# Darstellung zwitterionischer Liganden zur Biokompatibilisierung von Quantum Dot in Quantum Rods

# Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

an der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

im Fachbereich Chemie

der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Michaela Steuter** 

aus Haselünne

Hamburg, Dezember 2015

Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde von Dezember 2010 bis Mai 2015 am Institut für Physikalische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Horst Weller angefertigt.

- 1. Gutachter: Prof. Dr. Horst Weller
- 2. Gutachter: Prof. Dr. Volker Abetz

Tag der Disputation: 29.01.2016

# Abkürzungen

ATR	Abgeschwächte Totalreflexion (attenuated total reflection)
ber.	berechnet
Boc	tert-Butyloxycarbonyl
BSA	Rinderserumalbumin (bovine serum albumine)
n-BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
ca.	circa
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
<i>m</i> -CPBA	meta-Chlorperbenzoesäure (meta-chloroperoxybenzoic acid)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DPBS	Dulbecco's Phosphate Buffered Saline
DTC	Dithiocarbamat
EDTA	Etylendiamintetraacetat
EtOAc	Ethylacetat
EPR	Enhanced Permeability and Retention
ESI	Elektrosprayionisation
FDA	Food and Drug Administration
FCS	Fetales Kälberserum (fetal calf serum)
FWHM	Halbwertsbreite (full width half maximum)
gef.	gefunden
HD	Hydrodynamischer Durchmesser

HDA	n-Hexadecylamin
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HPA	n-Hexylphosphonsäure (n-hexylphosphonic acid)
HWHM	Halbe Halbwertsbreite (half width half maximum)
Hz	Hertz
IR	Infrarot
LB	Leitungsband
LCAO	Linearkombination von Atomorbitalen (linear combination of atomic orbitals)
LDH	Lactatdehydrogenase
LED	Licht-emittierende Diode (light-emitting diode)
LSEC	Sinusoidale Leberendothelzelle (liver sinusoidal endothelial cell)
MS	Multiple Sklerose
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NMR	Kernspinresonanz (nuclear magnetic resonance)
ODPA	n-Octadecylphosphonsäure (n-octadecylphosphonic acid)
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline)
PEO	Polyethylenoxid
PI-b-PEO	Polyisopren-block-Polyethylenoxid
PLQY	Photolumineszenz-Quantenausbeute (photoluminescence quantum yield)
ppm	Parts per Million
QD	Quantum Dot
QDQR	Quantum Dot in Quantum Rod
RES	Retikuloendotheliales System
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species)

SPIOs	Superparamagnetic Iron Oxides
TAE	TRIS-Acetat-EDTA
TCSPC	Zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung (time correlated single photon counting)
TEA	Triethylamin
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEOS	Tetraethylorthosilikat
THF	Tetrahydrofuran
TMAH	Tetramethylammoniumhydroxid
TOF-MS	Flugzeitmassenspektrometer (time-of-flight mass spectrometer)
ТОР	Tri- <i>n</i> -Octylphosphan
Tregs	Regulatorische T-Zellen
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
VB	Valenzband
WST	Wasserlösliches Tetrazoliumsalz (water soluble tetrazolium salt)

# Inhalt

A	Abkürzungeni			
1	Einleitung1			
2	Theorie			
	2.1	Hal	bleiternanopartikel5	
	2	.1.1	Größenquantisierungseffekt7	
	2	.1.2	Optische Eigenschaften von Halbleiternanopartikeln	
	2	.1.3	Kern/Schale- und Kern/Schale/Schale-Nanopartikel10	
	2	.1.4	Quantum Dot in Quantum Rods12	
	2.2	Pha	sentransfer von Halbleiternanopartikeln14	
	2	.2.1	Verkapselung von Nanopartikeln15	
	2	.2.2	Direkter Ligandenaustausch16	
	2.3	Nar	nopartikel in der Biochemie20	
	2	.3.1	Vorteile von Halbleiternanopartikeln in der Biochemie20	
	2	.3.2	Toxizität von Nanopartikeln und deren Bestimmung in vitro21	
			Aufrichmenfederung Neuenantikeln in Zellen	
	2	.3.3	Aumanmeptade von Nanopartikein in Zenen	
3	2 Z	.3.3 Zielsetz	Authanmeptade von Nanopartikein in Zenen	
3 4	2 Z E	3.3 Zielsetz Ergebni	Aumanmeptade von Nanopartikein in Zenen 23   ung 26   isse und Diskussion 27	
3 4	2 Z E 4.1	.3.3 Zielsetz Ergebni Lig	Aumanneprade von Nanopartikein in Zenen 23   ung 26   isse und Diskussion 27   andensynthese 27	
3 4	2 Z E 4.1 4	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1	Aufnanmeplade von Nanopartikeln in Zenen    23      ung    26      isse und Diskussion    27      andensynthese    27      Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden    28	
3 4	2 Z E 4.1 4	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2	Aufnanmeplade von Nanopartikeln in Zenen    23      ung    26      isse und Diskussion    27      andensynthese    27      Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden    28      Funktionalisierung der Liganden    33	
3	2 Z E 4.1 4 4	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2 1.3	Aufnanneplade von Nanopartikeln in Zenen    23      ung    26      isse und Diskussion    27      andensynthese    27      Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden    28      Funktionalisierung der Liganden    33      Dithiocarbamat-Bildung    36	
3 4	2 Z 4.1 4 4 4 4.2	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2 1.3 Lig	Aufnanmeplade von Nanopartikeln in Zenen    23      ung    26      isse und Diskussion    27      andensynthese    27      Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden    28      Funktionalisierung der Liganden    33      Dithiocarbamat-Bildung    36      andenaustausch und Charakterisierung der Quantum Dot in Quantum Rods    40	
3	2 Z 4.1 4 4 4 4.2 4	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2 1.3 Lig 2.1	Aumanneprade von Nanopartikeln in Zenen    23      ung    26      isse und Diskussion    27      andensynthese    27      Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden    28      Funktionalisierung der Liganden    33      Dithiocarbamat-Bildung    36      andenaustausch und Charakterisierung der Quantum Dot in Quantum Rods    40      Ligandenaustausch mit C3-ZW-DTC und C11-ZW-DTC    41	
3 4	2 Z 4.1 4 4 4.2 4 4	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2 1.3 Lig 2.1 2.2	Autnanneprade von Nanopartikeln in Zeiten    23      ung	
3 4	2 Z 4.1 4 4 4.2 4 4 4 4	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2 1.3 Lig 2.1 2.2 2.3	Aumanneprade von Nanopartikein in Zehen    23      ung    26      isse und Diskussion    27      andensynthese    27      Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden    28      Funktionalisierung der Liganden    33      Dithiocarbamat-Bildung    36      andenaustausch und Charakterisierung der Quantum Dot in Quantum Rods    40      Ligandenaustausch mit C3-ZW-DTC und C11-ZW-DTC    41      Ligandenaustausch mit Bis-C3-ZW-DTC    47      Ligandenaustausch mit Allyl-C3-ZW    48	
3 4	2 <b>Z</b> 4.1 4 4 4 4.2 4 4 4 4	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2 1.3 Lig 2.1 2.2 2.3 2.4	Aumanneprade von Nanopartikeln in Zehen    23      ung	
3 4	2 <b>Z</b> 4.1 4 4 4 4.2 4 4 4 4 4.3	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2 1.3 Lig 2.1 2.2 2.3 2.4 Zei	Admanneplade von Nanopartikeln in Zenen    23      ung    26      isse und Diskussion    27      andensynthese    27      Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden    28      Funktionalisierung der Liganden    33      Dithiocarbamat-Bildung    36      andenaustausch und Charakterisierung der Quantum Dot in Quantum Rods    40      Ligandenaustausch mit C3-ZW-DTC und C11-ZW-DTC    41      Ligandenaustausch mit Bis-C3-ZW-DTC    47      Ligandenaustausch mit Allyl-C3-ZW    48      Ligandenaustausch mit anderen CdSe/CdS QDQRs    49      taufgelöste Fluoreszenzmessungen der Quantum Dot in Quantum Rods    53	
3 4	2 E 4.1 4 4 4 4.2 4 4 4 4 4 4 3 4.4	3.3 Zielsetz Ergebni Lig 1.1 1.2 1.3 Lig 2.1 2.2 2.3 2.4 Zei Sta	Admanneprade von Nanopartikeln in Zenen    25      ung	
3 4	2 Z E 4.1 4 4 4.2 4 4.2 4 4.3 4.4 4.3	3.3 Zielsetz Lig 1.1 1.2 1.3 Lig 2.1 2.2 2.3 2.4 Zei Sta 4.1	Admanneprade von Nanopartikeln in Zenen    25      ung    26      isse und Diskussion    27      andensynthese    27      Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden    28      Funktionalisierung der Liganden    33      Dithiocarbamat-Bildung    36      andenaustausch und Charakterisierung der Quantum Dot in Quantum Rods    40      Ligandenaustausch mit C3-ZW-DTC und C11-ZW-DTC    41      Ligandenaustausch mit Bis-C3-ZW-DTC    47      Ligandenaustausch mit Allyl-C3-ZW.    48      Ligandenaustausch mit anderen CdSe/CdS QDQRs    49      taufgelöste Fluoreszenzmessungen der Quantum Dot in Quantum Rods    53      bilität der Quantum Dot in Quantum Rods in wässriger Umgebung    56      Untersuchungen zur Stabilität in biologisch relevanten Medien    56	

	4.5	In vitro Untersuchungen mit A549-Zellen	65
	4.5.	1 Toxizität der zwitterionischen QDQRs	65
	4.5.	.2 Zellaufnahmeverhalten der zwitterionischen QDQRs mit A549-Zellen	70
	4.6	Aufnahme und Organverteilung der Quantum Dot in Quantum Rods in vivo	75
5	Zus	sammenfassung	80
6	Sur	nmary	82
7	Exp	perimenteller Teil	84
	7.1	Verwendete Chemikalien	84
	7.2	Verwendete Geräte, Techniken und Charakterisierungsmethoden	84
	7.3	Funktionalisierung des 1,3-Propansultons	89
	7.3.	.1 Darstellung des 3-Allyl-1,2-oxathiolan-2,2-dioxids	89
	7.3.	2 Darstellung des 3-(Oxiran-2-ylmethyl)-1,2-oxathiolan-2,2-dioxids	89
	7.4	Synthese der Dithiocarbamat-Precursor	90
	7.4.	.1 Darstellung des <i>tert</i> -Butyl(3-(dimethylamino)propyl)(methyl)carbamats	90
	7.4.	.2 Darstellung des 3-((3-(( <i>tert</i> -Butoxycarbonyl)(methyl)amino)propyl)-di- methylammonio)-propan-1-sulfonats	91
	7.4.	.3 Darstellung des 3-(Dimethyl(3-(methylamino)propyl)ammonio)propan-1- sulfonats	92
	7.4.	.4 Darstellung des <i>tert</i> -Butyl-bis(3-(dimethylamino)propyl)carbamats	93
	7.4.	.5 Darstellung des 3,3'-(((( <i>tert</i> -Butoxycarbonyl)azadiyl)bis(propan-3,1- diyl))bis(dimethylammoniodiyl))bis(propan-1-sulfonats)	94
	7.4.	.6 Darstellung des 3,3'-((Azadiylbis(propan-3,1-diyl))bis(dimethylammo- niodiyl))bis-(propan-1-sulfonats)	95
	7.4.	.7 Darstellung des 1-((3-(( <i>tert</i> -Butoxycarbonyl)(methyl)amino)dimethyl- ammonio)hex-5-en-3-sulfonats	96
	7.4.	.8 Darstellung des 1-(Dimethyl(3-methylamino)propyl)ammonio)hex-5-en-3- sulfonats	97
	7.4.	.9 Darstellung des 11-Brom-N-methylundecanamids	98
	7.4.	10 Darstellung des 11-(Dimethylamino)-N-methylundecanamids	98
	7.4.	.11 Darstellung des N,N,N'-Trimethylundecan-1,11-diamins	99
	7.4.	12 Darstellung des <i>tert</i> -Butyl(11-(dimethylamino)undecyl(methyl)carbamats	100
	7.4.	.13 Darstellung des 3-((11-(( <i>tert</i> -Butoxycarbonyl)(methyl)amino)undecyl)- dimethylammonio)-propan-1-sulfonats	101

7.4.1	4 Darstellung des 3-(Dimethyl(11-(methylamino)undecyl)ammonio) sulfonats	propan-1- 102		
7.5	Dithiocarbamat-Bildung			
7.6	Ligandenaustauschversuche			
7.7	Bestimmung der Photolumineszenz-Quantenausbeute	104		
7.8	Messung der Fluoreszenzabklingkurven			
7.9	Stabilitätsmessungen			
7.10	Zellkulturexperimente	106		
7.10.	1 Toxizitätstests	106		
7.10.	2 Zellaufnahmeversuche mit A549-Zellen	107		
7.11	In vivo Experimente	107		
7.11.	1 Intravital-Mikroskopie	107		
7.11.	2 Immunohistologie			
Abbildun	gen			
Literatury	verzeichnis			
Anhang A	A – Sicherheit	I		
Anhang B	8 – NMR-Spektren	XVIII		
Anhang C	Anhang C – MassenspektrenXXVIII			
Anhang E	) – Danksagung	XXXIII		
Anhang E	E – Lebenslauf	XXXV		
Anhang F	Anhang F – Eidesstattliche ErklärungXXXVII			

## 1 Einleitung

Der Bereich der Nanotechnologie hat in den letzten drei Jahrzehnten stark an Bedeutung gewonnen. Viele Forschungsgruppen weltweit beschäftigen sich mit der Synthese und den Anwendungsmöglichkeiten von Nanomaterialien. Deutlich zu erkennen ist dies an der Anzahl wissenschaftlicher Artikel, die im Bereich Nanotechnologie veröffentlich wurden. Waren es im Jahr 2000 noch etwa 16.000 Publikationen, so stieg die Anzahl im Jahr 2014 auf knapp 130.000. Bis einschließlich Oktober 2015 erschienen bereits über 108.000 Artikel, die sich mit dem Gebiet der Nanotechnologie befassen.<sup>1</sup> Aber was macht Nanomaterialien eigentlich so besonders? Das Präfix nano leitet sich vom griechischen Wort nanos ab und bedeutet Zwerg. Als Nanomaterialien werden Materialien bezeichnet, deren Abmessung in mindestens einer Dimension zwischen 1 und 100 nm liegt, wobei ein Nanometer einem Milliardstel Meter (10<sup>-9</sup> m) entspricht.<sup>2</sup> Nanopartikel verfügen über herausragende Eigenschaften, die im Vergleich zum makroskopischen Festkörper stark verändert sind. Durch die Größenabnahme nimmt das Verhältnis von Oberflächenatomen zu denen im Inneren immer weiter zu, sodass ab einem bestimmten Punkt die Eigenschaften des Materials nur noch von den Oberflächenatomen bestimmt werden. Dies wirkt sich insbesondere auf die katalytischen, optischen, elektronischen und magnetischen Eigenschaften des jeweiligen Materials aus. Aufgrund intensiver Forschung auf dem Gebiet der Nanotechnologie in den letzten Jahrzenten befinden sich heutzutage Nanopartikel in diversen Alltagsprodukten wie zum Beispiel in Sonnencremes, Zahnpasta oder Farben.<sup>2</sup> Weitere Anwendungsgebiete ergeben sich aus der geringen Größe der Materialien in der Verwendung als Datenspeicher,<sup>3</sup> in Licht-emittierenden Dioden (LEDs)<sup>4</sup> oder in Solarzellen.<sup>5</sup> Nanopartikel sind aber nicht nur in der Industrie und Technik, sondern auch in der Natur von großer Bedeutung. Viele biologische Strukturen wie Proteine, Enzyme, Viren, Ribosome oder Zellmembranen liegen ebenfalls in diesem Größenbereich und üben wichtige Funktionen aus. Im Folgenden werden einige Beispiele von anorganischen Nanopartikeln genannt, die in den vergangenen Jahrzenten intensiv studiert wurden und zum Teil bereits in der Biochemie oder Medizin verwendet werden.

Goldnanopartikel verfügen über besondere optische Eigenschaften, die ihre Ursache in der sogenannten Oberflächenplasmonenresonanz haben. Die Farbe der Nanopartikel ist abhängig von der Größe und Form sowie dem Grad der Aggregation und der dielektrischen Umgebung und reicht dabei von grau-blau über violett bis hin zu rot.<sup>6</sup> Mittlerweile werden diese Nano-

partikel sowohl in der Diagnostik – beispielsweise zur Markierung von Biomolekülen oder zur Bildgebung – als auch in der Therapie zum Beispiel zur Wirkstoff-Freisetzung verwendet.<sup>7</sup> Aufgrund der Oberflächenplasmonenresonanz können Änderungen an der Partikeloberfläche oder in der näheren Umgebung sehr sensitiv durch eine Farbänderung beobachtet werden, weshalb Goldnanopartikel auch in Immunoassays zum Einsatz kommen.<sup>8</sup>

Das nächste Beispiel stellen Nanopartikel aus Eisenoxid (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) dar, die superparamagnetisches Verhalten zeigen und daher auch als *superparamagnetic iron oxides* (SPIOs) bezeichnet werden. Durch Anlegen eines externen Magnetfeldes lassen sich SPIOs stark magnetisieren, besitzen aber im Gegensatz zum Festkörper nach Abschalten des Magnetfeldes keine Remanenzmagnetisierung mehr.<sup>9</sup> Aufgrund dieses Verhaltens können SPIOs in der Diagnostik als Kontrastmittel in der Kernspintomographie verwendet werden.<sup>7</sup> Der Einsatz dieser Nanopartikel beschränkt sich jedoch nicht nur auf die Diagnostik. Eisenoxidnanopartikel können therapeutisch für das sogenannte Hyperthermieverfahren verwendet werden. Bei diesem Verfahren werden die Nanopartikel in Tumorgewebe injiziert oder durch vermitteltes Targeting dort angereichert. Durch Anlegen eines oszillierenden Magnetfeldes wird das Gewebe eng lokalisiert erwärmt und letztendlich zerstört. Die Erwärmung folgt aus der schnellen Bewegung der Partikel durch das sich ständig ändernde Magnetfeld und aus Reibungskräften aufgrund der Brownschen Molekularbewegung.<sup>7</sup>

Neben Gold- und Eisenoxidnanopartikeln sind auch Nanopartikel aus halbleitenden Materialien für Anwendungen im Bereich der Biochemie und Medizin sehr interessant. Halbleiternanopartikel unterliegen dem sogenannten Größenquantisierungseffekt und verfügen über größenabhängige optische Eigenschaften. Die Synthese findet in hochsiedenden organischen Lösungsmitteln statt, und die Partikel bestehen meistens aus einem Kern, der mit einer oder mehreren weiteren Schalen aus halbleitenden Materialien umhüllt wird. Durch die Größe der Partikel und entsprechender Wahl der Materialien lässt sich die Lage des Emissionsmaximums der Nanopartikel sehr gut einstellen.<sup>10–13</sup> Halbleiternanopartikel sind vielseitig anwendbar, da sie sehr photostabil sind und über einen weiten Bereich Strahlung absorbieren wohingegen die Emissionsbande sehr schmal ist.<sup>14</sup> Durch Optimierung der Synthese können heutzutage Photolumineszenz-Quantenausbeuten von bis zu 97% erhalten werden,<sup>15,16</sup> was in Kombination mit den hohen Extinktionskoeffizienten zu einer großen Helligkeit der Partikel führt.<sup>17,18</sup> Aufgrund dieser Eigenschaften hat die Verwendung von Halbleiternanopartikeln deutlich Vorteile gegenüber der Verwendung konventioneller organischer Farbstoffe. So eignen sich Halbleiternanopartikel beispielsweise sehr gut für Multiplexing-Experimente, da verschiedene Partikel mit einer Wellenlänge angeregt und nebeneinander detektiert werden können.<sup>19</sup> Außerdem finden sich Halbleiternanopartikel in der Photovoltaik,<sup>5</sup> der biomedizinischen Bildgebung<sup>7,20–22</sup> oder in LEDs bzw. LED-Bildschirmen<sup>4</sup> wieder. Gerade in der Bildgebung ist die Verwendung dieser Partikeln vorteilhaft, da die Emission durch Variation von Größe und Materialien sowohl den sichtbaren Bereich (350 – 780 nm) als auch den nahen Infrarotbereich (780 – 1000 nm) abdecken kann. Nanopartikel, deren Emission im nahen Infrarotbereich liegt, sind aus dem Grund für biologische Untersuchungen von Interesse, da ihre Emission im sogenannten optischen Fenster liegt. In diesem Bereich sind die Autofluoreszenz von Gewebe und die Absorption von Strahlung durch Wasser oder dem Gewebe selbst vergleichsweise gering.

Um für den Einsatz in der Biochemie oder Medizin überhaupt in Frage zu kommen, muss ein Phasentransfer in wässriges Medium erfolgen, da die Nanopartikel nach der Synthese mit hydrophoben Liganden stabilisiert sind. An das für den Phasentransfer verwendete Ligandensystem werden hohe Anforderungen gestellt. Zum einen müssen die Nanopartikel nicht nur wasserlöslich, sondern auch kolloidal stabil sein, wobei die Liganden die physikochemischen Eigenschaften der Partikel nicht oder nur kaum beeinflussen sollten. Zum anderen muss das Ligandensystem die Stabilität der Nanopartikel bei unterschiedlichen pH-Werten sowie in Gegenwart von Ionen oder anderen kleinen Molekülen gewährleisten. Ebenso darf es bei der Verwendung von CdSe-basierten Halbleiternanopartikeln zu biologischen Zwecken nicht zum Austritt zytotoxischen Cadmiums kommen. Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Anwendung von Nanopartikeln in der Biochemie oder Medizin ist, dass die Partikel möglichst wenig unspezifische Wechselwirkungen mit Proteinen oder anderen Biomolekülen eingehen, da sie sonst vom Immunsystem erkannt und aus dem Organismus entfernt werden. Zur Entwicklung eines solchen Ligandensystems gibt es die unterschiedlichsten Ansätze. Vielfach verwendet werden Liganden auf Polyethylenoxid-Basis, da sie hydrophil sind und eine proteinabweisende Wirkung zeigen.<sup>23,24</sup> Je größer jedoch das Polymer wird, desto größer wird auch der hydrodynamische Durchmesser (HD) der wässrigen Nanopartikel. Bei der Verkapselung von Nanopartikeln in mizellare Strukturen aus amphiphilen Polymeren kann es zudem zu einem Verlust der ursprünglichen Form der Nanopartikel kommen, falls nicht-sphärische Partikel verwendet werden. Des Weiteren können Polyethylenoxide (PEOs) immunogen wirken.<sup>25</sup> Daher wurde in den letzten Jahren nach einer Alternative zu PEOs gesucht, wobei sich zwitterionische Liganden als besonders vielversprechend erwiesen haben. Zwitterionen sind wie PEOs hydrophil und haben eine proteinabweisende Wirkung. Für den Phasentransfer diverser Nanopartikel wurden sowohl kleine, zwitterionische Moleküle als auch mit Zwitterionen funktionalisierte Polymere verwendet und die Eigenschaften der resultierenden Nanopartikel untersucht.<sup>26</sup> Dabei wurde unter anderem festgestellt, dass mit kleinen, zwitterionischen Liganden, wie zum Beispiel Cystein, der hydrodynamische Durchmesser der Nanopartikel durch den Ligandenaustausch kaum anwächst.<sup>27</sup>

Gegenstand dieser Arbeit ist, ein zwitterionisches Ligandensystem zu entwickeln, um elongierte Halbleiternanopartikel unter Größen- und Formerhalt in Wasser zu überführen. Nach dem Phasentransfer sollen die wässrigen Partikel eine ausreichende Stabilität unter verschiedensten Bedingungen aufweisen. Im Hinblick auf biochemische oder medizinische Anwendungsmöglichkeiten soll von den Nanopartikeln keine intolerable toxische Wirkung ausgehen. Für therapeutische und diagnostische Anwendungen sollen Zellaufnahmestudien sowohl *in vitro* als auch *in vivo* und die Pharmakokinetik der Nanopartikel untersucht werden.

