1384,5 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1353,1 cm⁻¹ (m, δ(O-H)); 1271,8 cm⁻¹ (m, ν(C-O)); 1112,3 (m, ν(C-O)); 1045,0 cm⁻¹ (m, ν(C-O)).

MS (ESI): m / z = 400,00 [M+H]⁺ (berechnet für [(C₉H₈NNa₂O₁₀S₂) + H]⁺ = 400,94

6.2.11.2.7 Sulfatierung von 5OH-Dopamin (5OH-DPs)



5OH-DPs (M = 475,31 g/mol)

Synthesevorschrift A: 0,041 g (0,2 mmol) 5-Hydroxydopamin Hydrochlorid; 0,184 g (1,2 mmol) SO₃-DMF Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein brauner Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufreinigung für die Immobilisierung auf die unterschiedlichen Partikeloberflächen verwendet wurde.

Charakterisierung:

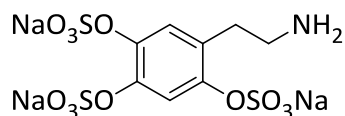
NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 2,83 (t, 2H, CH₂); 2,98 (t, 2H, CH₂); 6,42 (d, 2H, CH); 7,05 (bs, 2H, NH₂) ppm.
¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ = 39,36 (CH₂); 41,90 (CH₂); 107,46 (CH); 128,92 (2x C-OSO₃Na); 136,25 (C-(CH₂)₂-NH₂); 144,90 (2x C-OSO₃Na) ppm.

IR (KBr-Pressling) 3443,8 (s, ν(N-H)); 1615,1 cm⁻¹ (s, δ(NH₂)); 1443,9 cm⁻¹ (m, δ(C-H)); 1359,3

6 Experimenteller Teil

MS (ESI): cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); $1123,3 \text{ cm}^{-1}$.
 $m/z = 409,33$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (berechnet für $[(\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_{12}\text{S}_3) + \text{H}]^+ = 409,94$)

6.2.11.2.8 Sulfatierung von 6OH-Dopamin (6OH-DPs)



6OH-DPs (M = 475,31 g/mol)

Synthesevorschrift A: 0,041 g (0,2 mmol) 6-Hydroxydopamin Hydrochlorid; 0,184 g (1,2 mmol) $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ Komplex in 10 mL DMF.

Es wurde ein hellbrauner Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufreinigung für die Immobilisierung auf die unterschiedlichen Partikeloberflächen verwendet wurde.

Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,81$ (t, 2H, CH_2); $3,10$ (t, 2H, CH_2); $6,63$ (d, 2H, CH); $7,12$ (s, 2H, NH_2) ppm.

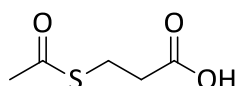
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 32,44$ (CH_2); $40,52$ (CH_2); $111,62$ (CH); $112,70$ (CH); $122,92$ ($\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$); $132,73$ ($\text{C-OSO}_3\text{Na}$); $141,11$ (2x $\text{CH}_2-\text{OSO}_3\text{Na}$) ppm.

IR (KBr-Pressling):

$3443,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $1613,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{N-H})$); $1445,6 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1356,6 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1143,2 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$).

6.2.11.2.9 Synthese von 3-Acetylsulfanylpropionsäure (S-MPA)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von Liu et al.^[348])



S-MPA (M = 148,18 g / mol)

1,50 g (9,8 mmol, 1 Äq.) 3-Bromopropionsäure und 1,68 g (14,7 mmol, 1,5 Äq.) Kaliumthioacetat wurden in 10 mL absolutem DMF gelöst und bei Raumtemperatur unter Schutzgas 2 h gerührt. Anschließend wurde das DMF am Ölpumpenvakuum entfernt, der Rückstand mit 20 mL Dichlormethan versetzt und mit 1 M Salzsäure dreimal gewaschen. Als Nächstes wurde die organische Phase mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (Ethylacetat: $R_f = 0,45$) aufgereinigt. Es wurden 0,94 g (6,4 mmol, 65%) eines farblosen Öls erhalten, welches bis zur Verwendung im Kühlschrank aufbewahrt wurde.

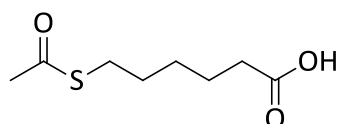
Charakterisierung:

6 Experimenteller Teil

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 2,32 (s, 3H, CH_3); 2,69 (t, 2H, 3J = 9.2 Hz, CH_2COOH); 3,14 (t, 2H, 3J = 9.2 Hz CH_2S); 5,15 (bs, 1H, OH) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 30,9 (CH_3); 31,4 (CH_2CO); 32,4 (CH_2S); 175,3 (COOH); 194,2 (COS) ppm.
IR (Film):	3443,2 (s, $\nu(\text{O-H})$); 2935,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2861,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2550,0 cm^{-1} (w, $\nu(\text{S-H})$); 1707,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1411,8 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1309,6 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1269,3 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1220,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1054,4 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$). 720,5 cm^{-1} (w, CH_2 -rocking).
Elementaranalyse (CHN):	Bestimmt: 40,28% (C), 5,34% (H), 0,33% (N) Berechnet: 40,53% (C), 5,44% (H), 0% (N)

6.2.11.2.10 Synthese von 6-Acetylsulfanylhexansäure (S-MHA)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von Svedhem *et al.* [349])



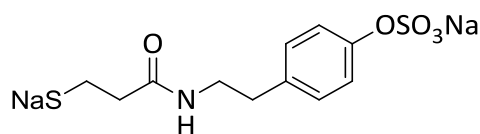
SMHA (M = 190,26 g / mol)

Zu Beginn wurden 1,50 g (7,8 mmol, 1 Äq.) 6-Bromhexansäure und 1,32 g (11,5 mmol, 1.5 Äq.) Kaliumthioacetat in 30 mL abs. DMF gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde unter Schutzgasatmosphäre 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach 2 h wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 20 mL Wasser aufgenommen. Im Anschluss wurde die Lösung mit Dichlormethan mehrmals extrahiert. Danach wurden die vereinigten, organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde ein braunes Öl erhalten (0,88 g, 4,6 mmol, 59%).

Charakterisierung:

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,42 (quin, 2H, CH_2); 1,62-1,70 (m, 4H, CH_2); 2,32 (s, 3H; CH_3); 2,35 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-COOH}$), 2,88 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 24,1 (CH_2); 28,9 (CH_2); 29,2 (CH_2); 30,7 (CH_2); 31,7 (CH_3); 33,7 (CH_2COOH); 178,5 (COOH); 196,0 (CO-S) ppm.
------	---

6.2.11.2.11 Umsetzung von S-Acetyl-Mercaptopropionsäure mit Tyramin durch HOBT / EDC-Kupplung mit anschließendem Sulfatierungsschritt (MPATyras)



MPATyras (M = 349,33 g / mol)

0,150 g (1 mmol, 1 Äq.) S-Acetyl-3-Mercaptopropionsäure wurden in 15 mL Dichlormethan gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann wurden zunächst Tyramin (0,15 g,

1,1 mmol, 1,1 Äq.), HOBt (0,15 g, 1,1 mmol, 1,5 Äq.) und NEt_3 (0,150 mL, 1,1 mmol, 1,5 Äq.) unter starkem Rühren zugegeben. Nach 10 min wurden 0,210 g (1,1 mmol, 1,5 Äq.) EDC zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei wurde der Verlauf der Reaktion per DC-Kontrolle verfolgt. Als Nächstes wurde die Reaktionslösung zweimal mit je 30 mL 0,5 M Zitronensäure und danach mit 30 ml gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer das Lösungsmittel eingeeengt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Säulenchromatographie gereinigt. Es wurde ein farbloser Feststoff (0,200 g, 0,8 mmol, 77%) erhalten

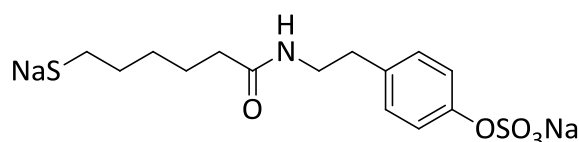
Charakterisierung:

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 2,31$ (s, 3H, CH_3); 2,71 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ar}$); 2,82 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 3,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,48 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 5,71 (bs, 2H, OH); 6,77 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,02 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,18 (t, 1H, NH) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 30,61$ (CH_3); 30,96 (CH_2); 34,56 (CH_2); 36,32 (CH_2); 40,97 (CH_2); 115,60 (CH_{Ar}); 130,03 (CH_{Ar}); 136,51 (Cq); 154,99 (Cq); 170,81 (CO-NH); 196,25 (CO-S) ppm.

IR (Film): 2931,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1755,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1690,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1650,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1593,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$); 1547,1 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$); 1438,7 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1356,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1240,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{O-H})$); 1197,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1168,3 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1135,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1048,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

Zur Sulfatierung und Entschützung wurden im zweiten Schritt 0,150 g (0,4 mmol, 1 Äq.) des erhaltenen Produkts mit 0,150 g (1 mmol, 2,5 Äq.) und 0,150 g (1 mmol, 2,5 Äq.) $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex in 5 mL DMF gelöst und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 100 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum eingeeengt. Das erhaltene Produkt wurde ohne weitere Aufarbeitung direkt für die Ligandenaustauschreaktionen verwendet.

6.2.11.2.12S-Acetyl-6-Mercaptohexansäure mit Tyramin durch HOBt / EDC-Kupplung mit anschließendem Sulfatierungsschritt



MHATyras (M = 391,41 g / mol)

0,180 g (1 mmol, 1 Äq.) S-Acetyl-6-Mercaptohexansäure wurden in 15 mL Dichlormethan gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden unter starkem Rühren zunächst Tyramin (0,150 g, 1,1 mmol, 1,1 Äq.), HOBt (0,150 g, 1,1 mmol, 1,1 Äq.), und NEt_3 (0,15 mL,

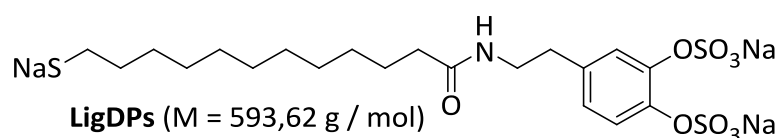
1,1 mmol, 1,1 Äq.) zugegeben. Nach 15 min. wurden 0,210 g (1,1 mmol, 1,1 Äq.) zugegeben und die Reaktionslösung weitere 8 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde per DC-Kontrolle überprüft. Im Anschluss wurde die Lösung je zweimal mit 30 mL 0,5 M Zitronensäure und mit 30 mL einer gesättigten NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde dann über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde durch Flash-Säulenchromatographie gereinigt. Es wurden 0,260 g (8,3 mmol, 83%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

Charakterisierung:

NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃): δ = 1,0-1,36 (m, 2H, CH ₂); 1,43-1,70 (m, 4H, CH ₂); 2,14 (t, 2H, CH ₂ -CO); 2,30 (s, 3H, CH ₃); 2,72 (t, 2H, CH _{2Ar}); 2,83 (t, 2H, CH ₂ -S); 3,47 (q, 2H, CH ₂ -N); 5,74 (bs, 2H, OH); 6,80 (d, 2H, CH _{Ar}); 6,99 (d, 2H, CH _{Ar}); 7,47 (t, 1H, NH) ppm; ¹³ C-NMR (100 MHz, CDCl ₃): δ = 25,73 (CH ₂); 28,72 (CH ₂); 29,00 (CH ₂); 29,15 (CH ₂); 29,22 (CH ₂); 29,31 (CH ₂); 29,35 (CH ₂); 29,48 (CH ₂); 29,70 (CH ₂); 30,67 (CH ₃); 34,74 (CH ₂); 36,84 (CH ₂); 40,80 (CH ₂); 115,59 (CH _{Ar}); 129,73 (CH _{Ar}); 129,99 (Cq); 155,11 (Cq); 173,69 (CO-NH); 196,75 (CO-S) ppm.
IR (Film):	3295,4 cm ⁻¹ (s, v(O-H)); 2933,5 cm ⁻¹ (s, v(C-H)); 2859,7 cm ⁻¹ (s, v(C-H)); 2552,8 cm ⁻¹ (w, v(S-H)); 1689,5 cm ⁻¹ (s, v(C=O)); 1648,5 cm ⁻¹ (s, v(C=O)); 1546,5 cm ⁻¹ (m, δ(N-H)); 1453,0 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1355,2 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1238,9 cm ⁻¹ (m, δ(O-H)); 1198,2 cm ⁻¹ (m, v(C-O)); 1134,0 cm ⁻¹ (m, v(C-O)); 1411,8 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1309,6 cm ⁻¹ (w, δ(C-H)); 1269,3 cm ⁻¹ (m, δ(O-H)); 1220,5 cm ⁻¹ (s,v(C-O)); 1054,4 cm ⁻¹ (w, v(C-O)). 720,5 cm ⁻¹ (w, CH ₂ -rocking).
Elementaranalyse (CHN):	bestimmt: 57,16% (C); 7,20% (H); 4,03% (N) berechnet: 62,11% (C); 7,49%(H); 4,53% (N)

Zur Sulfatierung und Entschützung wurden im zweiten Schritt 0,120 g (0,4 mmol, 1 Äq.) des erhaltenen Produkts mit 0,150 g (1 mmol, 2,5 Äq.) und 0,150 g (1 mmol, 2,5 Äq.) SO₃·DMF-Komplex in 5 mL DMF gelöst und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 100 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum eingengt. Das erhaltene Produkt wurde ohne weitere Aufarbeitung direkt für die Ligandenaustauschreaktionen verwendet.

6.2.11.2.13 Umsetzung von S-Acetyl-11-Mercaptoundecansäure mit Dopamin Hydrochlorid durch HOBt / EDC-Kupplung mit anschließendem Sulfatierungsschritt (LigDPs)



0,26 g (1 mmol, 1 Äq.) S-Acetyl-11-Mercaptoundecansäure wurden in 15 mL Dichlormethan gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Unter starkem Rühren wurden 0,150 g (1,1 mmol, 1,1 Äq.) Dopamin Hydrochlorid, 0,150 g (1,1 mmol, 1,1 Äq.) HOBt, 0,210 g EDC (1,1 mmol, 1,1 Äq.) und 0,150 mL (1,1 mmol, 1,1 Äq.) NEt_3 zugegeben und die Reaktionslösung weitere 8 h gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde per DC-Kontrolle verfolgt. Als Nächstes wurde die Reaktionslösung eingeeengt und mit zweimal je mit 30 mL 0,5 M Zitronensäure, gefolgt von 30 mL einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Danach wurde die organische Phase 2 h über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

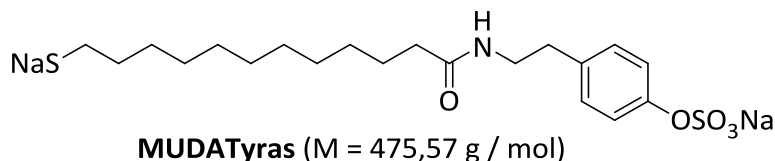
Charakterisierung (des S-Acetyl-geschützten Liganden) :

NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,23\text{-}1,27$ (bs, 12H, CH_2); 1,45 (quin, 4H, CH_2); 1,74 (quin, 2H, CH_2); 2,12 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,31 (s, 3H, CH_3); 2,61 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,85 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,45 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 6,54 (dd, 1H, CH_{Ar}); 6,71 (dd, 1H, CH_{Ar}); 6,89 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,04 (t, 1H; NH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 24,97$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 25,59 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 28,74 (CH_2); 28,77 (CH_2); 29,02 (CH_2), 29,15 (CH_2), 29,22 (CH_2), 29,39 (CH_2), 30,93 (CH_3), 33,92 ($\text{CH}_2\text{-S}$), 36,84 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 40,70 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 60,17 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 115,14 (CH_{Ar}), 115,46 (CH_{Ar}), 120,56 (CH_{Ar}), 131,40 (C-CH_2), 133,87 (C-OSO_3^-); 134,08 (C-OSO_3^-), 173,95 (CO-NH), 196,13 (CO-S) ppm.
IR (KBr-Pressling):	3345,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{NH})$); 2953,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1617,0 (s, $\nu(\text{C=O})$); 1600,0 cm^{-1} ; 1501,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1471,4 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1393,2 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1343,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1286,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1175,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1081,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1014,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 876,2 cm^{-1} ; 814,7 cm^{-1} .
Elementaranalyse (CHN):	bestimmt: 62,78% (C); 8,56% (H); 3,18% (N) berechnet: 63,76% (C); 8,41%(H); 3,51% (N)

Zur Sulfatierung des Rohprodukts wurden im zweiten Schritt erfolgte die Entschützung und Sulfatierung. Dazu wurden 0,150 g (0,4 mmol, 1 Äq.) des erhaltenen Produkts mit 0,150 g (1 mmol, 2,5 Äq.) $\text{SO}_3\cdot\text{DMF}$ -Komplex in 5 mL DMF gemischt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 25 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum eingeeengt und der Rückstand mit Ethanol verdünnt. Dabei fiel ein farbloser Niederschlag aus. Die Suspension wurde 48 h im Kühlschrank gelagert, bevor der Niederschlag abfiltriert und am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde. Es wurden 0,313 g (0,53 mmol, 53%) als Rohprodukt erhalten. Dieses wurde ohne weitere Aufarbeitung für die Ligandenaustauschreaktionen verwendet.

6 Experimenteller Teil

6.2.11.2.14 Umsetzung von S-Acetyl-11-Mercaptoundecansäure mit Tyramin durch HOBt / EDC-Kupplung mit anschließendem Sulfatierungsschritt (MUDATyra)



0,260 g (1 mmol, 1 Äq.) S-Acetyl-11-Mercaptoundecansäure wurden in 15 mL Dichlormethan gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Unter starkem Rühren wurden 0,150 g (1,1 mmol, 1,1 Äq.) Tyramin, 0,150 g (1,1 mmol, 1,1 Äq.) HOBt, 0,210 g EDC (1,1 mmol, 1,1 Äq.) und 0,150 mL (1,1 mmol, 1,1 Äq.) NEt₃ zugegeben und die Reaktionslösung weitere 8 h gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde per DC-Kontrolle verfolgt. Als Nächstes wurde die Reaktionslösung eingengt und mit zweimal je mit 30 mL 0,5 M Zitronensäure, gefolgt von 30 mL einer gesättigten NaHCO₃-Lösung gewaschen. Danach wurde die organische Phase 2 h über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurden 0,350 g (0,9 mmol, 90%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

Charakterisierung:

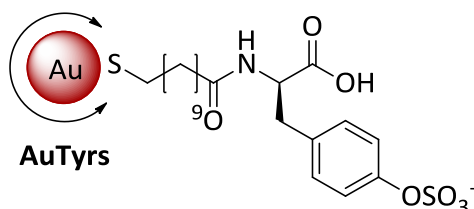
NMR:	¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃): δ = 1,23-1,33 (m, 12H, CH ₂); 1,51-1,58 (m, 4H, CH ₂); 2,14 (t, 2H, CH ₂ -CONH); 2,30 (s, 3H, CH ₃); 2,73 (t, 2H, CH _{2Ar}); 2,85 (t, 2H, CH ₂ -S); 3,47 (q, 2H, CH ₂ -NH); 5,59 (bs, 2H, OH); 6,78 (d, 2H, CH _{Ar}); 7,01 (d, 2H, CH _{Ar}) ppm. ¹³ C-NMR (100 MHz, CDCl ₃): δ = 24,81 (CH ₂); 25,59 (CH ₂); 28,85 (CH ₂); 29,18 (CH ₂); 30,96 (CH ₃); 35,05 (CH ₂); 36,45 (CH ₂); 40,80 (CH ₂); 115,73 (CH _{Ar}); 129,74 (CH _{Ar}); 136,40 (Cq); 155,29 (Cq); 173,31 (CO); 196,24 (COS) ppm.
IR (KBr-Pressling):	3302,5 cm ⁻¹ (s, v(O-H)); 2921,6 cm ⁻¹ (s, v(C-H)); 2850,1 cm ⁻¹ (s, v(C-H)); 2539,2 cm ⁻¹ (w, v(S-H)); 1637,7 cm ⁻¹ (s, v(C=O)); 1549,8 cm ⁻¹ (s, δ(N-H)); 1464,1 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1418,2 cm ⁻¹ (m, δ(C-H)); 1385,8 cm ⁻¹ (m, δ(O-H)); 1283,8 cm ⁻¹ (m, v(C-O)); 1243,2 cm ⁻¹ (s, v(C-O)); 1172,7 cm ⁻¹ (m, v(C-O)); 1018,6 cm ⁻¹ (w, v(C-O)). 722,7 cm ⁻¹ (w, CH ₂ -rocking).
Elementaranalyse (CHN):	bestimmt: 65,49% (C); 8,71% (H); 3,65% (N) berechnet: 66,45% (C); 8,76%(H); 3,89% (N)

Im zweiten Schritt erfolgte die Entschützung und Sulfatierung. Dazu wurden 0,150 g (0,4 mmol, 1 Äq.) des erhaltenen Produkts mit 0,150 g (1 mmol, 2,5 Äq.) SO₃·DMF-Komplex in 5 mL DMF gemischt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 25 mL 0,2 M Natronlauge zugegeben und die Reaktionslösung weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel am Ölpumpenvakuum eingengt und der

Rückstand mit Ethanol verdünnt. Dabei fiel ein farbloser Niederschlag aus. Die Suspension wurde 48 h im Kühlschrank gelagert, bevor der Niederschlag abfiltriert und am Ölpumpenvakuum getrocknet wurde. Es wurden 0,153 g (0,32 mmol, 80%) als Rohprodukt erhalten. Dieses wurde ohne weitere Aufarbeitung für die Ligandenaustauschreaktionen verwendet.

6.2.11.3 Multivalente Präsentation der Clovamid-inspirierten Liganden auf den Goldnanopartikeln

6.2.11.3.1.1 Synthese von Tyrs-kordinierten Goldkolloiden (AuTyrs; $\varnothing = 7$ nm)



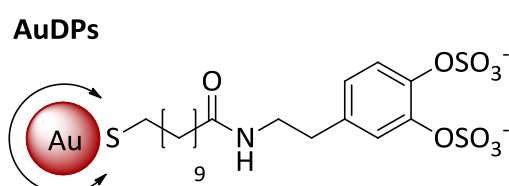
Synthesevorschrift B: 3 mL (0,34 nmol, 1,13 μ mol/L) AuMUDHSE; 0,009 g (0,034 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) Tyrs, 25 μ L (0,18 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 , 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq) EAs

Nach dem Dialyseschritt wurden 3 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,11 \mu\text{mol/L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,8 \pm 0,3$ nm	DLS:	$d_h = 11 \pm 2$ nm
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 524$ nm		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,16-1,45$ (bs, 12H, CH_2); 1,52 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 1,67 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,17 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,52 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,19 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$); 3,77 (m, 1H, CH-NH); 6,84(d, 2H, CH_{Ar}); 6,88(d, 2H, CH_{Ar}); 7,76 (d, 1H, NH) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	3397,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 2923,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2851,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1646,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1550,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{N-H})$); 1515,0 cm^{-1} (s, $\delta(\text{N-H})$); 1449,8 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1412,4 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1375,8 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1259,8 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); 1130,5 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); 1103,2 cm^{-1} .		

6.2.11.3.2 Synthese von DPs-kordinierten Goldkolloiden (AuDPs; $\varnothing = 7$ nm)



6 Experimenteller Teil

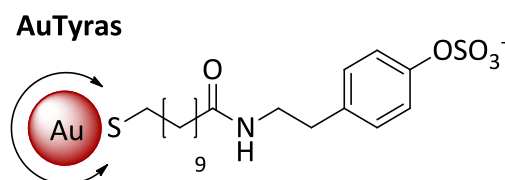
Synthesevorschrift B: 3 mL (0,34 nmol, 1,13 $\mu\text{mol/L}$) AuMUDHSE; 0,012 g (0,034 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) DPs, 25 μL (0,18 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 , 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq) EAs

Nach dem Dialyseschritt wurden 3 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,11 \mu\text{mol/L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM: $d = 6,9 \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 11 \pm 2 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,24\text{-}1,45$ (bs, 12H, CH_2); 1,53 (quin, 2H, CH_2); 1,68 (quin, 2H, CH_2); 2,16 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,28 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,85 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,37 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 6,69 (d, 1H, CH_{Ar}); 6,76 (d, 1H, CH_{Ar}); 7,02 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,98 (t, 1H, NH) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 23,24$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 26,81 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 27,82 (CH_2); 28,03 (CH_2); 28,52 (CH_2); 29,01 (CH_2); 29,41 (CH_2); 29,90 (CH_2); 34,94 ($\text{CH}_2\text{-S}$); 36,81 ($\text{CH}_2\text{-CO}$); 43,71 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 59,48 ($\text{CH}_2\text{-NH}$); 116,20 (CH_{Ar}); 118,32 (CH_{Ar}); 123,19 (CH_{Ar}); 130,42 (C-CH_2); 139,37 (C-OSO_3^-); 140,18 (C-OSO_3^-); 170,83 (CO-NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 3441,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 2921,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1632,9 (m, $\nu(\text{C=O})$); 1488,1 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1404,0 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1264,4 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); 1115,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1042,3 cm^{-1} ; 948,3 cm^{-1} .