## 2 Theorie

Aufgrund ihrer herausragenden Eigenschaften sind Nanopartikel heutzutage von großem Interesse in der Biochemie oder Medizin, da sie als multifunktionales Werkzeug in der Diagnose, der Therapie oder der sogenannten Theranostik, in der das diagnostische Agens gleichzeitig therapeutische Wirkung entfalten kann, eingesetzt werden können. Um die Zusammenhänge besser verstehen zu können, werden in diesem Kapitel die theoretischen Grundlagen dazu beschrieben. Der erste Abschnitt (Kapitel 2.1) beschäftigt sich mit Halbleiternanopartikeln und ihren besonderen Eigenschaften. In Kapitel 2.2 wird auf die unterschiedlichen Möglichkeiten zum Phasentransfer von Nanopartikeln in wässrige Systeme eingegangen und der letzte Abschnitt (Kapitel 2.3) befasst sich mit dem Thema Halbleiternanopartikel in der Biochemie.

## 2.1 Halbleiternanopartikel

Halbleitermaterialien werden in der Regel nach den periodischen Gruppen der Elemente bezeichnet, aus denen sie aufgebaut sind, wobei immer noch die nunmehr veralteten IUPAC-Gruppennummern des Periodensystems zur Anwendung kommen. So gibt es beispielsweise II-VI- (CdSe, CdS, ZnSe), III-V- (InP, InAs, GaAs) oder IV-VI-Halbleiter (PbSe, PbS). Die in dieser Arbeit verwendeten Nanopartikel basieren auf CdSe und gehören somit zu den II-VI-Halbleitern. In der Festkörperphysik werden Materialien aufgrund ihrer elektrischen Eigenschaften in Leiter, Halbleiter oder Isolatoren eingeteilt. Die Eigenschaften dieser Materialien lassen sich gut mit Hilfe des Energiebändermodells beschreiben.

Wechselwirken zwei Atome miteinander, so spalten die zwei energetisch gleichen Atomorbitale nach der Methode der Linearkombination von Atomorbitalen (*linear combination of atomic orbitals*, LCAO) in zwei energetisch unterschiedliche Molekülorbitale auf. Das energetisch tiefer gelegene Molekülorbital besitzt bindenden und das energetisch höher gelegene antibindenden Charakter. Ein Festkörper besteht aus einer großen Anzahl *N* Atomen. Dementsprechend werden aus *N* Atomorbitalen durch Linearkombination der Atomorbitale *N* Molekülorbitale gebildet. Aufgrund der großen Anzahl an Atomen in einem Festkörper liegen die gebildeten Molekülorbitale so dicht beieinander, dass deren Energieniveaus kaum voneinander unterscheidbar sind und ein sogenanntes Energieband bilden. Jedes Energieband besitzt ein vollständig bindendes und ein vollständig antibindendes Molekülorbital, das die untere bzw. obere Bandkante definiert. Der antibindende Charakter der Molekülorbitale im Energieband nimmt dementsprechend von unten nach oben zu. Das Valenzband (VB) ist bei Temperaturen nahe 0 K vollständig mit Elektronen besetzt wohingegen das Leitungsband (LB) leer ist. Eine schematische Darstellung zur Bildung der Energiebänder nach dem LCAO-Modell ist in Abbildung 1 gezeigt.





Abbildung 1:Entstehung der Energiebänder mit größer werdender Anzahl an Atomen durchdie Aufspaltung in Molekülorbitale. (Darstellung in Anlehnung an 28.)

Die Größe der Bandlücke ( $E_g$ ), also der Abstand zwischen VB und LB, entscheidet darüber, ob das Material als elektrischer Leiter, Halbleiter oder Isolator eingestuft wird. In elektrisch leitenden Materialien überlappen VB und LB ( $E_g = 0$  eV), sodass frei bewegliche Ladungsträger vorhanden sind. Im Gegensatz dazu liegen VB und LB in Isolatoren sehr weit auseinander. Die Bandlücke ist in diesem Fall größer als 4 eV. Elektrische Halbleiter haben demzufolge eine Bandlücke zwischen 0 und 4 eV.<sup>29</sup> Durch Zufuhr thermischer Energie oder durch Absorption von Strahlung ist es bei Halbleitern möglich, ein Elektron ( $e^-$ ) aus dem VB in das LB anzuregen. Die dadurch im Valenzband verbleibende positive Ladung wird als Loch ( $h^+$ ) bezeichnet. Elektron und Loch können sich nahezu ungehindert im Kristall bewegen, wodurch der Kristall elektrisch leitend wird. Das Elektron-Loch-Paar unterliegt jedoch einer Coulomb-Anziehung, so dass es in einem gebundenen Zustand vorliegt. Dieser Zustand wird als Exziton bezeichnet und ist dem Wasserstoffatom sehr ähnlich.<sup>30</sup> Der mittlere Abstand zwischen Elektron und Loch wird daher auch Exziton-Bohr-Radius genannt. Da sowohl die Elektronen als auch die Löcher mit den Atomrümpfen im Kristall wechselwirken, müssen die Massen der Ladungsträger durch die effektiven Massen  $m_e^*$  für Elektronen und  $m_h^*$  für Löcher beschrieben werden. Die effektiven Massen geben das Verhältnis des jeweiligen Ladungsträgers im Material zur Masse des Elektrons im Vakuum an. Die Bindungsenergie zwischen Elektron und Loch ist jedoch aufgrund der meist kleinen effektiven Massen und der hohen Permittivität von Halbleitermaterialien gering, was in einem großen Exziton-Bohr-Radius resultiert.<sup>30</sup> Typische Exziton-Bohr-Radien von II-VI-Halbleitermaterialien reichen von 22 Å (ZnS) bis 75 Å (CdTe).<sup>31</sup>

#### 2.1.1 Größenquantisierungseffekt

Im Falle von Halbleitermaterialien, deren Durchmesser auf wenige Nanometer reduziert wird, ergibt sich eine besondere Situation: Sinkt die Kristallgröße unterhalb des Exziton-Bohr-Radius oder befindet sie sich in einem ähnlichen Größenbereich, müssen die Ladungsträger in einen Zustand höherer kinetischer Energie übergehen, da das Exziton durch die Abmessungen des Kristalls räumlich eingeschränkt wird. Je kleiner dabei der Kristall wird, desto größer wird die Bandlücke, was als Größenquantisierungseffekt bezeichnet wird. Dieser Effekt kann quantenmechanisch mit Hilfe des Teilchen-im-Kasten-Modells beschrieben werden. Halbleitermaterialien, die diesem Effekt unterliegen, werden Quantenpunkte (engl. Quantum Dot, QD) genannt. Da die Größe der Bandlücke bestimmt, ab welcher Frequenz Strahlung absorbiert werden kann, um ein Exziton zu erzeugen, ist es möglich, die optischen Eigenschaften der Halbleiternanokristalle über deren Größe einzustellen.

Bei der theoretischen Beschreibung des Größenquantisierungseffekts mit Hilfe des Teilchenim-Kasten-Modells wird angenommen, dass das Potential außerhalb des Nanokristalls unendlich hoch wird. Unter Berücksichtigung der effektiven Massen und der Coulomb-Anziehung zwischen Elektron und Loch publizierte Louis Brus 1984 die sogenannte Brus-Formel, die die Änderung der Bandlücke mit dem Partikelradius beschreibt:<sup>32</sup>

$$\Delta E = \frac{\pi^2 \hbar^2}{2R^2} \cdot \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*}\right) - \frac{1,8e^2}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon_r R} \tag{1}$$

mit dem reduzierten Plank`schen Wirkungsquantum  $\hbar$ , dem Partikelradius R, der Elementarladung e und den Dielektrizitätskonstanten des Vakuums  $\varepsilon_0$  und des Halbleitermaterials  $\varepsilon_r$ . Die Änderung der Bandlücke im Vergleich zum makroskopischen Festkörper  $\Delta E$  ergibt sich aus der Differenz der kinetischen Energie der beiden Ladungsträger (linker Term) und der Coulombenergie des Exzitons (rechter Term). Die größte Unsicherheit der Formel resultiert daraus, dass die Werte der effektiven Massen vom makrokristallinen Festkörper übernommen werden und die Annahme eines Kasten-Potentials eine starke Vereinfachung darstellt. Durch andere Methoden wie semiempirische oder *ab initio* Verfahren lässt sich die elektronische Struktur des Nanopartikels berechnen. Die größere Genauigkeit dieser Methoden geht jedoch zu Lasten eines deutlich höheren Rechenaufwands.

#### 2.1.2 Optische Eigenschaften von Halbleiternanopartikeln

Die optischen Eigenschaften von Halbleiternanopartikeln sind aufgrund des Größenquantisierungseffekts von der Partikelgröße abhängig. Je kleiner der Partikeldurchmesser wird, desto mehr verschiebt sich die Lage der Absorptions- bzw. Emissionsmaxima in Richtung kleinerer Wellenlängen. Betrachtet man die Absorptions- und die dazugehörigen Emissionsspektren von unterschiedlich großen CdSe-Nanopartikeln (s. Abbildung 2), so fällt auf, dass das Emissionsmaximum im Vergleich zum ersten Absorptionsmaximum rotverschoben ist. Diese Rotverschiebung – auch Stokes-Shift genannt<sup>33</sup> – hat folgende Ursache: Die Absorption geeigneter elektromagnetischer Strahlung in einem Fluorophor führt dazu, dass ein Elektron aus seinem elektronischen Grundzustand in einen angeregten elektronischen Zustand angehoben wird. Da dieser Vorgang sehr viel schneller als eine Schwingungsperiode des Moleküls ist, wird das Elektron in einen höheren Schwingungszustand angeregt. Von dort aus geht das Elektron zunächst durch strahlungslose Desaktivierung in den Schwingungsgrundzustand des elektronisch angeregten Zustands über. Erst dann kehrt das Elektron in den elektronischen Grundzustand unter Aussendung eines Photons zurück. Durch die strahlungslose Desaktivierung ist das emittierte Licht energieärmer als die zu Beginn absorbierte Strahlung, was zu der Rotverschiebung führt.<sup>33,34</sup> Es muss jedoch beachtet werden, dass diese Verschiebung bei Halbleiternanopartikeln auch durch die Größenverteilung in der Probe zustande kommt und den zuvor beschriebenen Effekt meist überlagert.



Abbildung 2: Absorptions- und normierte Emissionsspektren unterschiedlich großer CdSe-Nanopartikel. Der Übersichtlichkeit halber sind die Spektren vertikal verschoben. (Geänderte Abbildung nach<sup>35</sup>.)

Anhand der Breite des ersten Absorptions- bzw. des Emissionsmaximums kann eine Aussage über die Größenverteilung der Nanopartikelprobe getroffen werden. Je polydisperser eine Probe ist, desto unterschiedlicher werden die Energien der Übergänge der einzelnen Partikel, was dazu führt, dass die Signale des Ensembles breiter werden. In den Absorptionsspektren wird meist die halbe Halbwertsbreite (half width half maximum, HWHM) des ersten Absorptionsmaximums und in den Emissionsspektren die Halbwertsbreite (full width half maximum, FWHM) bestimmt, um eine Aussage über die Dispersität der Nanopartikel zu treffen. Je kleiner diese Werte sind, desto enger ist die Größenverteilung der Nanopartikeldispersion.

Eine weitere wichtige Größe, um unterschiedliche Fluorophore miteinander vergleichen zu können, ist die Photolumineszenz-Quantenausbeute (engl. photoluminescence quantum yield, PLQY). Die PLQY beschreibt das Verhältnis der emittierten zu absorbierten Photonen. Im Idealfall werden alle absorbierten Photonen wieder emittiert und die PLQY beträgt 1. Aufgrund der großen Oberfläche von Nanopartikeln sind jedoch oftmals Fehlstellen und nicht abgesättigte Valenzen, sogenannte *traps*, vorhanden. Diese *traps* sind in der Lage, freie Ladungsträger zu binden und verhindern so die Rekombination des Exzitons unter Abstrahlung eines Photons. Des Weiteren kann die bei der Rekombination eines Exzitons frei werdende Energie strahlungslos durch Auger-Rekombination auf einen anderen Ladungsträger übertragen werden.<sup>36</sup> Je häufiger solche Prozesse auftreten, desto geringer ist die PLQY der Nanopartikel. Eine Möglichkeit zur Erhöhung der PLQY besteht in der Absättigung der freien Valenzen durch einen Überschuss passivierender Liganden. Da jedoch auf der Oberfläche sowohl kationische als auch anionische Valenzen vorhanden sind, ist es mitunter schwierig, ein geeignetes Ligandensystem zu finden, um alle Valenzen ausreichend zu passivieren. Eine andere Möglichkeit zur Verbesserung der PLQY besteht darin, den Kern mit einer oder mehreren Schalen eines halbleitenden Materials zu umhüllen. Solche Systeme werden Kern/Schale- bzw. Kern/Schale/Schale-Nanopartikel genannt und im nächsten Abschnitt genauer erläutert.

#### 2.1.3 Kern/Schale- und Kern/Schale/Schale-Nanopartikel

Bei Kern/Schale-Nanopartikeln wird der anorganische Kern mit einer zweiten Schale aus einem halbleitenden Material umhüllt, wodurch die Nanopartikeloberfläche passiviert wird.<sup>12</sup> Durch das Aufwachsen der zweiten Schale können zum einen Fehlstellen abgesättigt werden, was die Wahrscheinlichkeit der strahlungslosen Relaxation verringert und die PLQY dadurch erhöht. Zum anderen lässt sich je nach Wahl des Schalenmaterials die Lage der Absorptionsbzw. Emissionsbanden verändern.

Prinzipiell wird anhand der Lage der Energiebänder des Kerns und der Schale zueinander zwischen drei Typen von Kern/Schale-Partikeln unterschieden.<sup>12</sup> Eine schematische Darstellung dieser drei Typen befindet sich in Abbildung 3. Ist die Bandlücke des Schalenmaterials größer als die des Kerns, wird von Typ I-Partikeln gesprochen. Die Bandlücke der Schale umschließt die Bandlücke des Kerns, woraufhin es zu einer starken Lokalisierung des Exzitons im Kern kommt. Das Aufwachsen der Schale dient nicht nur der Absättigung von Fehlstellen an der Oberfläche des Kerns, sondern auch als Barriere für die beiden Ladungsträger, so dass diese nicht mehr an die Oberfläche des Nanopartikels gelangen, wo sie durch *traps* abgefangen werden können. Dadurch werden strahlungslose Relaxationsprozesse unterbunden, woraufhin es zu einer Erhöhung der PLQY kommt.<sup>37</sup> Beispiele für Typ I-Partikel sind CdSe/CdS- oder CdSe/ZnS-Kern/Schale-Nanopartikel. Mittlerweile ist es möglich,

CdSe/CdS-Kern/Schale-Nanopartikel herzustellen, die durch gezieltes Aufwachsen der CdS-Schale Photolumineszenz-Quantenausbeuten von bis zu 97% haben.<sup>16</sup>

Wenn die Bandlücke des Schalenmaterials kleiner als die des Kerns ist, liegt der inverse Typ I vor. In diesem Fall sind die beiden Ladungsträger nicht mehr im Kern, sondern zumindest teilweise in der Schale lokalisiert. Außerdem ist eine Rotverschiebung der Emissionswellenlänge zu beobachten, je dicker die umhüllende Schale ist. Ein Beispiel für inverse Typ I-Partikel sind ZnSe/CdSe- oder CdS/CdSe-Kern/Schale-Nanopartikel.<sup>38,39</sup>



Abbildung 3: Schematische Darstellung der Bandstrukturen der unterschiedlichen Typen von Kern/Schale-Nanopartikeln. Die oberen und unteren Kanten der Rechtecke repräsentieren die Lage der Valenz- und Leitungsbandkante im Kern (dargestellt in Rot) und der Schale (dargestellt in Blau, Hellblau bzw. Grün). (Abbildung in Anlehnung an <sup>12</sup>.)

Bei Typ II-Partikeln wird ein Schalenmaterial verwendet, dessen Bandlücke entweder die Valenzband- oder die Leitungsbandkante des Kerns umschließt. In diesem Fall wird die effektive Bandlücke des Nanopartikels verringert und es kommt zu einer Rotverschiebung der Absorptions- und Emissionsmaxima. Durch geeignete Wahl des Kern- und Schalenmaterials ist es damit möglich, das Emissionsmaximum der Nanopartikel in den nahen Infrarotbereich (IR-Bereich) zu verschieben.<sup>13,40</sup> Wie im Fall der Typ I-Partikel werden auch bei Typ II-Partikeln Oberflächenfehlstellen durch die zweite Schale abgesättigt. Im Gegensatz zu Typ I-Partikeln kommt es jedoch je nach Lage der Bandlücke des Schalenmaterials zu einer Ladungstrennung von Elektron und Loch. Liegt beispielsweise die Valenzbandkante des Kerns innerhalb der Bandlücke des Schalenmaterials, so ist das Loch im Kern und das Elektron eher in der Schale lokalisiert. Da sich einer der Ladungsträger im zeitlichen Mittel eher an der Oberfläche des Partikels befindet und somit leichter von den dort befindlichen *traps* abgefangen werden

kann, sinkt in der Regel die PLQY. Die strahlende Rekombination des Exzitons wird aufgrund der räumlichen Trennung von Elektron und Loch unwahrscheinlicher. Andererseits ist die Fluoreszenzlebenszeit solcher Systeme aufgrund der Ladungstrennung erhöht, da die Wellenfunktionen von Elektron und Loch weniger überlappen.<sup>12,13</sup> Beispiele für Typ II-Partikel sind CdTe/CdSe- oder CdSe/ZnTe-Kern/Schale-Nanopartikel.

Für ein möglichst gleichmäßiges Aufwachsen einer Schale ist es wichtig, dass sich die Gitterkonstanten der beiden Materialien nicht zu sehr voneinander unterscheiden. Große Abweichungen in den Gitterkonstanten führen beim Schalenwachstum zu Spannungen im Kristall oder können sogar Fehlstellen erzeugen. Um dies zu vermeiden, besteht die Möglichkeit, eine zusätzliche Schale aus einem anderen halbleitenden Material als Vermittler zwischen Kern und äußerer Schale aufwachsen zu lassen. CdSe/ZnS-Nanopartikel gehören beispielsweise zu Typ I-Partikeln, da die Bandlücke des ZnS die Bandlücke des CdSe vollständig umschließt. Die Gitterkonstanten der beiden Materialien unterscheiden sich jedoch um 12%, wodurch das Aufwachsen einer ZnS-Schale auf einen CdSe-Kern mit den oben genannten Problemen verbunden ist. Das Einfügen einer CdS- oder ZnSe-Schale umgeht diese Probleme, da die Abweichungen der entsprechenden Gitterkonstanten nicht mehr so groß sind.<sup>11,12,41,42</sup> Zudem hat ZnS eine größere Bandlücke als CdS bzw. ZnSe, was die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Exzitons an der Oberfläche der Nanopartikel zusätzlich verringert.

#### 2.1.4 Quantum Dot in Quantum Rods

Da in dieser Arbeit ausschließlich mit CdSe/CdS Quantum Dot in Quantum Rods (QDQRs) gearbeitet wurde, sei an dieser Stelle kurz auf die besonderen Eigenschaften dieser Nanopartikel eingegangen. CdSe/CdS QDQRs bestehen aus einem sphärischen CdSe-Kern, durch den die Emissionswellenlänge der Nanopartikel maßgeblich festgelegt wird, und einer elongierten CdS-Schale. Durch Variation der Reaktionsbedingungen kann das Kristallwachstum der Schale dirigiert werden, so dass beispielsweise durch den Einsatz von Phosphonsäuren unterschiedlicher Alkylkettenlänge ein Wachstum entlang der c-Achse erreicht wird und stäbchenförmige Nanopartikel entstehen.<sup>17,43–45</sup> Der Durchmesser der CdS-Schale ist meist nur wenige Nanometer groß, wohingegen die Schale bis zu 150 nm lang sein kann.<sup>45</sup> Die elongierte Form dieser Partikel bedingt einige Vorteile gegenüber sphärischen QDs. Der CdSe-Kern wird durch die dicke CdS-Schale sehr gut passiviert, so dass Photolumineszenz-Quantenausbeuten im Bereich von 70 – 80% möglich sind.<sup>17,45,46</sup> Die hohen Werte der PLQY können vermutlich ebenfalls auf eine Verringerung der strahlungslosen Auger-Rekombination zurückgeführt werden.<sup>47,48</sup> Es sei jedoch angemerkt, dass bei der Auger-Rekombination immer ein zusätzlicher Ladungsträger vorhanden sein muss und dieser Prozess daher nicht maßgeblich für eine Verringerung der PLQY verantwortlich ist. Im Vergleich zu QDs haben QDQRs aufgrund des großen CdS-Anteils in der Schale höhere Extinktionskoeffizienten im Bereich von  $10^7 M^{-1} cm^{-1}$ .<sup>17,45</sup> Demzufolge erscheinen die elongierten Nanopartikel heller als sphärische QDs, da sich die Helligkeit aus dem Produkt von PLQY und Extinktionskoeffizient ergibt.<sup>14</sup> Weiterhin verfügen die elongierten Nanopartikel über einen erhöhten Zwei-Photonen-Absorptionsquerschnitt<sup>49–51</sup> und emittieren linear polarisiertes Licht.<sup>17,43,52</sup> Diese Eigenschaften ermöglichen den Einsatz von QDQRs in den unterschiedlichsten Bereichen, wie zum Beispiel als Fluoreszenzmarker in der Biochemie,<sup>51,53–55</sup> in Multiplexing-Experimenten<sup>56</sup> oder in LEDs.<sup>57,58</sup>

#### 2.2 Phasentransfer von Halbleiternanopartikeln

Die Synthese qualitativ hochwertiger Halbleiternanopartikel findet in hochsiedenden organischen Lösungsmitteln statt.<sup>10,11,59</sup> Während der Synthese werden in der Regel langkettige aliphatische Liganden wie zum Beispiel Tri-*n*-Octylphosphan (TOP), *n*-Hexadecylamin (HDA) oder *n*-Octadecylphosphonsäure (ODPA) eingesetzt. Diese Liganden verfügen über eine funktionelle Gruppe, mit der sie an die Nanopartikeloberfläche koordinativ binden. Die nativen Liganden beeinflussen die optischen Eigenschaften der Nanopartikel und dienen unter anderem der Absättigung freier Bindungsstellen auf der Partikeloberfläche.<sup>60</sup>

Bevor Halbleiternanopartikel in der Biochemie oder Medizin eingesetzt werden können, muss zunächst ein Phasentransfer ins wässrige Medium erfolgen, da die Nanopartikel nach der Synthese weder wasserlöslich noch biokompatibel sind. An dieser Stelle sei anzumerken, dass es auch wässrige Synthesen zur Darstellung von Halbleiternanopartikeln gibt.<sup>61,62</sup> Die resultierenden Nanopartikel sind jedoch meist von geringerer Qualität, weshalb die Synthese in organischen Lösungsmitteln bevorzugt wird. Um für den Einsatz in der Biochemie oder Medizin geeignet zu sein, werden an die Nanopartikel und damit an das für den Phasentransfer verwendete Ligandensystem diverse Anforderungen gestellt. Die Überführung der Partikel in wässrige Medien sollte möglichst unter Erhalt der optischen Eigenschaften ablaufen. Daneben muss bei der Verwendung von CdSe-basierten Halbleiternanopartikeln der Austritt zytotoxischen Cadmiums in das umgebende Milieu verhindert werden. Zusätzlich sollten unspezifische Wechselwirkungen der Nanopartikeloberfläche mit Proteinen weitestgehend verhindert werden. Zwei weitere wichtige Faktoren sind die Größe und Form der resultierenden Nanopartikel nach dem Phasentransfer, da sowohl die Interaktionen mit Zellen als auch die von den Nanopartikeln ausgehende toxische Wirkung maßgeblich von der Größe und Form beeinflusst werden.<sup>63–66</sup> Sofern die Nanopartikel für rezeptorvermitteltes Targeting eingesetzt werden sollen, müssen die Nanopartikel über funktionelle Gruppen verfügen, um die Kopplung an Proteine oder kleine Biomoleküle zu ermöglichen. Um die oben genannten Anforderungen so gut wie möglich zu erfüllen, wurden unterschiedliche Wege für den Phasentransfer von Nanopartikeln entwickelt. Prinzipiell wird dabei zwischen der Verkapselung von Nanopartikeln und dem Ligandenaustausch unterschieden.<sup>67–69</sup> Diese Methoden werden im Folgenden näher erläutert.

#### 2.2.1 Verkapselung von Nanopartikeln

Die Verkapselung von Nanopartikeln kann auf unterschiedliche Weisen erfolgen. Zum einen ist es möglich, die Partikel mit einer Silika-Schale zu umhüllen. Eine Silika-Schale lässt sich durch verschiedene Verfahren, wie beispielsweise dem Stöber-Prozess<sup>70</sup> oder einer Mikroemulsion,<sup>71,72</sup> auf die Nanopartikel aufbringen. Bei der Mikroemulsion werden die Nanopartikel mit Hilfe eines Tensids und dem Einsatz von Tetraethylorthosilikat (TEOS) in Wasser überführt. Durch Variation der Menge an TEOS kann dabei die Dicke der Silika-Schale gesteuert werden. Zum anderen können für den Phasentransfer amphiphile Moleküle verwendet werden, die in der Lage sind, Mizellen zu bilden. Bei der Verkapselung interkaliert der hydrophobe Teil des Amphiphils mit den auf der Nanopartikeloberfläche befindlichen Liganden, wohingegen der hydrophile Rest die Wasserlöslichkeit gewährleistet. Ein Beispiel für solche Amphiphile sind Phospholipide.<sup>73–75</sup> Beruht die Stabilisierung der Nanopartikel jedoch ausschließlich auf den hydrophoben Wechselwirkungen der Liganden, ist die Stabilität der Partikel in biologischer Umgebung meist nicht ausreichend.

Eine Alternative zu Phospholipiden stellen amphiphile Polymere dar. Pellegrino *et al.* entwickelten ein System bestehend aus einem Maleinsäureanhydrid-Tetradecen-Copolymer, in dem durch eine zusätzliche Quervernetzung die Stabilität der wässrigen Nanopartikel erhöht werden konnte.<sup>76</sup> Bei dieser Methode interkalieren die Tetradecen-Einheiten des Polymers mit den nativen Liganden der Nanopartikel, wodurch sich die Maleinsäureanhydrid-Einheiten auf der Nanopartikeloberfläche befinden. Die Zugabe von Dihexylentriamin bewirkt die Quervernetzung der Polymerketten durch die Ringöffnung einiger Anhydrid-Gruppen. Anschließend werden die restlichen Anhydrid-Einheiten hydrolysiert, wodurch die Nanopartikel infolge der Carboxylatgruppen auf der Oberfläche in Wasser überführt werden können.

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Verkapselung von Nanopartikeln in amphiphile Diblockcoplymere aus Polyisopren-*block*-Polyethylenoxid (PI-*b*-PEO). Diese Methode wurde im Arbeitskreis Weller etabliert und besteht aus einem dreistufigen Prozess.<sup>77–79</sup> Zunächst findet ein Ligandenaustausch mit einem Diethylentriamin-funktionalisierten Polyisopren statt. Im zweiten Schritt werden die Nanopartikel in Tetrahydrofuran gelöst, mit dem amphiphilen Polymer versetzt und mit Hilfe eines Mikromischers mit Wasser vermengt. Das PI-*b*-PEO bildet in Wasser Mizellen, in denen die Nanopartikel durch die hydrophoben Wechselwirkungen der Polyisoprenketten eingeschlossen werden. Anschließend werden durch Zugabe eines Radikalstarters und Erhitzen der wässrigen Lösung die Isopren-Einheiten quervernetzt. Die hervorragenden optischen Eigenschaften sowie die hohe Stabilität in biologischer Umgebung sind unter anderem auf die radikalische Quervernetzung im hydrophoben Teil des Polymers zurückzuführen.<sup>80</sup>

Trotz der vielen Vorteile wie der Erhalt der optischen Eigenschaften und die gute kolloidale Stabilität der resultierenden Nanopartikel, ist die Verkapselung auch mit einigen Nachteilen verbunden. Die oben beschriebenen Methoden bestehen meist aus mehrstufigen und daher aufwändigen Verfahren. Des Weiteren kommt es bei der Verwendung von Polymeren oft zu einer teils drastischen Vergrößerung des hydrodynamischen Durchmessers. Außerdem kann es bei der Verkapselung von nicht-sphärischen Nanopartikeln zu einem Verlust der ursprünglichen Form kommen. So stellten Kumar *et al.* fest, dass bei der Silika-Verkapselung von QDQRs je nach eingesetzter Menge TEOS elongierte bis sphärische Strukturen erhalten werden.<sup>81</sup> Da sowohl die Größe als auch die Form der Nanopartikel Einfluss auf die Interaktionen mit Zellen haben,<sup>63–66</sup> kann die Verkapselung von Nanopartikeln mit Polymeren dazu führen, dass deren Verwendung je nach Anwendungsgebiet limitiert ist.

#### 2.2.2 Direkter Ligandenaustausch

Im Gegensatz zur Verkapselung von Nanopartikeln werden bei einem Ligandenaustausch die hydrophoben Liganden aus der Synthese möglichst vollständig durch hydrophile Moleküle ersetzt. Um dies zu erreichen, wird in der Regel ein sehr hoher Überschuss an Ligand eingesetzt, da ein Gleichgewicht zwischen auf der Oberfläche adsorbierten und frei in Lösung vorkommenden, desorbierten Liganden vorliegt.<sup>82</sup> Die hydrophilen Liganden müssen über eine funktionelle Gruppe mit möglichst höherer Affinität im Vergleich zu den nativen Liganden zur Anbindung an die Nanopartikeloberfläche verfügen. Je nach Art der verwendeten Nanopartikel eignen sich dazu unter anderem Phosphane, Thiole oder Amine.<sup>67</sup> Durch den Einsatz kurzkettiger Liganden ist es möglich, den hydrodynamischen Durchmesser nach dem Phasentransfer klein zu halten, was einen Vorteil gegenüber der Verkapselung von Nanopartikeln darstellt.

Für den Ligandenaustausch bei Halbleiternanopartikeln werden bevorzugt Liganden mit einer Thiolgruppe eingesetzt. Obwohl Thiolliganden die Fluoreszenz der Nanopartikel löschen können,<sup>83,84</sup> wird der Phasentransfer mit derartigen Liganden durchgeführt, da die Thiolgruppen eine sehr hohe Affinität zur Nanopartikeloberfläche haben und den Ligandenaustausch dadurch begünstigen. Beispiele für vielfach verwendete Thiolliganden sind Mercaptoalkylcarbonsäuren wie Mercaptoessig- oder Mercaptoundecansäure.<sup>20,85</sup> Mit diesen Liganden ist jedoch die PLQY der Nanopartikel meist gering und die wässrigen Dispersionen sind aufgrund der Desorption der Liganden von der Oberfläche und der Oxidationsempfindlichkeit der Thiolgruppe nur über einen kurzen Zeitraum stabil. Bei sauren pH-Werten neigen die Nanopartikel zur Aggregation, da für die Stabilisierung in Wasser die Carbonsäuregruppe des Liganden in deprotonierter Form vorliegen muss.<sup>86</sup> Weiterhin kommt es meist zu unspezifischen Wechselwirkungen mit Proteinen, weshalb diese Nanopartikel weniger für den Einsatz in der Biochemie oder Medizin geeignet sind.

Um die Desorption der Liganden von der Oberfläche zu verhindern oder zumindest zu verlangsamen, können mehrzähnige Liganden eingesetzt werden. Aufgrund ihres chelatisierenden Effekts<sup>87</sup> zeigen die Nanopartikeldispersionen selbst bei zunehmender Verdünnung eine höhere Stabilität.<sup>88,89</sup> Als zweizähnige Liganden kommen oft Liponsäure-Derivate zum Einsatz. Nach Reduktion zur Dihydroliponsäure stehen zwei Thiolgruppen zur Anbindung an die Nanopartikeloberfläche zur Verfügung und die erhaltenen Nanopartikel weisen sowohl verbesserte optische Eigenschaften als auch eine erhöhte Stabilität auf.<sup>90–95</sup> Obwohl mittlerweile aus der Literatur bekannt ist, dass Liponsäure photochemisch reduziert werden kann,<sup>91,96</sup> unterliegt sie dennoch ihrer inhärenten Oxidationsempfindlichkeit. Dithiocarbamat-basierte Liganden, die auch im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden, stellen eine gute Alternative zu Liponsäure-basierten Systemen dar.<sup>97–102</sup> Dithiocarbamate (DTCs) weisen ebenfalls einen stark chelatisierenden Charakter auf und lassen sich zudem sehr einfach durch Reaktion eines primären oder sekundären Amins mit Kohlenstoffdisulfid synthetisieren. Dadurch steht eine große Vielzahl an möglichen Liganden zur Verfügung, was diese Ankergruppe in Kombination mit der einfachen Zugänglichkeit sehr interessant macht.

Um die Wasserlöslichkeit der Nanopartikel nach dem Phasentransfer zu gewährleisten, werden die Liganden oft mit PEOs modifiziert. PEOs sind wasserlöslich, chemisch inert, ab einem Molekulargewicht von 1000 g/mol untoxisch und bereits bei der Food and Drug Administration (FDA) als Zusatz in Nahrungsmitteln, Kosmetika oder pharmazeutischen Produkten zugelassen.<sup>103</sup> Unspezifische Wechselwirkungen mit Proteinen werden weitestgehend verhindert, sodass PEO-funktionalisierte Nanopartikel in der Regel nicht vom Immunsystem erkannt werden und lange Blutzirkulationszeiten aufweisen.<sup>23,24</sup> Dennoch haben PEO-basierte Liganden den bereits weiter oben erwähnten Nachteil, dass sie den hydrodynamischen Durchmesser der resultierenden Nanopartikel mit ansteigender Molmasse des eingesetzten PEOs vergrößern. Daher ist in den letzten Jahren das Interesse an zwitterionischen Strukturen als Alternative zu PEOs beträchtlich gestiegen. Zwitterionischen Liganden wird wie PEOs eine proteinabweisende Wirkung zugeschrieben, weshalb sie sich als Ligandensystem für Nanopartikel, die in der Biochemie oder Medizin eingesetzt werden sollen, eignen.<sup>26</sup> Die einfachsten zwitterionischen Liganden, die für den Phasentransfer von Nanopartikeln verwendet werden können, sind Aminosäuren wie zum Beispiel Cystein oder D-Penicillamin.<sup>27,104</sup> Bei Aminosäuren kann sich jedoch durch Änderung des pH-Wertes die Ladung durch Protonierung bzw. Deprotonierung verändern, was die pH-Stabilität derartiger Nanopartikeldispersionen einschränkt. Eine weitere Substanzklasse von Zwitterionen stellen die sogenannten Betaine dar. Laut IUPAC-Definition ist ein Betain eine Verbindung, die eine quaternäre Ammonium- und eine Carboxylatgruppe im selben Molekül enthält. Mittlerweile wird der Begriff Betain jedoch für alle Arten zwitterionischer Substanzen verwendet, in denen sich die positive Ladung an einem quaternären Stickstoff- oder Phosphoratom und die negative Ladung formal an einem Sauerstoff- oder Schwefelatom befinden.<sup>105</sup> Bekannte Betainstrukturen sind beispielsweise Carboxy-, Phospho- und Sulfobetaine, deren Derivate bereits erfolgreich für den Phasentransfer diverser Nanopartikel eingesetzt wurden.<sup>26</sup> In Abbildung 4 ist eine Übersicht dieser Betainstrukturen dargestellt. Unter den Strukturen ist vor allem das Sulfobetain interessant, da es sich sehr einfach durch Reaktion eines tertiären Amins mit 1,3-Propansulton darstellen lässt.



Carboxybetain

Phosphobetain

Sulfobetain

# Abbildung 4: Strukturformel eines Carboxy-, Phospho- und Sulfobetains (R = organischer Rest).

Zwitterionische Liganden mit einer Sulfobetaingruppe wurden in der Vergangenheit vielfach für den Ligandenaustausch von Halbleiternanopartikeln verwendet. Die resultierenden Nanopartikeldispersionen verfügen über eine gute kolloidale Stabilität und es kommt zu keiner bzw. nur geringen Vergrößerung des hydrodynamischen Durchmessers. Die Nanopartikel zeigen keine oder kaum unspezifische Wechselwirkungen mit Zellen und bilden keine Proteinkorona, wodurch sie in der Biochemie oder Medizin eingesetzt werden können.<sup>90,92,95,96,104,106</sup> Aus diesem Grund basiert auch das in dieser Arbeit entwickelte Ligandensystem auf einer zwitterionischen Sulfobetain-Struktur.

#### 2.3 Nanopartikel in der Biochemie

Aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften ist das Forschungsinteresse zur Anwendung von Nanopartikeln in der Biochemie in den letzten Jahren immer weiter gestiegen. Die potentiellen Anwendungsgebiete liegen dabei in der Diagnostik und Therapie sowie der Kombination aus beiden Gebieten – der sogenannten Theranostik.<sup>107</sup> Die Nanopartikel können beispielsweise als Wirkstoffträger zur Verabreichung von Therapeutika, als diagnostisches Werkzeug in der Bildgebung oder als Biosensoren dienen.<sup>108</sup> Neben superparamagnetischen Eisenoxidnanopartikeln oder Goldnanopartikeln sind Halbleiternanopartikel aufgrund ihrer Fluoreszenzeigenschaften von besonderem Interesse.

#### 2.3.1 Vorteile von Halbleiternanopartikeln in der Biochemie

QDs und QDQRs haben im Vergleich zu konventionellen organischen Farbstoffen einige wesentliche Vorteile. Halbleiternanopartikel haben einen großen Absorptionsquerschnitt während das Emissionssignal sehr schmal ist. Aufgrund dessen eignen sich QDs und QDQRs für Multiplexing-Experimente, bei denen unterschiedlich emittierende Nanopartikel mit einer einzigen Wellenlänge angeregt und nebeneinander detektiert werden können.<sup>19</sup> Die Emissionswellenlänge von Halbleiternanopartikeln lässt sich leicht durch die Größe der Partikel variieren (s. Kapitel 2.1). Peng und Mitarbeiter zeigten außerdem, dass in Abhängigkeit vom Teilchendurchmesser die molaren Extinktionskoeffizienten von QDs zwischen 10<sup>5</sup> und  $10^6 M^{-1} cm^{-1}$  liegen und damit ein bis zwei Größenordnungen höher im Vergleich zu denen organischer Farbstoffe sind.<sup>18</sup> Die Extinktionskoeffizienten von QDQRs können aufgrund des großen Volumens dieser Partikel sogar Werte bis  $10^7 M^{-1} cm^{-1}$  annehmen.<sup>17</sup> Ebenso ist die Photostabilität von Halbleiternanopartikeln verglichen mit der organischer Farbstoffe deutlich erhöht. Die Partikel sind bis zu 200-mal stabiler und eignen sich dementsprechend auch für Langzeitstudien.<sup>14,20</sup> Insgesamt erscheinen QDs aufgrund ihres hohen Extinktionskoeffizienten bis zu 20-mal heller als organische Farbstoffe,<sup>20</sup> wobei dieser Effekt bei QDQRs noch größer ist. Die Verwendung von QDQRs eröffnet zudem neue Anwendungsbereiche, da QDQRs im Gegensatz zu sphärischen QDs linear polarisiertes Licht emittieren.<sup>109</sup> Da die Nanopartikel infolge ihrer inhärenten Eigenschaften insgesamt stabiler sind und eine höhere Nachweisempfindlichkeit aufweisen, ergeben sich gegenüber der Verwendung von organischen Farbstoffen in der Biochemie klare Vorteile.

Um für derartige Anwendungen geeignet zu sein, müssen die Nanopartikel jedoch diverse Kriterien erfüllen, die bereits in Kapitel 2.2 erwähnt wurden. Bevor es zum Einsatz von Nanopartikeln in beispielsweise pharmazeutischen Produkten kommen kann, müssen die Wechselwirkungen der Partikel mit dem Organismus untersucht werden. Ein wichtiger Faktor bei der Beurteilung von Nanopartikeln bezüglich ihrer Anwendung in der Biochemie oder Medizin ist deren toxische Wirkung. Daneben ist die Adhäsion von Nanopartikeln an die Zellmembran bzw. die Aufnahme von Nanopartikeln in die Zelle von großer Bedeutung. In den folgenden Abschnitten werden diese beiden Gebiete näher erläutert.

#### 2.3.2 Toxizität von Nanopartikeln und deren Bestimmung in vitro

Bei der Verwendung von Nanopartikeln in biochemischen oder medizinischen Bereichen stellt sich unweigerlich die Frage, inwieweit eine toxische Wirkung von den Partikeln ausgeht. Gerade bei Halbleiternanopartikeln auf CdSe-Basis kann es dazu kommen, dass zytotoxische Cadmiumionen in die Umgebung freigesetzt werden und die Zellen schädigen.<sup>110</sup> Ferner können reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) gebildet werden, die Zellbestandteile wie Proteine, Lipide und DNA modifizieren oder zerstören und damit zum Zelltod führen.<sup>111–113</sup> Die Zellaktivität wird von vielen weiteren Faktoren der Nanopartikel beeinflusst, wie zum Beispiel Größe und Form, Passivierung, Oberflächenchemie und -ladung, Aggregation sowie Konzentration der Partikel.<sup>65,113–115</sup> Aufgrund dessen ist es bisher nicht möglich, die toxische Wirkung von Nanopartikeln vorherzusagen. Um die zytotoxische Wirkung von Nanopartikeln zu beurteilen, wurden unterschiedlichste Methoden basierend auf *in vitro* Zellversuchen entwickelt. Einige ausgewählte Methoden werden im Folgenden näher beschrieben.

Die einfachste Variante stellt die mikroskopische Betrachtung der Zellen nach Inkubation mit den zu untersuchenden Nanopartikeln dar. Da die Interpretation und die Herstellung von Vergleichsstandards jedoch schwierig sind, wird häufig ein Test mit wasserlöslichen Tetrazoliumsalzen (engl. water soluble tetrazolium salt, WST) in Kombination mit dem Lactatdehydrogenase (LDH) Assay durchgeführt. Der WST-8 Assay beruht darauf, dass in den Mitochondrien lebender Zellen mitochondriale Dehydrogenasen vorhanden sind, die das wasserlösliche Tetrazoliumsalz WST-8 zu Formazan reduzieren können. Das gebildete Formazan ist gelb und die Intensität des Farbstoffs damit direkt proportional zur Viabilität der Zellen.<sup>116</sup> Mit dem LDH Assay wird im Gegensatz dazu die Zytotoxizität gemessen. Xenobiotika können zu einer Lyse der Zellmembran führen, wodurch Zellbestandteile in das umgebende Milieu austreten. Darunter befindet sich das Enzym LDH, das den Co-Faktor Nicotinamidadenindinukleotid (NAD) zu NADH reduziert. Das gebildete NADH kann im Anschluss WST zu Formazan reduzieren. Die Intensität des Farbstoffs im extrazellulären Medium korreliert dadurch mit der Toxizität des untersuchten Xenobiotikums. Beide Assays haben aber den Nachteil, dass sie bei der Untersuchung von Nanopartikeln nicht universell einsetzbar sind, da diese zum Teil mit den eingesetzten Substanzen oder der LDH wechselwirken, wodurch das Ergebnis verfälscht wird.<sup>117</sup>

Eine mögliche Alternative zu den vorgestellten Assays stellt der Cellomics Array Scan Reader dar. Der Array Scan Reader ist Teil eines automatisierten High Content Screenings, da er mehrere Parameter gleichzeitig messen und analysieren kann. Die Aussagekraft dieser Methode ist dadurch vielfältiger und genauer im Vergleich zu den beiden zuvor beschriebenen Assays. Im Rahmen der Toxizitätsmessungen werden 96-Well Platten verwendet, in denen die Zellen zunächst mit dem Xenobiotikum inkubiert werden. Nach der Inkubation werden die Zellen mit dem Zellkernfarbstoff Hoechst 33342 und dem Mitochondrienfarbstoff MitoTracker® Deep Red angefärbt. Anschließend wird jedes Well automatisiert mit Hilfe einer Software analysiert und mikroskopische Aufnahmen der Zellen angefertigt. Dabei erkennt das Gerät die Zellstruktur, fokussiert automatisch und misst die Struktur in Abhängigkeit von Ort und Zeit. Die Auswertung dieser Daten liefert Informationen über die Anzahl der Zellen, die Zellkerngröße, die Zellkernmorphologie und das Transmembranpotential der Mitochondrien. Anhand dieser Daten kann im Anschluss eine Aussage über die Toxizität des Xenobiotikums getroffen werden. Wirkt eine Substanz zytotoxisch, so nimmt die Anzahl der Zellen im Laufe der Zeit ab. Die Zellkerne kondensieren, was zunächst zu einer Intensitätserhöhung des Zellkernfarbstoffs und nach Absterben der Zellen zu dessen Erniedrigung führt. Des Weiteren setzen die Mitochondrien unter Zellstress Apoptose-auslösende Faktoren frei, was zunächst zu einem Anstieg der Mitochondrienmasse und damit zu einer Intensitätssteigerung des Mitochondrienfarbstoffs führt. Sobald die Zellen absterben, sinkt die Intensität des Farbstoffs wieder. Die mikroskopischen Bilder, die während der Untersuchung aufgenommen werden, erlauben zusätzlich eine optische Beurteilung der Zellmorphologie. Der Informationsgehalt und die Genauigkeit dieser Methode sind somit deutlich höher im Vergleich zum WST-8 und LDH Assay, weshalb diese Methode zur Bestimmung der Toxizität der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten wasserlöslichen QDQRs verwendet wurde.