6.2.11.3.3 Synthese von Tyras-koordinierten Goldkolloiden (AuTyras; $\varnothing = 7 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift B: 3 mL (0,34 nmol, 1,13 $\mu\text{mol/L}$) AuMUDHSE; 0,009 g (0,034 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) Tyras, 25 μL (0,18 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 , 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq) EAs

Nach dem Dialyseschritt wurden 3 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,11 \mu\text{mol/L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

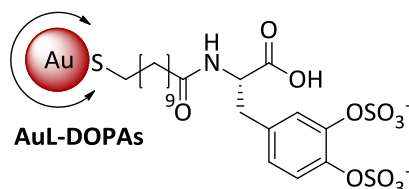
TEM: $d = 6,8 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 13 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 525 \text{ nm}$
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,27$ (bm, 10H, CH_2); 1,46 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-(CH}_2)_2\text{-S}$); 1,56 (m, 4H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 2,08 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,33 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,88 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 4,04 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 6,76 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,06 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,70 (t, 1H, NH) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 24,54$ ($\text{CH}_2\text{-S}$); 25,61 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 28,22 (CH_2),

6 Experimenteller Teil

UV/Vis: $\lambda_{\max} = 526 \text{ nm}$

Eine Analyse durch NMR-Spektren war nicht möglich, da sich die Partikel nicht in deuteriertes Lösungsmittel agglomerationsfrei überführen lassen.

6.2.11.3.6 Synthese von L-DOPAs-koordinierten Goldkolloiden (AuL-DOPAs; $\varnothing = 7 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift B: 3 mL (0,34 nmol, 1,13 $\mu\text{mol/L}$) AuMUDHSE; 0,014 g (0,034 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) L-DOPAs, 25 μL (0,18 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 , 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq) EAs

Nach dem Dialyseschritt wurden 3 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,11 \mu\text{mol/L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4°C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

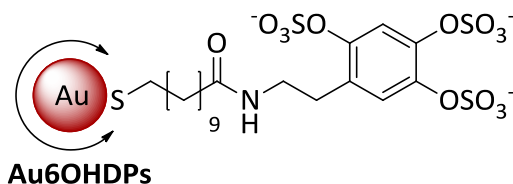
TEM: $d = 6,9 \pm 0,3 \text{ nm}$

DLS: $d_h = 30 \pm 6 \text{ nm}$

UV/Vis: $\lambda_{\max} = 527 \text{ nm}$

NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,19\text{-}1,33$ (bs, 12H, CH_2); 1,59 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,18 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,27 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,11 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$); 3,67 (m, 1H, CH-NH); 7,28 (d, 3H, CH_Ar); 8,00 (d, 1H, NH) ppm.

6.2.11.3.7 Synthese von 6-OHDPs-koordinierten Goldkolloiden (Au6OHDPs; $\varnothing = 7 \text{ nm}$)



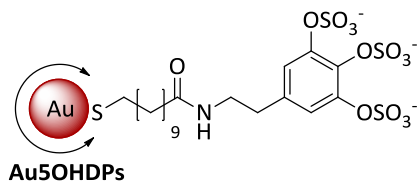
Synthesevorschrift B: 3 mL (0,34 nmol, 1,13 $\mu\text{mol/L}$) AuMUDHSE; 0,014 g (0,016 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) 6OHDPs, 25 μL (0,18 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 , 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq) EAs

Nach dem Dialyseschritt wurden 3 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,11 \mu\text{mol/L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4°C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,9 \pm 0,3 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 20 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 526 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,21\text{-}1,41$ (bs, 12H, CH_2); 1,55 (quin, 2H, CH_2); 1,61 (quin, 2H, CH_2); 2,11 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,63 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,88 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,99 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,08 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,13 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,51 (t, 1H, NH) ppm.		

6.2.11.3.8 Synthese von 5OHDPs-koordinierten Goldkolloiden (Au5OHDPs; $\varnothing = 7 \text{ nm}$)



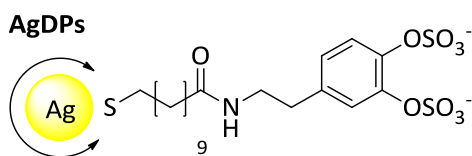
Synthesevorschrift B: 3 mL (0,34 nmol, 1,13 $\mu\text{mol/L}$) AuMUDHSE; 0,014 g (0,016 mmol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) 6OHDPs, 25 μL (0,18 mmol, $2,5 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 , 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq) EAs

Nach dem Dialyseschritt wurden 3 mL einer klaren, dunkelroten Kolloidlösung ($c = 0,11 \mu\text{mol/L}$) erhalten. Diese wurde im Kühlschrank bei 4°C gelagert und war mehrere Wochen stabil.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 6,9 \pm 0,3 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 20 \pm 5 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 525 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,21\text{-}1,35$ (bs, 12H, CH_2); 1,58 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CO}$, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,16 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,54 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,83 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,78 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,08 (s, 2H, CH_{Ar}); 7,92 (bs, 1H; NH) ppm.		

6.2.11.3.9 Synthese von DP-koordinierten Silbernanopartikeln (AgDPs, $\varnothing = 5 \text{ nm}$)



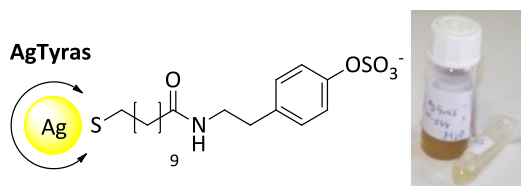
Synthesevorschrift B (analog zu AuNP): 2,5 mL (0,4 $\mu\text{mol/L}$, 1 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) AgMUDHSE; 0,036 g ($1 \cdot 10^{-4}$ mol, $1 \cdot 10^5$ Äq.) DP; 25 μL (0,18 mmol, $1,8 \cdot 10^5$ Äq) NEt_3 ; 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) 2-Aminoethyl-hydrogensulfat; 2 ml abs. DMF, 5 mL Milipore-Wasser

Es wurde eine klare, dunkelgelbe Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol/L}$) erhalten, die mehrere Wochen stabil war.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 4,6 \pm 0,3 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 10 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 421 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,20\text{-}1,41$ (bs, 12H, CH_2); 1,48 (m, 2H, CH_2); 1,57 (m, 2H, CH_2); 2,13 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,43 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,96 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,98 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 6,93 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,04 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,45 (bs, 1H; NH) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 24,65$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 25,84 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 28,78 (CH_2); 29,02 (CH_2); 29,15 (CH_2), 29,31 (CH_2), 29,37 (CH_2), 29,48 (CH_2), 33,99 ($\text{CH}_2\text{-S}$), 37,10 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 40,73 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 57,28 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 118,72 (CH_{Ar}), 124,84 (CH_{Ar}), 126,58 (CH_{Ar}), 130,66 (C-CH_2), 140,56 (C-OSO_3^-); 143,74 (C-OSO_3^-), 171,24 (CO-NH) ppm.		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	$3366,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $2918,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2848,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); 1630 (m, $\nu(\text{C=O})$); $1557,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{N-H})$); $1487,4 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1415,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{C-H})$); $1260,1 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1107,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1036,7 \text{ cm}^{-1}$; $874,7 \text{ cm}^{-1}$; 833 cm^{-1} .		

6.2.11.3.10 Synthese von Tyras-koordinierten Silbernanopartikeln ($\varnothing = 5 \text{ nm}$)



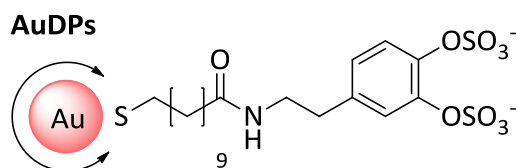
Synthesevorschrift B (analog zu AuNP): 2,5 mL (0,4 $\mu\text{mol} / \text{L}$, 1 nmol Nannopartikel, 1 Äq.) AgMUDHSE; 0,024 g ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$, $1 \cdot 10^5$ Äq.) Tyras; 25 μL (0,18 mmol, $1,8 \cdot 10^5$ Äq.) NEt_3 ; 0,002 g (0,014 mmol, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) 2-Aminoethyl-hydrogensulfat; 2 ml abs. DMF, 5 mL Milipore-Wasser

Es wurde eine klare, dunkelgelbe Kolloidlösung ($c = 0,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die mehrere Wochen stabil war.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 4,6 \pm 0,2 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 14 \pm 2 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 422 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D2O): $\delta = 1,25\text{-}1,32$ (bm, 12H, CH_2); 1,54 (m, 4H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 1,90 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,37 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,87 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,34 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,21 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,32 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,91 (bs, 1H, NH) ppm.		

6.2.11.4 Variation der Partikelgröße

6.2.11.4.1 Synthese von DPs-koodinierten Goldkolloiden (AuDPs; $\varnothing = 10 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift C: 5 mL (1,14 nmol Nanopartikel (0,228 $\mu\text{mol/L}$), 1 Äq.) AuMUDA; 0,004 g (0,026 mmol, $2,3 \cdot 10^4$ Äq.) HOBt; 0,011 g (0,026 mmol, $2,3 \cdot 10^4$ Äq.) HBTU; 0,046 g (0,13 mmol, $1,14 \cdot 10^5$ Äq.) DPs; 7,5 μL (5,2 mmol, $8 \cdot 10^4$ Äq.) NEt_3 ; Millipore-Wasser; DMSO.

Es wurde eine klare, rote Kolloidlösung ($c = 0,23 \mu\text{mol/L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei 4°C gelagert wurde und mehrere Monate stabil war.

Charakterisierung:

TEM: $d = 9,5 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 16 \pm 4 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 529 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,23\text{-}1,41$ (bs, 12H, CH_2); 1,51 (m, 2H, CH_2); 1,60 (m, 2H, CH_2); 2,16 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,33 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,95 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 3,76 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,14 (d, 1H, CH_{Ar}); 7,17 (d, 1H, CH_{Ar}); 7,28 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,87 (t, 1H; NH) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 24,78$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 25,51 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 27,54 (CH_2); 27,89 (CH_2); 28,98 (CH_2); 29,06 (CH_2); 30,41 (CH_2); 30,71 (CH_2); 34,86 ($\text{CH}_2\text{-S}$); 35,26 ($\text{CH}_2\text{-CO}$); 40,61 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 59,48 ($\text{CH}_2\text{-NH}$); 116,47 (CH_{Ar}); 120,51 (CH_{Ar}); 124,08 (CH_{Ar}); 132,70 (C-CH_2); 142,89 (C-OSO_3^-); 144,09 (C-OSO_3^-); 173,82 (CO-NH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 3029 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); 2939 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1615 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$), 1496 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1471 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1392 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1341 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1284 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); 1173 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1080 cm^{-1} ; 877 cm^{-1} ; 814 cm^{-1} .

6.2.11.4.2 Synthese von DPs-koodinierten Goldkolloiden (AuDPs; $\varnothing = 14 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift D: 30 mL (0,052 nmol Nanopartikel (1,72 nmol/L), 1 Äq.) AuCitrat; 0,010 g ($1,7 \cdot 10^{-5}$ mol, $3,3 \cdot 10^5$ Äq.) LigDPs; Millipore-Wasser

Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen 33 mL. Dieses wurde auf 15 mL eingengt. Es wurde eine klare, hellrote Kolloidlösung ($c = 3,47 \text{ nmol/L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei 4°C gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM: $d = 14,1 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 23 \pm 5 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 531 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,23\text{-}1,38$ (m, 16H, CH_2); 2,22 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,30 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,87 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,58 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 6,76 (bs, 3H, CH_{Ar}); 7,28 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,92 (bs, 1H; NH) ppm.

6.2.11.4.3 Synthese von DPs-koodinierten Goldkolloiden (AuDPs; $\varnothing = 25 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift C (analog zu AuNP (14 nm)): 50 mL (0,013 nmol Nanopartikel (0,25 nmol / L), 1 Äq.) AuCitrat; 0,010 g ($1,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $1,4 \cdot 10^6 \text{ Äq.}$) LigDPs; Millipore-Wasser

Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen 53 mL. Dieses wurde auf 25 mL eingengt. Es wurde eine klare, violette Kolloidlösung ($c = 0,52 \text{ nmol / L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 25,3 \pm 1,4 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 36 \pm 8 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 538 \text{ nm}$		

6.2.11.4.4 Synthese von DPs-koodinierten Silbernanopartikeln (AgDPs, $\varnothing = 17 \text{ nm}$)

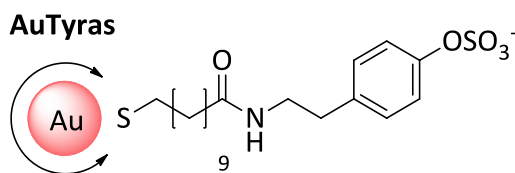
Synthesevorschrift C (analog zu AuNP): 30 mL (0,053 nmol Nanopartikel (1,77 nmol / L), 1 Äq.) AgCitrat; 0,010 g ($1,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $3,7 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) LigDPs; Millipore-Wasser

Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen 31 mL. Dieses wurde auf 17 mL eingengt. Es wurde eine klare, gelbe Kolloidlösung ($c = 3,1 \text{ nmol / L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 16,7 \pm 0,9 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 34 \pm 7 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 430 \text{ nm}$		

6.2.11.4.5 Synthese von Tyras-koodnierten Goldkolloiden (AuTyras; $\varnothing = 10 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift C: 5 mL (1,14 nmol Nanopartikel (0,228 $\mu\text{mol / L}$), 1 Äq.) AuMUDA; 0,004 g (0,026 mmol, $2,3 \cdot 10^4 \text{ Äq.}$) HOBt; 0,011 g (0,026 mmol, $2,3 \cdot 10^4 \text{ Äq.}$) HBTU; 0,031 g (0,13 mmol, $1,14 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) Tyras; 7,5 μL (5,2 mmol, $8 \cdot 10^4 \text{ Äq.}$) NEt_3 ; Millipore-Wasser; DMSO.

Es wurde eine klare, rote Kolloidlösung ($c = 0,23 \mu\text{mol / L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde und mehrere Monate stabil war.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 9,6 \pm 0,3 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 17 \pm 3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 527 \text{ nm}$		
NMR:	<p>¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1,16\text{-}1,32$ (bm, 12H, CH₂); 1,65 (m, 4H; CH₂-CH₂-S, CH₂-CH₂-CO); 2,10 (t, 2H, CH₂-CO); 2,37 (t, 2H, CH₂-S); 2,51 (t, 2H, CH₂-CH₂-NH); 4,08 (m, 2H, CH₂-NH); 6,98 (bd, 2H, CH_{Ar}); 7,18 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,95 (t, 1H, NH) ppm.</p> <p>¹³C-NMR(100 MHz, D₂O): $\delta = 24,68$ (CH₂-S), 25,67 (CH₂-CH₂-CO), 28,00 (CH₂), 28,69 (CH₂), 29,16 (CH₂), 29,53 (CH₂), 29,88 (CH₂), 30,18 (CH₂), 31,89 (CH₂-CH₂-S), 34,44 (CH₂-CO), 36,96 (CH₂-CH-NH), 49,81 (CH-NH), 121,12 (CH_{Ar}), 121,51 (CH_{Ar}), 126,47 (CH_{Ar}), 126,90 (CH_{Ar}), 132,11 (C-CH₂), 148,82 (C-OSO₃⁻), 174,86 (CO) ppm.</p>		
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	<p>2963,0 cm⁻¹ (s, v(C-H)); 1651,4 (m, v(C=O)), 1259,7 cm⁻¹ (w, v(C-O)); 1086,4 cm⁻¹ (s, v(C-O)); 1016,6 cm⁻¹.</p>		

6.2.11.4.6 Synthese von MUDATyras-koord. Goldnanopartikel (AuTyras, $\varnothing = 25 \text{ nm}$)

Synthesevorschrift C (analog zu AuNP (14 nm)): 50 mL (0,013 nmol Nanopartikel (0,25 nmol / L), 1 Äq.) AuCitrat; 0,015 g (3,2·10⁻⁵ mol, 2,5·10⁶ Äq.) LigDPs; Millipore-Wasser

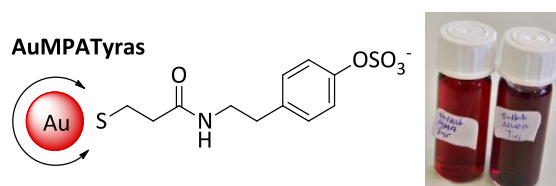
Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen 52 mL. Dieses wurde auf 25 mL eingengt. Es wurde eine klare, violette Kolloidlösung (c = 0,50 nmol / L) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 25,3 \pm 1,4 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 37 \pm 9 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 535 \text{ nm}$		

6.2.11.5 Variation der Linkerlänge und Ankergruppe

6.2.11.5.1 Synthese von MPATyras-koordinierten Goldnanopartikeln durch Ligandenaustauschreaktion (AuMPATyras; $\varnothing = 14 \text{ nm}$)



6 Experimenteller Teil

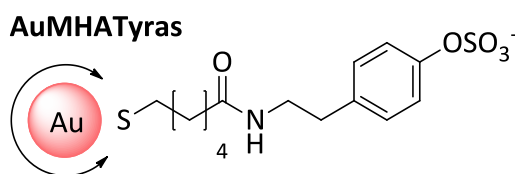
Synthesevorschrift D: 30 mL (0,052 nmol Nanopartikel (1,72 nmol / L), 1 Äq.) AuCitrat; 0,010 g ($1,7 \cdot 10^{-5}$ mol, $3,3 \cdot 10^5$ Äq.) MPATyras; Millipore-Wasser

Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen 33 mL. Dieses wurde auf 15 mL eingengt. Es wurde eine klare, hellrote Kolloidlösung ($c = 3,47$ nmol / L) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM: $d = 14,4 \pm 0,7$ nm DLS: $d_h = 18 \pm 4$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\max} = 528$ nm
NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $d = 2,42$ (t, 2H, CH₂-S); 2,54 (t, 2H, CH₂-CO); 2,83 (bs, 2H, CH₂-CH₂-NH); 3,77 (q, 2H, CH₂-NH); 6,80 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,19 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,88 (bs, 1H, NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2933,1 cm⁻¹ (s, ν (C-H)); 1649,5 (m, ν (C=O)), 1593,8 cm⁻¹ (s, ν (N-H)); 1440,0 cm⁻¹ (s, δ (C-H)); 1362,0 cm⁻¹ (m, δ (C-H)); 1262,2 cm⁻¹ (s, ν (C-O)); 1169,8 cm⁻¹ (m, ν (C-O)); 1051,6 cm⁻¹ (s, ν (C-O)), 825,4 cm⁻¹.

6.2.11.5.2 Synthese von MHATyras-koordinierten Goldnanopartikeln durch Ligandenaustauschreaktion (AuMHATyras; $\varnothing = 14$ nm)



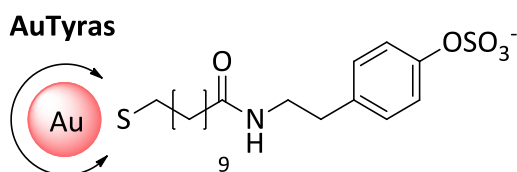
Synthesevorschrift D: 30 mL (0,052 nmol Nanopartikel (1,72 nmol / L), 1 Äq.) AuCitrat; 0,010 g ($1,7 \cdot 10^{-5}$ mol, $3,3 \cdot 10^5$ Äq.) MHATyras; Millipore-Wasser

Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen 33 mL. Dieses wurde auf 15 mL eingengt. Es wurde eine klare, hellrote Kolloidlösung ($c = 3,47$ nmol / L) erhalten, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM: $d = 14,4 \pm 0,7$ nm DLS: $d_h = 18 \pm 4$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\max} = 528$ nm
NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $d = 1,28$ (quin, 2H, CH₂); 1,47 (m, 2H, CH₂-CH₂-S); 1,55 (m, 2H, CH₂-CH₂S); 2,03 (t, 2H, CH₂-CO); 2,54 (t, 2H, CH₂-S); 2,88 (bs, 2H, CH₂-CH₂-NH); 3,62 (q, 2H, CH₂-NH); 6,73 (d, 2H, CH_{Ar}); 6,95 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,78 (bs, 1H, NH) ppm.

6.2.11.5.3 Synthese von von MUDATyras-koodinierten Goldnanopartikeln durch Ligandenaustauschreaktion (AuMUDATyras; $\varnothing = 14 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift D: 30 mL (0,052 nmol Nanopartikel (1,72 nmol / L), 1 Äq.) AuCitrat; 0,010 g ($1,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$, $3,3 \cdot 10^5 \text{ Äq.}$) MUDATyras; Millipore-Wasser

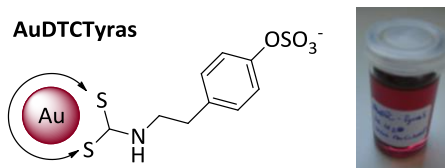
Nach der Dialyse betrug das Lösungsmittelvolumen 33 mL. Dieses wurde auf 15 mL eingengt. Es wurde eine klare, hellrote Kolloidlösung ($c = 3,47 \text{ nmol / L}$) erhalten, die im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert wurde.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 14,4 \pm 0,7 \text{ nm}$	DLS:	$d_h = 21 \pm 4 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 530 \text{ nm}$		
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D ₂ O): $\delta = 1,23\text{-}32$ (bm, 10H, CH ₂); 1,46 (m, 2H, CH ₂ -(CH ₂) ₂ -S); 1,56-1,62 (m, 4H; CH ₂ -CH ₂ -S, CH ₂ -CH ₂ -CO); 2,03 (t, 2H, CH ₂ -CO); 2,38 (t, 2H, CH ₂ -S); 2,67 (t, 2H, CH ₂ -CH ₂ -NH); 3,17 (q, 2H, CH ₂ -NH); 6,65 (d, 2H, CH _{Ar}); 6,96 (m, 2H, CH _{Ar}); 7,25 (t, 1H, NH) ppm.		

6.2.11.5.4 Synthese von DTC-Tyras-koodinierten Goldnanopartikeln (AuDTCTyras; $\varnothing = 14 \text{ nm}$)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Kailasa et al.*^[347])



Zunächst wurden $6 \mu\text{L}$ ($0,1 \text{ mmol}$, $3,8 \cdot 10^6 \text{ Äq.}$) Kohlenstoffdisulfid mit $0,024 \text{ g}$ ($0,1 \text{ mmol}$, $3,8 \cdot 10^6 \text{ Äq.}$) Tyras und $9 \mu\text{L}$ ($0,06 \text{ mmol}$, $2,4 \cdot 10^6 \text{ Äq.}$) NEt_3 in 1 mL Millipore-Wasser gemischt und 10 min bei Raumtemperatur im Ultraschallbad behandelt. Im Anschluss daran wurde die Ligandlösung unter starkem Rühren zu einer $1,72 \text{ nmol}$ AuCitrat-Lösung (15 mL , $0,026 \text{ nmol}$, 1 Äq.) gegeben und eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt, wobei diese langsam dunkler wurde. Danach wurde die Reaktionslösung mit Ethanol gefällt und zentrifugiert (3500 rpm , 10 min). Der erhaltene Rückstand wurde in 5 mL Millipore-Wasser resuspendiert und abschließend in einem weiteren Reinigungsschritt gegen Millipore-Wasser dialysiert (MWCO: $3500\text{-}6000 \text{ Da}$, 400 mL Millipore-Wasser, 3 h). Nach dem Dialyseschritt betrug das Lösungsmittelvolumen $5,8 \text{ mL}$.

6 Experimenteller Teil

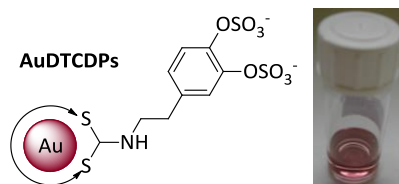
Somit wurde eine klare, rote Kolloidlösung mit einer Konzentration von 4,48 nmol / L an Nanopartikeln erhalten. Die Lösung wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

Charakterisierung:

TEM: $d = 14,4 \pm 0,7$ nm DLS: $d_h = 24 \pm 6$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\max} = 529$ nm
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,75$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,58 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,50 (d, 4H, CH_{Ar}); 7,78 (q, 1H, NH) ppm.
Das S-CH Signal wird durch den Lösungsmittelpeak überdeckt.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 38,96$ (CH_2), 46,41 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 59,24 (CH), 122,53 (CH_{Ar}); 123,26 (CH_{Ar}), 125,56 (CH_{Ar}), 125,92 (CH_{Ar}), 127,68 (C-CH_{Ar}), 142,25 (C-OSO_3^-) ppm.