#### 2.3.3 Aufnahmepfade von Nanopartikeln in Zellen

Bei der Verwendung von Nanopartikeln in der Biochemie oder Medizin werden die Nanopartikel je nach Darreichungsform beispielsweise oral oder intravenös dem Körper zugeführt. Dabei kommen die Nanopartikel in Kontakt mit Zellen, wodurch es zur Anhaftung an die Zellmembran oder zur Aufnahme der Partikel in die Zellen kommen kann. Um einen ersten Einblick in die Interaktionen von Nanopartikeln mit Zellen zu erhalten, werden *in vitro* Zellkulturstudien durchgeführt, wobei die verschiedensten Zelllinien zum Einsatz kommen können. Nanopartikel können unter anderem durch Endozytose in die Zellen transportiert werden. Allgemein werden bei der Endozytose Substanzen über eine Einstülpung der Zellmembran in die Zelle aufgenommen. Zu den endozytischen Aufnahmepfaden zählen beispielsweise die Phagozytose und Makropinozytose sowie die clathrin- und caveolaevermittelte Endozytose (s. Abbildung 5). Diese Aufnahmemechanismen werden im Folgenden näher erläutert.



Abbildung 5: Mögliche Aufnahmepfade in die Zelle. (Geänderte Abbildung nach <sup>118</sup>.)

Phagozytierende Zellen wie beispielsweise Makrophagen oder dendritische Zellen gehören zum Immunsystem, das dafür sorgt, Fremdkörper im Organismus zu erkennen und aus diesem zu entfernen. Neben Makrophagen und dendritischen Zellen gibt es einige Epithel- und Endothelzellen, die Phagozytose aufweisen.<sup>119</sup> In der Regel werden Fremdkörper, zu denen auch applizierte Nanopartikel zählen, vom Immunsystem erkannt und durch Phagozytose ("Zell-fressen") aus dem Organismus entfernt. Bei der Phagozytose bildet sich zunächst durch Anhaftung bestimmter Proteine und Antikörper eine Proteinkorona um die Partikel. Dieser Prozess wird Opsonisierung genannt.<sup>26</sup> Die Proteinkorona dient der Erkennung und der Bindung der Nanopartikel an phagozytische Rezeptoren der Zelle. Nach Anbindung wird eine Kaskade im Zellinneren ausgelöst, durch die es zu einer Aktin-Assemblierung kommt. Aufgrund der Assemblierung stülpt sich die Zellmembran an dieser Stelle ein und durch Abschnürung ins Innere der Zelle bildet sich ein Vesikel, das sogenannte Phagosom. Im weiteren Verlauf wird das Phagosom mit den enthaltenen Substanzen lysosomal abgebaut.<sup>119</sup>

Die Phagozytose von Nano- und Mikropartikeln wird begünstigt, wenn die Partikel eine Größe zwischen 500 nm und 10 µm haben.<sup>120</sup> Zudem werden die Partikel umso schneller phagozytiert, je besser die Proteine an deren Oberfläche haften können.<sup>121</sup> Dabei zeigte sich, dass sowohl stark geladene als auch hydrophobe Oberflächen die Opsonisierung fördern.<sup>121,122</sup> Für den Einsatz von Nanopartikeln als diagnostisches oder therapeutisches Werkzeug ist es daher notwendig, sie in eine möglichst ungeladene, hydrophile und vor allem proteinabweisende Schicht einzuhüllen. Sowohl auf PEO basierende als auch zwitterionische Liganden zeigen diese Eigenschaften (vgl. Kapitel 2.2.2). Um den hydrodynamischen Durchmesser der Nanopartikel möglichst klein zu halten, ist jedoch die Verwendung zwitterionischer Liganden zu bevorzugen.

Im Gegensatz zur Phagozytose läuft die Makropinozytose ("Zelltrinken") ohne Einwirkung von Rezeptoren ab. Ein aktinreicher Vorsprung in der Zellwand kollabiert unter Ausbildung eines sogenannten Makropinosoms. Während dieses Vorgangs können Substanzen wie Nanopartikel mit umschlossen und dadurch internalisiert werden. Die gebildeten Makropinosome enthalten neben den Partikeln ein großes Volumen extrazellulären Mediums, weshalb sie mit einem Durchmesser von bis zu 5 µm relativ groß sind. Innerhalb der Zelle verkleinern sich die Makropinosomen meist und können lysosomal abgebaut werden.<sup>123,124</sup>

Die clathrinvermittelte Endozytose stellt einen weiteren Aufnahmemechanismus dar. Diese Form der Endozytose kann sowohl rezeptorvermittelt als auch ohne Mitwirken eines Rezeptors ablaufen, wobei der Vorgang ohne Beteiligung eines Rezeptors deutlich langsamer vonstattengeht. Bei der rezeptorvermittelten Form der clathrinvermittelten Endozytose verfügen die Nanopartikel über ein bestimmtes Erkennungsmerkmal und binden an entsprechende Rezeptoren der Zellmembran in einer chlathrinreichen Umgebung. Das dort vorhandene Clathrin polymerisiert unter Bildung eines sogenannten Clathrinkäfigs um die Nanopartikel herum, woraufhin sich die Zellmembran an dieser Stelle einstülpt. Durch das Enzym Dynamin schnürt sich im weiteren Verlauf ein clathrinumhülltes Vesikel, das bis zu 150 nm groß sein kann, von der Zellmembran ab. Schließlich wird der Clathrinkäfig wieder abgebaut und das innere Milieu des Vesikels durch Protonenpumpen auf etwa pH 5 eingestellt. Diese Vesikel, die späte Endosomen genannt werden, werden letztendlich einschließlich der enthaltenen Nanopartikel lysosomal abgebaut.<sup>124,125</sup>

Bei der caveolaevermittelten Endozytose werden Nanopartikel über die sogenannten Caveolae in die Zelle aufgenommen. Caveolae sind etwa 50 – 100 nm große Einbuchtungen der Zellmembran, die von innen mit dem Protein Caveolin ausgekleidet sind. Die Nanopartikel binden zunächst durch spezifische Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen an die Zellmembran und wandern entlang der Membran zu den Caveolae. Durch das Enzym Dynamin kommt es zur Abschnürung eines Vesikels, das die Partikel enthält und Caveosom genannt wird. Im Gegensatz zur clathrinvermittelten Endozytose liegen im Inneren der Vesikel keine Verdauungsenzyme vor, wodurch kein lysosomaler Abbau stattfindet.<sup>124,125</sup>

Um Nanopartikel als Wirkstoffträger oder zur Bildgebung einzusetzen, können die Nanopartikel beispielsweise an ein entsprechendes Affinitätsmolekül gekoppelt werden, damit es zu einer spezifischen Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung zwischen den Zielzellen und den Nanopartikeln kommt.<sup>78,126,127</sup> Die unspezifische Aufnahme der Partikel in andere Zellen muss in diesem Fall verhindert werden. Eine unspezifische Zellaufnahme ist von sehr vielen verschiedenen Faktoren abhängig, wie zum Beispiel Größe und Form der Partikel,<sup>128,129</sup> Oberflächenladung<sup>95,130,131</sup> und der bereits erwähnten Opsonisierung.<sup>26,79,132,133</sup> Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass auch unfunktionalisierte Nanopartikel in der Diagnostik oder Therapie verwendet werden können. Ein Beispiel dafür ist die passive Tumorerkennung, da Tumorgewebe im Vergleich zu gesundem Gewebe eine erhöhte Permeabilität der Blutgefäße aufweist und zugleich eine längere Verweilzeit der eingedrungenen Substanzen vorliegt.<sup>7,134</sup> Dieses Phänomen wird auch als EPR-Effekt (EPR = *enhanced permeability and retention*) bezeichnet und bei der passiven Tumorerkennung ausgenutzt.

## 3 Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Entwicklung eines zwitterionischen Ligandensystems, das den Phasentransfer von II-VI-Halbleiternanopartikeln in wässrige Medien ermöglicht. Dabei wurde zum einen die Kettenlänge des Liganden und zum anderen die Anzahl zwitterionischer Gruppen pro Ligand variiert, um deren Einfluss auf die resultierenden optischen Eigenschaften der Nanopartikel zu untersuchen. Da im Rahmen dieser Arbeit mit elongierten QDQRs gearbeitet wurde, standen außerdem sowohl der Größen- als auch der Formerhalt der Nanopartikel im Fokus, da die Verkapselung von Nanopartikeln mit Polymeren in der Regel zu einer deutlichen Vergrößerung des hydrodynamischen Durchmessers sowie durch die Ausbildung sphärischer Mizellen zu einem Verlust der elongierten Form führt. Durch den Ligandenaustausch sollten sowohl biokompatible als auch gegenüber äußeren Einflüssen, wie zum Beispiel unterschiedlichen pH-Werten, stabile QDQRs erhalten werden, die für den Einsatz in biologischen oder medizinischen Bereichen geeignet sind. Da solche Anwendungen die Kopplung von Affinitätsmolekülen erfordern können, sollten Möglichkeiten zur Einführung funktioneller Gruppen durch den Liganden untersucht werden. Schließlich sollten hinsichtlich der Verwendbarkeit in biologischer Umgebung die Toxizität und das Zellaufnahmeverhalten der wasserlöslichen QDQRs in vitro und anschließend das Zellaufnahmeverhalten in der Leber sowie die Organverteilung in vivo überprüft werden. Die erhaltenen Informationen sollten Aufschluss darüber geben, inwieweit sich die wasserlöslichen QDQRs beispielsweise für den Einsatz als Fluoreszenzmarker eignen.

## 4 Ergebnisse und Diskussion

Dieses Kapitel gliedert sich in sechs Abschnitte. Der erste Abschnitt (Kapitel 4.1) beschäftigt sich mit der Synthese der unterschiedlichen zwitterionischen Liganden einschließlich der möglichen Einführung funktioneller Gruppen. In Kapitel 4.2 werden die Ergebnisse des Ligandenaustauschs mit CdSe/CdS QDQRs sowie die Charakterisierung der resultierenden zwitterionischen QDQRs beschrieben. Im folgenden Abschnitt (Kapitel 4.3) wird die Oberflächenchemie der QDQRs mittels zeitaufgelöster Fluoreszenzspektroskopie untersucht. Der vierte Abschnitt (Kapitel 4.4) widmet sich der Stabilität der hergestellten Nanopartikeldispersionen in verschiedenen biologisch relevanten Medien und bei unterschiedlichen pH-Werten. Im Hinblick auf mögliche Anwendungen in der Biologie oder Medizin werden in Kapitel 4.5 die Ergebnisse der Toxizitätsuntersuchungen der zwitterionischen QDQRs und deren Zellaufnahmeverhalten *in vitro* mit A549-Zellen diskutiert. Der letzte Abschnitt (Kapitel 4.6) befasst sich schließlich mit *in vivo* Studien der hergestellten Nanopartikeldispersionen.

#### 4.1 Ligandensynthese

Die in dieser Arbeit synthetisierten Liganden wurden entwickelt, um wasserlösliche und biokompatible CdSe/CdS QDQRs zu erhalten. Da es sich bei den verwendeten QDQRs um elongierte Nanopartikel handelt, standen außerdem der Größen- und Formerhalt im Fokus. Wie bereits in Kapitel 2.2 angesprochen, führt die Verkapselung von Nanopartikeln mit Polymeren oder einer Silikahülle beim Phasentransfer in wässrige Medien oftmals zu einer Vergrößerung des hydrodynamischen Durchmessers<sup>76,77,135</sup> sowie zu einem Verlust der ursprünglichen Form, sofern nicht-sphärische Partikel verkapselt werden.<sup>81</sup> Die Anforderungen an den Liganden für den Phasentransfer lassen sich demnach wie folgt zusammenfassen: Der Ligand muss eine hydrophile Kopfgruppe enthalten, die sowohl die Wasserlöslichkeit als auch die Biokompatibilität der QDQRs gewährleistet. Des Weiteren soll eine Ankergruppe vorhanden sein, mit welcher der Ligand möglichst stark auf der Nanopartikeloberfläche koordiniert. Die hydrophile Kopf- und die Ankergruppe sollen durch verschieden lange Linker miteinander verknüpft werden.
# 4.1.1 Synthese und Charakterisierung der zwitterionischen Liganden

Um die oben genannten Kriterien zu erfüllen, wurden zunächst zwei sekundäre Amine unterschiedlicher Kettenlänge mit einer zwitterionischer Kopfgruppe synthetisiert. Durch die unterschiedlich langen Alkylketten sollte untersucht werden, ob die Länge des Liganden einen Einfluss auf den Phasentransfer und die physikochemischen Eigenschaften der resultierenden Nanopartikel hat. Die allgemeine Struktur des Liganden ist in Abbildung 6 gezeigt. Aus dem sekundären Amin wurde durch Zugabe von Kohlenstoffdisulfid ein Dithiocarbamat zur Anbindung an die Nanopartikeloberfläche gebildet. Das sekundäre N-Methylamin wurde aufgrund der höheren Stabilität des resultierenden Dithiocarbamats gewählt. Die Erzeugung der Dithiocarbamat-Ankergruppe erfolgte *in situ* vor dem Ligandenaustausch, worauf in Kapitel 4.1.3 näher eingegangen wird.



#### Abbildung 6: Zielstruktur der zwitterionischen Dithiocarbamat-Precursor.

Die zwitterionische Kopfgruppe bestand aus einem Sulfobetain, das für die nötige Wasserlöslichkeit und Biokompatibilität sorgen sollte. Sulfobetaine lassen sich aus der Reaktion eines tertiären Amins mit 1,3-Propansulton darstellen. Die Vorstufen der Liganden bestanden somit aus N,N,N'-Trimethylalkyldiaminen. Alkylderivate mit zwei bis fünf Methylengruppen sind kommerziell erhältlich, wohingegen höhere Homologe synthetisiert werden müssen. Um den Abstand zwischen der Nanopartikeloberfläche und der zwitterionischen Kopfgruppe möglichst gering zu halten, wurde als Ausgangsmaterial für den kurzkettigen zwitterionischen Liganden N,N,N'-Trimethylpropan-1,3-diamin ("C3-Amin", 1) gewählt. Der längerkettige Ligand wurde ausgehend von 11-Bromundecansäure (2) nach einer Vorschrift von Koeberle *et al.*<sup>136</sup> synthetisiert. Durch die längere Alkylkette sollten die hydrophoben Wechselwirkungen zwischen benachbarten Liganden auf der Nanopartikeloberfläche verstärkt werden, was sich auf die Stabilität der QDQRs auswirken könnte. In Abbildung 7 ist das Syntheseschema zur Bildung des N,N,N'-Trimethylundecan-1,11-diamin ("C11-Amin", 5) ausgehend von 11-Bromundecansäure 2 dargestellt.



Abbildung 7: Synthese des N,N,N'-Trimethylundecan-1,11-diamins (5) ausgehend von 11-Bromundecansäure (2) in drei Stufen.

Im ersten Schritt wurde die Carbonsäuregruppe der Bromundecansäure 2 mit Oxalylchlorid zum Säurechlorid umgesetzt. Durch eine nucleophile Substitutionsreaktion mit wässrigem Methylamin bildete sich das N-Methylamid 3 in 89% iger Ausbeute. Im Anschluss wurde das Produkt 3 in ethanolischem Dimethylamin gelöst und für zwei Stunden in der Mikrowelle auf 60 °C erhitzt. Dabei fand die nucleophile Substitution des endständigen Bromatoms mit Dimethylamin statt. Das Rohprodukt lag nach Entfernen des Lösungsmittels als Hydrobromid vor, das nach Suspendieren in Methyl-tert-butylether (MTBE) und Ausschütteln gegen Natronlauge das Produkt 11-(Dimethylamino)-N-methylundecanamid 4 lieferte. Im Vergleich zur Originalvorschrift, in der wässriges Dimethylamin verwendet und die Reaktionsmischung eine Woche unter Rückfluss erhitzt wurde, lieferte die Reaktion in der Mikrowelle deutlich bessere Ausbeuten von etwa 90% (Literaturausbeute: 60%<sup>136</sup>) bei stark verkürzter Reaktionszeit. Durch Reduktion des 11-(Dimethylamino)-N-methylundecanamid 4 mit Lithiumaluminiumhydrid wurde N,N,N'-Trimethyl-1,11-undecandiamin 5 erhalten. Die Rohausbeute dieser Reaktion betrug 96%. Auf eine Aufarbeitung via Säulenchromatographie oder Vakuumdestillation wurde verzichtet, da dieser Schritt zu Ausbeuteverlusten führte (vgl. Literaturausbeute: 30%<sup>136</sup>) und die Qualität des Rohproduktes für die nachfolgende Reaktion ausreichend war. Die Analyse der einzelnen Stufen erfolgte mittels NMR-Spektroskopie und die chemischen Verschiebungen entsprachen den in der Literatur angegeben Werten.<sup>136</sup>

Ausgehend von den N,N,N'-Trimethylalkyldiaminverbindungen 1 und 5 wurde in einer dreistufigen Synthese die Sulfobetaingruppe erzeugt (s. Abbildung 8). Da 1,3-Propansulton sowohl mit tertiären als auch mit sekundären Aminen reagiert, wurde das sekundäre Amin durch Reaktion mit Di-*tert*-butyldicarbonat mit einer *tert*-Butyloxycarbonyl-Gruppe (Boc) geschützt.<sup>137,138</sup> Nach säulenchromatographischer Reinigung wurden die Boc-geschützten Amine **6a** und **6b** mit einem Überschuss 1,3-Propansulton zu den zwitterionischen Verbindungen **7a** und **7b** umgesetzt. Die erhaltenen NMR- und Massenspektren entsprachen dabei der erwarteten Struktur (s. Anhang B und Anhang C).



Abbildung 8: Syntheseschema zur Bildung der zwitterionischen Amine 8a und b mit einer Propyl- (C3-ZW) bzw. Undecylkette (C11-ZW) als Spacer.

Bei der Umsetzung mit Propansulton stellte sich heraus, dass für das Propyl-Derivat **6a** eine Reaktionszeit von fünf Tagen ausreichend war, um Ausbeuten von ca. 90% zu erhalten. Im Fall des Undecyl-Derivats **6b** waren längere Reaktionszeiten von bis zu zwei Wochen erforderlich, um das zwitterionische Produkt **7b** in Ausbeuten von etwa 80% zu erhalten. Eine Verkürzung der Reaktionszeit könnte durch einen noch höheren Überschuss an Propansulton erreicht werden. Darauf wurde jedoch verzichtet, weil das Abtrennen des überschüssigen Sultons schwierig und nur durch intensives Waschen mit trockenem Tetrahydrofuran (THF) zu erreichen war und Propansulton zudem ein potentes Karzinogen ist. Eine weitere Möglichkeit bestünde in der Erhöhung der Reaktionstemperatur. Für die Reaktion erwiesen sich Dichlormethan (DCM) und Chloroform als geeignete Lösungsmittel, wobei nur Chloroform eine signifikante Temperaturerhöhung zuließe. Da Chloroform ebenfalls als KMR-Stoff klassifiziert ist, wurde auf dessen Verwendung aufgrund des Substitutionsgebots vorerst verzichtet. Das Entschützen des sekundären Amins in Verbindung 7a bzw. 7b wurde in der Mikrowelle bei 135 °C in Wasser durchgeführt,<sup>139,140</sup> wobei Ausbeuten von ca. 90% erreicht wurden. Der Vorteil dieser Methode zur Entschützung liegt darin, dass keine zusätzlichen Reagenzien benötigt werden und die Nebenprodukte der Reaktion – z.B. das durch NMR-Analyse identifizierte tert-Butanol - bei der anschließenden Lyophilisation mit entfernt werden. Da in manchen Fällen trotz sorgfältiger Waschschritte der Überschuss 1,3-Propansulton aus der vorangegangenen Reaktion nicht vollständig abgetrennt werden konnte, waren die zwitterionischen Amine C3-ZW (8a) und C11-ZW (8b) zum Teil mit 3-Hydroxypropansulfonsäure, dem Hydrolyseprodukt des Propansultons, verunreinigt. Diese Verunreinigung konnte mit Hilfe von Amberlyst A 26, einem stark basischen Ionenaustauscher, entfernt werden. Die erhaltenen NMR- und Massenspektren der Zielverbindungen entsprachen den jeweils erwarteten Strukturen (s. Anhang B und Anhang C). Als Beispiel ist in Abbildung 9 das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Verbindung 8a im Vergleich zum NMR-Spektrum des Edukts N,N,N'-Trimethylpropan-1,3-diamin gezeigt. Die chemische Verschiebung des Singuletts der Methylaminogruppe (1 bzw. a) ändert sich nicht und liegt bei 2,42 ppm. Im Gegensatz dazu verschiebt sich das Singulett der Dimethylammoniumgruppe (11, 12) aufgrund der Quaternisierung des Stickstoffs deutlich um fast ein ppm zu tieferem Feld auf 3,13 ppm. Die Multipletts bei 3,39 und 3,50 ppm sind den Methylenprotonen in Position 5 und 7 zuzuordnen. Auch hier erfolgt durch die Quaternisierung des Stickstoffs eine Verschiebung der Protonen 5 zu tieferem Feld im Vergleich zu den Protonen e im Edukt. Die Methylengruppe vor der Sulfonsäure (Position 9) liefert das Triplett bei 3,00 ppm. Das Signal bei 2,74 ppm ist der Methylengruppe am sekundären Amin (Position 3) zuzuordnen, das sich aufgrund des größeren Abstands zum quaternären Stickstoff nur um etwa 0,1 ppm im Vergleich zu den Protonen c des Edukts zu tieferem Feld verschiebt. Die Methylenprotonen in Position 4 und 8 liegen im Hochfeld-Bereich und befinden sich bei 2,03 und 2,23 ppm. Hier wiederum ist der Einfluss des quaternären Stickstoffs etwas größer und das Signal der Protonen 4 ist im Vergleich zu den Protonen d um ca. 0,4 ppm tieffeld-verschoben.



Abbildung 9: Vergleich der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der zwitterionischen Verbindung 8a (C3-ZW, blau) in D<sub>2</sub>O und des Ausgangsmaterials N,N,N'-Trimethylpropan-1,3-diamin (rot) in CDCl<sub>3</sub>.

Zusätzlich zu den beiden Liganden mit einer zwitterionischen Kopfgruppe wurde ein weiterer Ligand mit zwei Sulfobetaingruppen (Bis-C3-ZW, **9**, s. Abbildung 10) ausgehend vom kommerziell erhältlichen 3,3'-Iminobis-N,N-dimethylpropylamin synthetisiert. Die Ausbeuten der einzelnen Reaktionen lagen zwischen 70 und 90% und die NMR- und Massenspektren entsprachen auch hier den erwarteten Strukturen (s. Anhang B bzw. Anhang C).



# Abbildung 10: Strukturformel des Liganden Bis-C3-ZW (9) mit zwei zwitterionischen Kopfgruppen.

Im Vergleich zu den beiden vorher beschriebenen Liganden sollte dieser Ligand auf der Nanopartikeloberfläche nach Dithiocarbamat-Bildung eine V-förmige Struktur besitzen, die im Idealfall eine bessere Abschirmung konvexer Oberflächen (sphärisch oder zylindrisch) gewährleisten könnte. Andererseits hat der Ligand durch die V-förmige Struktur vermutlich einen erhöhten Platzbedarf, wodurch sich weniger Liganden auf der Oberfläche anordnen können, was eine schwächere Abschirmung zur Folge hätte. Mit diesem Liganden sollte überprüft werden, ob und inwiefern sich diese Ligandeigenschaft auf den Phasentransfer und die Stabilität der QDQRs auswirkt. Da sich dieser Ligand auch in der Hydrophilie von den beiden bisher beschriebenen zwitterionischen Liganden unterscheiden könnte, wurden die Verteilungskoeffizienten (logP) der Liganden mit Hilfe des Molinspiration Property Calculators<sup>141</sup> (Molinspiration Cheminformatics) mit den Standardeinstellungen des Programms simuliert. In Tabelle 1 sind die simulierten Verteilungskoeffizienten (simlogP), die daraus resultierenden Konzentrationen in der hypothetischen Octanolphase und die prozentualen Anteile der in Wasser gelösten Liganden dargestellt. Wie erwartet variieren die Verteilungskoeffizienten zwar, jedoch liegt das simulierte Verteilungsgleichgewicht für alle Liganden nahezu vollständig auf der Seite der Wasserphase. Die berechneten Unterschiede in der Hydrophilie sind so gering, dass sie mutmaßlich keinen Einfluss auf den Ligandenaustausch haben.

Tabelle 1: Ergebnisse der Simulation der Verteilungskoeffizienten der zwitterionischenLiganden.

Ligand	simlogP	C(Octanol)	gelöster Anteil in H <sub>2</sub> O
C3-ZW	-5,45	3,5 µM	99,99965%
C11-ZW	-3,47	340 µM	99,966%
Bis-C3-ZW	-6,21	0,62 µM	99,999938%

# 4.1.2 Funktionalisierung der Liganden

Im Hinblick auf die Anwendung von Nanopartikeln in der Biologie oder Medizin kann es erforderlich sein, dass diese biologisch relevante Moleküle wie zum Beispiel Kohlenhydrate oder Peptide auf ihrer Oberfläche tragen. Um solche Moleküle an den Liganden koppeln zu können, muss dieser über eine funktionelle Gruppe verfügen.<sup>142,143</sup> Die Einführung einer solchen Gruppe ist bei den in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Liganden über eine Alkylierungsreaktion des 1,3-Propansultons möglich, bevor dieses mit dem tertiären Amin zum Sulfobetain reagiert. Dazu wird Propansulton mit *n*-Butyllithium (*n*-BuLi) bei tiefen Temperaturen in  $\alpha$ -Position lithiiert und im Anschluss mit einem entsprechenden Elektrophil umgesetzt. Bei dieser Reaktion wird neben dem einfach substituierten auch das zweifach substituierte Produkt gebildet, deren Verhältnis zueinander durch den Überschuss an Elektrophil gesteuert werden kann.

In Abbildung 11 sind die in der Arbeit verfolgten Strategien zur Funktionalisierung des 1,3-Propansultons gezeigt. Bereits aus der Literatur bekannt ist das 2-Allyl-Sulton 10a,<sup>144</sup> das durch anschließende Epoxidierung mit meta-Chlorperbenzoesäure (m-CPBA) in das Epoxy-Sulton 11 umgewandelt werden kann.<sup>145</sup> Beide funktionellen Gruppen sind bezüglich der Anknüpfung biologisch relevanter Moleküle von Interesse, da an die Allylgruppe beispielsweise über eine Thiol-En-Klick-Reaktion ein Thiol gekoppelt werden kann. Der Epoxidring wird durch die Quaternisierung zum Sulfobetain nicht angegriffen und kann in der Folge mit einer Vielzahl von nucleophilen Biomolekülen, wie Aminen, Thiolen oder Alkoholen, abreagieren. Die Darstellung des Allyl- und Epoxy-Sultons erfolgte nach Literaturvorschrift.<sup>144,145</sup> Das 2-Allyl-Sulton 10a wurde dabei in 54% iger Ausbeute erhalten, was mit der Literaturausbeute von 58% vergleichbar ist. Als Nebenprodukt wurde bei dieser Reaktion das 2,2-Bisallyl-Sulton 10b (6%) erhalten, das prinzipiell ebenfalls als funktionalisierbarer Ligand von Interesse ist. Die anschließende Epoxidierung von 10a lieferte das Epoxy-Sulton 11 in 52% iger Ausbeute. In diesem Fall konnte eine Steigerung der Ausbeute um 10% erreicht werden. Eine direkte Synthese des Epoxy-Sultons mit Epibromhydrin gelang nur in sehr geringen Ausbeuten (< 5%), was auf eine deutlich verringerte Reaktivität des Elektrophils schließen lässt. Die zweistufige Synthese des Epoxy-Sultons 11 ist daher zu bevorzugen.

Des Weiteren wurde versucht, mit Propargylbromid ein Alkin-funktionalisiertes Propansulton (**12**) darzustellen. Alkine sind als funktionelle Gruppe interessant, da sie in einer 1,3dipolaren Cycloaddition (Klick-Reaktion) mit Aziden reagieren können.<sup>146,147</sup> Die Umsetzung mit Propargylbromid misslang mutmaßlich aufgrund der CH-Acidität des Alkinprotons, jedoch führte auch der Alkylierungsversuch mit dem geschützten Trimethylsilylpropargylbromid nicht zur Zielverbindung **13**.



Abbildung 11: Untersuchte Alkylierungsmittel zur Einführung funktioneller Gruppen in das 1,3-Propansulton.

Weiterhin sind Aldehydgruppen zur Biofunktionalisierung interessant. Aldehyde können mit Aminen Schiff'sche Basen bilden, die sich im Anschluss zu Aminen reduzieren lassen. Außerdem können Aldehyde mit Hydrazin-Derivaten zu Hydrazonen umgesetzt und gegebenenfalls reduziert werden. Daher sollte das lithiierte Sulton mit 2-Brommethyl-1,3-dioxolan zur Einführung eines geschützten Aldehyds (s. Struktur **14**) umgesetzt werden. Da die Reaktion nicht erfolgreich war, wurde in einer anschließenden Reaktion die Elektrophilie des Reagenzes durch einen Brom-Iod-Austausch mit Hilfe einer Finkelstein-Reaktion erhöht. Die Umsetzung des lithiierten Propansultons mit 2-Iodmethyl-1,3-dioxolan lieferte jedoch ebenfalls nicht die Zielverbindung **14**. In weiteren Versuchen wurde die Reaktionstemperatur nach Zugabe des Elektrophils leicht erhöht, um eine Steigerung der Reaktivität zu erreichen. Dabei war jedoch zu beachten, dass die lithiierte Form des Propansultons bei Temperaturen oberhalb von -80°C nur über einen begrenzten Zeitraum stabil ist.<sup>148</sup> Die Reaktionen wurden dementsprechend bei Temperaturen zwischen -70 und -60 °C durchgeführt, da bei höheren Temperaturen die Zerfallsrate des lithiierte Propansultons zu groß ist. Auch unter diesen Reaktionsbedingungen konnte kein Produkt isoliert werden. Eine Alternative zu Alkylhalogeniden bei der Umsetzung mit lithiierten Sultonen stellen Ketone oder Carbonsäureester dar.<sup>149</sup> Daher wurde Ameisensäureethylester als Elektrophil eingesetzt, um eine Aldehydgruppe direkt am Sultonring zu erzeugen (s. Struktur **15**). Auch bei dieser Reaktion konnte kein Produkt isoliert werden. Weitere Versuche zur Umsetzung des lithiierten Sultons mit Carbonsäureestern zu den korrespondierenden 2-Acyl-1,3propansultonen waren zwar erfolgreich, jedoch waren die Zielverbindungen für eine anschließende Biofunktionalisierung nur von begrenztem Nutzen. Es konnten somit vorerst nur das 2-Allyl- bzw. das 2,2-Bisallyl- und Epoxy-Derivat des 1,3-Propansultons für eine weiterführende Biofunktionalisierung bereitgestellt werden.

Um die Funktionalisierbarkeit der Liganden zu zeigen, wurde beispielhaft das geschützte Amin **6a** unter gleichen Reaktionsbedingungen wie in Kapitel 4.1.1 beschrieben mit 2-Allyl-Propansulton **10a** umgesetzt und anschließend entschützt. Die NMR- und Massenspektren (s. Anhang B und Anhang C) entsprachen der erwarteten Struktur des funktionalisierten Liganden (Allyl-C3-ZW, **16**), der in Abbildung 12 gezeigt ist. Die Ausbeute an Produkt ist mit der Ausbeute unfunktionalisierter Liganden vergleichbar und lag bei 90%.



Abbildung 12: Struktur des Allyl-funktionalisierten zwitterionischen Liganden 16.

### 4.1.3 Dithiocarbamat-Bildung

Die Bildung von Dithiocarbamaten erfolgt in der Regel sehr schnell und lässt sich mit Hilfe der Absorptionsspektroskopie nachweisen, da Dithiocarbamate zwei charakteristische Absorptionsmaxima bei etwa 260 und 290 nm aufweisen.<sup>98,100,150,151</sup> Um die Produktbildungsgeschwindigkeit der Dithiocarbamate zu analysieren, wurden zeitabhängige Absorptionsmessungen durchgeführt. Zunächst wurden Stammlösungen der zwitterionischen Amine **8a**, **8b** und **9** (je 25 mM) und Kohlenstoffdisulfids (CS<sub>2</sub>, 0,66 M) in Methanol angesetzt. Für die Referenzmessungen wurden 10 µL der Stammlösungen erneut mit 1,5 mL Methanol verdünnt, sodass sich für die Aminlösungen eine Konzentration von 0,17 mM und für CS<sub>2</sub> eine Konzentration von 4,4 mM ergab. Die Konzentration von 0,17 mM entspricht dabei der Konzentration, die auch später in den zeitabhängigen Absorptionsmessungen verwendet wurde. Da die Absorption des  $CS_2$  in diesem Konzentrationsbereich nicht sichtbar ist, musste eine entsprechend höhere Konzentration zur Darstellung des Absorptionsspektrums gewählt werden. Die zwitterionischen Amine C3-ZW (**8a**) und C11-ZW (**8b**) zeigen keine Absorption im Bereich zwischen 230 und 400 nm. Das symmetrische Bis-C3-ZW **9** hingegen weist eine schwache Absorptionsbande bei 247 nm auf und CS<sub>2</sub> besitzt ein Absorptionsmaximum bei 316 nm (s. Abbildung 13).



Abbildung 13: Absorptionsspektren des Bis-C3-ZW (9) und CS<sub>2</sub> in Methanol.

Zur Verfolgung der Dithiocarbamat-Bildung wurden die zwitterionischen Amine mit  $CS_2$  im Verhältnis 1:1 gemischt. Dazu wurden 990 µL der Stammlösungen der zwitterionischen Amine mit 38 µL der  $CS_2$ -Stammlösung versetzt, was einer Endkonzentration von etwa 25 mM entsprach. Nach unterschiedlichen Zeitintervallen wurden 10 µL der Reaktionslösung mit 1,5 mL Methanol verdünnt und am Absorptionsspektrometer vermessen. In Abbildung 14 sind beispielhaft die Reaktionsgleichung des zwitterionischen Amins **8a** mit  $CS_2$  zum Dithiocarbamat **17a** sowie die Absorptionsspektren zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Reaktion gezeigt. Bereits nach einer Minute sind im Spektrum die für Dithiocarbamate typischen Absorptionsmaxima bei 255 und 291 nm deutlich zu erkennen. Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Absorption einer Substanz und deren Konzentration. Da die Intensität der Absorptionsmaxima im weiteren Verlauf bis 40 Minuten nur geringfügige Schwankungen aufweist, kann geschlossen werden, dass die Dithiocarbamat-Bildung innerhalb weniger Minuten abgeschlossen ist. Die zeitliche Entwicklung der Absorptionsspektren des längerkettigen zwitterionischen Amins **8b** nach Zugabe von  $CS_2$  ist vergleichbar mit dem in Abbildung 14 gezeigten Verlauf. Auch hier erfolgte die Dithiocarbamat-Bildung innerhalb weniger Minuten.



Abbildung 14: Reaktionsgleichung der Dithiocarbamat-Bildung ausgehend vom zwitterionischen Amin 8a und die Absorptionsspektren zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Reaktion nach Zugabe des Kohlenstoffdisulfids.

Im Gegensatz dazu lief die Reaktion des zwitterionischen Amins **9**, welches zwei Sulfobetaingruppen besitzt, mit CS<sub>2</sub> deutlich langsamer ab. In Abbildung 15 A ist der zeitliche Verlauf der Absorption nach Zugabe des CS<sub>2</sub> innerhalb der ersten 40 Minuten gezeigt. Die beiden charakteristischen Maxima sind erst nach zehn Minuten zu erkennen und von deutlich geringerer Intensität im Vergleich zur Bildung des C3-ZW-DTCs (s. Abbildung 14). Im weiteren Verlauf der Reaktion (s. Abbildung 15 B) ist zu sehen, dass die Dithiocarbamat-Bildung für das Amin mit zwei Sulfobetaingruppen erst nach etwa 90 Minuten beendet ist, was für die folgenden Ligandenaustauschreaktionen berücksichtigt werden muss. Der Grund für die deutliche langsamere Reaktion könnte darin liegen, dass das sekundäre Amin aufgrund des größeren Raumanspruchs der zweiten Sulfobetaingruppe im Vergleich zur Methylgruppe für das Kohlenstoffdisulfid weniger zugänglich ist.



Abbildung 15: Zeitlicher Verlauf der Absorption innerhalb der ersten 40 Minuten (A) und ab 40 Minuten (B) nach Zugabe des Kohlenstoffdisulfids zum zwitterionischen Amin Bis-C3-ZW (9) in Methanol.

# 4.2 Ligandenaustausch und Charakterisierung der Quantum Dot in Quantum Rods

Für die Ligandenaustauschversuche mit den unterschiedlichen zwitterionischen Dithiocarbamat-Liganden (s. Abbildung 16) wurden CdSe/CdS QDQRs verwendet. Die Reaktionen erfolgten in einem Zwei-Phasen-System bestehend aus Methanol und *n*-Hexan in Anlehnung an ein von Mattoussi und Mitarbeitern entwickeltes Verfahren zum Phasentransfer von Nanopartikeln mit zwitterionischen Liganden.<sup>91,96</sup> Durch den Überschuss an Dithiocarbamat-Liganden und der höheren Affinität der Dithiocarbamate zu den Cd-Atomen auf der Nanopartikeloberfläche im Vergleich zu den nativen Liganden (ODPA und *n*-Hexylphosphonsäure, HPA) findet der Ligandenaustausch statt. Die durch den Ligandenaustausch erzeugte zwitterionische Oberfläche der QDQRs führt dazu, dass die Nanopartikel weder in Methanol noch in *n*-Hexan löslich sind und aus dem Zwei-Phasen-System ausfallen. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, dass der Ligandenüberschuss in Lösung verbleibt und die Aufarbeitung der zwitterionischen QDQRs stark vereinfacht wird. Nach erfolgreicher Überführung der QDQRs in Wasser wurden diese anschließend hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften untersucht.



Abbildung 16: Für den Ligandenaustausch mit CdSe/CdS QDQRs verwendete zwitterionische Dithiocarbamat-Liganden.

# 4.2.1 Ligandenaustausch mit C3-ZW-DTC und C11-ZW-DTC

Mit Hilfe der kurz- und langkettigen zwitterionischen Dithiocarbamate C3-ZW-DTC (**17a**) und C11-ZW-DTC (**17b**) sollte festgestellt werden, ob die Kettenlänge des Liganden einen Einfluss auf den Phasentransfer und die physikochemischen Eigenschaften der resultierenden Nanopartikel hat. Die Versuche wurden zunächst mit gelb-emittierenden QDQRs durchgeführt, deren Emissionsmaximum in *n*-Hexan bei 579 nm und deren PLQY bei 58% lag. Um zusätzlich den Einfluss des Ligandenüberschusses auf den Ligandenaustausch zu untersuchen, wurde der Überschuss zwischen 10.000 und 100.000 bezogen auf die QDQR-Konzentration variiert. Die Oberfläche der verwendeten QDQRs betrug circa 400 nm<sup>2</sup>. Unter der Annahme, dass der Platzbedarf eines einzelnen Dithiocarbamats bei etwa 0,2 nm<sup>2</sup> liegt,<sup>98,152</sup> entspricht der gewählte Konzentrationsbereich einem 5- bis 50-fachen Überschuss an Dithiocarbamat-Liganden pro Nanopartikel, der zur Ausbildung einer Monolage erforderlich ist.

Wie bereits in Kapitel 4.1.3 beschrieben wurde, bilden sich die Dithiocarbamate der zwitterionischen Amine C3-ZW (**8a**) und C11-ZW (**8b**) innerhalb weniger Minuten. Daher wurden entsprechende Überschüsse der zwitterionischen Amine **8a** und **8b** mit CS<sub>2</sub> für 15 Minuten in Methanol gerührt, bevor die Ligandlösung zu den QDQRs in *n*-Hexan gegeben wurde. Im Anschluss wurde das Zwei-Phasen-System kräftig gerührt, wobei die Nanopartikel mit der Zeit ausfielen. Nach kurzer Zentrifugation der Suspension wurden die organischen Phasen abdekantiert und die QDQRs vorsichtig im Stickstoffstrom getrocknet, bevor sie in Reinstwasser aufgenommen wurden.

Im Falle des kurzkettigen zwitterionischen Liganden C3-ZW-DTC (**17a**) fielen die QDQRs mit Ligandenüberschüssen von 25.000, 50.000 und 100.000 innerhalb von 30 Minuten aus und konnten im Anschluss problemlos in Wasser aufgenommen werden. Mit einem 10.000-fachen Überschuss hingegen waren längere Reaktionszeiten von bis zu sechs Stunden nötig, um eine Ausfällung der Nanopartikel zu erreichen. Nach Entfernen der organischen Phasen konnte diese QDQR-Präparation jedoch nicht in Wasser dispergiert werden. Ein 10.000-facher Überschuss ist demnach nicht ausreichend, um die QDQRs in Wasser zu stabilisieren. In Abbildung 17 sind Fotos zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Ligandenaustauschs mit dem kurzkettigen Liganden C3-ZW-DTC **17a** (25.000-facher Überschuss) unter Weißlicht und UV-Bestrahlung dargestellt. Abbildung 17 A zeigt das Zwei-Phasen-System vor dem Ligandenaustausch mit den QDQRs in *n*-Hexan (obere Phase) und der Ligandlösung

in Methanol (untere Phase). Nach 30-minütiger Reaktionszeit (B) sind die QDQRs vollständig ausgefallen und befinden sich entweder am Boden oder haften an den Glaswänden des Reaktionsgefäßes. Abbildung 17 C zeigt die QDQRs, nachdem die organischen Phasen entfernt und die Nanopartikel in Wasser dispergiert wurden.



Abbildung 17: Fotos zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Ligandenaustauschs von QDQRs mit einem 25.000-fachen Überschuss C3-ZW-DTC unter Weißlicht und UV-Licht. Zwei-Phasen-System vor dem Ligandenaustausch (A), nach 30 Minuten Reaktionszeit (B) und nach Überführung der QDQRs in Wasser (C).

Im Falle des langkettigen Liganden C11-ZW-DTC (**17b**) fielen die QDQRs bei allen getesteten Ligandenüberschüssen innerhalb von 30 Minuten aus und konnten in Wasser aufgenommen werden. Es wird vermutet, dass durch die längere Alkylkette im Molekül der Ligand besser mit den nativen Liganden ODPA und HPA auf der Nanopartikeloberfläche wechselwirken kann. Die hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Liganden könnten so den schnelleren Austausch im Vergleich zu dem kurzkettigen Liganden bewirken.

Im Anschluss wurden die wasserlöslichen QDQRs hinsichtlich ihrer optischen Eigenschaften untersucht. Sowohl in den Absorptions- als auch den Emissionsspektren ist eine Blauverschiebung der Maxima zu erkennen (s. Abbildung 18). Eine solche Blauverschiebung kann beispielsweise durch Photooxidation<sup>86,153</sup> oder allmählichen Abbau der äußeren Schale<sup>27</sup> verursacht werden. Da Dithiocarbamate als starke Komplexbildner bekannt sind, ist ein geringfügiger Abbau der CdS-Schale denkbar, da der Ligand bei der Desorption von der Nanopartikeloberfläche Oberflächenatome entfernen könnte. Sowohl Dubois *et al.*<sup>97</sup> als auch Zhang *et al.*<sup>98</sup> stellten fest, dass die optischen Eigenschaften von QDs nach einem Phasentransfer mit Dithiocarbamaten maßgeblich von der Dicke und Qualität der äußeren Schale beeinflusst werden. Die Fluoreszenz wird beispielsweise im Falle von CdSe- bzw. CdSe/ZnS- Nanopartikeln mit dünner ZnS-Schale (< 3 Monolagen) nahezu vollständig gelöscht. Je dicker die ZnS-Schale ist – oder bei Verwendung von QDs mit mehreren Schalen – desto besser werden die optischen Eigenschaften erhalten.



Abbildung 18: Absorptions- (A) und Emissionsspektren (B) der QDQRs vor und nach Phasentransfer mit verschiedenen Überschüssen C3-ZW-DTC 17a. Einsatz in A: Ausschnitt des ersten Absorptionsmaximums in höherer Vergrößerung.