6.2.11.5.5 Synthese von DTCDPs-koordinierten Goldnanopartikeln (AuDTCDPs, $\varnothing = 14$ nm)

(in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *Kailasa et al.*^[347])



Zunächst wurden 17 μL (0,28 mmol, $1,1 \cdot 10^7$ Äq.) Kohlenstoffdisulfid mit 0,098 g (0,28 mmol, $1,1 \cdot 10^7$ Äq.) DPs und 24 μL (0,18 mmol, $6,9 \cdot 10^6$ Äq.) NEt_3 in 1 mL Millipore-Wasser gemischt und 5 min bei Raumtemperatur im Ultraschallbad behandelt. Im Anschluss daran wurde die Ligandlösung unter starkem Rühren zu einer 1,72 nmol AuCitrat-Lösung (15 mL, 0,026 nmol, 1 Äq.) gegeben und eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt, wobei diese langsam dunkler wurde. Danach wurde die Reaktionslösung mit Ethanol gefällt und zentrifugiert (3500 rpm, 10 min). Der erhaltene Rückstand wurde in 5 mL Millipore-Wasser resuspendiert und abschließend in einem weiteren Reinigungsschritt gegen Millipore-Wasser dialysiert (MWCO: 3500-6000 Da, 400 mL Millipore-Wasser, 3 h). Nach dem Dialyseschritt betrug das Lösungsmittelvolumen 6,3 mL. Somit wurde eine klare, rote Kolloidlösung mit einer Konzentration von 4,12 nmol / L an Nanopartikeln erhalten. Die Lösung wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

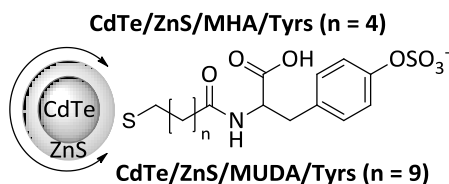
Charakterisierung:

TEM: $d = 14,1 \pm 0,4$ nm DLS: $d_h = 19 \pm 5$ nm
UV/Vis: $\lambda_{\max} = 529$ nm
NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,74$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,18 (bs, 1H, CH-S); 3,44 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,21-7,29 (m, 5H, NH , CH_{Ar}) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 3307,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{NH})$); 2924,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2854,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1636,2 (s, $\nu(\text{C=O})$), 1539,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1506,1 cm^{-1} ; 1464,1 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$);

1418,7 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1228,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1105,5 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$);
1050,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1017,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 873,8 cm^{-1} ; 819,4 cm^{-1} .

6.2.11.6 Multivalente Präsentation der Clovamid inspirierten Liganden durch QDots

6.2.11.6.1 Tyrs-koordinierte CdTe/ZnS-QDots



CdTe/ZnS/MHA/Tyrs (n = 4):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL (5,79 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,009 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Tyrs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Tyrs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Charakterisierung MHA (n = 4):

TEM: $d = 3,5 \pm 0,3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 484 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 3438,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 2924,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1568,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{N-H})$), 1109,3 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$).

CdTe/ZnS/MUDA/Tyrs (n = 9):

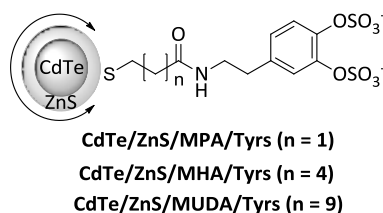
Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 3 mL (2,35 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,009 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) Tyrs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Tyrs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) schwach grün fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Charakterisierung MUDA (n = 9):

TEM:	$d = 2,7 \pm 0,2 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 432 \text{ nm}$
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,16\text{-}1,42$ (bm, 12H, CH_2); 1,52 (quin, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$); 2,03 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,54 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,05 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$); 4,54 (m, 1H, CH-NH); 7,08-7,19 (bm, 4H, CH_{Ar}); 8,08 (bs, 1H, NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	$3346,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $1576,2 \text{ cm}^{-1}$ (ss, $\delta(\text{N.H})$), $1385,2 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1351,0 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\delta(\text{C-H})$); $1212,0 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1044,6 \text{ cm}^{-1}$.

6.2.11.6.2 DPs-koordinierte Quantum Dots

**CdTe/ZnS/MPA/DPs (n = 1):**

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 12,5 mL (0,8 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MPA; 0,002 g (0,01 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,005 g (0,025 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,025 g ($7 \cdot 10^{-5}$ mol, $7 \cdot 10^4$ Äq.) DPs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die DPs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, hellgelbe Partikellösung ($c = 2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten.

Charakterisierung MPA (n = 1):

TEM:	$d = 3,8 \pm 0,3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 542 \text{ nm}$
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,31$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,53 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,64 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,67 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,23 (m, 3H, CH_{Ar}) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	$3320,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $2943,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2865,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1637,4 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C=O})$); $1561,4 \text{ cm}^{-1}$ (ss, $\delta(\text{N.H})$), $1410,7 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{C-H})$); $1337,2 \text{ cm}^{-1}$ (w, $\delta(\text{C-H})$); $1258,5 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{C-O})$); $1153,5 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1099,1 \text{ cm}^{-1}$; $1038,9 \text{ cm}^{-1}$; $878,1 \text{ cm}^{-1}$.

CdTe/ZnS/MHA/DPs (n = 4)

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL (5,79 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g

(0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,011 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) DPs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die DPs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung MHA (n = 4):

TEM: $d = 3,5 \pm 0,3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 489 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,36$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,61 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,79 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,64 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 6,91 (m, 1H, CH_{Ar}), 7,01 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,79 (bs, 1H, NH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $3320,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{N-H})$); $2943,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $2865,2 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1771,9 \text{ cm}^{-1}$; $1590,9 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\delta(\text{N.H})$), $1416,9 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{C-H})$); $1105,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $876,0 \text{ cm}^{-1}$; $614,8 \text{ cm}^{-1}$.

CdTe/ZnS/MUDA/DPs (n = 9):

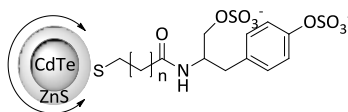
Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 3 mL ($2,35 \mu\text{mol} / \text{L}$, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,009 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) DPs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die DPs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) schwach grün fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung MUDA (n = 9):

TEM: $d = 2,6 \pm 0,3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 439 \text{ nm}$

6.2.11.6.3 Tyrols-koordinierte QDots



CdTe/ZnS/MPA/Tyrols (n = 1)
 CdTe/ZnS/MHA/Tyrols (n = 4)
 CdTe/ZnS/MUDA/Tyrols (n = 9)

CdTe/ZnS/MPA/Tyrols (n = 1):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 12,5 mL (0,8 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 \AA q.) CdTe/ZnS/MPA; 0,002 g (0,01 mmol, 1000 \AA q.) EDC; 0,005 g (0,025 mmol, 2500 \AA q.) sulfo-NHS; 0,026 g ($7 \cdot 10^{-5}$ mol, $7 \cdot 10^4$ \AA q.) Tyrols; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Tyrols-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, hellgelbe Partikellösung ($c = 2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MPA/Tyrols (n = 1):

TEM: $d = 3,8 \pm 0,3 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 542 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,02$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,28 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,57 (dd, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$); 3,99 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 4,18 (m, 1H, CH-NH); 6,55 (s, 2H, CH_{Ar}); 6,91 (s, 2H, CH_{Ar}); 7,71 (t, 1H, NH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 1563,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{CN-H})$); 1426,8 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1255,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1131,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1053,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 874,8 cm^{-1} .

CdTe/ZnS/MHA/Tyrols (n = 4):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL (5,79 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 \AA q.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 \AA q.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 \AA q.) sulfo-NHS; 0,011 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ \AA q.) Tyrols; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Tyrols-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MHA/Tyrols (n = 4):

TEM: $d = 3,5 \pm 0,2 \text{ nm}$
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 492 \text{ nm}$
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,29$ (m, 2H, CH_2); 1,53 (m, 4H, CH_2); 1,82 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,44 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,86 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$); 3,88 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 4,11 (m, 1H, CH-NH); 6,55 (s, 2H, CH_{Ar}); 6,89 (s, 2H, CH_{Ar}); 7,15 (bs, 1H, NH) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2943,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2866,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2824,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1636,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1561,1 cm^{-1} (m, $\nu(\text{CN-H})$); 1441,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1256,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1099,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 875,4 cm^{-1} .

CdTe/ZnS/MUDA/Tyrols (n = 9):

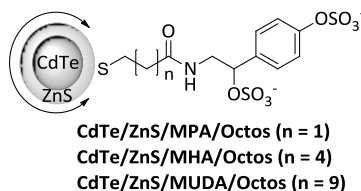
Synthesevorschrift F [1 : 10000 : 5000 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 4,2 mL (2,35 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,016 g (0,1 mmol, 10000 Äq.) EDC; 0,011 g (0,05 mmol, 5000 Äq.) sulfo-NHS; 0,038 g ($1 \cdot 10^{-4}$ mol, $1 \cdot 10^4$ Äq.) Tyrols; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Tyrols-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) schwach grün fluoreszierten. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MUDA/Tyrols (n = 9):

TEM:	$d = 2,5 \pm 0,2 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 432 \text{ nm}$
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,29\text{-}1,48(\text{m}, 16\text{H}, \text{CH}_2)$; 1,82 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,40 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,56-2,67 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$); 3,11 (m, 1H, CH-NH); 3,68 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_3^-$); 6,92 (s, 2H, CH_{Ar}); 6,99 (s, 2H, CH_{Ar}); 7,15 (bs, 1H, NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	2925,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2851,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1645,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1570,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-N-H})$); 1444,4 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1138,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 836,9 cm^{-1} .

6.2.11.6.4 Octos-koodinierte QDots

**CdTe/ZnS/MPA/Octos (n = 1):**

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 12,5 mL (0,8 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MPA; 0,002 g (0,01 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,005 g (0,025 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,004 g ($7 \cdot 10^{-5}$ mol, $7 \cdot 10^4$ Äq.) Octos; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Octos-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, hellgelbe Partikellösung ($c = 2 \mu\text{mol}$ / L) erhalten.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MPA/Octos (n = 1):

TEM:	$d = 3,8 \pm 0,3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 542 \text{ nm}$
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 2,48$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,81 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,02 (t,

2H, CH₂-NH); 6,53 (m, 1H, CH-CH₂-NH); 7,05 (d, 2H, CH_{Ar}) 7,17 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,95 (bs, 1H, NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 1572,9 cm⁻¹ (m, ν(CN-H)); 1409,1 cm⁻¹ (s, δ(C-H)); 1107,3 cm⁻¹ (s, ν(C-O)); 875,7 cm⁻¹.

CdTe/ZnS/MHA/Octos (n = 4):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL (5,79 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,011 g (3·10⁻⁵ mol, 5·10³ Äq.) Octos; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Octos-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung (c = 1,2 μmol / L) erhalten. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MHA/Octos (n = 4):

TEM: d = 3,5 ± 0,2 nm
UV/Vis: λ_{max} = 493 nm
NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): d = 1,33 (m, 2H, CH₂); 1,57 (m, 4H, CH₂-CH₂-S); 1,78 (t, 2H, CH₂-CO); 2,44 (t, 2H, CH₂-S); 3,65 (t, 2H, CH₂-NH); 6,67 (t, 1H, CH-CH₂-NH); 7,15 (d, 2H, CH_{Ar}) 7,28 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,74 (bs, 1H, NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 1565,9 cm⁻¹ (m, ν(CN-H)); 1435,1 cm⁻¹ (s, δ(C-H)); 1109,4 cm⁻¹ (s, ν(C-O)); 969,9 cm⁻¹; 876,7 cm⁻¹.

CdTe/ZnS/MUDA/Octos (n = 9):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 3 mL (2,35 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,018 g (3·10⁻⁵ mol, 5·10³ Äq.) Octos; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Octos-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung (c = 1,2 μmol / L) erhalten, die unter der UV-Lampe (λ = 366 nm) schwach grün leuchtete. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

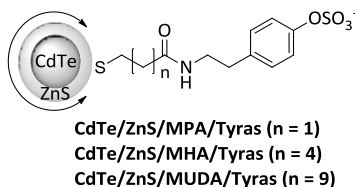
CdTe/ZnS/MUDA/Octos (n = 9):

TEM: d = 2,5 ± 0,3 nm
UV/Vis: λ_{max} = 440 nm
NMR: ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 1,29-1,48 (m, 16H, CH₂); 2,40 (t, 2H, CH₂-S); 2,82

(m, 2H, CH₂-CH-NH); 3,00 (m, 1H, CH-NH); 5,03 (d, 2H, CH₂-OSO₃⁻); 6,99 (s, 2H, CH_{Ar}) 7,13 (m, 2H, CH_{Ar}) ppm.

ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): 2967,9 cm⁻¹ (s, v(C-H)); 2922,6 cm⁻¹ (s, v(C-H)); 2851,2 cm⁻¹ (s, v(C-H)); 1647,9 cm⁻¹ (s,v (C=O)); 1565,9 cm⁻¹ (m, v(CN-H)); 1339,3 cm⁻¹ (s, δ(C-H)); 1169,6 cm⁻¹ (s, v(C-O)); 836,9 cm⁻¹.

6.2.11.6.5 Tyras-koordinierte QDots



CdTe/ZnS/MPA/Tyras (n = 1):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 12,5 mL (0,8 μmol / L, 10 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MPA; 0,002 g (0,01 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,005 g (0,025 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,017 g (7·10⁻⁵ mol, 7·10⁴ Äq.) Tyras; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Tyras-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, hellgelbe Partikellösung (c = 2 μmol / L) erhalten.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MPA/Tyras (n = 1):

TEM: d = 3,8 ± 0,3 nm
 UV/Vis: λ_{max} = 562 nm
 NMR: 1H-NMR (400 MHz, D₂O): d = 2,33 (t, 2H, CH₂-S); 2,57 (t, 2H, CH₂-CO); 2,78 (bs, 2H, CH₂-CH₂-NH); 4,01 (q, 2H, CH₂-NH); 6,86 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,07 (d, 2H, CH_{Ar}); 7,76 (bs, 1H, NH) ppm.

CdTe/ZnS/MHA/Tyras (n = 4):

Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL (5,79 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,008 g (3·10⁻⁵ mol, 5·10³ Äq.) Tyras; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Tyras-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung (c = 1,2 μmol / L) erhalten. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Charakterisierung CdTe/ZnS/MHA/Tyras (n = 4):

TEM: $d = 3,5 \pm 0,3$ nm
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 489$ nm
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,32$ (m, 2H, CH_2); 1,56 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); 2,08 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,39 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 3,02 (bs, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,88 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,23 (m, 4H, CH_{Ar}) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $1562,4$ cm^{-1} (m, $\nu(\text{CN-H})$); $1409,4$ cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); $1240,5$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); $1127,5$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

CdTe/ZnS/MUDA/Tyras (n = 9):

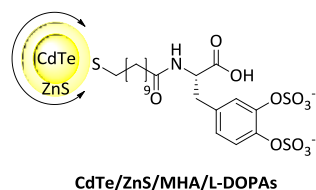
Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 3 mL (2,35 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 \AA q.) CdTe/ZnS/MUDA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 \AA q.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 \AA q.) sulfo-NHS; 0,008 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ \AA q.) Tyras; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die Tyras-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2$ μmol / L) erhalten. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C.

Charakterisierung:

TEM: $d = 2,5 \pm 0,3$ nm
 UV/Vis: $\lambda_{\text{max}} = 459$ nm
 NMR: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,16\text{-}1,57$ (bm, 16H, CH_2); 2,13 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); 2,62 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); 2,84 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 3,30 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 7,18-7,23 (bm, 4H, CH_{Ar}) ppm.
 ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion): $2925,5$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); $2852,2$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); $1644,0$ cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); $1570,7$ cm^{-1} (m, $\nu(\text{CN-H})$); $1406,8$ cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); $1357,6$ cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); $835,0$ cm^{-1} .

6.2.11.6.6 L-DOPAs-kordinierte QDots (CdTe/ZnS/MHA/L-DOPAs; $\varnothing = 3,5$ nm)



Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL (5,79 μmol / L, 6 nmol Nanopartikel, 1 \AA q.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 \AA q.) EDC; 0,003 g

6 Experimenteller Teil

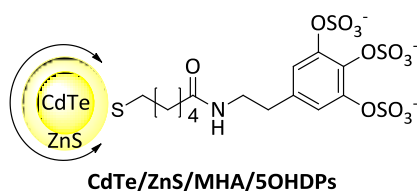
(0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,012 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) L-DOPAs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die L-DOPAs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Charakterisierung:

TEM:	$d = 3,5 \pm 0,3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 489 \text{ nm}$
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $d = 1,31$ (m, 2H, CH_2); $1,57$ (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); $1,71$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); $2,37$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); $2,86$ (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$); $4,11$ (q, 2H, CH-NH); $6,55$ (s, 1H, CH_{Ar}); $6,65$ (s, 1H, CH_{Ar}); $7,10$ (bs, 1H, NH) ppm.
ATR-IR (Diamant-Einfachreflexion):	$2928,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-H})$); $1599,5 \text{ cm}^{-1}$ (m, $\nu(\text{CN-H})$); $1416,6 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\delta(\text{C-H})$); $1260,3 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1107,8 \text{ cm}^{-1}$ (s, $\nu(\text{C-O})$); $1038,3 \text{ cm}^{-1}$; $916,7 \text{ cm}^{-1}$; $876,3 \text{ cm}^{-1}$

6.2.11.6.75OH-DPs-koordinierte QDots (CdTe/ZnS/MHA/5OHDPs; $\phi = 3,5 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift F [1 : 1000 : 2500 (CdTe : EDC : sulfo-NHS)]: 1 mL ($5,79 \mu\text{mol} / \text{L}$, 6 nmol Nanopartikel, 1 Äq.) CdTe/ZnS/MHA; 0,001 g (0,006 mmol, 1000 Äq.) EDC; 0,003 g (0,015 mmol, 2500 Äq.) sulfo-NHS; 0,014 g ($3 \cdot 10^{-5}$ mol, $5 \cdot 10^3$ Äq.) 5OHDPs; Millipore-Wasser; 1 M NaOH

Die 5OHDPs-funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots wurden nach dem Dialyseschritt in 5 mL Millipore-Wasser aufgenommen. Es wurde eine klare, gelbe Partikellösung ($c = 1,2 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die unter der UV-Lampe ($\lambda = 366 \text{ nm}$) gelb fluoreszierte. Die Aufbewahrung erfolgte unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

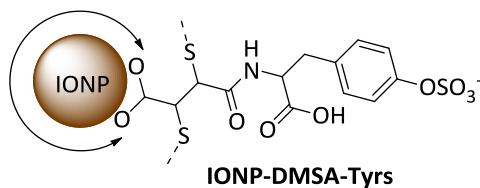
Charakterisierung:

TEM:	$d = 3,5 \pm 0,3 \text{ nm}$
UV/Vis:	$\lambda_{\text{max}} = 479 \text{ nm}$
NMR:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $d = 1,35$ (m, 2H, CH_2); $1,57$ (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$); $1,69$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$); $2,39$ (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-S}$); $2,82$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); $3,15$ (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); $6,65$ (s, 1H, CH_{Ar}); $7,23$ (d, 2H, CH_{Ar}); $7,48$ (d, 1H, NH) ppm.

ATR-IR (Diamant- 2851,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1599,1 cm^{-1} (m, $\nu(\text{CN-H})$); 1423,3 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$);
Einfachreflexion); 1153,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 910,5 cm^{-1} ; 875,8 cm^{-1} .

6.2.11.7 Multivalente Präsentation Clovamid-inspirierter Liganden durch Immobilisation auf Eisenoxidnanopartikel

6.2.11.7.1 Tyrs-koodinierte Eisenoxidnanopartikel (IONP-DMSA-Tyrs; $\varnothing = 7 \text{ nm}$)

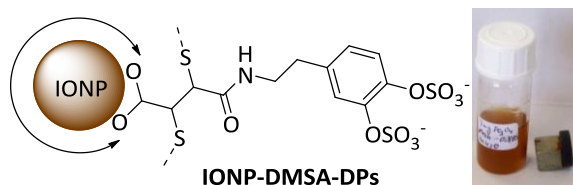


Synthesevorschrift: 1 nmol (1 Äq.) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,023 g ($8,0 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,0 \cdot 10^4$ Äq.) DPs; Millipore-Wasser
Es wurde eine braune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung 7 nm:

TEM: $d = 7,2 \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: -
ATR-IR (Diamant- 2920,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1603,4 (m, $\nu(\text{C=O})$); 1457,2 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1226,6
Einfachreflexion): cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1068,7 cm^{-1} ; 1016,7 cm^{-1} ; 994,7 cm^{-1} .

6.2.11.7.2 DPs-koodinierte Eisenoxidnanopartikel (IONP-DMSA-DPs)



Synthesevorschrift: 1 nmol (1 Äq.) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,029 g ($8,0 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,0 \cdot 10^4$ Äq.) DPs; Millipore-Wasser
Es wurde eine braune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung 5 nm:

TEM: $d = 4,5 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 16 \pm 2 \text{ nm}$
ATR-IR (Diamant- 2987,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2922,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1683,7 (m, $\nu(\text{C=O})$); 1607,1

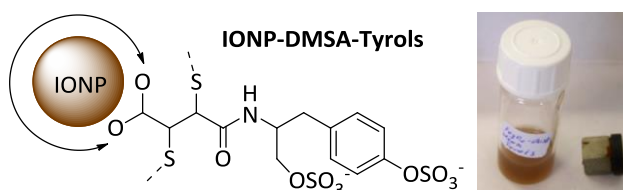
6 Experimenteller Teil

Einfachreflexion): (m, $\nu(\text{C=O})$); 1557,8 (m, $\delta(\text{N-H})$); 1507,7 (m, $\delta(\text{N-H})$); 1409,0 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1471 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1392 cm^{-1} (w, $\delta(\text{C-H})$); 1341 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1251,9 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); 1066,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 875,0 cm^{-1} ; 612,3 cm^{-1} .

Charakterisierung 7 nm:

TEM: $d = 7,2 \pm 0,3 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 27 \pm 6 \text{ nm}$
ATR-IR (Diamant- 3258,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 2920,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1623,9 (m, $\nu(\text{C=O})$); 1559,8
Einfachreflexion): (m, $\delta(\text{N-H})$); 1417,6 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1259,5 cm^{-1} (w, $\nu(\text{C-O})$); 1106,2 cm^{-1}
(s, $\nu(\text{C-O})$); 874,3 cm^{-1} ; 609,0 cm^{-1} .

6.2.11.7.3 Tyrols-koodinierte Eisenoxidnanopartikel (IONP-DMSA-Tyrols; $\varnothing = 5 \text{ nm}$)



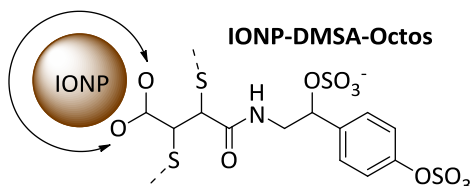
Synthesevorschrift: 1 nmol (1 Äq.) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,031 g ($8,0 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,0 \cdot 10^4$ Äq.) Tyrols; Millipore-Wasser

Es wurde eine braune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung 5 nm:

TEM: $d = 5,1 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 15 \pm 2 \text{ nm}$
ATR-IR (Diamant- 2970,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2930,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1645,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$);
Einfachreflexion): 1564,2 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$); 1434,1 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1402,9 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$);
1305,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1237,4 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1132,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$);
718,3 (w, CH_2 -rocking).

6.2.11.7.4 Octos-koodinierte Eisenoxidnanopartikel (IONP-DMSA-Octos, $\varnothing = 5 \text{ nm}$)



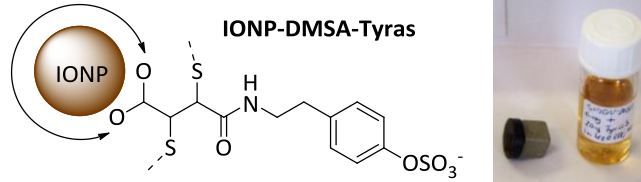
Synthesevorschrift: 1 nmol (1 Äq.) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,029 g ($8,0 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,0 \cdot 10^4$ Äq.) Octos; Millipore-Wasser

Es wurde eine braune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung 5 nm:

TEM: $d = 5,1 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 13 \pm 3 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant- 3270,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); 1585,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$); 1375,1 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$);
 Einfachreflexion): 1010,7 cm^{-1} ; 883,9 cm^{-1} .

6.2.11.7.5 Tyras-koordinierte Eisenoxidnanopartikel (IONP-DMSA-Tyras)



Synthesevorschrift: 1 nmol (1 Äq.) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,020 g ($8,37 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,37 \cdot 10^4$ Äq.) Tyras; Millipore-Wasser

Es wurde eine braune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung 5 nm:

TEM: $d = 4,7 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 12 \pm 3 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant- 2943,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1637,9 (m, $\nu(\text{C=O})$), 1598,6 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$);
 Einfachreflexion): 1488,4 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1393,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1127,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$);
 1065,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$).

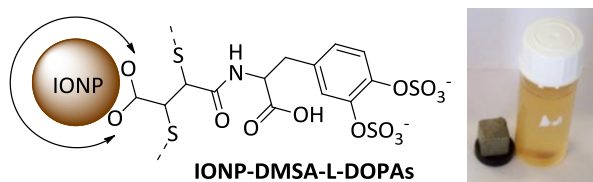
Charakterisierung 10 nm:

TEM: $d = 10,2 \pm 0,5 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 23 \pm 3 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant- 2970,1 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1631,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C=O})$); 1506,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$);
 Einfachreflexion): 1408,2 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1356,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1255,8 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$);
 1155,3 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1048,7 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C-O})$); 1021,5 cm^{-1} .

Charakterisierung 12 nm:

TEM: $d = 12,1 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 44 \pm 6 \text{ nm}$
 ATR-IR (Diamant- 3379,8 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); 1732,1 cm^{-1} (m, $\nu(\text{C=O})$); 1593,9 cm^{-1} (m, $\nu(\text{N-H})$);
 Einfachreflexion): 1488,2 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1395,7 cm^{-1} (s, $\delta(\text{C-H})$); 1106,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$);
 995,4 cm^{-1} ; 876,4 cm^{-1} .

6.2.11.7.6 L-DOPAs-koordinierte Eisenoxidnanopartikel (IONP-DMSA-L-DOPAs; $\varnothing = 5 \text{ nm}$)



6 Experimenteller Teil

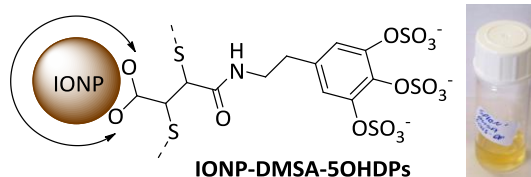
Synthesevorschrift: 1 nmol (1 Äq.) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,025 mmol (0,004 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,025 mmol (0,005 g, $2,5 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,032 g ($8,0 \cdot 10^{-5}$ mol, $8,0 \cdot 10^4$ Äq.) L-DOPAs; Millipore-Wasser

Es wurde eine gelbbraune Kolloidlösung ($c = 0,5 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung 5 nm:

TEM: $d = 4,7 \pm 0,2 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 33 \pm 6 \text{ nm}$
ATR-IR (Diamant- 3372,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); 2970,0 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 1579,2 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$);
Einfachreflexion): 1434,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1237,5 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1130,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$);
1014,6 cm^{-1} .

6.2.11.7.7 5OHDPs-koodinierte Eisenoxidnanopartikel (IONP-DMSA-5OHDPs; $\varnothing = 5 \text{ nm}$)



Synthesevorschrift: 0,5 nmol (1 Äq.) DMSA-funktionalisierte Eisenoxidnanopartikel; 0,013 mmol (0,002 g, $1,3 \cdot 10^4$ Äq.) EDC, 0,013 mmol (0,003 g, $1,3 \cdot 10^4$ Äq.) sulfo-NHS; 0,019 g ($4,0 \cdot 10^{-5}$ mol, $4,0 \cdot 10^4$ Äq.) 5OHDPs; Millipore-Wasser

Es wurde eine gelbbraune Kolloidlösung ($c = 0,25 \mu\text{mol} / \text{L}$) erhalten, die sich mehrere Wochen optisch nicht veränderte.

Charakterisierung 5 nm:

TEM: $d = 5,3 \pm 0,4 \text{ nm}$ DLS: $d_h = 14 \pm 3 \text{ nm}$
ATR-IR (Diamant- 3301,4 cm^{-1} (s, $\nu(\text{O-H})$); 2931,6 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$); 2862,9 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-H})$);
Einfachreflexion): 1566,7 cm^{-1} (s, $\nu(\text{N-H})$); 1402,1 cm^{-1} (m, $\delta(\text{C-H})$); 1260,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$);
1064,3 cm^{-1} (s, $\nu(\text{C-O})$); 1022,3 cm^{-1} ; 925,3 cm^{-1} ; 878,5 cm^{-1} .

7 Literaturverzeichnis

- [1] S. Reuter, S. C. Gupta, M. M. Chaturvedi, B. B. Aggarwal, *Free Radic. Biol. Med.* **2010**, *49*, 1603–1616.
- [2] A. G. Rossi, D. A. Sawatzky, *The Resolution of Inflammation*, Birkhäuser AG, Basel, Boston, Berlin, **2008**.
- [3] E. Elinav, R. Nowarski, C. A. Thaiss, B. Hu, C. Jin, R. A. Flavell, *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 759–771.
- [4] K. Ley, C. Laudanna, M. I. Cybulsky, S. Nourshargh, *Nat Rev Immunol* **2007**, *7*, 678–689.
- [5] C. Kneuer, C. Ehrhardt, M. W. Radomski, U. Bakowsky, *Drug Discovery Today* **2006**, *11*, 1034–1040.
- [6] B. Ernst, J. L. Magnani, *Nat Rev Drug Discov* **2009**, *8*, 661–677.
- [7] E. C. Wang, A. Z. Wang, *Integr. Biol.* **2013**, *6*, 9–26.
- [8] F. J. Heiligtag, M. Niederberger, *Mater. Today* **2013**, *16*, 262–271.
- [9] M.-C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 293–346.
- [10] P. Colomban, *JNanoR* **2009**, *8*, 109–132.
- [11] F. E. Wagner, S. Haslbeck, L. Stievano, S. Calogero, Q. A. Pankhurst, K. P. Martinek, *Nature* **2000**, *407*, 691–692.
- [12] a) I. Freestone, N. Meeks, M. Sax, C. Higgitt, *Gold Bull* **2007**, *40*, 270–277; b) U. Leonhardt, *Nat. Photon.* **2007**, *1*, 207–208.
- [13] M. Reibold, P. Paufler, A. A. Levin, W. Kochmann, N. Pätzke, D. C. Meyer, *Nature* **2006**, *444*, 286.
- [14] A. S. Thakor, J. Jokerst, C. Zavaleta, T. F. Massoud, S. S. Gambhir, *Nano Lett.* **2011**, *11*, 4029–4036.
- [15] M. Faraday, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1857**, *147*, 154–181.
- [16] P. P. Edwards, J. M. Thomas, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5576–5582.
- [17] D. Thompson, *Gold Bull* **2007**, *40*, 267–269.
- [18] T. Graham, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1861**, *151*, 183–224.
- [19] a) J. Kreuter, *Int. J. Pharm.* **2007**, *331*, 1–10; b) I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, *64*, 24–36; c) M. Singh, S. Manikandan, A. K. Kumaraguru, *Res. J. Nanosci. Nanotechnol.* **2011**, *1*, 1–11; d) O. V. Salata, *J. Nanobiotechnol.* **2004**, *2*, 3–8.
- [20] a) H. Goesmann, C. Feldmann, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 1362–1395; b) A. L. Chun, *Nature Nanotech* **2009**, *4*, 790–791; c) G. J. Hutchings, M. Brust, H. Schmidbaur, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1759–1765; d) G. J. Nohynek, J. Lademann, C. Ribaud, M. S. Roberts, *Crit. Rev. Toxicol.* **2007**, *37*, 251–277.
- [21] L. Cademartiri, G. A. Ozin, *Concepts of nanochemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2009**.
- [22] P. Zhao, N. Li, D. Astruc, *Coord. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 638–665.
- [23] R. Gill, M. Zayats, I. Willner, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 7714–7736.
- [24] J. Park, J. Joo, S. G. Kwon, Y. Jang, T. Hyeon, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4630–4660.
- [25] R. Shenhar, V. M. Rotello, *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 549–561.
- [26] M. De, P. S. Ghosh, V. M. Rotello, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 4225–4241.

-
- [27] a) O. C. Farokhzad, R. Langer, *ACS Nano* **2009**, *3*, 16–20; b) J. M. Knipe, J. T. Peters, N. A. Peppas, *Nano Today* **2013**, *8*, 21–38.
- [28] a) A. Barnard, D. K. Smith, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 6676–6685; b) A. S. de Dios, M. E. Díaz-García, *Anal. Chim. Acta* **2010**, *666*, 1–22; c) D.-E. Lee, H. Koo, I.-C. Sun, J. H. Ryu, K. Kim, I. C. Kwon, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2656–2673.
- [29] Thomas Stöhr, : *Kohlenhydrat-funktionalisierte Polypeptide: Synthese und molekulare Erkennung von Zellen, Dissertation, Universität Saarbrücken* **2010**.
- [30] a) C. Fasting, C. A. Schalley, M. Weber, O. Seitz, S. Hecht, B. Kokschi, J. Dervede, C. Graf, E.-W. Knapp, R. Haag, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10472–10498; b) M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908–2953.
- [31] a) C. Xu, S. Sun, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2013**, *65*, 732–743; b) D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, C. A. Mirkin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3280–3294.
- [32] G. Doria, J. Conde, B. Veigas, L. Giestas, C. Almeida, M. Assunção, J. Rosa, P. V. Baptista, *Sensors* **2012**, *12*, 1657–1687.
- [33] B. Reidy, A. Haase, A. Luch, K. Dawson, I. Lynch, *Materials* **2013**, *6*, 2295–2350.
- [34] G. P. Drummen, *IJMS* **2010**, *11*, 154–163.
- [35] J. Y. Kim, O. Voznyy, D. Zhitomirsky, E. H. Sargent, *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 4986–5010.
- [36] a) X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, *Science* **2005**, *307*, 538–544; b) K. E. Sapsford, T. Pons, I. L. Medintz, H. Mattoussi, *Sensors* **2006**, *6*, 925–953.
- [37] I. L. Medintz, H. T. Uyeda, E. R. Goldman, H. Mattoussi, *Nat Mater* **2005**, *4*, 435–446.
- [38] I. I. Medintz, H. Mattoussi, A. R. Clapp, *IJN* **2008**, *3*, 151–167.
- [39] C. de Mello Donegá, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1512–1546.
- [40] D. L. Huber, *Small* **2005**, *1*, 482–501.
- [41] a) P. Xu, G. M. Zeng, C. Lai, Z. Wei, C. Huang, G. X. Xie, Z. F. Liu, *Sci. Total Environ.* **2012**, *424*, 1–10; b) A. S. Teja, P.-Y. Koh, *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* **2009**, *55*, 22–45.
- [42] a) A. J. Cole, V. C. Yang, A. E. David, *Trends Biotechnol.* **2011**, *29*, 323–332; b) C. Alexiou, R. Tietze, E. Schreiber, S. Lyer, *Bundesgesundheitsbl.* **2010**, *53*, 839–845; c) D. Ling, T. Hyeon, *Small* **2013**, *9*, 1450–1466.
- [43] A.-H. Lu, E. L. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1242–1266.
- [44] D. Ho, X. Sun, S. Sun, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 875–882.
- [45] R. Hao, R. Xing, Z. Xu, Y. Hou, S. Gao, S. Sun, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 2729–2742.
- [46] C. Xu, S. Sun, C. Xu, S. Sun, *Dalton Trans.* **2009**, 5583–5591.
- [47] a) M. K. Yu, J. Park, S. Jon, *Theranostics* **2012**, *2*, 3–44; b) M. E. Calderera-Moore, W. B. Liechty, N. A. Peppas, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 1061–1070; c) J. Liu, X. Yang, X. He, K. Wang, Q. Wang, Q. Guo, H. Shi, J. Huang, X. Huo, *Sci. China Chem.* **2011**, *54*, 1157–1176.
- [48] A. Elsaesser, C. V. Howard, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, *64*, 129–137.
- [49] E. Biazar, Majdi, M. Zafari, M. Avar, S. Aminifard, D. Zaeifi, Ai, Jafarpour, Montazeri, Gh, *IJN* **2011**, 1117.
- [50] N. Lewinski, V. Colvin, R. Drezek, *Small* **2008**, *4*, 26–49.
- [51] P. J. Chueh, R.-Y. Liang, Y.-H. Lee, Z.-M. Zeng, S.-M. Chuang, *J. Hazard. Mater.* **2014**, *264*, 303–312.
- [52] A. M. Alkilany, C. J. Murphy, *J Nanopart Res* **2010**, *12*, 2313–2333.
-

-
- [53] a) H. Koo, M. S. Huh, I.-C. Sun, S. H. Yuk, K. Choi, K. Kim, I. C. Kwon, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 1018–1028; b) E. Boisselier, D. Astruc, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1759.
- [54] J. Xie, S. Lee, X. Chen, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2010**, *62*, 1064–1079.
- [55] N. Desai, *AAPS J* **2012**, *14*, 282–295.
- [56] a) M. E. Ali, M. Ullah, A. Maamor, Abd Hamid, Sharifah Bee., *AMR* **2013**, *832*, 356–361; b) J. Marques-Hueso, R. Abargues, J. Canet-Ferrer, J. L. Valdes, J. Martinez-Pastor, *Microelectron. Eng.* **2010**, *87*, 1147–1149; c) S. N. Zhang, J. He, X. H. Ji, Z. Su, S. H. Yang, T. J. Zhu, X. B. Zhao, T. M. Tritt, *J. Electron. Mater.* **2009**, *38*, 1142–1147.
- [57] Y. Xia, P. Yang, Y. Sun, Y. Wu, B. Mayers, B. Gates, *Adv. Mater.* **2013**, *15*, 353–389.
- [58] T. D. Schladt, K. Schneider, H. Schild, W. Tremel, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6315–6334.
- [59] N. A. Frey, S. Peng, K. Cheng, S. Sun, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2532–2542.
- [60] V. K. LaMer, R. H. Dinega, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 4847–4854.
- [61] E. V. Shevchenko, D. V. Talapin, H. Schnablegger, A. Kornowski, Ö. Festin, P. Svedlindh, M. Haase, H. Weller, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9090–9101.
- [62] C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawendi, *Annu. Rev. Mater. Sci.* **2000**, *30*, 545–610.
- [63] A. L. Rogach, D. V. Talapin, E. V. Shevchenko, A. Kornowski, M. Haase, H. Weller, *Adv. Funct. Mater.* **2002**, *12*, 653–664.
- [64] A. Roucoux, J. Schulz, H. Patin, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3757–3778.
- [65] F. Fache, S. Lehuède, M. Lemaire, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 885–888.
- [66] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. Whyman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, *7*, 801–802.
- [67] J. Fink, C. J. Kiely, D. Bethell, D. J. Schiffrin, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 922–926.
- [68] A. C. Templeton, W. P. Wuelfing, R. W. Murray, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 27–36.
- [69] N. Zheng, J. Fan, G. D. Stucky, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6550–6551.
- [70] G. Schmid, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1709–1727.
- [71] D. V. Leff, L. Brandt, J. R. Heath, *Langmuir* **1996**, *12*, 4723–4730.
- [72] J. Turkevich, P. C. Stevenson, J. Hillier, *J. Discuss. Faraday Soc.* **1951**, *11*, 55–77.
- [73] B. V. Enüstün, J. Turkevich, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3317–3328.
- [74] G. Frens, *Nat. Phys. Sci* **1973**, *20*, 241–243.
- [75] J. Song, D. Kim, D. Lee, *Langmuir* **2011**, *27*, 13854–13860.
- [76] B. C. Mei, K. Susumu, I. L. Medintz, H. Mattoussi, *Nat Protoc* **2009**, *4*, 412–423.
- [77] a) B. C. Mei, E. Oh, K. Susumu, D. Farrell, T. J. Mountziaris, H. Mattoussi, *Langmuir* **2009**, *25*, 10604–10611; b) H. J. Lee, A. C. Jamison, Y. Yuan, C.-H. Li, S. Rittikulsittichai, I. Rusakova, T. R. Lee, *Langmuir* **2013**, *29*, 10432–10439; c) L.-o. Srisombat, J.-S. Park, S. Zhang, T. R. Lee, *Langmuir* **2008**, *24*, 7750–7754.
- [78] a) R. Ueno, H. Yao, *Colloids Surf., A* **2013**, *426*, 39–46; b) J. Tournebize, A. Boudier, A. Sapin-Minet, P. Maincent, P. Leroy, R. Schneider, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2012**, *4*, 5790–5799.
- [79] S. Roux, B. Garcia, J.-L. Bridot, M. Salomé, C. Marquette, L. Lemelle, P. Gillet, L. Blum, P. Perriat, O. Tillement, *Langmuir* **2005**, *21*, 2526–2536.
- [80] R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 533–539.
- [81] S. Rucareanu, V. J. Gandubert, R. B. Lennox, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 4674–4680.
- [82] V. J. Gandubert, R. B. Lennox, *Langmuir* **2005**, *21*, 6532–6539.
- [83] Y. Zhang, R. Huang, X. Zhu, L. Wang, C. Wu, *Chin. Sci. Bull.* **2012**, *57*, 238–246.
- [84] S. Panigrahi, S. Kundu, S. K. Ghosh, S. Nath, T. Pal, *J. Nanopart. Res.* **2004**, *6*, 411–414.
- [85] H. Hiramatsu, F. E. Osterloh, *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 2509–2511.
-

-
- [86] Y. Wan, Z. Guo, X. Jiang, K. Fang, X. Lu, Y. Zhang, N. Gu, *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *394*, 263–268.
- [87] C. B. Murray, D. J. Noms, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8706–9715.
- [88] D. Gerion, F. Pinaud, S. C. Williams, W. J. Parak, D. Zanchet, S. Weiss, A. P. Alivisatos, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 8861–8871.
- [89] a) Z. A. Peng, X. Peng, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1389–1395; b) J. Y. Rempel, M. G. Bawendi, K. F. Jensen, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4479–4489.
- [90] D. V. Talapin, A. L. Rogach, A. Kornowski, M. Haase, H. Weller, *Nano Lett.* **2001**, *1*, 207–211.
- [91] W. W. Yu, X. Peng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2368–2371.
- [92] a) S. F. Wuister, I. Swart, F. van Driel, S. G. Hickey, de Mello Donegá, Celso, *Nano Lett.* **2003**, *3*, 503–507; b) T. Pellegrino, L. Manna, S. Kudera, T. Liedl, D. Koktysh, A. L. Rogach, S. Keller, J. Rädler, G. Natile, W. J. Parak, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 703–707; c) U. Resch-Genger, M. Grabolle, S. Cavaliere-Jaricot, R. Nitschke, T. Nann, *Nat. Methods* **2008**, *5*, 763–775.
- [93] N. Gaponik, A. L. Rogach, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 8685–8693.
- [94] A. I. Rogach, L. Katsikas, A. Kornowski, D. Su, A. Eychmüller, H. Weller, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 1772–1778.
- [95] H. Zhang, Z. Cui, Y. Wang, K. Zhang, X. Ji, C. Lü, B. Yang, M. Gao, *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 777–780.
- [96] C. Wang, X. Gao, X. Su, *Anal Bioanal Chem* **2010**, *397*, 1397–1415.
- [97] N. Gaponik, S. G. Hickey, D. Dorfs, A. L. Rogach, A. Eychmüller, *Small* **2010**, *6*, 1364–1378.
- [98] V. Lesnyak, N. Gaponik, A. Eychmüller, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 2905–2929.
- [99] A. K. Gupta, M. Gupta, *Biomaterials* **2005**, *26*, 1565–1573.
- [100] W. Wu, Q. He, C. Jiang, *Nanoscale Res Lett* **2008**, *3*, 397–415.
- [101] J. Park, E. Lee, N.-M. Hwang, M. Kang, S. C. Kim, Y. Hwang, J.-G. Park, H.-J. Noh, J.-Y. Kim, J.-H. Park, T. Hyeon, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2932–2937.
- [102] a) A. Smith, H. Duan, A. Mohs, S. NIE, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, *60*, 1226–1240; b) Y. Zhang, R. Huang, X. Zhu, L. Wang, C. Wu, *Chin. Sci. Bull.* **2012**, *57*, 238–246.
- [103] F. Porta, G. Speranza, Ž. Krpetić, V. Dal Santo, P. Francescato, G. Scari, *Mater. Sci. Eng., B* **2007**, *140*, 187–194.
- [104] S.-Y. Lin, Y.-T. Tsai, C.-C. Chen, C.-M. Lin, C.-h. Chen, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 2134–2139.
- [105] H. Hiramatsu, F. E. Osterloh, *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 2509–2511.
- [106] A. Kassam, G. Bremner, B. Clark, G. Ulibarri, R. B. Lennox, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3476–3477.
- [107] F. Dubois, B. Mahler, B. Dubertret, E. Doris, C. Mioskowski, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 482–483.
- [108] N. Erathodiyil, J. Y. Ying, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 925–935.
- [109] W. Shenton, S. A. Davis, S. Mann, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 449–452.
- [110] E. Vismara, A. Valerio, A. Coletti, G. Torri, S. Bertini, G. Eisele, R. Gornati, G. Bernardini, *IJMS* **2013**, *14*, 13463–13481.
- [111] a) Q.-D. Hu, G.-P. Tang, P. K. Chu, *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 2017–2025; b) W. Ha, Y. Kang, S.-L. Peng, L.-S. Ding, S. Zhang, B.-J. Li, *Nanotechnology* **2013**, *24*, 495103–495110; c) Y. Shi, J. Goodisman, J. C. Dabrowiak, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 9418–9426; d) R. de laRica, R. M. Fratila, A. Szarpak, J. Huskens, A. H. Velders, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5704–5707.
- [112] R. DeLong, A. Wanekaya, C. Reynolds, A. Schaeffer, *NSA* **2010**, *3*, 53–63.
-

- [113] a) R. Lévy, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1141–1145; b) Z. Wang, R. Lévy, D. G. Fernig, M. Brust, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 497–500; c) M. N. Rhyner, A. M. Smith, X. Gao, H. Mao, L. Yang, S. Nie, *Nanomedicine* **2006**, *1*, 209–217.
- [114] I. Fenoglio, B. Fubini, E. M. Ghibaudi, F. Turci, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2011**, *63*, 1186–1209.
- [115] S. Jiang, K. Y. Win, S. Liu, C. P. Teng, Y. Zheng, M.-Y. Han, *Nanoscale* **2013**, *5*, 3127–3148.
- [116] a) W. Haiss, Thanh, Nguyen T. K., J. Aveyard, D. G. Fernig, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4215–4221; b) A. López-Serrano, R. M. Olivas, J. S. Landaluze, C. Cámara, *Anal. Methods* **2013**, *6*, 38; c) K. Tiede, A. Boxall, S. Tear, J. Lewis, H. David, M. Hasselov, *TFAC* **2008**, *25*, 795–821.
- [117] a) B. Akbari, M. P. Tavandashti, M. Zandrahimi, *Iran. J. Mater. Sci. Eng.* **2011**, *8*, 48–56; b) K. C. Grabar, K. R. Brown, C. D. Keating, S. J. Stranick, S.-L. Tang, M. J. Natan, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 471–477.
- [118] C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawendi, *Annu. Rev. Mater. Sci.* **2000**, *30*, 545–610.
- [119] a) G. L. Hornyak, St. Peschel, T. Sawitowski, G. Schmid, *Micron* **1998**, *29*, 183–190; b) R. A. Sperling, T. Liedl, S. Duhr, S. Kudera, M. Zanella, C.-A. Lin, W. H. Chang, D. Braun, W. J. Parak, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 11552–11559.
- [120] a) J. Lim, S. P. Yeap, H. X. Che, S. C. Low, *Nanoscale Res Lett* **2013**, *8*, 381–394; b) H. Jans, X. Liu, L. Austin, G. Maes, Q. Huo, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 9425–9432; c) Z. Wang, B. Tan, I. Hussain, N. Schaeffer, M. F. Wyatt, M. Brust, A. I. Cooper, *Langmuir* **2007**, *23*, 885–895; d) S. Zhang, G. Leem, L.-o. Srisombat, T. R. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 113–120.
- [121] a) N. G. Khlebtsov, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 6620–6625; b) P. K. Jain, K. S. Lee, I. H. El-Sayed, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 7238–7248; c) W. Haiss, Thanh, Nguyen T. K., J. Aveyard, D. G. Fernig, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4215–4221; d) J. Wilcoxon, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 2647–2656.
- [122] P. N. Njoki, I.-I. Lim, D. Mott, H.-Y. Park, B. Khan, S. Mishra, R. Sujakumar, J. Luo, C.-J. Zhong, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 14664–14669.
- [123] W. W. Yu, L. Qu, W. Guo, X. Peng, *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 2854–2860.
- [124] C. B. Murray, D. J. Noms, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8706–8715.
- [125] a) D. V. Talapin, A. L. Rogach, A. Kornowski, M. Haase, H. Weller, *Nano Lett.* **2001**, *1*, 207–211; b) P. Guyot-Sionnest, M. Shim, C. Matranga, M. Hines, *Phys. Rev. B* **1999**, *60*, R2181–R2184; c) J. Tittel, W. Goehde, F. Koberling, T. Basché, A. Kornowski, H. Weller, A. Eychmueller, *J. Chem Phys. B* **1997**, *101*, 3014–3017.
- [126] a) X. Liu, M. Yu, H. Kim, M. Marnett, F. Stellacci, *Nat Comms* **2012**, *3*, 1182–1190; b) B. Zhang, B. Yan, *Anal Bioanal Chem* **2010**, *396*, 973–982.
- [127] M. J. Hostetler, A. C. Templeton, R. W. Murray, *Langmuir* **1999**, *15*, 3782–3789.
- [128] a) A. Dass, R. Guo, J. B. Tracy, R. Balasubramanian, A. D. Douglas, R. W. Murray, *Langmuir* **2008**, *24*, 310–315; b) O. Kohlmann, W. E. Steinmetz, X.-A. Mao, W. P. Wuelfing, A. C. Templeton, R. W. Murray, C. S. Johnson, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 8801–8809; c) F. Porta, Ž. Krpetić, L. Prati, A. Gaiassi, G. Scari, *Langmuir* **2008**, *24*, 7061–7064.
- [129] a) B. S. Zelakiewicz, de Dios, Angel C., Tong, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 18–19; b) A. Badia, W. Gao, S. Singh, L. Demers, L. Cuccia, and L. Reven, *Langmuir* **1996**, *12*, 1262–1269; c) A. Badia, L. Demers, L. Dickinson, F. G. Morin, R. B. Lennox, L. Reven, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11104–11105.
- [130] G. P. Holland, R. Sharma, J. O. Agola, S. Amin, V. C. Solomon, P. Singh, D. A. Buttry, J. L. Yarger, *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 2519–2526.