Die PLQY der wässrigen QDQRs ist im Vergleich zu den organischen Nanopartikeln geringer. In Tabelle 2 befindet sich eine Übersicht der Verschiebungen der Absorptions- und Emissionsmaxima sowie der PLQY in Bezug auf den Liganden und dessen Überschuss.

Tabelle	2:	Übersicht	der	Verschiebungen	in	Absorptions-	und	Emissionsmaxima	sowie	der
PLQY i	n A	bhängigkei	it des	s eingesetzten Lig	and	en und Ligand	lenüt	erschusses.		

Ligand	Überschuss	Blauverschiebung	Blauverschiebung	PLQY
		Absorption	Emission	
C3-ZW-DTC	25.000	3 – 5 nm	2 – 4 nm	10 - 15%
	50.000	5 – 6 nm	4 – 6 nm	7 – 14%
	100.000	5 – 8 nm	4 – 7 nm	4 - 8%
C11-ZW-DTC	10.000	2 – 4 nm	1 – 4 nm	12 - 15%
	25.000	3 – 4 nm	3 – 4 nm	10-15%
	50.000	4 – 7 nm	4 – 5 nm	8-11%
	100.000	9 – 10 nm	5 – 8 nm	6%

Anhand der Tabelle ist deutlich zu erkennen, dass sowohl die Blauverschiebung als auch die Höhe der PLQY vom eingesetzten Ligandenüberschuss abhängig ist. Je höher der Ligandenüberschuss ist, desto größer ist die Blauverschiebung und desto niedriger ist die PLQY. Diese Tatsache unterstützt die Vermutung, dass die Blauverschiebung durch einen Abbau der CdS-Schale zustande kommt. Ein Vergleich der Liganden untereinander zeigt, dass sich bei gleichem Ligandenüberschuss die Werte für die Blauverschiebung und die Höhe der PLQY kaum unterscheiden. Die Länge der untersuchten Liganden hat demnach wenig Einfluss auf die optischen Eigenschaften der zwitterionischen QDQRs.

In der Literatur wird oftmals beschrieben, dass sich die Zugabe von Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) beim Phasentransfer von Nanopartikeln mit kleinen Liganden in Wasser positiv auf den Ligandenaustausch auswirkt oder gar notwendig ist.91,96,100,104 Dementsprechend wurde in weiteren Versuchen ein Äquivalent TMAH bezogen auf die Ligandenkonzentration zugesetzt. Dabei stellte sich heraus, dass durch die Zugabe von TMAH die QDQRs mit einem 10.000-fachen Überschuss des kurzkettigen Liganden 17a nach etwa zwei Stunden Reaktionszeit in Wasser überführt werden konnten, was ohne die Zugabe von TMAH nicht möglich war. Für den langkettigen Liganden 17b waren durch TMAH-Zugabe deutlich längere Reaktionszeiten von bis zu drei Stunden nötig, um ein Ausfallen der QDQRs zu erreichen. Die Aufnahme der Nanopartikel in Wasser war zudem bei einem 100.000-fachen Überschuss des langkettigen Liganden nicht mehr möglich. Nach spektroskopischer Charakterisierung und Bestimmung der PLQY konnten insgesamt keine Verbesserungen der optischen Eigenschaften festgestellt werden. Daraus lässt sich schließen, dass TMAH zwar einen Einfluss auf den Phasentransfer hat, dieser jedoch für die verwendeten Liganden keine positiven Effekte zeigt, weshalb auf die Zugabe von TMAH verzichtet wurde. Hinsichtlich biomedizinischer Anwendungen von Nanopartikeln ist dies von Vorteil, da TMAH toxisch ist und vor entsprechenden Untersuchungen sorgfältig entfernt werden muss.

Insgesamt konnte festgestellt werden, dass sich mit größer werdendem Ligandenüberschuss die optischen Eigenschaften der QDQRs verschlechtern und ein 10.000-facher Überschuss des kurzkettigen Liganden **17a** nicht ausreichend ist, um die QDQRs in Wasser zu stabilisieren. Daher wurden die folgenden Ligandenaustauschversuche stets mit einem 25.000-fachen Überschuss durchgeführt, um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. In Abbildung 19 sind die Absorptions- (A) und Emissionsspektren (B) der nativen QDQRs in

*n*-Hexan sowie der zwitterionischen QDQRs mit einem 25.000-fachen Überschuss des kurzund langkettigen Liganden **17a** und **17b** gezeigt.



Abbildung 19: Absorptions- (A) und Emissionsspektren (B) der QDQRs in *n*-Hexan und nach Phasentransfer mit den zwitterionischen Liganden 17a bzw. 17b in Wasser.

Zusätzlich wurden die QDQRs mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung (DLS) und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) auf ihre Größe hin untersucht. Die Ergebnisse der DLS-Messungen zeigen, dass sich der hydrodynamische Durchmesser der zwitterionischen QDQRs nur geringfügig von dem in *n*-Hexan unterscheidet und keine größeren Aggregate vorhanden sind (s. Abbildung 20).



Abbildung 20: Ergebnisse der intensitätsgewichteten DLS-Messungen vor dem Phasentransfer in *n*-Hexan und nach Phasentransfer mit dem kurz- und langkettigen Liganden 17a und 17b in Wasser.

Der Durchmesser der QDQRs erhöht sich in der intensitätsgewichteten Messung von 19 nm in *n*-Hexan um lediglich 2 nm auf 21 nm nach dem Phasentransfer mit den zwitterionischen Liganden **17a** bzw. **17b**. Anhand der DLS-Ergebnisse ist außerdem zu sehen, dass keine signifikante Vergrößerung des hydrodynamischen Durchmessers der Nanopartikel mit Verlängerung der Alkylkette im Liganden auftritt. TEM-Aufnahmen der zwitterionischen QDQRs lassen ebenfalls darauf schließen, dass die Größe und elongierte Form der Nanopartikel erhalten bleiben, da keine Unterschiede zu den nativen Partikeln in *n*-Hexan festgestellt werden können (s. Abbildung 21).



Abbildung 21: TEM-Aufnahmen der QDQRs in *n*-Hexan (A) und nach Phasentransfer mit Ligand 17a (B) bzw. Ligand 17b (C) in Wasser.

Die zwitterionischen Dithiocarbamat-Liganden eignen sich demnach, die verwendeten QDQRs unter Größen- und Formerhalt in Wasser zu transferieren. Die Kettenlänge der synthetisierten Liganden hat jedoch kaum Einfluss auf die resultierenden optischen Eigenschaften der Nanopartikel. Diese werden vielmehr durch die Dithiocarbamat-Ankergruppe verändert, wie die erhöhte Blauverschiebung der Absorptions- und Emissionsmaxima bei größer werdenden Ligandenüberschüssen zeigt. Die PLQY der QDQRs, die mit einem optimierten Ligandenüberschuss in Wasser überführt wurden, liegt zwischen 10 und 15%, was etwa 17 – 26% der ursprünglichen PLQY in n-Hexan entspricht.

# 4.2.2 Ligandenaustausch mit Bis-C3-ZW-DTC

Nachdem gezeigt werden konnte, dass der Phasentransfer mit zwitterionischen Dithiocarbamat-Liganden unterschiedlicher Kettenlänge möglich ist, wurde der Einfluss der Form des Liganden untersucht. Der zwitterionische Ligand Bis-C3-ZW-DTC 18 besitzt im Vergleich zu den Liganden 17a und 17b zwei zwitterionische Kopfgruppen. Durch seine symmetrische Form wird im Idealfall eine V-förmige Struktur des Liganden auf der Nanopartikeloberfläche erzeugt. Dadurch nimmt zwar der Platzbedarf eines einzelnen Liganden auf der Oberfläche zu; die daraus resultierende geringere Belegungsdichte sollte jedoch durch die bessere Abschirmung der zylindrischen Oberfläche aufgrund der Form des Liganden ausgeglichen werden. Die in Kapitel 4.1.1 beschriebene Simulation der Verteilungskoeffizienten wurde der Vollständigkeit halber erneut mit der Dithiocarbamat-Form der Liganden durchgeführt. Diese Simulation führte zu ähnlichen Ergebnissen, sodass die rechnerischen Unterschiede in der Hydrophilie der zwitterionischen Liganden zu gering sind, um den Phasentransfer zu beeinflussen. Der Ligandenaustausch wurde unter den in Kapitel 4.2.1 beschriebenen optimierten Bedingungen durchgeführt. Da die Dithiocarbamat-Bildung des Bis-C3-ZW 9 im Vergleich zu den vorher verwendeten Aminen 8a bzw. 8b langsamer abläuft (vgl. Kapitel 4.1.3), wurde die Ligandlösung vor Zugabe der Nanopartikel 90 Minuten gerührt. Nach 30-minütigem Rühren des Zwei-Phasen-Systems war die Hexan-Phase zwar nicht mehr gefärbt, jedoch fielen die QDQRs während dieser Zeit nicht vollständig aus und waren noch zum Teil in der Methanol-Phase gelöst. Erst nach insgesamt zwei Stunden waren die Nanopartikel ausgefallen, was zeigt, dass im Vergleich zu den mono-zwitterionischen Liganden nicht nur die Dithiocarbamat-Bildung, sondern auch der Ligandenaustausch langsamer abläuft. Nach Abtrennen der organischen Phasen war es jedoch nicht möglich, die QDQRs in Wasser zu überführen. Der Ligandenaustausch findet demnach nur partiell statt und es befindet sich nicht ausreichend zwitterionischer Ligand auf der Oberfläche der Nanopartikel, um diese in Wasser zu stabilisieren. Ein Grund dafür könnte sein, dass der Raumanspruch des Liganden bei zwei zwitterionischen Kopfgruppen zu groß ist und zu wenige der nativen Liganden von der Nanopartikeloberfläche verdrängt werden. Die V-förmige Struktur wirkt sich in diesem Fall negativ auf den Phasentransfer aus. Auf weitere Versuche mit höheren Ligandenüberschüssen wurde verzichtet, da zuvor festgestellt wurde, dass höhere Überschüsse einen negativen Einfluss auf die optischen Eigenschaften der QDQRs haben.

# 4.2.3 Ligandenaustausch mit Allyl-C3-ZW

Um zu zeigen, dass die QDQRs prinzipiell mit einer funktionellen Gruppe durch Einsatz eines funktionalisierten Liganden versehen werden können, wurde der Ligandenaustausch mit dem Allyl-funktionalisierten Dithiocarbamat-Liganden **19** durchgeführt. Durch die Position der Allylgruppe im Liganden könnte der Raumanspruch des Liganden auf der Oberfläche im Vergleich zum unfunktionalisierten Liganden **17a** etwas erhöht sein. Es hat aber auch zur Folge, dass die funktionelle Gruppe eher nach außen dem umgebenden Medium zugewandt ist, was eine gute Zugänglichkeit für weitere Reaktionen nach dem Liganden zur Folge hat, wurde durch Simulation des Verteilungskoeffizienten mit der in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Methode überprüft. Es konnten nur geringfügige Unterschiede zu den Verteilungskoeffizienten der zuvor verwendeten Dithiocarbamat-Liganden festgestellt werden, sodass auch in diesem Fall der Einfluss der Hydrophilie auf den Phasentransfer vernachlässigt werden kann.

Die QDQRs konnten mit einem 25.000-fachen Überschuss des Allyl-funktionalisierten Liganden **19** nach 60-minütiger Reaktionszeit erfolgreich in Wasser transferiert werden, wobei die verlängerte Reaktionszeit auf den leicht erhöhten Raumanspruch des Liganden zurückgeführt werden könnte. Im Anschluss wurden die QDQRs auf ihre optischen Eigenschaften und hinsichtlich ihres hydrodynamischen Durchmessers untersucht. Die Absorptions- und Emissionsmaxima der QDQRs in Wasser sind um 6 bzw. 4 nm blauverschoben und liegen damit in einem ähnlichen Bereich wie die der unfunktionalisierten Nanopartikel mit dem kurzkettigen Liganden **17a** (s. Abbildung 22, vgl. Tabelle 2). Auch die ermittelte PLQY von 11% ist im Rahmen der PLQY von 10 – 15% der unfunktionalisierten QDQRs. Der hydrodynamische Durchmesser der Allyl-funktionalisierten QDQRs liegt in der intensitätsgewichteten Messung bei 26 nm. Im Vergleich zu den unfunktionalisierten QDQRs nimmt der Durchmesser zusätzlich um 5 nm zu. Die an der Kopfgruppe des Liganden gebundene Allylgruppe scheint demnach den hydrodynamischen Durchmesser der QDQRs geringfügig zu erhöhen. Dennoch ist festzuhalten, dass die erhaltenen Strukturen insgesamt kompakter sind als beispielsweise polymerverkapselte Nanopartikel.<sup>76,77</sup>



Abbildung 22: Absorptions- (A) und Emissionsspektren (B) der QDQRs in *n*-Hexan und nach Ligandenaustausch mit dem unfunktionalisiertem Liganden 17a (C3-ZW-DTC) und dem Allyl-funktionalisiertem Liganden 19 in Wasser.

Mit diesem Experiment konnte gezeigt werden, dass das Einbringen einer funktionellen Gruppe durch Funktionalisierung des zwitterionischen Liganden prinzipiell möglich ist und der anschließende Phasentransfer kaum beeinträchtigt wird. Das Einfügen der funktionellen Gruppe hat keinen Einfluss auf die optischen Eigenschaften der wasserlöslichen Nanopartikel im Vergleich zu den unfunktionalisierten QDQRs. Der hydrodynamische Durchmesser der Allyl-funktionalisierten Partikel ist im Vergleich jedoch geringfügig größer. Durch den Einsatz einer Abmischung aus funktionalisiertem und unfunktionalisiertem Liganden für den Ligandenaustausch könnte der hydrodynamische Durchmesser möglicherweise verringert werden.

# 4.2.4 Ligandenaustausch mit anderen CdSe/CdS QDQRs

Nachdem gezeigt werden konnte, dass der Ligandenaustausch mit gelb-emittierenden QDQRs möglich ist, wurden zusätzlich grün- und rot-emittierende QDQRs für den Ligandenaustausch eingesetzt. Hierbei wurden QDQRs mit unterschiedlich großen CdSe-Kernen verwendet, die für die Lage der Emissionsbande maßgeblich verantwortlich sind. Bei der Auswahl der Nanopartikel wurde darauf geachtet, dass die Oberflächen der unterschiedlichen QDQRs ähnlich groß sind, damit der gleiche Ligandenüberschuss verwendet werden konnte. Eine Übersicht der optischen Charakteristika sowie der Größe der eingesetzten QDQRs im Vergleich zu den gelb-emittierenden QDQRs befindet sich in Tabelle 3. Der Phasentransfer wurde mit den zwitterionischen Liganden **17a** und **17b** unter den optimierten Bedingungen aus Kapitel 4.2.1 durchgeführt. Sowohl die grün- als auch die rot-emittierenden QDQRs konnten nach 30-minütiger Reaktionszeit mit einem 25.000-fachen Ligandenüberschuss erfolgreich in Wasser überführt werden. Die Blauverschiebungen der Absorptions- und Emissionsmaxima nach dem Phasentransfer liegen zwischen 2 und 6 nm und sind damit vergleichbar mit denen der gelb-emittierenden QDQRs. Auch die erhaltenen Photolumineszenz-Quantenausbeuten in Wasser von rund 12% liegen im Bereich der wässrigen, gelb-emittierenden QDQRs, wenngleich die ursprüngliche PLQY der Nanopartikel in *n*-Hexan im Vergleich höher war (s. Tabelle 3).

Tabelle 3: Charakteristika der für den Ligandenaustausch verwendeten, organischen QDQRs unterschiedlicher Emissionswellenlänge.

	1. Abs <sub>max</sub>	Emi <sub>max</sub>	PLQY	CdSe- Kerngröße	Länge x Breite	HD
QDQRs grün	545 nm	557 nm	70%	2,2 nm	24,0 nm x 5,0 nm	18 nm
QDQRs gelb	570 nm	579 nm	58%	2,7 nm	29,7 nm x 4,0 nm	19 nm
QDQRs rot	596 nm	607 nm	64%	3,2 nm	20,7 nm x 4,9 nm	-

Um die Größe der Nanopartikel zu bestimmen, wurden erneut DLS-Messungen und TEM-Aufnahmen der QDQRs vor und nach dem Phasentransfer gemacht. Die hydrodynamischen Durchmesser in der intensitätsgewichteten Messung der grün-emittierenden QDQRs in Wasser weichen kaum von der in Organik bestimmten Größe der QDQRs ab. Die erhaltenen Durchmesser in Wasser sind dabei mit 16 und 18 nm für den kurz- bzw. langkettigen Liganden etwas kleiner als der bzw. gleich dem Durchmesser von 18 nm in *n*-Hexan. Auch in den TEM-Aufnahmen (s. Abbildung 23) lassen sich keine Unterschiede im Hinblick auf die Größe oder Form der QDQRs vor und nach dem Phasentransfer feststellen.



Abbildung 23: TEM-Aufnahmen der grün-emittierenden QDQRs in *n*-Hexan (A) und nach Phasentransfer mit Ligand 17a (B) bzw. Ligand 17b (C) in Wasser.

Bei den DLS-Messungen der rot-emittierenden QDQRs in *n*-Hexan und Wasser konnten selbst bei wiederholten Messungen – zum Teil identischer Nanopartikelproben – keine reproduzierbaren Ergebnisse erhalten werden. Die Messungen in n-Hexan beispielsweise lieferten stark variierende Durchmesser zwischen 18 und 38 nm in der intensitätsgewichteten Messung. Eine mögliche Ursache liegt in der für die Messung ungünstigen Lage der Emissionsbande der QDQRs. Das Emissionsmaximum der Nanopartikel in n-Hexan befindet sich bei 607 nm mit einem FWHM von 32 nm. In Wasser liegt das Emissionsmaximum der QDQRs bei 602 bzw. 605 nm für den kurz- bzw. langkettigen zwitterionischen Liganden bei gleichem FWHM von 32 nm. Die Anregungswellenlänge des Lasers während der DLS-Messung beträgt 633 nm. Alle QDQR-Proben emittieren noch im Bereich um 633 nm, was am Detektor dazu führt, dass nicht nur das Streusignal der Partikel, sondern auch deren Emissionssignal gemessen wird. Das Ergebnis wird dadurch verfälscht und eine verlässliche Bestimmung des hydrodynamischen Durchmessers ist nicht möglich. Anhand der TEM-Aufnahmen lassen sich jedoch keine Unterschiede zwischen den QDQRs in n-Hexan und Wasser feststellen (s. Abbildung 24), was bei den rot-emittierenden QDQRs ebenfalls für einen Größen- und Formerhalt nach dem Phasentransfer spricht.



Abbildung 24: TEM-Aufnahmen der rot-emittierenden QDQRs in *n*-Hexan (A) und nach Phasentransfer mit Ligand 17a (B) bzw. Ligand 17b (C) in Wasser.

Mit den Experimenten konnte gezeigt werden, dass der Ligandenaustausch mit den zwitterionischen Liganden **17a** und **17b** auch auf QDQRs mit anderen Emissionswellenlängen übertragbar ist. Demnach eignen sich die synthetisierten Liganden prinzipiell, um elongierte Nanopartikel mit einer äußeren CdS-Schale in Wasser zu überführen.

# 4.3 Zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen der Quantum Dot in Quantum Rods

Im vorangegangenen Kapitel wurde festgestellt, dass sich die PLQY nach dem Phasentransfer der QDQRs mit den synthetisierten zwitterionischen Liganden in allen Fällen verringert. Um einen genaueren Einblick in die Prozesse der dabei auftretenden Fluoreszenzlöschung zu erhalten, wurden in Zusammenarbeit mit Jan-Philip Merkl (Universität Hamburg) die Fluoreszenzabklingkurven der unterschiedlichen QDQRs gemessen. In diesem Rahmen wurden die drei unterschiedlich emittierenden QDQRs vor und nach dem Phasentransfer mit dem kurzund langkettigen Liganden C3-ZW-DTC (**17a**) bzw. C11-ZW-DTC (**17b**) sowohl in Reinstwasser als auch in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) vermessen. Es sollte dabei untersucht werden, ob sich die Verringerung der PLQY auf die Fluoreszenzabklingzeit auswirkt.

In Tabelle 4 befinden sich die aus den Fluoreszenzabklingkurven berechneten mittleren Fluoreszenzabklingzeiten nach einer biexponentiellen Anpassung. Abbildung 25 zeigt die normierten Abklingkurven der unterschiedlichen Proben. Die Fluoreszenzabklingzeit aller wässrigen Proben ist gegenüber der Abklingzeit der nativen QDQRs in *n*-Hexan deutlich verringert. Beim Vergleich der wässrigen Proben ist zu erkennen, dass sich die Fluoreszenzabklingzeiten in Abhängigkeit von der Kettenlänge der Liganden kaum voneinander unterscheiden. Jedoch weisen QDQRs, die mit dem kurzkettigen Ligand **17a** in Wasser überführt wurden, in der Regel eine geringfügig höhere Fluoreszenzabklingzeit gegenüber den Nanopartikeln auf, die mit dem langkettigen Ligand **17b** in Wasser überführt wurden.

Tabelle 4: Mittlere Fluoreszenzabklingzeiten  $\langle \tau \rangle$  der unterschiedlich emittierenden QDQRs in *n*-Hexan und nach Phasentransfer mit den zwitterionischen Liganden C3-ZW-DTC und C11-ZW-DTC in Wasser bzw. PBS.

	nativ	C3-ZW-DTC		C11-ZW-DTC		
	<i>n</i> -Hexan	Wasser	PBS	Wasser	PBS	
QDQRs grün	28,9 ns	7,5 ns	7,8 ns	5,6 ns	7,0 ns	
QDQRs gelb	18,0 ns	8,3 ns	9,5 ns	8,4 ns	8,5 ns	
QDQRs rot	20,8 ns	12,2 ns	15,2 ns	11,4 ns	12,3 ns	

Das Verhalten der zeitaufgelösten Fluoreszenz ist stärker von der Emissionswellenlänge der QDQRs als von den Eigenschaften der für den Phasentransfer verwendeten Dithiocarbamat-Liganden abhängig. Je kleiner die Emissionswellenlänge der QDQRs ist, desto geringer ist deren Abklingzeit in wässrigem Milieu.



Abbildung 25: Normierte Fluoreszenzabklingkurven der grün- (A), gelb- (B) und rotemittierenden (C) QDQRs in *n*-Hexan sowie nach dem Phasentransfer mit den zwitterionischen Liganden 17a und 17b in Wasser bzw. PBS.