-
- [131] a) M. J. Hostetler, J. E. Wingate, C.-J. Zhong, J. E. Harris, R. W. Vachet, M. R. Clark, J. D. Londono, S. J. Green, J. J. Stokes, G. D. Wignall, G. L. Glish, M. D. Porter, N. D. Evans, R. W. Murray, *Langmuir* **1998**, *14*, 17–30; b) R. H. Terrill, T. A. Postlethwaite, C.-h. Chen, C.-D. Poon, A. Terzis, A. Chen, J. E. Hutchison, M. R. Clark, G. Wignall, J. D. Londono, R. Superfine, M. Falvo, C. S. Johnson Jr., E. T. Samulski, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12527–12548.
- [132] G. K. Ahirwal, C. K. Mitra, *Sensors* **2009**, *9*, 881–894.
- [133] E. C. Butcher, *Cell* **1991**, *67*, 1033–1036.
- [134] T. A. Springer, *Annu. Rev. Physiol.* **1995**, *57*, 827–872.
- [135] K. Ley, *Trends Mol. Med.* **2003**, *9*, 263–268.
- [136] I. Tabas, C. K. Glass, *Science* **2013**, *339*, 166–172.
- [137] K. A. Paschos, D. Canovas, N. C. Bird, *J. Cell. Mol. Med.* **2010**, *14*, 165–174.
- [138] a) W.-H. Boehncke, M.P. Schoen, G. Giromolomi, J.D. Bos, K. Thestrup-Pedersen, A. Cavani, B. Nickoloff, *Exp. Dermatol.* **2005**, *14*, 70–80; b) C. M. Lockwood, J. D. Elliott, L. Brettman, G. Hale, P. Rebello, M. Frewin, D. Ringler, C. Merrill, H. Waldmann, *Clin. Immunol.* **1999**, *93*, 93–106.
- [139] R. P. McEver, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 585–591.
- [140] M. Pudelko, J. Bull, H. Kunz, *Chem. Eur. J. of Chem. Bio.* **2010**, *11*, 904–930.
- [141] E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833–862.
- [142] a) L. J. Rinko, M. B. Lawrence, W. H. Guilford, *Biophys. J.* **2004**, *86*, 544–554; b) R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Clin. Invest.* **1997**, *100*, 485–491.
- [143] R.D. Cummings, *Braz. J. Med. Biol. Res.* **1999**, *32*, 519–528.
- [144] D. Sako, K. M. Comess, K. M. Barone, R. T. Camphausen, D. A. Cumming, G. D. Shaw, *Cell* **1995**, *83*, 323–331.
- [145] E. Ernst, *Focus on Alternative and Complementary Therapies* **2011**, *16*, 79.
- [146] M. Ugorski, A. Laskowska, *Acta Biochim. Pol.* **2002**, *49*, 303–311.
- [147] G. Bendas, L. Borsig, *Int. J. Cell Biol.* **2012**, *2012*, 1–10.
- [148] M. S. Mitchell, *Int. Immunopharmacol.* **2003**, *3*, 1051–1059.
- [149] J. Burchell, S. Gendler, J. Taylor-Papadimitriou, A. Girling, A. Lewis, R. Millis, D. Lampion, *Cancer Res.* **1987**, *47*, 5476–5482.
- [150] a) A. Moore, Z. Medarova, A. Potthast, G. Dai, *Cancer Res.* **2004**, *64*, 1821–1827; b) M. A. Hollingsworth, B. J. Swanson, *Nat Rev Cancer* **2004**, *4*, 45–60.
- [151] N. Jonckheere, N. Skrypek, F. Frénois, I. van Seuningen, *Biochimie* **2013**, *95*, 1077–1086.
- [152] A. Hoffmann-Röder, A. Kaiser, S. Wagner, N. Gaidzik, D. Kowalczyk, U. Westerlind, B. Gerlitzki, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8498–8503.
- [153] N. Gaidzik, A. Kaiser, D. Kowalczyk, U. Westerlind, B. Gerlitzki, H. P. Sinn, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 10153–10157.
- [154] a) N. M. Varki, A. Varki, *Thrombosis and Hemostasis* **2002**, *28*, 53–67; b) O. Blixt, E. Cló, A. S. Nudelman, K. K. Sørensen, T. Clausen, H. H. Wandall, P. O. Livingston, H. Clausen, K. J. Jensen, *J. Proteome Res.* **2010**, *9*, 5250–5261; c) M. Wahrenbrock, L. Borsig, D. Le, N. Varki, A. Varki, *J. Clin. Invest.* **2003**, *112*, 853–862.
- [155] T. Becker, : *Synthese tumorassoziierter Glycopeptidkonjugate basierend auf den epithelialen Mucinen MUC1 und MUC4 als potentielle Antitumorvakzine, Dissertation, Mainz, 2006.*
- [156] D. H. Slee, S. J. Romano, J. Yu, T. N. Nguyen, J. K. John, N. K. Raheja, F. U. Axe, T. K. Jones, W. C. Ripka, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2094–2107.
-

-
- [157] P. Sears, C.-H. Wong, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2446–2471.
- [158] J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555–578.
- [159] R. E. Bruehl, F. Dasgupta, T. R. Katsumoto, J. H. Tan, C. R. Bertozzi, W. Spevak, D. J. Ahn, S. D. Rosen, J. O. Nagy, *Biochemistry* **2001**, *40*, 5964–5974.
- [160] X. Banquy, G. Leclair, J.-M. Rabanel, A. Argaw, J.-F. Bouchard, P. Hildgen, S. Giasson, *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 2030–2039.
- [161] E. Jubeli, L. Moine, V. Nicolas, G. Barratt, *Int. J. Pharm.* **2012**, *426*, 291–301.
- [162] E. Jubeli, L. Moine, J. Vergnaud-Gauduchon, G. Barratt, *J. Controlled Release* **2012**, *158*, 194–206.
- [163] L. Wang, J. R. Brown, A. Varki, J. D. Esko, *J. Clin. Invest.* **2002**, *110*, 127–136.
- [164] A. Koenig, K. Norgard-Sumnicht, R. Linhardt, A. Varki, *J. Clin. Invest.* **1998**, *101*, 877–889.
- [165] M. Roskamp, *Oberflächenfunktionalisierung von Nanopartikeln zur gezielten Wechselwirkung mit Biomolekülen. Dissertation, Freie Universität Berlin* **2010**.
- [166] M. Weinhart, D. Gröger, S. Enders, J. Dervede, R. Haag, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 2502–2511.
- [167] I. Papp, J. Dervede, S. Enders, R. Haag, *Chem. Commun.* **2008**, 5851–5853.
- [168] M. Banno, K. Ohta, S. Yamaguchi, S. Hirai, K. Tominaga, *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 1259–1269.
- [169] M. J. Schadt, W. Cheung, J. Luo, C.-J. Zhong, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 5147–5149.
- [170] X. Zhou, El Khoury, Joulia M., L. Qu, L. Dai, Q. Li, *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, *308*, 381–384.
- [171] J. M. Abad, S. F. L. Mertens, M. Pita, V. M. Fernández, D. J. Schiffrin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5689–5694.
- [172] D. I. Gittins, F. Caruso, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3001–3003.
- [173] S. Panigrahi, S. Basu, S. Praharaj, S. Pande, S. Jana, A. Pal, S. K. Ghosh, T. Pal, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 4596–4605.
- [174] S. K. Sivaraman, S. Kumar, V. Santhanam, *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *361*, 543–547.
- [175] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, A. Plech, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 15700–15707.
- [176] X. Z. Lin, X. Teng, H. Yang, *Langmuir* **2003**, *19*, 10081–10085.
- [177] H. Li, H. Xia, D. Wang, X. Tao, *Langmuir* **2013**, *29*, 5074–5079.
- [178] S. W. Verbruggen, M. Keulemans, J. A. Martens, S. Lenaerts, *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 19142–19145.
- [179] N. Alissawi, V. Zaporozhchenko, T. Strunskus, I. Kocabas, Chakravadhanula, V. S. K., L. Kienle, D. Garbe-Schönberg, F. Faupel, *Gold Bull* **2013**, *46*, 3–11.
- [180] Q. Zhang, J. Y. Lee, J. Yang, C. Boothroyd, J. Zhang, *Nanotechnology* **2007**, *18*, 245605–245613.
- [181] S. Link, Z. L. Wang, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 3529–3533.
- [182] M. P. Mallin, C. J. Murphy, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 1235–1237.
- [183] F. M. Winnik, D. Maysinger, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 672–680.
- [184] A. M. Derfus, Chan, Warren C. W., S. N. Bhatia, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 11–18.
- [185] N. Chen, Y. He, Y. Su, X. Li, Q. Huang, H. Wang, X. Zhang, R. Tai, C. Fan, *Biomaterials* **2012**, *33*, 1238–1244.
- [186] S. J. Soenen, P. Rivera-Gil, J.-M. Montenegro, W. J. Parak, De Smedt, Stefaan C., K. Braeckmans, *Nano Today* **2011**, *6*, 446–465.
-

-
- [187] a) M. A. Hines, P. Guyot-Sionnest, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 468–471; b) B. O. Dabbousi, J. Rodriguez-Viejo, F. V. Mikulec, J. R. Heine, H. Mattoussi, R. Ober, K. F. Jensen, M. G. Bawendi, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 9463–9475.
- [188] X. Fu, K. Huang, S. Liu, *Anal Bioanal Chem* **2010**, *396*, 1397–1404.
- [189] W. W. Yu, L. Qu, W. Guo, X. Peng, *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 2854–2860.
- [190] J. J. Park, Lacerda, Silvia H. De Paoli, S. K. Stanley, B. M. Vogel, S. Kim, J. F. Douglas, D. Raghavan, A. Karim, *Langmuir* **2009**, *25*, 443–450.
- [191] F. Aldeek, L. Balan, J. Lambert, R. Schneider, *Nanotechnology* **2008**, *19*, 475401–475410.
- [192] V. V. Breus, C. D. Heyes, G. U. Nienhaus, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 18589–18594.
- [193] S. Kale, A. Kale, H. Gholap, A. Rana, R. Desai, A. Banpurkar, S. Ogale, P. Shastry, *J Nanopart Res* **2012**, *14*, 14732–14744.
- [194] Y. He, H.-T. Lu, L.-M. Sai, Y.-Y. Su, M. Hu, C.-H. Fan, W. Huang, L.-H. Wang, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 3416–3421.
- [195] S. C. Xu, Y. Q. Yang, Y. S. Liu, H. Miao, M. Dong, J. Yang, J. M. Zhang, Z. Dai, G. Zheng, B. Sun et al., *AMR* **2011**, *217-218*, 212–215.
- [196] T. Fang, K. Ma, L. Ma, J. Bai, X. Li, H. Song, H. Guo, *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 12346–12352.
- [197] F. O. Silva, M. Carvalho, R. Mendonça, W. A. A. Macedo, K. Balzuweit, P. Reiss, M. A. Schiavon, *Nanoscale Res Lett* **2012**, *7*, 536–545.
- [198] a) A. Samanta, Z. Deng, Y. Liu, *Langmuir* **2012**, *28*, 8205–8215; b) R. B. Lira, M. B. Cavalcanti, M. A. Seabra, D. C. Silva, A. J. Amaral, B. S. Santos, A. Fontes, *Micron* **2012**, *43*, 621–626; c) Y. Lu, Y. Zhong, J. Wang, Y. Su, F. Peng, Y. Zhou, X. Jiang, Y. He, *Nanotechnology* **2013**, *24*, 135101–135110.
- [199] a) M. Baghbanzadeh, L. Carbone, P. D. Cozzoli, C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11312–11359; b) I. Bilecka, M. Niederberger, *Nanoscale* **2010**, *2*, 1358–1375.
- [200] I. Tavernaro, A. S. Schulze, C. Uhlig, O. Falkenbach, S. Kuntz, S. Rudloff, S. Schlecht, *Particles* **2014**, eingereichtes Manuskript.
- [201] Anne S. Schulze, *Synthese von CdTe–Nanopartikeln mit biofunktionalen Liganden zur Selektininhibierung*, Master-Thesis, Justus-Liebig-Universität Gießen **2013**.
- [202] Z. Fang, L. Liu, L. Xu, X. Yin, X. Zhong, *Nanotechnology* **2008**, *19*, 235603–235610.
- [203] A. T. R. Williams, S. A. Winfield, J. N. Miller, *Analyst* **1983**, *108*, 1067–1071.
- [204] M. M. Lin, H.-H. Kim, H. Kim, M. Muhammed, D. K. Kim, *Nano Reviews* **2010**, *1*, 1–16.
- [205] a) S. Sun, H. Zeng, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8204–8205; b) S. Sun, H. Zeng, D. B. Robinson, S. Raoux, P. M. Rice, S. X. Wang, G. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273–279; c) J. Xie, S. Peng, N. Brower, N. Pourmand, S. X. Wang, S. Sun, *Pure Appl. Chem.* **2006**, *78*.
- [206] S. Bucak, D. Rende, *Colloid and Surface Chemistry: A Laboratory Guide for Exploration of the Nano World*, Taylor & Francis, **2013**.
- [207] D. Ho, X. Sun, S. Sun, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 875–882.
- [208] Y. Xu, Y. Qin, S. Palchoudhury, Y. Bao, *Langmuir* **2011**, *27*, 8990–8997.
- [209] U. Jeong, X. Teng, Y. Wang, H. Yang, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 33–60.
- [210] a) V. Chechik, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7780–7781; b) Y. Ma, V. Chechik, *Langmuir* **2011**, *27*, 14432–14437; c) I. A. Mudunkotuwa, J. M. Pettibone, V. H. Grassian, *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*, 7001–7010; d) Q. Wang, S. Lee, H. Choi, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 2027–2033.
- [211] M. Hassellöv, J. W. Readman, J. F. Ranville, K. Tiede, *Ecotoxicology* **2008**, *17*, 344–361.
-

- [212] M. Roskamp, S. Enders, F. Pfrenge, S. Yekta, V. Dekaris, J. Dervede, H.-U. Reissig, S. Schlecht, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 7448.
- [213] J. Dervede, S. Enders, H.-U. Reissig, M. Roskamp, S. Schlecht, S. Yekta, *Chem. Commun.* **2009**, *8*, 932–934.
- [214] E. Oh, K. Susumu, A. J. Mäkinen, J. R. Deschamps, A. L. Huston, I. L. Medintz, *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 18947–18956.
- [215] B. C. Mei, E. Oh, K. Susumu, D. Farrell, T. J. Mountziaris, H. Mattoussi, *Langmuir* **2009**, *25*, 10604–10611.
- [216] A. Williams, I. T. Ibrahim, *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 589–636.
- [217] H. Zhu, M. Z. Hu, L. Shao, K. Yu, R. Dabestani, M. B. Zaman, S. Liao, *J. Nanomater.* **2014**, *2014*, 1–14.
- [218] a) V. V. Breus, C. D. Heyes, G. U. Nienhaus, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 18589–18594; b) S. F. Wuister, C. de Mello Donegá, A. Meijerink, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 17393–17397.
- [219] J. Aldana, Y. A. Wang, X. Peng, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8844–8850.
- [220] J. Aldana, N. Lavelle, Y. Wang, X. Peng, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2496–2504.
- [221] a) T.-C. Liu, Z.-L. Huang, H.-Q. Wang, J.-H. Wang, X.-Q. Li, Y.-D. Zhao, Q.-M. Luo, *Anal. Chim. Acta* **2006**, *559*, 120–123; b) Y. Zhang, A. Clapp, *Sensors* **2011**, *11*, 11036–11055.
- [222] a) H. T. R. Wiogo, M. Lim, V. Bulmus, J. Yun, R. Amal, *Langmuir* **2011**, *27*, 843–850; b) J. Xie, C. Xu, Z. Xu, Y. Hou, K. L. Young, S. X. Wang, N. Pourmond, S. Sun, *Chem Mater.* **2006**, *18*, 5401–5403.
- [223] D. Horak, M. Babic, P. Jendelova, V. Herynek, V. Proks, V. Vanecek, P. Lesny, E. Sykova, *IJN* **2012**, *7*, 1461–1474.
- [224] N. Fauconnier, J. N. Pons, J. Roger, A. Bee, *J. Colloid Interface Sci.* **1997**, *194*, 427–433.
- [225] C. R. Valois, J. M. Braz, E. S. Nunes, M. A. Vinolo, E. C. Lima, R. Curi, W. M. Kuebler, R. B. Azevedo, *Biomaterials* **2010**, *31*, 366–374.
- [226] R. Mejías, S. Pérez-Yagüe, L. Gutiérrez, L. I. Cabrera, R. Spada, P. Acedo, C. J. Serna, F. J. Lázaro, A. Villanueva, M. del Puerto Morales, D. F. Barber, *Biomaterials* **2011**, *32*, 2938–2952.
- [227] M.-J. Kim, B. Lim, Y.-K. Jeong, Y.W. Cho, Y.-H. Choa, *Journal of Ceramic Processing Research* **2007**, *8*, 293–295.
- [228] Y. Xu, Y. Qin, S. Palchoudhury, Y. Bao, *Langmuir* **2011**, *27*, 8990–8997.
- [229] S. Hartmann, *Diplomarbeit: Synthese und multivalente Präsentation von MUC1-Antigenstrukturen an partikulären Trägern, Johannes Gutenberg-Universität Mainz* **2010**.
- [230] Isabella Tavernaro, *Master-Thesis: Multivalent funktionalisierte bioaktive Goldkolloide, Justus Liebig Universität Gießen* **2010**.
- [231] a) J. N. Blattman, P. D. Greenberg, *Science* **2004**, *305*, 200–205; b) C. J. Melief, van der Burg, Sjoerd H., *Nat Rev Cancer* **2008**, *8*, 351–360; c) J. A. Berzofsky, M. Terabe, S. Oh, I. M. Belyakov, J. D. Ahlers, J. E. Janik, J. C. Morris, *J. Clin. Invest.* **2004**, *113*, 1515–1525.
- [232] Y. Krishnamachari, S. M. Geary, C. D. Lemke, A. K. Salem, *Pharm Res* **2011**, *28*, 215–236.
- [233] N. Gaidzik, U. Westerlind, H. Kunz, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4421–4442.
- [234] a) G. F. Springer, *Science* **1984**, *224*, 1198–1206; b) D. H. Dube, C. R. Bertozzi, *Nat Rev Drug Discov* **2005**, *4*, 477–488.
- [235] B. P. Danysh, P. E. Constantinou, E. Y. Lukianova-Hleb, D. O. Lapotko, D. D. Carson, *Theranostics* **2012**, *2*, 777–787.

- [236] G. E. Kim, H. Bae, H. Park, S. Kuan, S. C. Crawley, J. J. Ho, Y. S. Kim, *Gastroenterology* **2002**, *123*, 1052–1060.
- [237] F. Berti, R. Adamo, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1653–1663.
- [238] a) H. Cai, M.-S. Chen, Z.-Y. Sun, Y.-F. Zhao, H. Kunz, Y.-M. Li, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 6106–6110; b) H. Cai, Z.-H. Huang, L. Shi, Z.-Y. Sun, Y.-F. Zhao, H. Kunz, Y.-M. Li, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 1719–1723; c) C. Mersch, S. Wagner, A. Hoffmann-Röder, *Synlett* **2009**, *13*, 2167–2171; d) T. Oberbillig, H. Löwe, A. Hoffmann-Röder, *J. Flow Chem.* **2012**, *2*, 83–86; e) S. Wagner, C. Mersch, A. Hoffmann-Röder, *Chem. - Eur. J.* **2010**, *16*, 7319–7330; f) B. L. Wilkinson, S. Day, R. Chapman, S. Perrier, V. Apostolopoulos, R. J. Payne, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 16540–16548.
- [239] a) M. Glaffig, B. Palitzsch, S. Hartmann, C. Schüll, L. Nuhn, B. Gerlitzki, E. Schmitt, H. Frey, H. Kunz, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 4232–4236; b) O. Renaudet, P. Dumy, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 243–246.
- [240] S. Keil, A. Kaiser, F. Syed, H. Kunz, *Synthesis* **2009**, *8*, 1355–1369.
- [241] a) H. Cai, Z.-H. Huang, L. Shi, Y.-F. Zhao, H. Kunz, Y.-M. Li, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6396–6406; b) S. Ingale, T. Buskas, G.-J. Boons, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5785–5788.
- [242] a) L. Cai, Z.-Z. Chen, M.-Y. Chen, H.-W. Tang, D.-W. Pang, *Biomaterials* **2013**, *34*, 371–381; b) J. M. Silva, M. Videira, R. Gaspar, V. Préat, H. F. Florindo, *J. Controlled Release* **2013**, *168*, 179–199; c) Y. M. Thasneem, M. R. Rekha, S. Sajeesh, C. P. Sharma, *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *409*, 237–244; d) C. Yu, Y. Hu, J. Duan, W. Yuan, C. Wang, H. Xu, X.-D. Yang, T. W. Prow, *PLoS ONE* **2011**, *6*, e24077-24084; e) J. M. de la Fuente, S. Penadés, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2006**, *1760*, 636–651.
- [243] L. Nuhn, S. Hartmann, B. Palitzsch, B. Gerlitzki, E. Schmitt, R. Zentel, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 10652–10656.
- [244] a) A. Sundgren, J. J. Barchi, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1594–1604; b) R. Ojeda, J. L. de Paz, A. G. Barrientos, M. Martín-Lomas, S. Penadés, *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 448–459.
- [245] a) O. Seitz, H. Kunz, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 813–826; b) S. Keil, C. Claus, W. Dippold, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 379–382.
- [246] a) L. A. Marcaurelle, C. R. Bertozzi, *Glycobiology* **2002**, *12*, 69–77; b) H. Paulsen, K. Adermann, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 751–769; c) H. Paulsen, J.-P. Hölck, *Carbohydr. Res.* **1982**, *109*, 89–107; d) H. Paulsen, S. Peters, T. Bielfeldt, M. Meldal, K. Bock, *Carbohydr. Res.* **1995**, *268*, 17–34; e) E. Meinjohanns, M. Meldal, A. Schleyer, H. Paulsen, K. Bock, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, *1*, 985–993.
- [247] a) S. Dziadek, A. Hobel, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7803–7808; b) F. Karch, A. Hoffmann-Röder, *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 1–8.
- [248] A. Kaiser, N. Gaidzik, U. Westerlind, D. Kowalczyk, A. Hobel, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7688–7692.
- [249] a) G. Zemplén, A. Kunz, *chem. Ber.* **1923**, *56*, 1705–1710; b) G. Zemplén, *Ber. dtsh. Chem. Ges.* **1927**, *60*, 1555–1564.
- [250] H. P. Latscha, U. Kazmaier, H. A. Klein, *Organische Chemie. Chemie-Basiswissen II*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2008**.
- [251] T. Platen, T. Schüler, W. Tremel, A. Hoffmann-Röder, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 3878–3887.
- [252] J. Burchell, J. Taylor-Papadimitriou, M. Boshell, S. Gendler, T. Duhig, *Int. J. Cancer* **1989**, *44*, 691–696.