Aufgrund der ähnlichen PLQY der grün-, gelb- und rot emittierenden QDQRs in wässrigem Milieu sind eine Analyse des Fluoreszenzlöschmechanismus und ein Vergleich der Proben untereinander möglich. Die Ursache der Fluoreszenzlöschung und der damit verbundenen Abnahme der Fluoreszenzintensität ist häufig auf eine Wechselwirkung des Fluorophors mit einer löschenden Substanz (Quencher) zurückzuführen. Je nach ablaufendem Fluoreszenz-löschmechanismus kann die Fluoreszenzabklingzeit des Fluorophors dabei beeinflusst werden.<sup>34</sup> Es wird zwischen zwei Mechanismen, der statischen und der dynamischen Fluoreszenzlöschung, in Abhängigkeit von der Kontaktzeit zwischen Fluorophor und Quencher unterschieden. Bei der statischen Fluoreszenzlöschung wird ein Komplex aus Fluorophor und

Quencher gebildet, wobei die Kontaktzeit deutlich länger als die Lebensdauer des angeregten Zustandes ist und der Komplex nach Anregung des Fluorophors nicht fluoresziert. Durch die Komplexbildung sind insgesamt weniger Fluorophore im Ensemble vorhanden, die nach Absorption eines Photons fluoreszieren können. Aufgrund dessen verringert sich zwar die Fluoreszenzintensität, die Abklingzeit des Fluorophors bleibt jedoch unverändert. Bei der dynamischen Fluoreszenzlöschung hingegen findet eine Stoßreaktion innerhalb der Lebensdauer des angeregten Zustands zwischen Fluorophor und Quencher statt. Dabei kommt es zu einer Energie- oder Ladungsübertragung auf den Quencher und eine strahlende Relaxation des angeregten Zustands ist nicht mehr möglich. Durch den Transfer kommt es zu einer verringerten Fluoreszenzintensität und die Fluoreszenzabklingzeit nimmt ab, da die Energie- bzw. Ladungsübertragung in Konkurrenz zur Fluoreszenz steht. Statische und dynamische Fluoreszenzlöschung können auch parallel zueinander vorliegen, wobei man in einem solchen Fall von gemischter Fluoreszenzlöschung spricht.

Da die Fluoreszenzabklingzeit der grün-emittierenden QDQRs im Vergleich zu den nativen Nanopartikeln in *n*-Hexan um etwa den Faktor vier verkürzt ist, werden die wässrigen QDQRs fast ausschließlich dynamisch gelöscht. Der Anteil vollständig (statisch) gelöschter Nanopartikel ist in diesem Ensemble zwar gering, die verbleibenden fluoreszierenden QDQRs besitzen jedoch jeweils eine verringerte PLQY und eine stark verkürzte Fluoreszenzabklingzeit. Im Gegensatz dazu werden die rot-emittierenden QDQRs kaum dynamisch gelöscht. Die Fluoreszenzabklingzeit der wässrigen QDQRs wird um weniger als die Hälfte reduziert. Aufgrund der ähnlichen PLQY der rot- und grün-emittierenden QDQRs lässt das den Schluss zu, dass im Falle der rot-emittierenden QDQRs der Anteil an vollständig gelöschten Nanopartikeln im Ensemble groß ist. Die restlichen fluoreszierenden QDQRs haben aber im Vergleich zu den grün-emittierenden QDQRs sowohl eine höhere Fluoreszenzabklingzeit als auch eine höhere PLQY. Werden die Fluoreszenzabklingzeiten der gelb-emittierenden QDQRs mit den anderen beiden Proben verglichen, so liegt vermutlich eher statisches, als dynamisches Löschen vor. Die Abklingzeit der QDQRs reduziert sich um etwas mehr als die Hälfte und ist dadurch eher mit den rot-emittierenden QDQRs vergleichbar.

# 4.4 Stabilität der Quantum Dot in Quantum Rods in wässriger Umgebung

Im Hinblick auf biomedizinische Anwendungen von Nanopartikeln ist es wichtig, dass diese über eine ausreichende Stabilität in unterschiedlichen wässrigen Milieus verfügen und weder aggregieren noch deutlich an Fluoreszenzintensität verlieren. Nach der physikochemischen Charakterisierung wurden die zwitterionischen QDQRs hinsichtlich ihrer Stabilität in biologisch relevanten Medien sowie bei unterschiedlichen pH-Werten überprüft. Die Stabilitätsmessungen wurden mit den gelb-emittierenden QDQRs durchgeführt, die mit dem kurz- bzw. langkettigen zwitterionischen Liganden ins Wasser überführt wurden (QDQRs-17a bzw. QDQRs-17b). Für die Messungen wurden 990 µl zu untersuchendes Medium in einer Quarzglasküvette vorgelegt und mit 10 µl Nanopartikellösung versetzt (Endkonzentration: 20 nM). Nach zweiminütiger Inkubationszeit wurde die Fluoreszenzintensität über einen Zeitraum von einer Woche verfolgt. Am ersten Tag der Messreihe wurde die Fluoreszenzintensität der QDQR-Lösungen innerhalb der ersten zwei Stunden alle 20 Minuten und im weiteren Verlauf des Tages stündlich gemessen. Im Anschluss daran wurden die Proben alle 24 Stunden vermessen. Als Referenzsignal (Ausgangsfluoreszenzintensität) diente die Fluoreszenzintensität der Proben nach zweiminütiger Inkubationszeit in PBS, da dieses sowohl für die Stabilitätsmessungen der QDQRs in unterschiedlichen Medien als auch bei verschiedenen pH-Werten verwendet wurde und dadurch eine Vergleichbarkeit der Messungen ermöglicht.

# 4.4.1 Untersuchungen zur Stabilität in biologisch relevanten Medien

Die Stabilität der wasserlöslichen QDQRs wurde in folgenden biologisch relevanten Medien untersucht: PBS, 10 mM 2-(4-(2-Hydroxyethyl)1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES), Dulbecco`s Modified Eagle Medium (DMEM), 10% fetales Kälberserum (FCS) in DMEM und 1% Rinderserumalbumin (BSA) in PBS. Zusätzlich wurde die Stabilität der Proben in Reinstwasser überprüft. In Abbildung 26 ist die zeitliche Entwicklung der relativen Fluoreszenzintensität der QDQRs-**17a** innerhalb der ersten sechs Stunden (A) und im Verlauf einer Woche (B) gezeigt. Anhand Abbildung 26 A ist zu erkennen, dass die Proben etwa ein bis zwei Stunden benötigen, um sich zu äquilibrieren, wobei die relativen Fluoreszenzintensitäten in diesem Zeitraum zunächst ansteigen. Eine Ausnahme stellen hierbei die Proben in DMEM sowie 10% FCS in DMEM dar. In DMEM steigt die relative Fluoreszenzintensität kurzzeitig an und fällt dann langsam wieder ab. In Gegenwart von 10% FCS in DMEM sinkt die relative Fluoreszenzintensität direkt zu Beginn und schwankt im Verlauf der ersten Stunden zwischen 50 und 100% der Ausgangsintensität.

Bis auf die Probe in DMEM waren alle QDQR-Dispersionen über die ersten sechs Stunden kolloidal stabil. Die Probe in DMEM hingegen begann nach fünf Stunden zu präzipitieren. Die Ursache hierfür konnte nicht genauer geklärt werden, da die Zusammensetzung des DMEMs sehr komplex ist und dementsprechend viele Substanzen mit den QDQRs wechselwirken können. Im weiteren Verlauf der Woche (s. Abbildung 26 B) fielen nach drei Tagen die QDQRs in 10 mM HEPES ebenfalls aus. Alle anderen Proben waren über den restlichen Zeitraum kolloidal stabil.



Abbildung 26: Relative Fluoreszenzintensitäten der QDQRs-17a in unterschiedlichen Medien innerhalb der ersten sechs Stunden (A) und im Verlauf einer Woche (B).

Die relativen Fluoreszenzintensitäten der QDQRs mit dem kurzkettigen zwitterionischen Liganden **17a** in Wasser und PBS ändern sich nach dem Anstieg während der ersten zwei Stunden innerhalb der Woche kaum und entsprechen am Ende des Messzeitraums etwa dem Doppelten der Ausgangsintensität (s. Abbildung 26 B). Auffallend ist das Verhalten der QDQRs in proteinhaltigen Medien. In Anwesenheit von 1% BSA in PBS steigt die relative Fluoreszenzintensität der QDQRs auf über das Fünffache der Ausgangsintensität an und ist damit mehr als doppelt so hoch im Vergleich zu proteinfreiem PBS. Das Protein muss demnach einen fluoreszenzerhöhenden Effekt auf die QDQRs haben. Poderys *et al.* konnten zeigen, dass Proteine wie BSA prinzipiell einen positiven Effekt auf die Fluoreszenzintensität und die Stabilität von QDs haben können.<sup>154</sup> In jener Studie wurden mit Mercaptoessigsäure belegte CdTe-QDs verwendet und mit einer BSA-Lösung versetzt. Die Fluoreszenzintensität der QDs erhöhte sich nach BSA-Zugabe um etwa 30% und stieg innerhalb der ersten 40 Stunden bis auf 150% an. Im weiteren Verlauf nahm die Intensität zwar wieder etwas ab, jedoch konnte keine Aggregation der Partikel in den folgenden sechs Monaten beobachtet werden. Der fluoreszenzerhöhende Effekt wird auf eine Adsorption des Proteins auf der Nanopartikeloberfläche und anschließender Reorganisation der Liganden zurückgeführt. Im Gegensatz dazu aggregierten die CdTe-QDs in Abwesenheit von BSA schon nach neun Tagen. Die Autoren erklären diesen Befund damit, dass der Ligand im Laufe der Zeit von der Nanopartikeloberfläche desorbiert, was zunächst zu einer Erniedrigung der Fluoreszenzintensität und schließlich zur Aggregation der QDs führte.

Das hier beobachtete Verhalten der zwitterionischen QDQRs in Gegenwart von BSA steht im Gegensatz zu Veröffentlichungen in der Literatur, in denen zwitterionische Nanopartikel als besonders resistent gegen die Bildung einer Proteinkorona beschrieben werden.<sup>26,27,155</sup> Das BSA scheint jedoch offenbar mit der Oberfläche der zwitterionischen QDQRs zu wechselwirken, was zu einer Erhöhung der Fluoreszenzintensität führt. Die Zugabe von FCS hingegen hat einen positiven Einfluss auf die kolloidale Stabilität der QDQRs. Zwar sinkt die relative Fluoreszenzintensität in FCS-haltigem DMEM nach einer Woche deutlich auf ein Viertel der Ausgansintensität ab, die Nanopartikel bleiben aber im Gegensatz zu der Probe in proteinfreiem DMEM über den gesamten Messzeitraum kolloidal stabil (s. Abbildung 26 B).

Die Stabilität der QDQRs mit dem langkettigen zwitterionischen Liganden **17b** in den verschiedenen Medien (s. Abbildung 27) unterscheidet sich von der Stabilität der QDQRs-**17a**. Zunächst einmal sind die Nanopartikel in Wasser nur zwei Stunden und in 10 mM HEPES drei Stunden kolloidal stabil, bevor sie langsam präzipitieren (s. Abbildung 27 A). In DMEM sind sie etwas länger stabil, verlieren aber schon nach einer Stunde deutlich an Fluoreszenzintensität und präzipitieren schließlich nach zwei Tagen (s. Abbildung 27 B). Die relative Fluoreszenzintensität in PBS bleibt über den gesamten Zeitraum nahezu konstant und entspricht etwa dem Doppelten der Ausgangsintensität, was vergleichbar mit den Ergebnissen der QDQRs-**17a** in PBS ist. QDQRs-**17b** sind demzufolge in salzhaltigen Lösungen kolloidal stabiler, da sie in Wasser schon nach kurzer Zeit präzipitieren.



Abbildung 27: Relative Fluoreszenzintensitäten der QDQRs-17b in unterschiedlichen Medien innerhalb der ersten sechs Stunden (A) und im Verlauf einer Woche (B).

Wie auch für die QDQRs mit dem kurzkettigen zwitterionischen Liganden **17a** beobachtet werden konnte, hat die Anwesenheit von Proteinen wie BSA oder FCS einen positiven Effekt auf die Fluoreszenzeigenschaften und die kolloidale Stabilität der QDQRs-**17b**. Die relative Fluoreszenzintensität in Gegenwart von BSA in PBS steigt innerhalb einer Woche auf das Siebenfache der Ausgangsintensität. In Anwesenheit von FCS in DMEM hingegen sinkt die relative Fluoreszenzintensität zwar auf 60% der Ausgangsintensität ab, die Nanopartikel bleiben aber im Gegensatz zu der Probe in DMEM ohne Proteinzusatz kolloidal stabil (s. Abbildung 27 B).

Insgesamt betrachtet reagierten die QDQRs mit dem langkettigen zwitterionischen Liganden **17b** empfindlicher auf Veränderungen des umgebenden Milieus und waren in Wasser nicht so stabil wie die QDQRs mit dem kurzkettigen zwitterionischen Liganden **17a**.

Um den Einfluss von BSA und FCS auf die Fluoreszenzeigenschaften der QDQRs genauer zu untersuchen, wurde in einem weiteren Experiment die absolute PLQY mit Hilfe einer Ulbricht-Kugel zwei Mal täglich über einen Zeitraum von einer Woche gemessen. Damit die Proben untereinander vergleichbar waren und um einen negativen Effekt des Mediums auszuschließen, wurde BSA als 1% ige und FCS als 10% ige Lösung in PBS angesetzt. Die optische Dichte der Proben wurde im ersten Absorptionsmaximum auf den Wert 0.1 eingestellt, was einer Nanopartikelkonzentration von 100 nM entspricht. Die erste Messung fand etwa 15 Minuten nach der Probenpräparation statt. In Abbildung 28 ist der zeitliche Verlauf der PLQY in Anwesenheit von BSA und FCS für QDQRs-**17a** und QDQRs-**17b** gezeigt. Die PLQY in Ge-

genwart von FCS betrug bei der ersten Messung 16% für QDQRs-**17a** bzw. 14% für QDQRs-**17b**. Die PLQY mit BSA waren etwas geringer und betrug 13 bzw. 12%.

Nach sieben Stunden ist für alle Proben ein Anstieg der PLQY zu verzeichnen. Im weiteren Verlauf der Woche fallen die PLQY wieder etwas ab und schwanken leicht. Diese Schwankungen liegen jedoch im Bereich der Messgenauigkeit der Methode. Nach 168 Stunden steigt die PLQY der QDQRs-**17a** in Anwesenheit von FCS um ein Viertel auf 20%. Im Falle von QDQRs-**17b** beträgt die PLQY am Ende der Messreihe 24% und ist damit 71% höher als zu Beginn der Messungen. In Gegenwart von BSA steigt die PLQY der QDQRs-**17a** um fast zwei Drittel auf 21%. Die PLQY der QDQRs-**17b** wird in Gegenwart von BSA mehr als verdoppelt und erhöht sich von 12 auf 26%. Obwohl die Proben somit individuelle Unterschiede aufweisen, zeigen die Veränderungen einen nahezu parallelen Verlauf und folgen einem einheitlichen Trend.



Abbildung 28: Absolute Photolumineszenz-Quantenausbeuten der QDQRs-17a und QDQRs-17b in Anwesenheit von BSA und FCS im Verlauf einer Woche.

Die Zunahme der PLQY ist den Ergebnissen zufolge in BSA-haltigem PBS stärker ausgeprägt als in FCS-haltigem PBS. Außerdem ist die relative Erhöhung der PLQY für QDQRs-**17b** im Vergleich zu QDQRS-**17a** größer. Dieses Ergebnis unterstützt die Annahme, dass die QDQRs mit dem langkettigen zwitterionischen Liganden **17b** empfindlicher auf Veränderungen des umgebenden Milieus reagieren, da der positive Einfluss des Proteins auf die PLQY in beiden Fällen deutlich stärker ausgeprägt ist.

### 4.4.2 Untersuchungen zur pH-Stabilität

Zur Untersuchung der pH-Stabilität wurde der pH-Wert zwischen 5,1 und 11,5 variiert. Für den pH-Wert 5,1 wurde ein Citrat-Puffer, für den pH-Wert 7,4 wurde PBS, für den pH-Wert 9,0 ein Borat-Puffer und für den pH-Wert 11,5 ein Phosphat-Puffer verwendet. In Abbildung 29 ist der zeitliche Verlauf der Fluoreszenzintensität von QDQRs-**17a** innerhalb der ersten sechs Stunden (A) und im Verlauf einer Woche (B) bei unterschiedlichen pH-Werten gezeigt. Anhand Abbildung 29 A ist zu erkennen, dass alle Proben in etwa eine Stunde benötigen, um sich zu äquilibrieren, wobei die relativen Fluoreszenzintensität ni diesem Zeitraum zunächst ansteigen. Auffallend ist die hohe relative Fluoreszenzintensität bei pH 11,5 innerhalb der ersten Stunden im Vergleich zu den restlichen Proben.



Abbildung 29: Relative Fluoreszenzintensitäten der QDQRs-17a bei unterschiedlichen pH-Werten innerhalb der ersten sechs Stunden (A) und im Verlauf einer Woche (B).

Eine Zunahme der Fluoreszenzintensität unterschiedlicher QDs im basischen Milieu ist bereits in der Literatur bekannt. Es wird angenommen, dass durch die Bildung von Cadmiumhydroxid Oberflächenfehlstellen abgesättigt werden, was eine Erhöhung der Fluoreszenz zur Folge hat.<sup>156–158</sup> Des Weiteren hat der pH-Wert Einfluss auf die Bindung des Liganden an die Nanopartikeloberfläche. Im Basischen wird das Dithiocarbamat deprotoniert und kann leichter eine Bindung zur Oberfläche eingehen. Wird der pH-Wert erniedrigt, kommt es zur Protonierung des Liganden und er kann von der Oberfläche desorbieren, wodurch die Nanopartikel destabilisiert werden.<sup>156</sup>

Innerhalb der ersten sechs Stunden bleibt die relative Fluoreszenzintensität bei pH 5,1 bis 9,0 annähernd konstant, wohingegen sie bei pH 11,5 etwas abfällt. Bei pH 5,1 bleibt die relative Fluoreszenzintensität über den gesamten Messzeitraum nahezu konstant und entspricht am Ende etwa dem Vierfachen der Ausgangsintensität (s. Abbildung 29 B). Im Vergleich dazu sinkt die relative Fluoreszenzintensität der QDQRs nach 24 Stunden bei pH 7,4 und 9,0 zunächst, ändert sich aber im weiteren Verlauf der Woche nicht mehr und entspricht dem Doppelten bzw. Dreifachen der Ausgangsintensität bei pH 7,4 bzw. 9,0. Auch hier wird die Fluoreszenzerhöhung durch das basische Milieu deutlich. Die relative Fluoreszenzintensität der QDQRs bei pH 11,5 nimmt zunächst nach 24 Stunden etwas zu, sinkt aber im Verlauf der Woche wieder und entspricht am Ende der Messreihe etwa der Ausgangsintensität (s. Abbildung 29 B). Insgesamt zeigen die QDQRs mit dem kurzkettigen zwitterionischen Liganden bei pH-Werten zwischen 5,1 und 11,5 über den gesamten Zeitraum von einer Woche eine gute kolloidale Stabilität ohne gravierende Verluste an Fluoreszenzintensität.

Die pH-Stabilität der QDQRs mit dem langkettigen zwitterionischen Liganden 17b (s. Abbildung 30) unterscheidet sich deutlich von der Stabilität der QDQRs mit dem kurzkettigen zwitterionischen Liganden 17a. Bei pH 5,1 fallen die Nanopartikel bereits innerhalb der ersten 20 Minuten aus der Lösung aus. Cadmiumsulfid ist in starken Säuren löslich, weshalb angenommen wird, dass die langkettigen zwitterionischen Liganden die Oberfläche der Nanopartikel weniger gut abschirmen und es daher zur Aggregation der QDQRs kommt. Bei pH 9,0 sind die QDQRs nur innerhalb der ersten vier Stunden kolloidal stabil (s. Abbildung 30 A). Einzig die Proben bei pH 7,4 und 11,5 sind über den gesamten Zeitraum kolloidal stabil. Eine Erklärung, warum QDQRs-17b bei pH 9,0 nicht stabil sind, liegt zurzeit noch nicht vor. Da die QDQRs mit dem langkettigen zwitterionischen Liganden 17b jedoch insgesamt empfindlicher auf Veränderungen des umgebenden Milieus reagieren (vgl. Kapitel 4.4.1), könnte ebenfalls die Zusammensetzung des Puffers eine Rolle spielen, da die Nanopartikel sowohl im Citrat- als auch Borat-Puffer, nicht jedoch in den Phosphat-Puffern ausfallen. Im Vergleich zu QDQRs-17a benötigen QDQRs-17b mit Ausnahme der Probe bei pH 11,5 ca. zwei Stunden zum Äquilibrieren und die relativen Fluoreszenzintensitäten betragen etwa das Doppelte der jeweiligen Ausgangsintensität. Im neutralen Milieu bei pH 7,4 bleibt die relative Fluoreszenzintensität innerhalb der ersten sechs Stunden konstant und entspricht dem Doppelten der Ausgangsintensität. Im Basischen bei pH 11,5 hingegen entspricht die relative Fluoreszenzintensität nach sechs Stunden etwa dem 1,5-fachen der Ausgangsintensität (s. Abbildung 30 A).



Abbildung 30: Relative Fluoreszenzintensitäten der QDQRs-17b bei unterschiedlichen pH-Werten innerhalb der ersten sechs Stunden (A) und im Verlauf einer Woche (B).

Im weiteren Verlauf der Woche fällt die relative Fluoreszenzintensität bei pH 7,4 leicht ab und erreicht am Ende des Messzeitraums 150% der Ausgangsintensität. Bei pH 11,5 ist die relative Fluoreszenzintensität nahezu konstant und entspricht am Ende der Woche wieder der Ausgangsintensität (s. Abbildung 30 B). Insgesamt weisen die QDQRs mit dem langkettigen zwitterionischen Liganden im Vergleich zu QDQRs-**17a** eine geringere pH-Stabilität auf und der positive Einfluss des basischen Milieus auf die Fluoreszenzintensität ist nicht so stark ausgeprägt.

Die Ergebnisse der Stabilitätsmessungen zeigen, dass die Länge der Alkylkette der zwitterionischen Liganden einen merklichen Einfluss auf die Stabilität und die Fluoreszenzeigenschaften der zwitterionischen QDQRs hat. Dabei bewirkt die kürzere Alkylkette in QDQRs-**17a** eine bessere Abschirmung der Nanopartikel gegen äußere Einflusse wie pH-Wert, Ionenstärke oder in biologischen Puffern vorhandene Zusätze. Es wird vermutet, dass sich die Kettenlänge auf die Belegungsdichte der Liganden auf der Nanopartikeloberfläche auswirkt. Durch die längere Alkylkette in QDQRs-**17b** erhöhen sich zwar die hydrophoben Wechselwirkungen benachbarter Liganden, der Raumanspruch dieser könnte aber durch die größere Flexibilität der Ketten zunehmen, was in einer geringeren Belegungsdichte des Liganden auf der Oberfläche resultiert. Im Gegensatz dazu können sich bei QDQRs-**17a** die zwitterionischen Kopf-
gruppen nahezu parallel anordnen und so die QDQRs gut vom umgebenden Medium abschirmen. Weiterhin ist es möglich, dass die längere Alkylkette des Liganden **17b** besser mit den nativen hydrophoben Liganden auf der QDQR-Oberfläche wechselwirken kann. Dadurch würden die nativen Liganden im Vergleich zum Ligandenaustausch mit dem kurzkettigen Liganden **17a** weniger effektiv von der Oberfläche verdrängt, was in einer schlechteren Abschirmung der Nanopartikel vom umgebenden Medium resultiert.