- [253] H. Moeller, N. Serttas, H. Paulsen, J. M. Burchell, J. Taylor-Papadimitriou, B. Meyer, *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 1444–1455.
- [254] S. Gallagher, D. Chakavarti, *JoVE* **2008**.
- [255] I. Tavernaro, S. Hartmann, L. Sommer, H. Hausmann, C. Rohner, M. Ruehl, A. Hoffmann-Röder, S. Schlecht, *Org. Biomol. Chem.* **2014**.
- [256] a) H. Gallati, I. Pracht, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **1985**, *23*, 453–460; b) P. D. Josephy, T. Eling, R. P. Mason, *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 3669–3675.
- [257] H. Porowska, A. Paszkiewicz-Gadek, J. Wosek, K. Wnuczko, M. Rusak, M. Szczepański, *Folia Histochem Cytobiol.* **2010**, *48*, 417–424.
- [258] M. E. Davis, M. E. Brewster, *Nat Rev Drug Discov* **2004**, *3*, 1023–1035.
- [259] J. Szejtli, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743–1753.
- [260] K. Shailubhai, S. Z. Abbas, G. S. Jacob, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *229*, 488–493.
- [261] R. Baumann, P. Rys, *Int. J. Biol. Macromol.* **1999**, *24*, 15–18.
- [262] P. B. Weisz, M. M. Joullié, C. M. Hunter, K. M. Kumor, Z. Zhang, E. Levine, E. Macarak, D. Weiner, E. S. Barnathan, *Biochem. Pharmacol.* **1997**, *54*, 149–157.
- [263] E. Sabadini, T. Cosgrove, Egídio, Fernanda do Carmo, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 270–274.
- [264] a) J. Liu, W. Ong, E. Román, M. J. Lynn, A. E. Kaifer, *Langmuir* **2000**, *16*, 3000–3002; b) J. Liu, S. Mendoza, E. Román, M. J. Lynn, R. Xu, A. E. Kaifer, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4304–4305.
- [265] a) G. Tripodo, C. Wischke, A. T. Neffe, A. Lendlein, *Carbohydr. Res.* **2013**, *381*, 59–63; b) M. Popr, S. Hybelbauerová, J. Jindřich, *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 1390–1396.
- [266] a) N. Zhong, H.-S. Byun, R. Bittman, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2919–2920; b) C.-Y. Quan, J.-X. Chen, H.-Y. Wang, C. Li, C. Chang, X.-Z. Zhang, R.-X. Zhuo, *ACS Nano* **2010**, *4*, 4211–4219; c) K. A. Martin, A. W. Czarnik, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6781–6782.
- [267] Y. Matsui, A. Okimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1978**, *51*, 3030–3034.
- [268] W. Tang, S.-C. Ng, *Nat Protoc* **2008**, *3*, 691–697.
- [269] C. A. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827–10852.
- [270] S. Futaki, T. Taike, T. Yagami, T. Ogawa, T. Akita, K. Kitagawa, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, *6*, 1739–1744.
- [271] M. Paolino, F. Ennen, S. Lamponi, M. Cernescu, B. Voit, A. Cappelli, D. Appelhans, H. Komber, *Macromolecules* **2013**, *46*, 3215–3227.
- [272] Y. Shi, J. Goodisman, J. C. Dabrowiak, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 9418–9426.
- [273] L. Liu, Q.-X. Guo, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2002**, *42*, 1–14.
- [274] a) W. Ha, Y. Kang, S.-L. Peng, L.-S. Ding, S. Zhang, B.-J. Li, *Nanotechnology* **2013**, *24*, 495103–495111; b) L. Wang, J. Lei, R. Ma, H. Ju, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 6505–6510; c) C. Y. Ang, S. Y. Tan, X. Wang, Q. Zhang, M. Khan, L. Bai, S. T. Selvan, X. Ma, L. Zhu, K. T. Nguyen, N. S. Tan, Y. Zhao, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 1879–1890.
- [275] S. Rana, A. Bajaj, R. Mout, V. M. Rotello, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, *64*, 200–216.
- [276] a) J. Liu, J. Alvarez, A. E. Kaifer, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 1381–1383; b) S. Basu, S. K. Ghosh, S. Kundu, S. Panigrahi, S. Praharaj, S. Pande, S. Jana, T. Pal, *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, *313*, 724–734; c) Q. Zeng, R. Marthi, A. McNally, C. Dickinson, T. E. Keyes, R. J. Forster, *Langmuir* **2010**, *26*, 1325–1333.
- [277] a) X. Y. Ling, D. N. Reinhoudt, J. Huskens, *Pure Appl. Chem.* **2009**, *81*, 2225–2233; b) T. Kim, K. Lee, M.-s. Gong, S.-W. Joo, *Langmuir* **2005**, *21*, 9524–9528; c) Y. Jeong, D. Patra, A. Sanyal, V. M. Rotello, *Curr. Org. Chem.* **2013**, *17*, 49–57.

- [278] a) D. Patra, F. Ozdemir, O. R. Miranda, B. Samanta, A. Sanyal, V. M. Rotello, *Langmuir* **2009**, *25*, 13852–13854; b) R. Mejia-Ariza, J. Huskens, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *2*, 210–216.
- [279] M. J. W. Ludden, D. N. Reinhoudt, J. Huskens, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 1122–1134.
- [280] a) M. E. Beauharnois, K. C. Lindquist, D. Marathe, P. Vanderslice, J. Xia, K. L. Matta, S. Neelamegham, *Biochemistry* **2005**, *44*, 9507–9519; b) G. S. Jacob, C. Kirmaier, S. Z. Abbas, S. C. Howard, C. N. Steininger, J. K. Welply, P. Scudder, *Biochemistry* **1995**, *34*, 1210–1217.
- [281] a) N. Kaila, B. E. Thomas IV, *Med. Res. Rev.* **2002**, *22*, 566–601; b) C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* **2001**, *291*, 2357–2364.
- [282] S. Liu, K. Kiick, *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 1513–1535.
- [283] J. Dervede, A. Rausch, M. Weinhart, S. Enders, R. Tauber, K. Licha, M. Schirner, U. Zugel, A. von Bonin, R. Haag, *PNAS* **2010**, *107*, 19679–19684.
- [284] T. D. Farr, C.-H. Lai, D. Grünstein, G. Orts-Gil, C.-C. Wang, P. Boehm-Sturm, P. H. Seeberger, C. Harms, *Nano Lett.* **2014**, *14*, 2130–2134.
- [285] a) A. Al-Harrasi, F. Pfrengle, V. Prisyazhnyuk, S. Yekta, P. Koóš, H.-U. Reissig, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11632–11641; b) F. Pfrengle, H.-U. Reissig, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 549–557.
- [286] F. Pfrengle, H.-U. Reissig, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 11915–11925.
- [287] T. V. Pochechueva, O. E. Galanina, N. A. Ushakova, M. E. Preobrazhenskaya, M. A. Sablina, N. E. Nifantiev, Y. V. Tsvetkov, Y. V. Vozney, A. Imberty, N. V. Bovin, *Glycoconjugate J.* **2004**, *20*, 91–97.
- [288] a) P. J. Green, C.-T. Yuen, R. A. Childs, W. Chai, M. Miyasaka, R. Lemoine, A. Lubineau, B. Smith, H. Ueno, K. C. Nicolaou, T. Feizi, *Glycobiology* **1995**, *5*, 29–38; b) A. D. Sawitzke, H. Shi, M. F. Finco, D. D. Dunlop, C. L. Harris, N. G. Singer, J. D. Bradley, D. Silver, C. G. Jackson, N. E. Lane, C. V. Oddis, F. Wolfe, J. Lisse, D. E. Furst, C. O. Bingham, D. J. Reda, R. W. Moskowitz, H. J. Williams, D. O. Clegg, *Ann. Rheum. Dis.* **2010**, *69*, 1459–1464.
- [289] J.-G. Wang, J.-G. Geng, *Thromb Haemost* **2003**, *90*, 309–316.
- [290] K. B. Cederquist, C. D. Keating, *ACS Nano* **2009**, *3*, 256–260.
- [291] E. Sanfins, C. Augustsson, B. Dahlbäck, S. Linse, T. Cedervall, *Nano Lett.* **2014**, *14*, 4736–4744.
- [292] C.-C. Lin, Y.-C. Yeh, C.-Y. Yang, G.-F. Chen, Y.-C. Chen, Y.-C. Wu, C.-C. Chen, *Chem. Commun.* **2003**, 2920–2921.
- [293] a) M. Marradi, F. Chiodo, I. García, S. Penadés, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4728; b) T. Matsubara, *J. Nucleic Acids* **2012**, *2012*, 1–15.
- [294] a) R. Shukla, V. Bansal, M. Chaudhary, A. Basu, R. R. Bhonde, M. Sastry, *Langmuir* **2005**, *21*, 10644–10654; b) X. Li, L. Wang, Y. Fan, Q. Feng, F.-z. Cui, *J. Nanomater.* **2012**, *2012*, 1–19.
- [295] a) L. Bouché, M. Kandziora, H.-U. Reissig, *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 213–223; b) L. Bouché, H.-U. Reissig, *Pure Appl. Chem.* **2012**, *84*, 23–36.
- [296] Léa Bouché, *Synthese enantiomerenreiner Oxepanderivate als Bausteine für multivalente Kohlenhydratmimetika*, *Dissertation, Freie Universität Berlin* **2013**.
- [297] L. Bouché, H.-U. Reissig, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 3697–3703.
- [298] J. Zhang, D. Roll, C. D. Geddes, J. R. Lakowicz, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 12210–12214.
- [299] V. Ramtenki, D. Raju, U. J. Mehta, C. V. Ramana, Prasad, B. L. V., *New J. Chem.* **2013**, *37*, 3716–3720.
- [300] Q. Huo, *Colloids Surf., B* **2007**, *59*, 1–10.
- [301] S. K. Vashist, *Diagnostics* **2012**, *2*, 23–33.

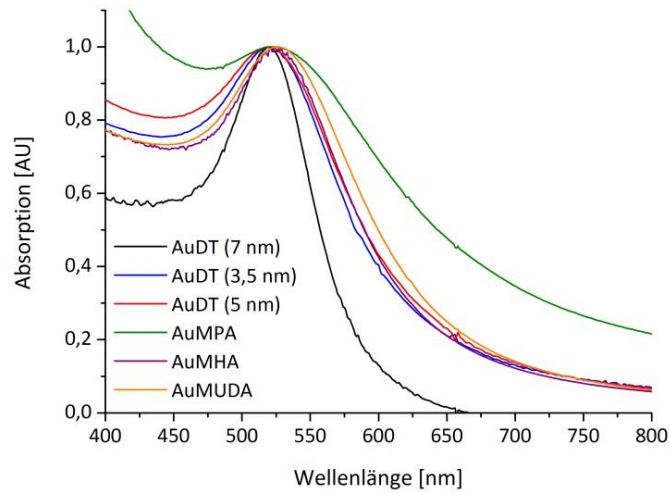
-
- [302] M. Suzuki, L. Bachelet-Violette, F. Rouzet, A. Beilvert, G. Autret, M. Maire, C. Menager, L. Louedec, C. Choqueux, P. Saboural, O. Haddad, C. Chauvierre, F. Chaubet, J.-B. Michel, J.-M. Serfaty, D. Letourneur, *Nanomedicine* **2014**, 1–15.
- [303] D. Nordmeyer, P. Stumpf, D. Gröger, A. Hofmann, S. Enders, S. B. Riese, J. Dervede, M. Taupitz, U. Rauch, R. Haag, E. Rühl, C. Graf, *Nanoscale* **2014**, 6, 9646–9654.
- [304] a) X. Wang, R. D. Tilley, J. J. Watkins, *Langmuir* **2014**, 30, 1514–1521; b) H. B. Na, G. Palui, J. T. Rosenberg, X. Ji, S. C. Grant, H. Mattoussi, *ACS Nano* **2012**, 6, 389–399.
- [305] a) W. Chen, Y. Cao, M. Liu, Q. Zhao, J. Huang, H. Zhang, Z. Deng, J. Dai, D. F. Williams, Z. Zhang, *Biomaterials* **2012**, 33, 7895–7902; b) F. Dilnawaz, A. Singh, C. Mohanty, S. K. Sahoo, *Biomaterials* **2010**, 31, 3694–3706; c) N. G. Durmus, E. N. Taylor, K. M. Kummer, T. J. Webster, *Adv. Mater.* **2013**, 25, 5706–5713.
- [306] P. Baranska, H. Jerczynska, Z. Pawlowska, W. Koziolkiewicz, C. S. Cierniewski, *Cancer Genomics & Proteomics* **2005**, 2, 265–270.
- [307] C. Y. Lo, A. Antonopoulos, A. Dell, S. M. Haslam, T. Lee, S. Neelamegham, *Biomaterials* **2013**, 34, 8213–8222.
- [308] K. Kaur, J. A. Forrest, *Langmuir* **2012**, 28, 2736–2744.
- [309] Y. Pan, S. Neuss, A. Leifert, M. Fischler, F. Wen, U. Simon, G. Schmid, W. Brandau, W. Jahnen-Dechent, *Small* **2007**, 3, 1941–1949.
- [310] S. Urbani, R. Caporale, L. Lombardini, A. Bosi, R. Saccardi, *Cytotherapy* **2006**, 8, 243–253.
- [311] M. Yan, Y. Zhang, K. Xu, T. Fu, H. Qin, X. Zheng, *Toxicology* **2011**, 282, 94–103.
- [312] T. Wang, J.-Y. Chen, S. Zhen, P.-N. Wang, C.-C. Wang, W.-L. Yang, Q. Peng, *J Fluoresc* **2009**, 19, 615–621.
- [313] W. E. Smith, J. Brownell, C. C. White, Z. Afsharinejad, J. Tsai, X. Hu, S. J. Polyak, X. Gao, T. J. Kavanagh, D. L. Eaton, *ACS Nano* **2012**, 6, 9475–9484.
- [314] A. K. Dinda, M. Kumar, G. Singh, V. Arora, S. Mewar, U. Sharma, N. R. Jagannathan, S. Sapra, S. Kharbanda, H. Singh, *IJN* **2012**, 7, 3503–3516.
- [315] a) Y. Zhang, A. Clapp, *Sensors* **2011**, 11, 11036–11055; b) S. Perumal, A. Hofmann, N. Scholz, E. Rühl, C. Graf, *Langmuir* **2011**, 27, 4456–4464.
- [316] a) H. T. Uyeda, I. L. Medintz, J. K. Jaiswal, S. M. Simon, H. Mattoussi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 3870–3878; b) M. H. Stewart, K. Susumu, B. C. Mei, I. L. Medintz, J. B. Delehanty, J. B. Blanco-Canosa, P. E. Dawson, H. Mattoussi, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 9804–9813; c) H. T. Uyeda, I. L. Medintz, J. K. Jaiswal, S. M. Simon, H. Mattoussi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 3870–3878.
- [317] S. L. Saville, R. C. Stone, B. Qi, O. T. Mefford, *J. Mater. Chem.* **2012**, 22, 24909–24917.
- [318] J. S. Kang, T. A. Taton, *Langmuir* **2012**, 28, 16751–16760.
- [319] a) J. Zhu, L. Liao, L. Zhu, P. Zhang, K. Guo, J. Kong, C. Ji, B. Liu, *Talanta* **2013**, 107, 408–415; b) S. Zhang, J. Li, G. Lykotrafitis, G. Bao, S. Suresh, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 419–424.
- [320] a) X. Jiang, A. Musyanovych, C. Röcker, K. Landfester, V. Mailänder, G. U. Nienhaus, *Nanoscale* **2011**, 3, 2028–2035; b) C. Freese, M. I. Gibson, H.-A. Klok, R. E. Unger, C. J. Kirkpatrick, *Biomacromolecules* **2012**, 13, 1533–1543.
- [321] L. Treuel, X. Jiang, G. U. Nienhaus, *J. R. Soc., Interface* **2013**, 10, 20120939–20120952.
- [322] Y. Xiao, S. P. Forry, X. Gao, R. D. Holbrook, W. G. Telford, A. Tona, *J Nanobiotechnol* **2010**, 8, 13–21.
- [323] D. Ag, R. Bongartz, L. E. Dogan, M. Selesi, J.-G. Walter, D. O. Demirkol, F. Stahl, S. Ozcelik, S. Timur, T. Scheper, *Colloids Surf., B* **2014**, 114, 96–103.
-

- [324] A. Asokan, M. J. Cho, *J Pharm Sci.* **2002**, *91*, 903–913.
- [325] I. Nabiev, S. Mitchell, A. Davies, Y. Williams, D. Kelleher, R. Moore, Y. K. Gun'ko, S. Byrne, Y. P. Rakovich, J. F. Donegan, A. Sukhanova, J. Conroy, D. Cottell, N. Gaponik, A. Rogach, Y. Volkov, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 3452–3461.
- [326] a) J. Kolodziejczyk-Czepas, *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *143*, 14–23; b) C. C. M. Appeldoorn, T. J. M. Molenaar, A. Bonnefoy, S. H. van Leeuwen, P. A. H. Vandervoort, M. F. Hoylaerts, T. J. C. van Berkel, E. A. L. Biessen, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 10201–10207; c) D. Del Rio, A. Rodriguez-Mateos, J. P. Spencer, M. Tognolini, G. Borges, A. Crozier, *Antioxid. Redox Signaling* **2013**, *18*, 1818–1892.
- [327] a) M. A. Martin, L. Goya, S. Ramos, *Food Chem. Toxicol.* **2013**, *56*, 336–351; b) M. Arlorio, M. Locatelli, F. Travaglia, J.-D. Coisson, E. D. Grosso, A. Minassi, G. Appendino, A. Martelli, *Food Chem.* **2008**, *106*, 967–975; c) Y. Gu, J. D. Lambert, *Mol. Nutr. Food Res.* **2013**, *57*, 948–961; d) S. Fallarini, G. Miglio, T. Paoletti, A. Minassi, A. Amoruso, C. Bardelli, S. Brunelleschi, G. Lombardi, *Br. J. Pharmacol.* **2009**, *157*, 1072–1084.
- [328] J. Wollgast, E. Anklam, *Food Res. Int.* **2000**, *33*, 423–447.
- [329] a) S. Heptinstall, J. May, S. Fox, C. Kwik-Urbe, L. Zhao, *J. Cardiovasc Pharmacol* **2006**, *47*, 197–205; b) H. Zeng, M. Locatelli, C. Bardelli, A. Amoruso, J. D. Coisson, F. Travaglia, M. Arlorio, S. Brunelleschi, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 5342–5350; c) J. B. Park, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 2171–2175.
- [330] J. B. Park, *J. Nutr. Biochem.* **2009**, *20*, 800–805.
- [331] J. B. Park, N. Schoene, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**, *317*, 813–819.
- [332] J.-E. Bassard, P. Ullmann, F. Bernier, D. Werck-Reichhart, *Phytochemistry* **2010**, *71*, 1808–1824.
- [333] W. S. Somers, J. Tang, G. D. Shaw, R. T. Camphausen, *Cell* **2000**, *103*, 467–479.
- [334] a) B. Xiao, C. Tong, X. Jia, R. Guo, S. Lü, Y. Zhang, R. P. McEver, C. Zhu, M. Long, *Biophys. J.* **2012**, *103*, 777–785; b) T. V. Pochechueva, N. A. Ushakova, M. E. Preobrazhenskaya, N. E. Nifantiev, Y. E. Tsvetkov, M. A. Sablina, A. B. Tuzikov, M. I. Bird, R. Rieben, N. V. Bovina, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1709–1712; c) V. Ramachandran, M. U. Nollert, H. Qiu, W.-J. Liu, R. D. Cummings, C. Zhu, R. P. McEver, *PNAS* **1999**, *96*, 13771–13776.
- [335] a) M. Weinhart, D. Gröger, S. Enders, S. B. Riese, J. Dervede, R. K. Kainthan, D. E. Brooks, R. Haag, *Macromol. Biosci.* **2011**, *11*, 1088–1098; b) S. Wedepohl, F. Beceren-Braun, S. Riese, K. Buscher, S. Enders, G. Bernhard, K. Kilian, V. Blanchard, J. Dervede, R. Tauber, *Eur. J. Cell Biol.* **2012**, *91*, 257–264.
- [336] a) Q. Ye, F. Zhou, W. Liu, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4244–4258; b) E. Amstad, T. Gillich, I. Bilecka, M. Textor, E. Reimhult, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 4042–4048.
- [337] H. Lee, N. F. Scherer, P. B. Messersmith, *PNAS* **2006**, *103*, 12999–1303.
- [338] H. Chen, A. Dorrigan, S. Saad, D. J. Hare, M. B. Cortie, S. M. Valenzuela, M. Kanzaki, *PLoS ONE* **2013**, *8*, 58208–58215.
- [339] R. Dong, H. Chen, D. Wang, Y. Zhuang, L. Zhu, Y. Su, D. Yan, X. Zhu, *ACS Macro Lett.* **2012**, *1*, 1208–1211.
- [340] Jennifer M. Kremser, Alexander Stadler, *A Chemist's Guide to Microwave Synthesis. Basics, Equipment & Application Examples*, 1. Aufl., Anton Paar, Graz, **2013**.
- [341] a) M. Weinhart, D. Gröger, S. Enders, S. B. Riese, J. Dervede, R. K. Kainthan, D. E. Brooks, R. Haag, *Macromol. Biosci.* **2011**, *11*, 1088–1098; b) S. Enders, S. B. Riese, G. Bernhard, J. Dervede, W. Reutter, R. Tauber, *Biochem. Eng. J.* **2010**, *48*, 253–259.

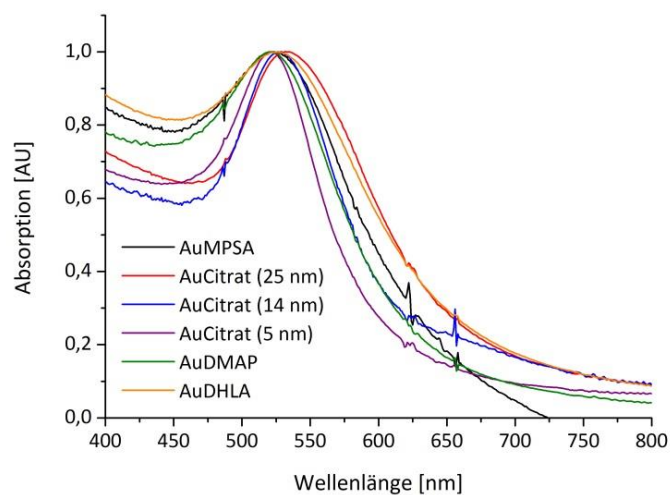
- [342] Y. Chevolot, J. Martins, N. Milosevic, D. Léonard, S. Zeng, M. Malissard, E. G. Berger, P. Maier, H. J. Mathieu, D. H. G. Crout, H. Sigrist, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2943–2953.
- [343] W. Schumacher, A. Nagy, W. J. Waldman, P. K. Dutta, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 12132–12139.
- [344] Z. Gu, L. Zou, Z. Fang, W. Zhu, X. Zhong, *Nanotechnology* **2008**, *19*, 135604–135609.
- [345] N. M. Tahir, P. Théato, W. E. G. Mueller, H. C. Schroeder, A. Janshoff, J. Zhang, J. Huth, W. Tremel, *Chem. Commun.* **2004**, *24*, 2848–2849.
- [346] F. Xiong, Z.-y. Zhu, C. Xiong, X.-q. Hua, X.-h. Shan, Y. Zhang, N. Gu, *Pharm Res* **2012**, *29*, 1087–1097.
- [347] S. K. Kailasa, H.-F. Wu, *J. Proteomics* **2012**, *75*, 2924–2933.
- [348] L. Liu, M. Rozenman, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12660–12661.
- [349] S. Svedhem, C.-Å. Hollander, J. Shi, P. Konradsson, B. Liedberg, Svensson, Stefan C. T., *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4494–4503.

8 Anhang

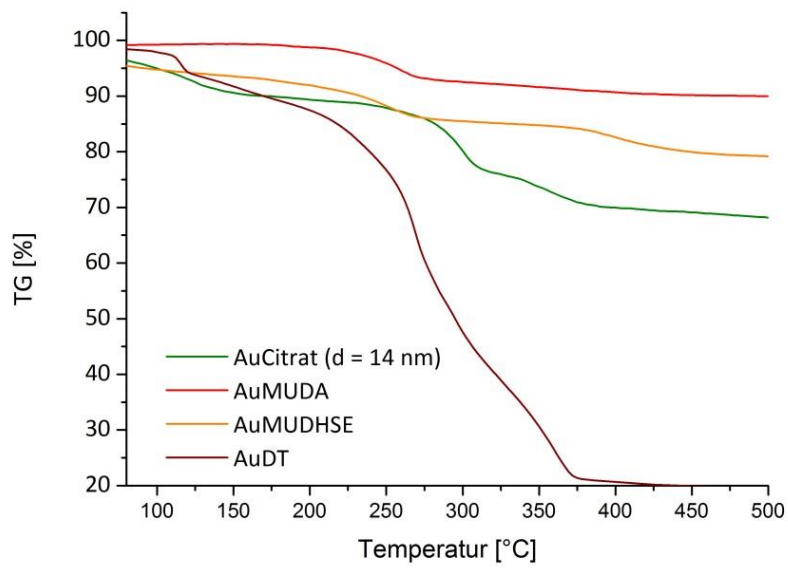
8.1 ergänzende Spektren und TEM-Aufnahmen



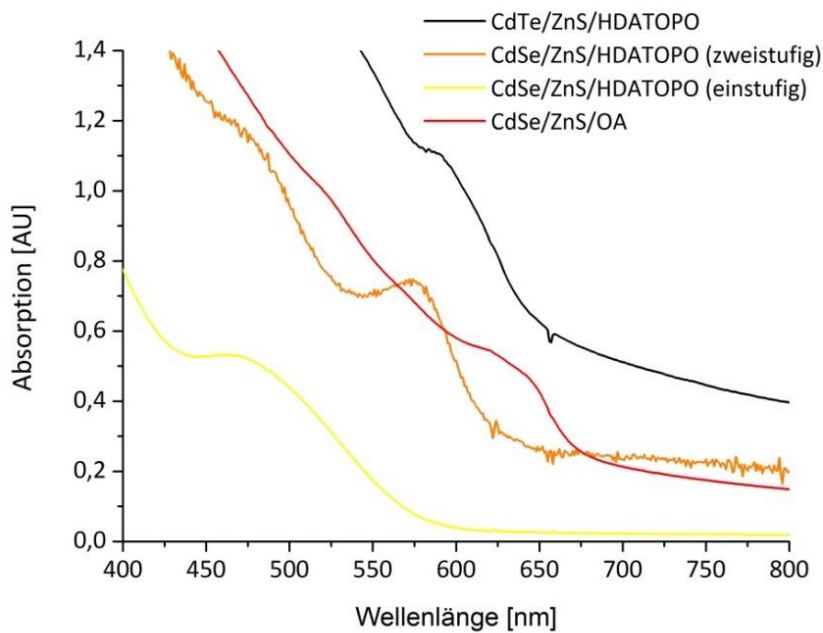
Anhang Abb. 1: Vergleich der normierten UV/Vis-Absorptionsspektren der in organischen Lösungsmitteln synthetisierten Goldnanopartikel.



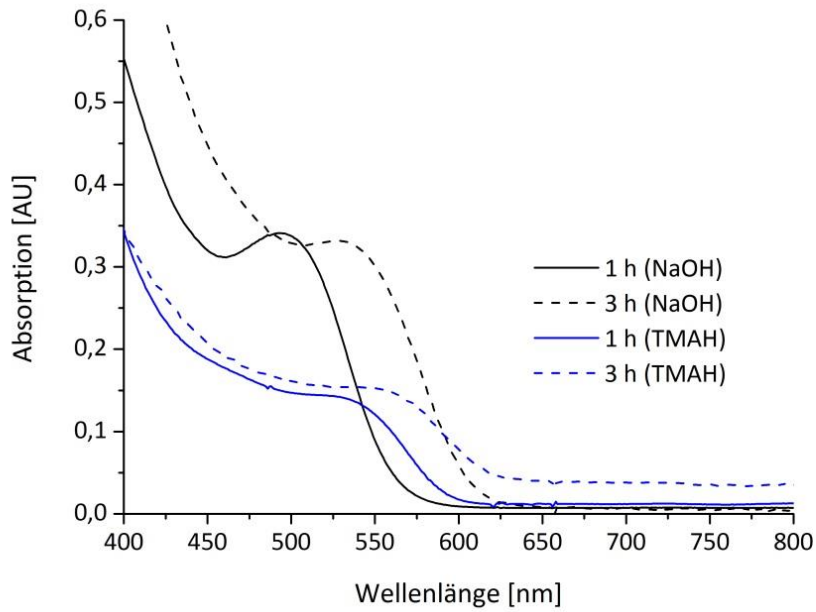
Anhang Abb. 2: Vergleich der normierten UV/Vis-Absorptionsspektren der in wässrigem Medium synthetisierten Goldnanopartikel.



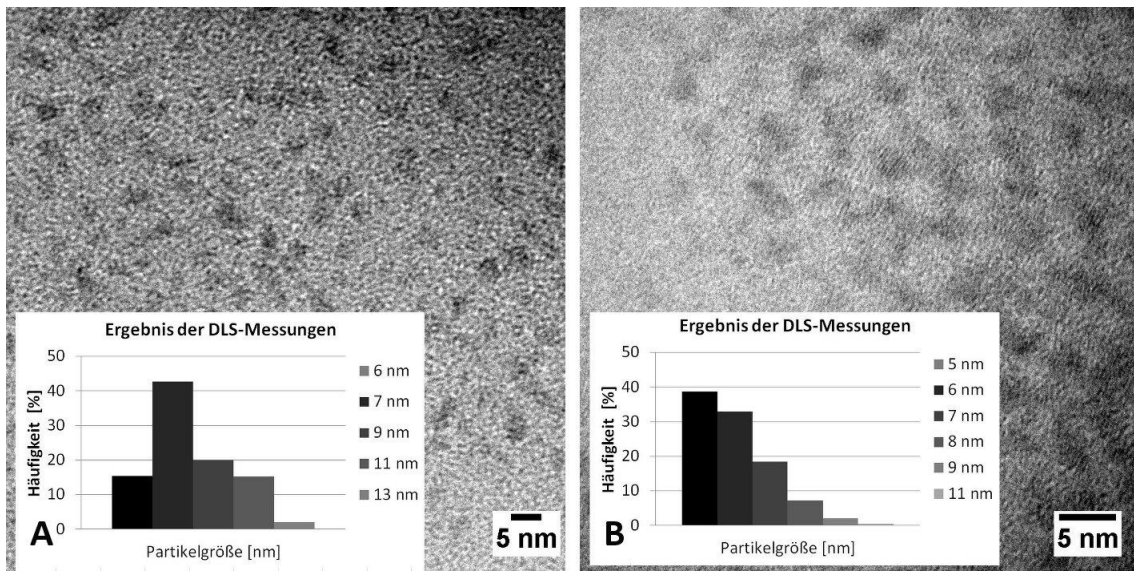
Anhang Abb. 3: Ergebnisse der TGA-Messungen der synthetisierten Goldnanopartikel. Der Gewichtsverlust beträgt für AuCitrat (14 nm) 13%; für AuMUDA (10 nm) 6%; für AuDT (7 nm) 15% und für AuMUDHSE (7 nm) 10%.



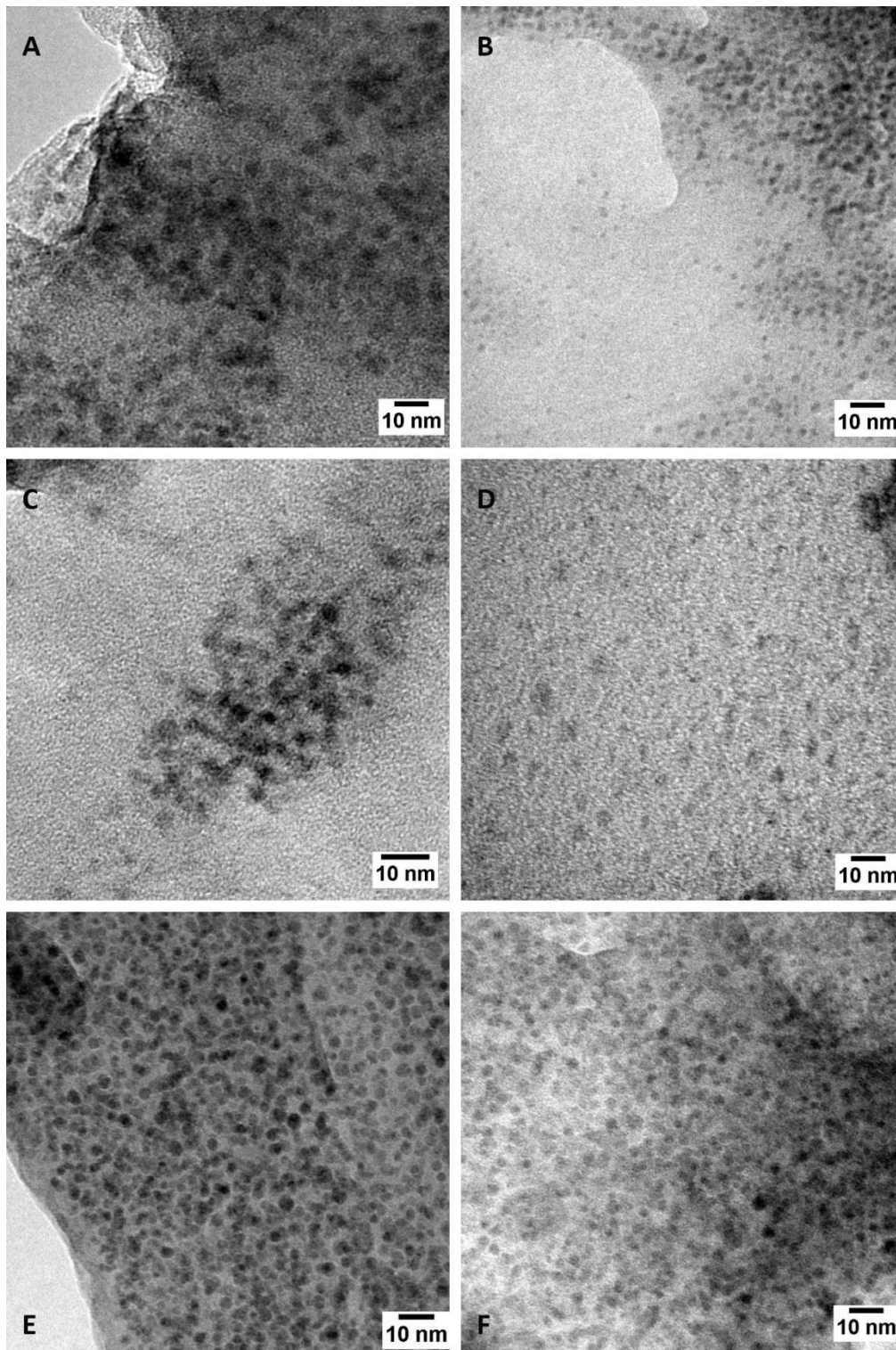
Anhang Abb. 4: UV/Vis-Absorptionsspektren der nach der "Hot-Injektion"-Methode synthetisierten CdSe/ZnS- und CdTe/ZnS-QDots.



Anhang Abb. 5: UV/Vis-Absorptionsspektren von TGA-koord. CdTe-QDots, bei denen TMAH bzw. NaOH als Base für die Einstellung des pH-Wertes verwendet wurden. So verschiebt sich das Absorptionsmaximum von 506 nm (NaOH 1h) auf 544 nm (TMAH 1 h) [bzw. 538 nm (NaOH 3 h) zu 566 nm (TMAH 3 h)] hin zu längeren Wellenlängen durch die Verwendung von TMAH.

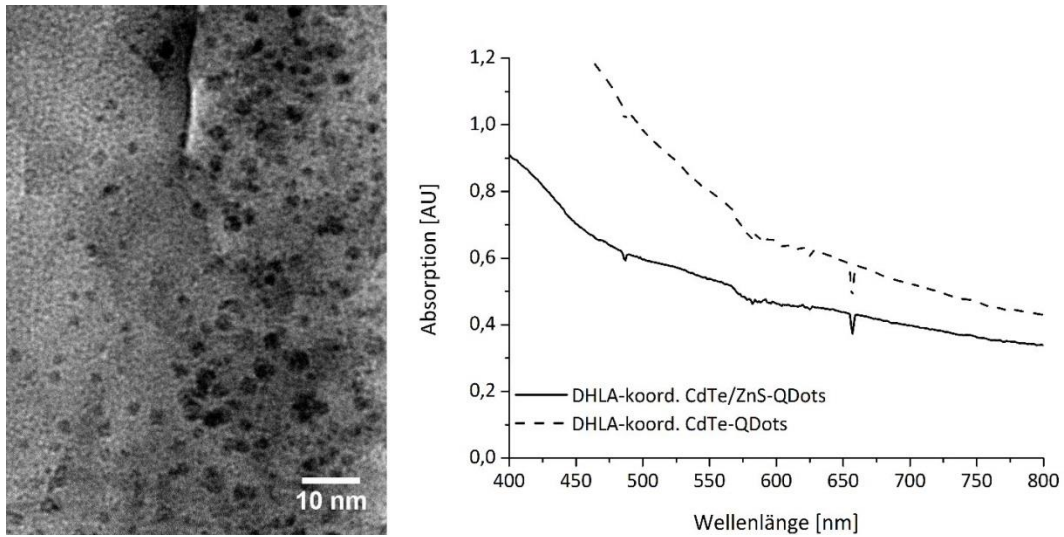


Anhang Abb. 6: TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen von MUDA-kordinierten CdTe-QDots nach einer Reaktionsdauer von 5 h (A) bzw. 22 h (B), die durch die konventionelle Synthese hergestellt wurden.

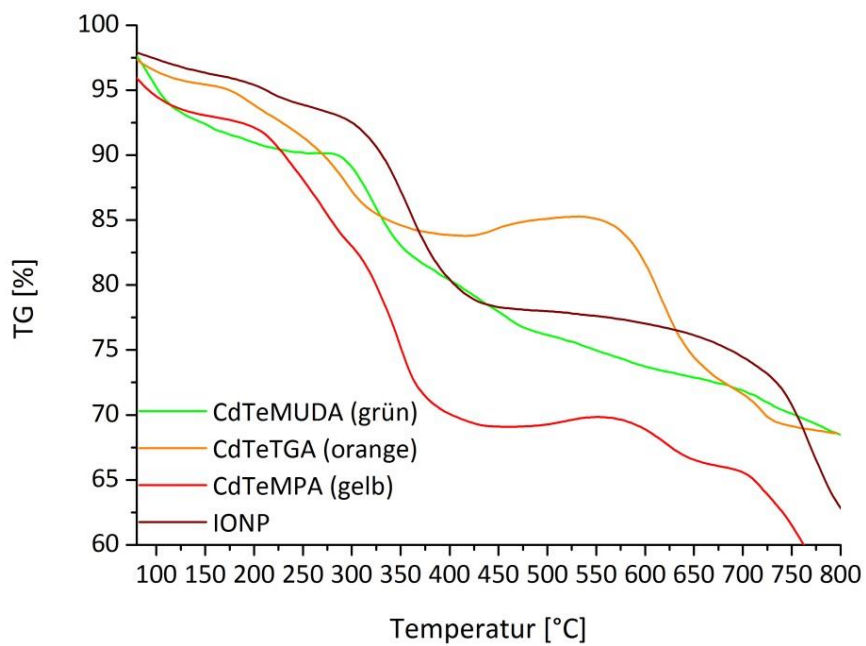


Anhang Abb. 7: TEM-Aufnahmen der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Mercaptocarbonsäure-koord. CdX/ZnS-QDots; A: MPA-koord. CdSe/ZnS-QDots ($d = 5,2 \pm 0,6$ nm); B: MUDA-koord. CdTe/ZnS-QDots ($d = 2,6 \pm 0,2$ nm); C: MHA-koord. CdTe/ZnS-QDots ($d = 3,5 \pm 0,2$ nm); D: MSA-koord. CdTe/ZnS-Qdots ($d = 3,6 \pm 0,4$ nm); E: MPA-koord. CdTe/ZnS-QDots ($d = 3,8 \pm 0,3$ nm); F: TGA-koord. CdTe/ZnS-QDots ($d = 5,0 \pm 0,2$ nm).

9. Anhang

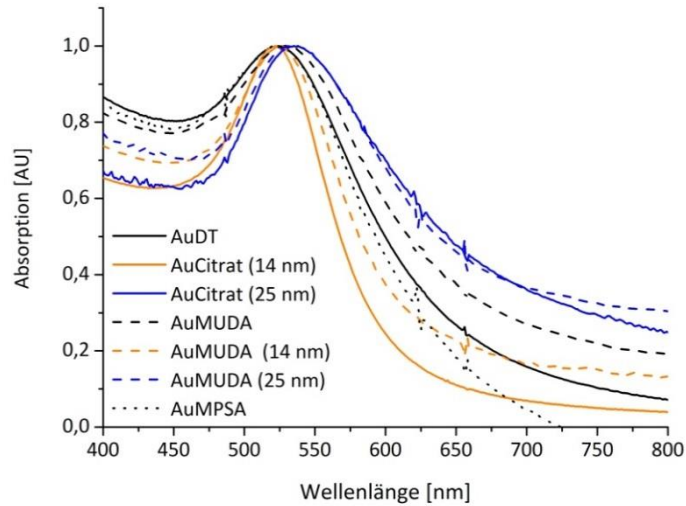


Anhang Abb. 8: TEM-Aufnahme und UV/Vis-Absorptionsspektren von DHLA-kooordinierten CdTe/ZnS-QDots mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $d = 3,5 \pm 0,3$ nm und einem Absorptionsmaximum von $\lambda_{\text{max}} = 568$ nm (gestrichelte Linie, DHLA-kooordinierte CdTe-QDots $\lambda_{\text{max}} = 565$ nm).

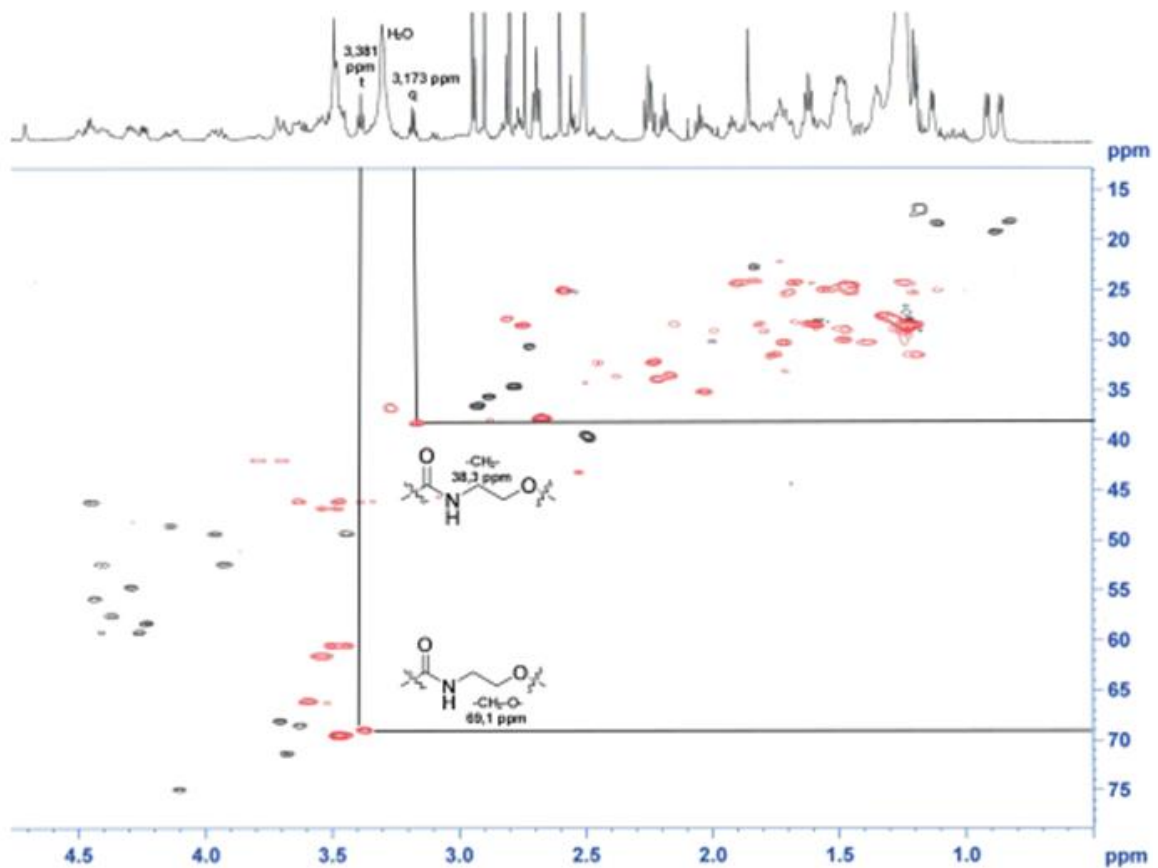


Anhang Abb. 9: Ergebnisse der TGA-Messungen von ausgewählten QDots und IONP.

9. Anhang

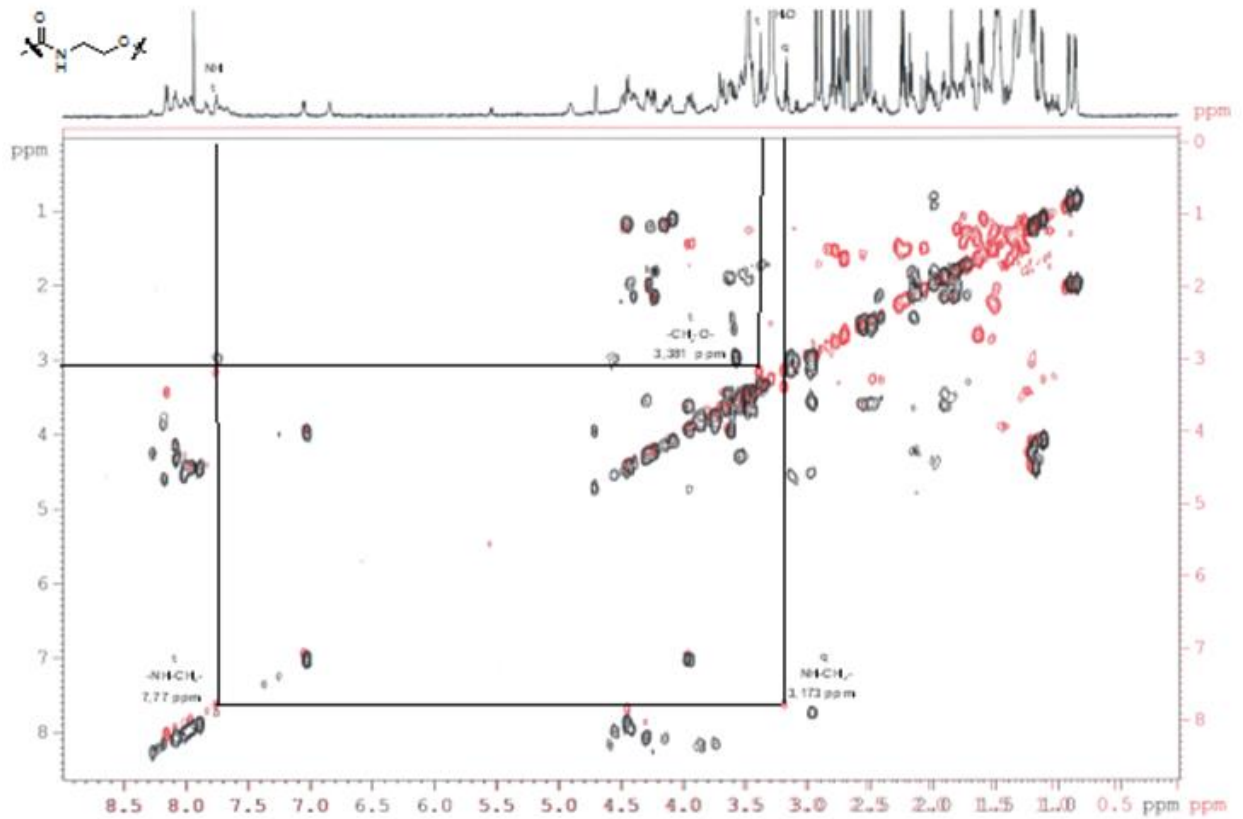


Anhang Abb. 10: Normierte Absorptionsspektren vor (durchgezogene Linie) und nach (gestrichelte / gepunktete Linie) dem Ligandenaustausch von AuMUDA und AuMPSA.

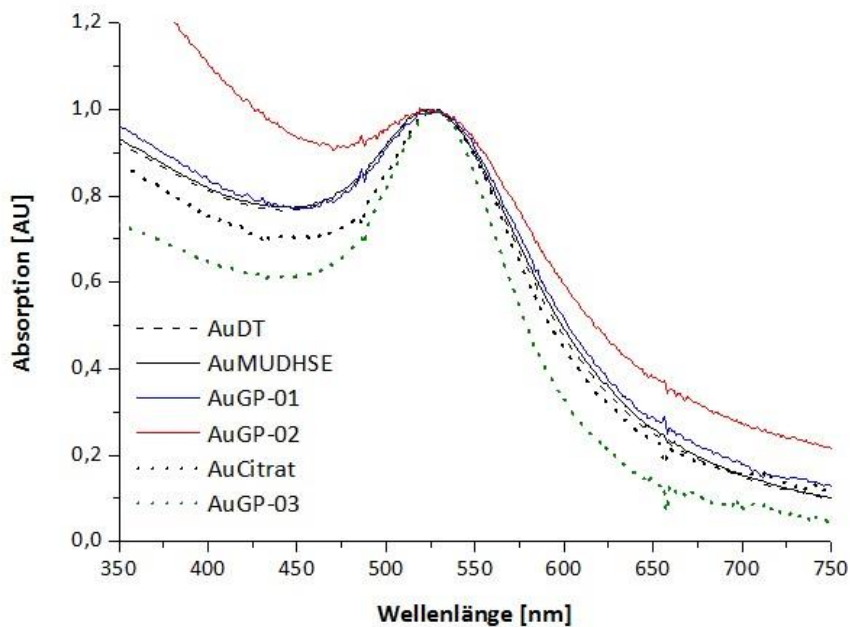


Anhang Abb. 11: HSQC-Spektrum der GP-01-kordinierten Goldnanopartikel; rot = gebundener Ligand; schwarz = freier Ligand. Die Anbindung wird durch die neu entstandene Amidbindung (Zuordnung des Quartettsignals bei 3,173 ppm und des Triplettsignals bei 3,381 ppm mit den CH_2 -Gruppen bei 38,3 ppm bzw. 69,1 ppm) deutlich.

9. Anhang

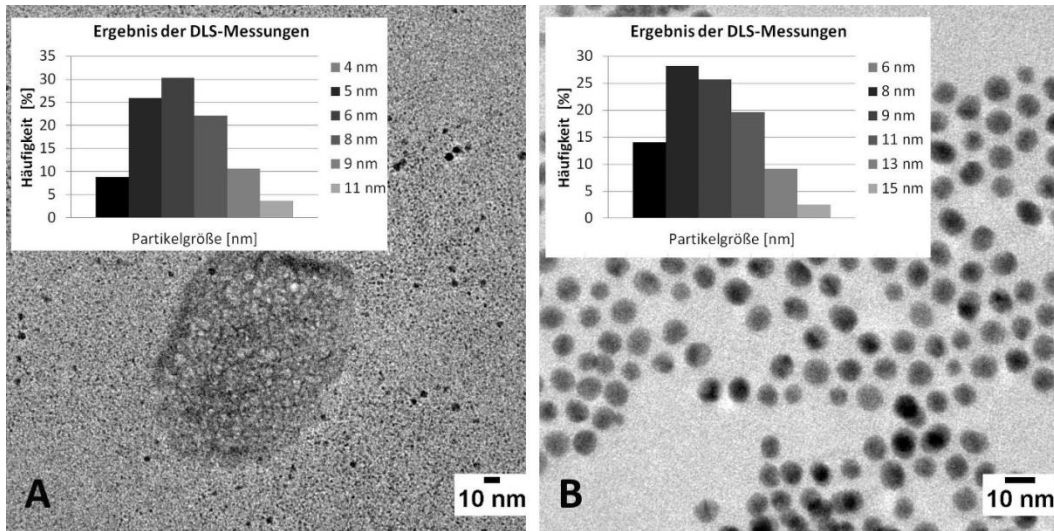


Anhang Abb. 12: COSY-DQF Spektrum der GP-01-kordinierten Goldnanopartikel; rot = gebundener Ligand; schwarz = freier Ligand.

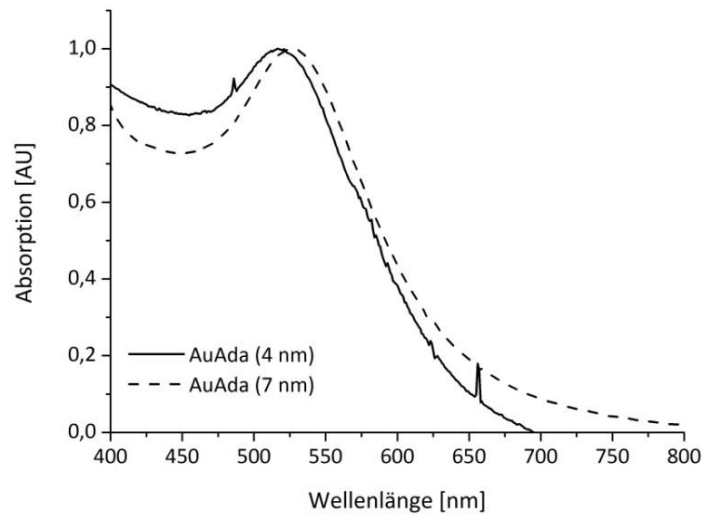


Anhang Abb. 13: normierte Absorptionsspektren der Glycopeptid-kordinierten Goldnanopartikeln und den entsprechenden Goldkolloiden vor der Immobilisierung.

9. Anhang

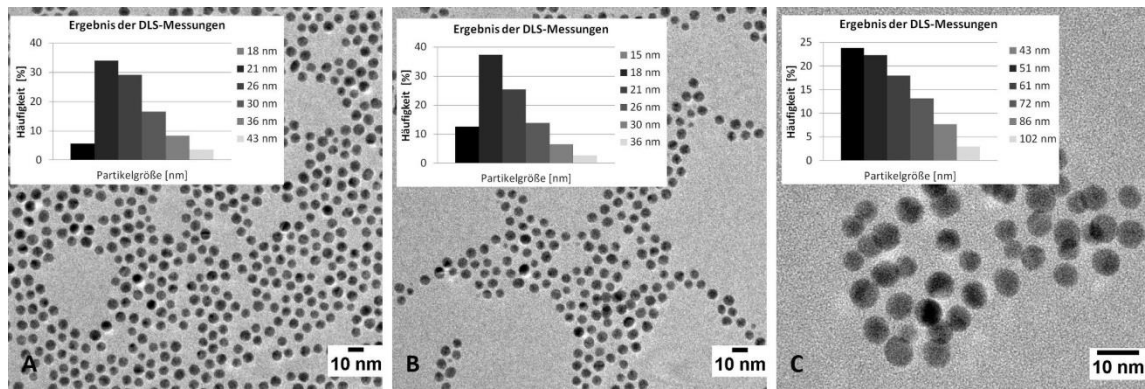


Anhang Abb. 14: TEM-Aufnahmen von AuAda $d = 4,4 \pm 0,2$ nm ($d_h = 6 \pm 1$ nm) [A] und AuAda $d = 7,3 \pm 0,2$ nm ($d_h = 8 \pm 2$ nm) [B].



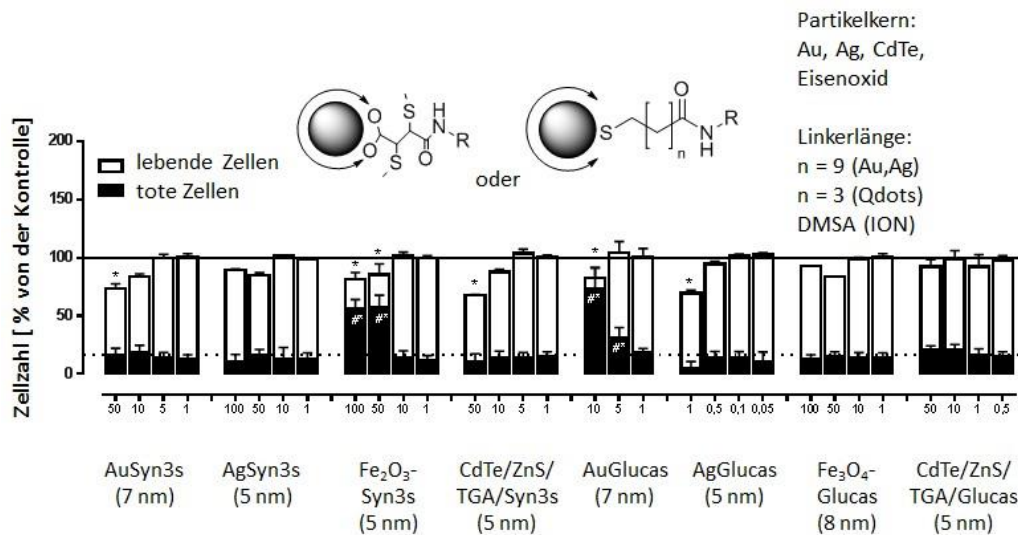
Anhang Abb. 15: normierte Absorptionsspektren von AuAda.

9. Anhang



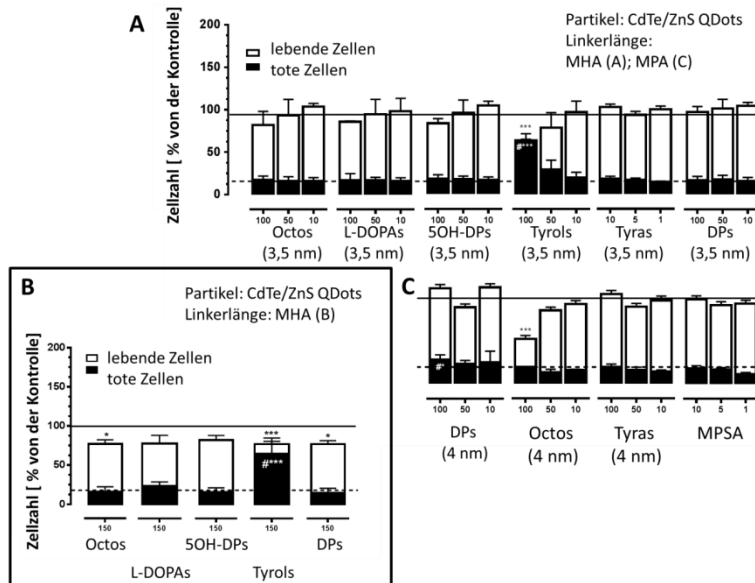
Anhang Abb. 16: TEM-Aufnahmen und DLS-Messungen der Aminooxepan-kordinierten Goldnanopartikel vor dem Sulfatierungsschritt [AuAO-1 (A); AuAO-2 (B); AuAO-3 (C)].

8.2 ergänzende Ergebnisse der Biokompatibilitätstests

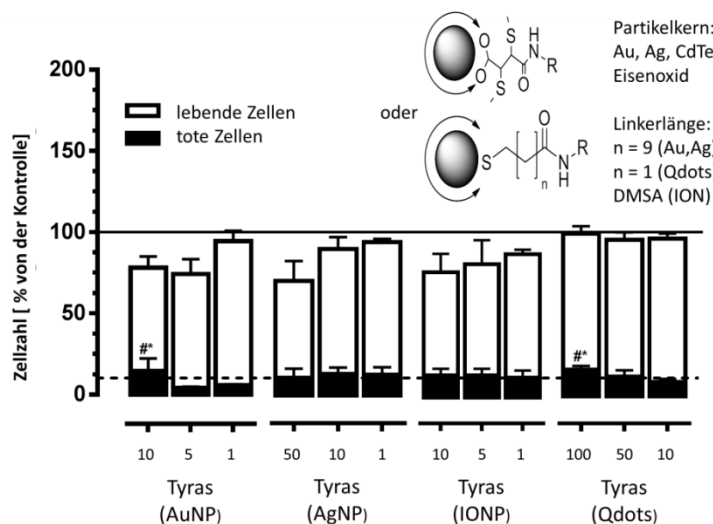


Anhang Abb. 17: HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit den Nanopartikeln (100, 50, 10, 5 und 1 nmol/L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX[®] Green Dead Cell Stain erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben (Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)). Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

9. Anhang

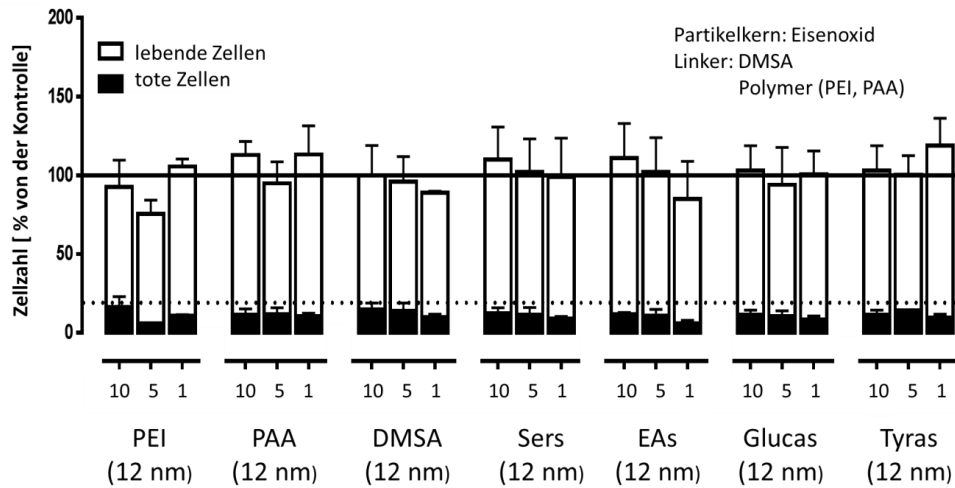


Anhang Abb. 18: Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der mit unterschiedlichen Epitopen funktionalisierten CdTe/ZnS-QDots; A: Verschiedene Konzentrationen (100, 50 und 10 nmol/L) und Linkerlänge MHA; B: Konzentration 100 nmol/L und Linkerlänge MHA; C: verschiedene Konzentrationen (100, 50 und 10 nmol/L) und Linkerlänge MPA. *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit den Nanopartikeln inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX® Green Dead Cell Stain* erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben (Mittelwert und Standardabweichung der %-Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)). Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

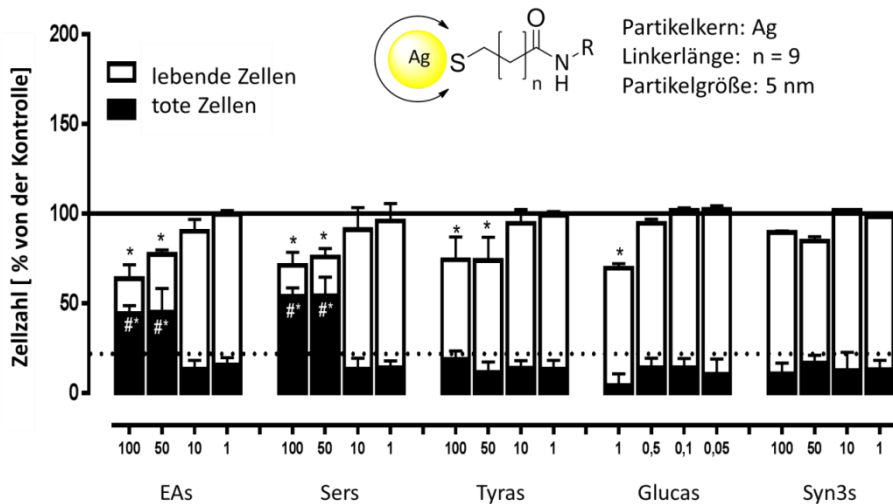


Anhang Abb. 19: Vergleich der Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der mit Tyras-funktionalisierten in dieser Arbeit verwendeten unterschiedlichen Nanopartikelarten. *HUVECs* wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die *HUVECs* 48 h mit den Nanopartikeln (100, 50, 10, 5 und 1 nmol/L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit *SYTOX® Green Dead Cell Stain* erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben (Mittelwert und Standardabweichung der %-Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)). Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

9. Anhang

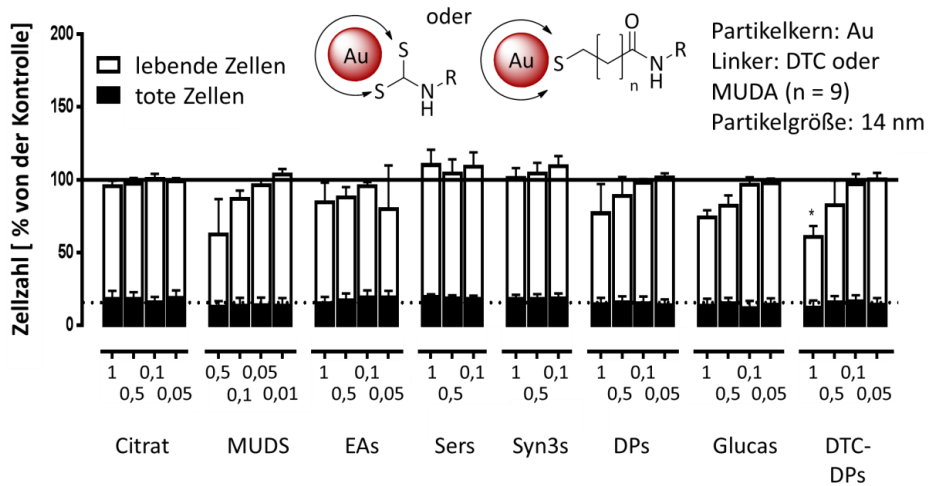


Anhang Abb. 20: Ergebnis der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der 12 nm großen Eisenoxidnanopartikeln mit unterschiedlichen Ligandentypen (Polymere, DMSA, Kohlenhydratmimetika, azyklische Amine, Tyramine); HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit den Nanopartikeln (100, 50, 10, 5 und 1 nmol/L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX® Green Dead Cell Stain erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben (Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)). Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder ## $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

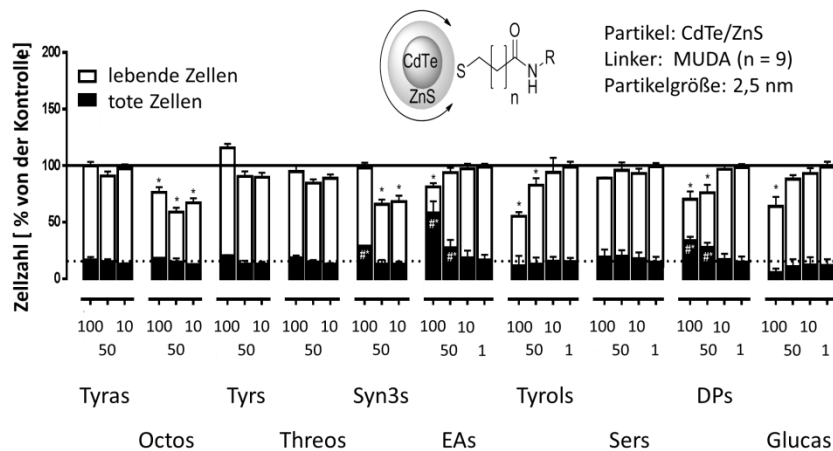


Anhang Abb. 21: Ergebnis der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der funktionalisierten Silbernanopartikel mit verschiedenen sulfatierten Epitopen; HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit den Nanopartikeln (100, 50, 10, 5 und 1 nmol/L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX® Green Dead Cell Stain erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben (Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)). Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder ## $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

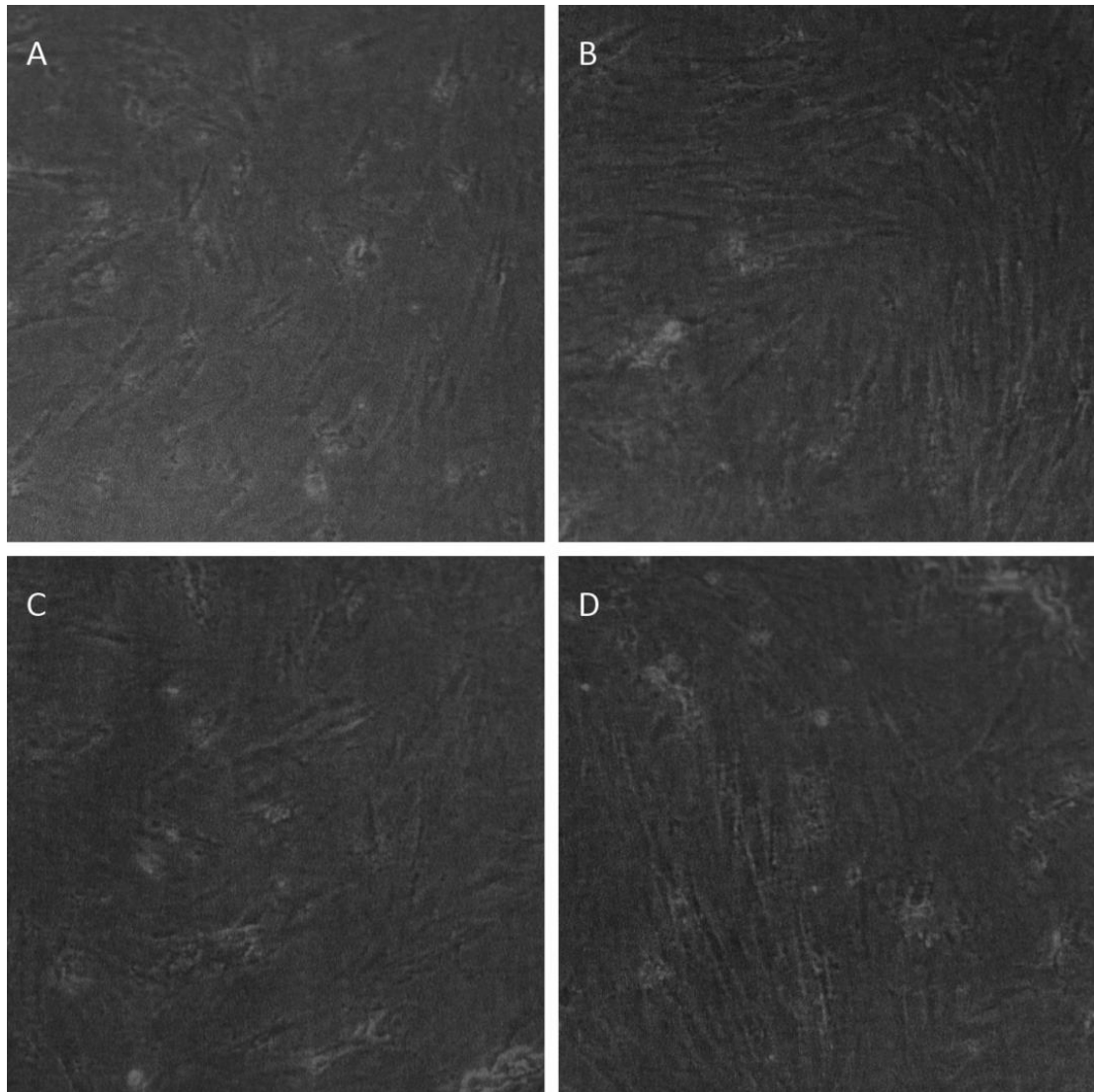
9. Anhang



Anhang Abb. 22: Vergleich der Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der mit unterschiedlichen Epitopen-funktionalisierten Goldnanopartikel ($\varnothing = 14$ nm). HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit den Nanopartikeln (1; 0,5; 0,1; 0,05 und 0,01 nmol/L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX® Green Dead Cell Stain erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben (Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)). Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.

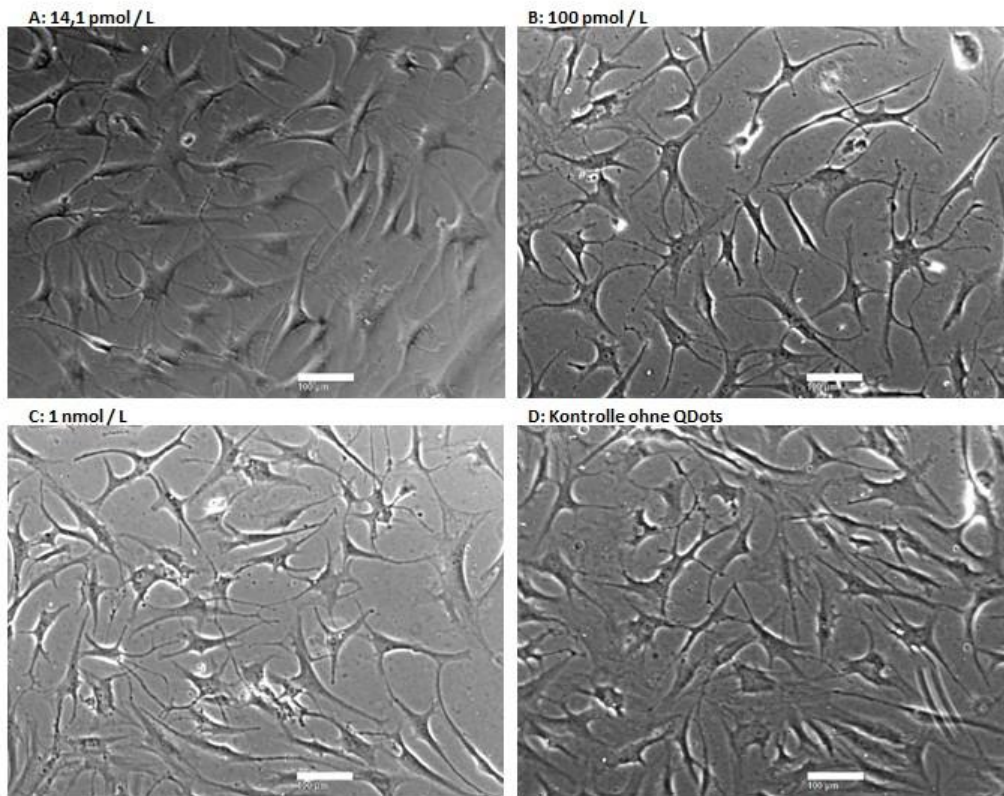


Anhang Abb. 23: Vergleich der Ergebnisse der Zytotoxizitäts- und Zellproliferationstests der mit unterschiedlichen Epitopen-funktionalisierten CdTe/ZnS/MUDA Quantum Dots ($\varnothing = 2,5$ nm). HUVECs wurden 24 h nach der Aussaat gemessen. Zuvor wurden die HUVECs 48 h mit den Nanopartikeln (100; 50; 10; 1 nmol/L) inkubiert. Proliferation und Toxizität wurden durch Anfärben mit SYTOX® Green Dead Cell Stain erhalten. Ergebnisse sind als % von der unbehandelten Probe angegeben (Mittelwert und Standardabweichung der % Gesamtzellzahl der Kontrolle (schwarze durchgezogene Linie) und % toter Zellen der Kontrolle (schwarze gestrichelte Linie)). Signifikante Abweichungen sind als * $p < 0,05$ (verglichen mit lebenden Zellen in der Kontrolle) oder #* $p < 0,05$ (verglichen mit toten Zellen in der Kontrolle) angegeben.



Anhang Abb. 24: Mikroskopische Aufnahmen der mit 7 nm großen AuSyn3s inkubierten MSCs. Inkubationsdauer: 7 Tage; Konzentrationen 0 pmol / L (A); 30 pmol / L (B); 300 pmol / L (C); 3 nmol / L (D).

9. Anhang



Anhang Abb. 25: Lichtmikroskopische Aufnahmen der mit unterschiedlichen Konzentrationen von CdTe/ZnS/TGA/EAs inkubierten MSCs nach 24 h; Maßstab: 100 µm.

8.3 Überblick der Bindungsaffinitäten der funktionalisierten Nanopartikel an L-Selektin

Tabelle 22: Übersicht der in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse der Bindungsaffinitäten

funktionalisierte Nanopartikel	TEM (d / nm)	DLS (d_h / nm)	UV/Vis (λ_{max} / nm)	L-Selektin Inhibierung (IC ₅₀)
AuAP01s	7	16 ± 3	522	600 pM
AuAP02s	7	21 ± 5	526	1900 pM
AuAP04s	7	22 ± 4	525	1600 pM
IONP/DMSA/Sers	5	14 ± 3	-	25 nM
IONP/DMSA/Sers	7	23 ± 4	-	467 nM
IONP/DMSA/Sers	12	47 ± 10	-	478 nM
CdTe/ZnS/MPA/Sers	4	-	565	4,6 nM
CdTe/ZnS/MSA/Sers	3,5	-	515	7,1 nM
CdTe/ZnS/DHLA/Sers	3,5	-	567	4,4 nM
CdTe/ZnS/MHA/Sers	3,5	-	487	46 nM
CdTe/ZnS/MUDA/Sers	2,5	-	439	84 nM
CdTe/ZnS/MPA	4	6 ± 1	562	80 nM
CdTe/ZnS/MHA	3,5	5 ± 1	485	637 nM
CdTe/ZnS/MUDA	2,5	4 ± 1	433	790 nM