### 4.5 In vitro Untersuchungen mit A549-Zellen

In den vorangegangenen Kapiteln wurden die physikochemischen Eigenschaften wie Größe und Fluoreszenzeigenschaften der wasserlöslichen QDQRs sowie deren Stabilität in biologisch relevanten Medien und bei unterschiedlichen pH-Werten ausführlich untersucht. Hinsichtlich biomedizinischer Anwendungen von Nanopartikeln gibt es jedoch weitere Eigenschaften, die eine wichtige Rolle spielen. Dazu gehören beispielsweise die Toxizität der verwendeten Nanopartikel oder deren Wechselwirkung mit Zellen, insbesondere die unspezifische Aufnahme der Nanopartikel in Zellen. Diese Eigenschaften sind unter anderem dafür ausschlaggebend, ob die Nanopartikel für diagnostische oder therapeutische Zwecke in Betracht kommen können. Die zwitterionischen QDQRs wurden daraufhin in diversen in vitro Versuchen hinsichtlich ihrer Toxizität und der unspezifischen Zellaufnahme untersucht. Für die Versuche wurden die gelb-emittierenden QDQRs mit dem kurz- und langkettigen zwitterionischen Liganden (QDQRs-17a und QDQRs-17b) verwendet, um einen möglichen Einfluss der Kettenlänge des Liganden auf die Wechselwirkungen der QDQRs mit Zellen zu untersuchen. Die Experimente wurden in Zusammenarbeit mit Charis Schlundt und Dr. Johannes Ostermann (CAN GmbH) durchgeführt. Sowohl für die Toxizitätsuntersuchungen als auch für die Zellaufnahmestudien wurden A549-Zellen verwendet. A549-Zellen sind humane, aus einem Adenokarzinom der Lunge stammende basale Epithelzellen, die als Zelllinie kultiviert wurden.

### 4.5.1 Toxizität der zwitterionischen QDQRs

Für den Einsatz von Nanopartikeln in der Biochemie oder Medizin ist es unabdingbar, dass von ihnen keine intolerable Toxizität ausgeht. Generell besteht bei cadmiumhaltigen Nanopartikeln die Möglichkeit, dass die Zellen durch austretende Cadmiumionen geschädigt werden.<sup>110,114</sup> Die Wahrscheinlichkeit, dass Cadmiumionen in die Umgebung freigesetzt werden, ist gerade bei den hier verwendeten QDQRs relativ hoch. Zum einen ist der Anteil an Cadmium in den elongierten Nanopartikeln im Vergleich zu sphärischen Partikeln gleichen Durchmessers um den Faktor 12 höher. Zum anderen fehlt den QDQRs eine passivierende Schale aus Zinksulfid, mit der cadmiumhaltige Nanopartikel oftmals umhüllt werden, um das Herauslösen von Cadmiumionen zu verhindern.<sup>114,159</sup>

Die zytotoxische Wirkung einer Substanz kann mit unterschiedlichen Methoden, die bereits in Kapitel 2.3.2 beschrieben wurden, untersucht werden. Die Toxizität der zwitterionischen QDQRs-17a und QDQRs-17b wurde in dieser Arbeit mit Hilfe des Cellomics Array Scan geprüft. Für die Toxizitätsuntersuchungen wurden A549-Zellen auf einer 96-Well Platte ausplattiert und mit QDQR-Lösungen in einem Konzentrationsbereich von 25 bis 500 nM inkubiert. Als Positivkontrolle wurde Cadmiumchlorid verwendet, welches in einem Konzentrationsbereich von 25 bis 1.000 µM eingesetzt wurde. Die um den Faktor 1.000 höhere Konzentration an Cadmiumchlorid ist der Tatsache geschuldet, dass in einem einzelnen QDQR der untersuchten Proben etwa 8.200 Cadmiumatome enthalten sind. Unter der Annahme, dass sich die gesamten Nanopartikel auflösen und das in ihnen enthaltene Cadmium freisetzen, entspräche die kleinste eingesetzte Konzentration von 25 nM QDQRs einer Konzentration von 205 µM Cadmiumchlorid. Nach einer Inkubationszeit von 16 Stunden wurden die Zellen mit einer Färbelösung, bestehend aus dem Zellkernfarbstoff Hoechst 33342 und dem Mitochondrienfarbstoff MitoTracker<sup>®</sup> Deep Red FM, versetzt und danach mit Formaldehydlösung fixiert. Im Anschluss wurden die 96-Well Platten mit dem Cellomics Array Scan ausgelesen. Dabei wurden anhand der Intensität des Hoechstfarbstoffs die Parameter Zellzahl, Zellkernintensität sowie Zellkerngröße und anhand des Mitochondrienfarbstoffs das Transmembranpotential der Mitochondrien mit Hilfe einer Software automatisch bestimmt. Ferner wurden mikroskopische Bilder der Zellen zur Kontrolle der Zellzahl und Zellmorphologie aufgenommen.

In Abbildung 31 sind die oben genannten Parameter in Abhängigkeit der eingesetzten Konzentration an QDQRs bzw. Cadmiumchlorid gezeigt. Jeder Datenpunkt stellt dabei den Mittelwert aus drei Messwerten dar. Anhand der Diagramme A bis D in Abbildung 31 wird deutlich, dass sowohl QDQRs-**17a** als auch QDQRs-**17b** einschließlich der höchsten getesteten Konzentration von 500 nM keine erkennbare toxische Wirkung auf die Zellen haben. Die Anzahl der Zellen pro Well (A), die Zellkernintensität (B), die Zellkerngröße (C) und auch das Transmembranpotential der Mitochondrien (D) bleiben über den gesamten Konzentrationsbereich nahezu konstant.



Abbildung 31: Quantifizierung der Toxizitätstests der QDQRs-17a und QDQRs-17b sowie des Cadmiumchlorids. (A) Anzahl der Zellen, (B) Intensität des Zellkernfarbstoffs Hoechst 33342, (C) Größe der Zellkerne und (D) Transmembranpotential der Mitochondrien. Anmerkung: Da Cadmiumchlorid bereits ab einer Konzentration von 100 μM eine toxische Wirkung auf die Zellen zeigt, sind in der Darstellung nur die Werte bis 500 μM abgebildet.

Ebenso sind bei der Betrachtung der mikroskopischen Aufnahmen keine morphologischen Änderungen der Zellen oder Zellkerne nach 16-stündiger Inkubation mit den zwitterionischen QDQRs erkennbar. Als Beispiel hierfür sind in Abbildung 32 die mikroskopischen Aufnahmen der A549-Zellen nach Inkubation mit QDQRs-**17a** dargestellt. Die Eigenfluoreszenz der QDQRs ist in den Bildern nicht zu sehen, da sie durch entsprechende Filtereinstellungen am Gerät unterdrückt wurde.



Abbildung 32: Mikroskopische Aufnahmen der A549-Zellen nach 16-stündiger Inkubationszeit mit unterschiedlichen Konzentrationen von QDQRs-17a. Die Zellkerne sind mit Hoechst 33342 (blau) und die Mitochondrien mit MitoTracker<sup>®</sup> Deep Red (rot) angefärbt. Zur Kontrolle (KO) ist eine Aufnahme von A549-Zellen nach 16 Stunden gezeigt, die ohne QDQRs inkubiert wurden.

Im Gegensatz dazu ist bei Cadmiumchlorid ab einer Konzentration von 100 µM, die etwa einer QDQR-Konzentration von 12 nM entspricht, eine toxische Wirkung auf die Zellen erkennbar. Die Anzahl an Zellen pro Well, die Zellkernintensität und die Zellkerngröße nimmt signifikant ab, was durch das Absterben der Zellen bedingt ist (Abbildung 31 A – C). Das Transmembranpotential steigt im Konzentrationsbereich von 50 bis 100 µM erst an und fällt dann wieder ab (Abbildung 31 D). Dieser Verlauf ist typisch für die toxische Wirkung einer Substanz. Durch Zellstress werden Apoptose-auslösende Faktoren freigesetzt und es kommt zunächst zu einer Zunahme der Mitochondrienmasse, was in der Messung zu einer Intensitätssteigerung des Mitochondrienfarbstoffs führt. Bei weiterer Erhöhung der Cadmiumchlorid-Konzentration sterben die Zellen zunehmend ab, wodurch die Mitochondrienmasse ebenfalls abnimmt und das Signal des Farbstoffs wieder schwächer wird. Die erneute Zunahme der Zellkernintensität und der Zellkerngröße bei einer Konzentration von 500 µM Cadmiumchlorid sowie die großen Fehlerbalken dieser Messwerte sind dadurch zu erklären, dass bei hoher Toxizität einer Substanz nur noch sehr wenige Zellen im Well vorhanden sind, wodurch weniger Messpunkte für die Auswertung zur Verfügung stehen und die statistischen Fehler entsprechend groß werden.

Besonders deutlich wird dies bei der Betrachtung der mikroskopischen Aufnahmen der Zellen nach 16-stündiger Inkubation mit Cadmiumchlorid, die in Abbildung 33 dargestellt sind. Ab einer Konzentration von 100  $\mu$ M Cadmiumchlorid sinkt die Anzahl an Zellen merklich und sie kugeln sich ab. Bei höheren Konzentrationen Cadmiumchlorid sind in den Wells nur noch vereinzelt Zellen zu finden.



Abbildung 33: Mikroskopische Aufnahmen der A549-Zellen nach 16-stündiger Inkubationszeit mit unterschiedlichen Konzentrationen Cadmiumchlorid. Die Zellkerne sind mit Hoechst 33342 (blau) und die Mitochondrien mit MitoTracker<sup>®</sup> Deep Red (rot) angefärbt. Zur Kontrolle (KO) ist eine Aufnahme von A549-Zellen nach 16 Stunden gezeigt, die ohne Cadmiumchlorid inkubiert wurden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass trotz des hohen Cadmiumgehalts in den verwendeten QDQRs und dem Fehlen einer zusätzlich passivierenden Zinksulfidhülle keine messbare Toxizität von den QDQRs bis zu einer Konzentration von 500 nM ausgeht. Damit erfüllen die hergestellten zwitterionischen QDQRs eine wichtige Voraussetzung für spätere biomedizinische Anwendungen.

#### 4.5.2 Zellaufnahmeverhalten der zwitterionischen QDQRs mit A549-Zellen

Im vorangegangenen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass die zwitterionischen QDQRs auch in hohen Konzentrationen von bis zu 500 nM keine toxische Wirkung auf A549-Zellen haben. Anschließend wurde das Aufnahmeverhalten der QDQRs-**17a** und QDQRs-**17b** mit A549-Zellen analysiert und überprüft, ob die Nanopartikel in Abhängigkeit von der Kettenlänge des Liganden unterschiedlich aufgenommen werden. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden zum einen zwei unterschiedlich lange Inkubationszeiten (vier und 16 Stunden) getestet. Zum anderen wurde die Inkubation entweder in Gegenwart oder Abwesenheit von 10% FCS durchgeführt. Durch die Abwesenheit von FCS im Medium sollte untersucht werden, ob die Nanopartikelaufnahme gegebenenfalls in die hungernden Zellen forciert werden kann. In allen Experimenten wurden die Zellen mit einer 100 nM QDQR-Lösung inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Zellen gewaschen, die Zellkerne mit Hoechst 33342 gefärbt, fixiert und mit Hilfe eines Konfokalmikroskops analysiert.

Für QDQRs-17a war unter allen experimentellen Bedingungen eine unspezifische Aufnahme der Nanopartikel zu erkennen (s. Abbildung 34). Die Aufnahme nach vier Stunden (A und B) war dabei nicht so stark ausgeprägt wie nach 16 Stunden (C und D). Nach vierstündiger Inkubation befanden sich die QDQRs zudem vornehmlich in der Nähe der Zellmembran, wohingegen die Nanopartikel nach längerer Inkubationszeit mehr oder weniger gleichmäßig im Zellinneren verteilt waren. Die Fluoreszenz der Nanopartikel war dabei oftmals in punktförmigen Strukturen zu erkennen, bei denen es sich mutmaßlich um mit QDQRs gefüllte Endosomen handelt. Da A549-Zellen keine phagozytierenden Zellen sind, gelangen die QDQRs höchstwahrscheinlich über unspezifische Endozytose in die Zellen. Außerdem wurden die QDQRs nach vier Stunden Inkubationszeit in Gegenwart von 10% FCS (B) im Vergleich zum Experiment unter serumfreien Bedingung (A) deutlich weniger von den Zellen aufgenommen. Eine reduzierte Aufnahme von Nanopartikeln in serumhaltigem Medium ist bereits aus der Literatur bekannt, wobei die verringerte Aufnahme auf das Vorhandensein einer Proteinkorona zurückgeführt wird.<sup>133,160-162</sup> Obwohl zwitterionische Liganden auf Nanopartikeln die Bildung einer Proteinkorona verhindern sollen,<sup>26,27,155</sup> scheinen die zwitterionischen QDQRs-17a mit dem Protein in Lösung zu wechselwirken, was in einer verringerten Zellaufnahme resultiert. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den in Kapitel 4.4.1 beschriebenen Beobachtungen zur Erhöhung der Fluoreszenzintensität der QDQRs in Gegenwart von BSA oder FCS.



Abbildung 34: Konfokalmikroskopische Aufnahmen von A549-Zellen nach der Inkubation mit 100 nM QDQRs-17a für vier Stunden (A und B) und 16 Stunden (C und D). Die Inkubation erfolgte unter serumfreien Bedingungen (A und C) oder in Gegenwart von 10% FCS (B und D). Die Zellkerne wurden mit dem Farbstoff Hoechst 33342 angefärbt (blau). Die roten Bereiche resultieren aus der Fluoreszenz der QDQRs.

Bei der Inkubation von A549-Zellen mit QDQRs-**17b** zeigte sich überraschenderweise ein völlig anderes Bild (s. Abbildung 35). Die Nanopartikel wurden nach vierstündiger Inkubationszeit weder unter serumhaltigen (B) noch unter serumfreien Bedingungen (A) von den Zellen aufgenommen. Auch die erhöhte Inkubationszeit von 16 Stunden führte in Gegenwart von 10% FCS zu keiner unspezifischen Aufnahme der QDQRs (D). Lediglich in serumfreiem Medium war eine leichte unspezifische Aufnahme der QDQRs zu erkennen (C), die jedoch im Vergleich zu QDQRs-**17a** deutlich geringer ausfiel.

Um den genauen Aufnahmemechanismus der zwitterionischen QDQRs in die Zellen zu untersuchen, sind weitere Experimente notwendig. Durch Zugabe von Inhibitoren oder Abkühlung der Zellen auf 4 °C während der Inkubation ist es beispielsweise möglich, bestimmte Mechanismen der Zellaufnahme gezielt zu blockieren und so Aufschluss über den Aufnahmemechanismus zu erhalten.<sup>130,160</sup>



Abbildung 35: Konfokalmikroskopische Aufnahmen von A549-Zellen nach der Inkubation mit 100 nM QDQRs-17b für vier Stunden (A und B) und 16 Stunden (C und D). Die Inkubation erfolgte unter serumfreien Bedingungen (A und C) oder in Gegenwart von 10% FCS (B und D). Die Zellkerne wurden mit dem Farbstoff Hoechst 33342 angefärbt (blau). Die roten Bereiche resultieren aus der Fluoreszenz der QDQRs.

Allgemein ist Zellaufnahme von Nanopartikeln von vielen verschiedenen Faktoren, wie z. B. der Größe und Form der Partikel,<sup>63,66,163</sup> ihrer Oberflächenladung,<sup>95,115,130,164</sup> oder dem Vorhandensein einer Proteinkorona<sup>133,160–162</sup> abhängig. Wie anhand der DLS-Messungen und der TEM-Aufnahmen gezeigt werden konnte, sind sowohl die Größe als auch die Form von QDQRs-**17a** und QDQRs-**17b** nahezu identisch (vgl. Kapitel 4.2.1), so dass diese Faktoren das unterschiedliche Zellaufnahmeverhalten nicht erklären können.

Die Oberflächenladung von Nanopartikeln kann beispielsweise durch das Zeta-Potential bestimmt werden. Daraufhin wurden die QDQRs mit Reinstwasser verdünnt (Endkonzentration: 100 nM) und in eine spezielle Messküvette überführt. Die Zeta-Potential-Messungen lieferten jedoch nur mit QDQRs-**17a** verwertbare Ergebnisse und das Zeta-Potential dieser Partikel lag im Bereich von -35 mV. Im Gegensatz dazu konnte eine Zeta-Potential-Messung der QDQRs-**17b** aufgrund der geringeren Verdünnungsstabilität nicht durchgeführt werden. Die Nanopartikel begannen während der Messung besonders im Bereich der Elektroden zu aggregieren, wodurch eine verlässliche Bestimmung des Zeta-Potentials nicht möglich war.

Eine weitere Methode, Informationen über die Oberflächenladung von Nanopartikeln zu erhalten, stellt die Agarose-Gelelektrophorese dar. Für die Gelelektrophorese wurden 0,8% ige Agarose-Gele angesetzt und die QDQR-Proben in zwei unterschiedlichen Konzentration (100 und 500 nM) aufgetragen. Zunächst wurde ein Standard Puffer für Agarose-Gelelektrophoresen (TRIS-Acetat-EDTA, TAE) verwendet und es wurde für 30 Minuten eine Spannung von 90 V angelegt. Abbildung 36 zeigt das Gel unter UV-Licht nach Ablauf der 30 Minuten. In den Kammern 1, 2, 5 und 6 befanden sich QDQRs-17a, die an zwei unterschiedlichen Tagen präpariert wurden, wobei die Konzentration 500 nM in den Kammern 1 und 5 und 100 nM in den Kammern 2 und 6 betrug. Die restlichen Kammern (3, 4, 7 und 8) wurden mit QDQRs-17b in analoger Weise befüllt. Es ist zu erkennen, dass alle Proben in Richtung Anode ins Gel wanderten, wobei QDQRs-17a deutlich weiter ins Gel einliefen. Demnach scheinen QDQRs-17a mehr negative Ladungen auf der Oberfläche zu tragen als QDQRs-17b. Die Konzentration hatte bei QDQRs-17a kaum Einfluss auf das Laufverhalten. QDQRs-17b aggregierten jedoch teilweise während der Elektrophorese, was dazu führte, dass nur ein Teil der höher konzentrierte Probe ins Gel wanderte und sich die niedriger konzentrierte Probe kaum aus der Kammer bewegte. Dementsprechend kann vorerst nur die Aussage getroffen werden, dass die Oberfläche der QDQRs negativ geladen ist, was zumindest für QDQRs-17a auch mit den vorangegangenen Zeta-Potential-Messungen übereinstimmt.



Abbildung 36: 0,8% iges Agarose-Gel unter UV-Licht nach 30 Minuten Laufzeit bei 90 V in TAE-Puffer. Die Kammern 1, 2, 5 und 6 sind mit QDQRs-17a, die Kammern 3, 4, 7 und 8 mit QDQRs-17b befüllt. Die Konzentration der Proben beträgt 500 nM in den Kammern 1, 3, 5 und 7 und 100 nM in den Kammern 2, 4, 6 und 8.

Bei dem verwendeten TAE-Puffer kann nicht ausgeschlossen werden, dass die QDQRs nach der Verdünnung mit Bestandteilen des Puffers wechselwirken. Diese Wechselwirkungen können letztendlich nicht nur die Stabilität der Nanopartikel, sondern auch deren Oberflächenladung beeinflussen. In weiteren Experimenten wurden daher unterschiedliche Puffersysteme getestet, um herauszufinden, inwieweit sich die QDQRs in ihrer negativen Ladung unterschieden. Es wurden zwei unterschiedliche Phosphat-Puffer (PBS pH 7,4 und Phosphat-Puffer nach Sörensen pH 7,0) sowie ein HEPES-Puffer pH 7,2 verwendet. Mit keinem der getesteten Puffer konnte die Elektrophorese der QDQRs erfolgreich durchgeführt werden, da die Proben entweder zum Teil aggregierten oder selbst nach mehreren Stunden kaum ins Gel wanderten. Es konnte vorerst kein geeignetes Puffersystem gefunden werden, das sowohl für eine Elektrophorese geeignet ist als auch keine Wechselwirkungen mit den Nanopartikeln zeigt oder zu deren Aggregation führt. Aus diesem Grund war es nicht möglich herauszufinden, inwieweit sich die Oberflächenladung der QDQRs voneinander unterscheidet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die QDQRs überraschend deutlich in ihrem Aufnahmeverhalten von A549-Zellen unterscheiden. Während QDQRs-**17a** nahezu unter allen experimentellen Bedingungen aufgenommen wurden, war die Zellaufnahme der QDQRs-**17b** nur unter drastischen Bedingungen zu sehen. Die molekularen Ursachen für dieses unterschiedliche Verhalten konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht gefunden werden. Die zwitterionischen QDQRs-**17a** eignen sich somit für die unspezifische Markierung von Zellen, während sich die zwitterionischen QDQRs-**17b** für eine spezifische Markierung eignen sollten, sofern sie zusätzlich mit einem Affinitätsmolekül versehen werden, welches die Zellaufnahme induziert.

# 4.6 Aufnahme und Organverteilung der Quantum Dot in Quantum Rods *in vivo*

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse aus den Toxizitätsstudien und des unterschiedlichen Verhaltens bezüglich der Aufnahme in A549-Zellen wurden im Anschluss an die in vitro Experimente die Aufnahme und Organverteilung von QDQRs-17a und QDQRs-17b in vivo in Kooperation mit Alexander Fischer vom Universitätsklinikum Eppendorf untersucht. Prinzipiell kann nach intravenöser Injektion von Nanopartikeln zwischen drei verschiedenen Mechanismen unterschieden werden, die die Nanopartikel wieder aus dem Blutkreislauf entfernen. Die Ausscheidung kann durch die Nieren mit dem Urin (renal) oder durch die Leber mit der Galle (hepatobiliär) erfolgen. Darüber hinaus können die Nanopartikel durch Aufnahme in Makrophagen des retikuloendothelialen Systems (RES; Leber, Milz oder Knochenmark) entfernt werden.<sup>165</sup> Die Leber ist eines der Hauptorgane, durch das verschiedenste Nanopartikel aufgenommen und gegebenenfalls wieder ausgeschieden werden.<sup>126,166</sup> In der Leber sind vor allem die sogenannten Kupffer-Zellen, speziell in der Leber vorkommende Makrophagen, für die Aufnahme von größeren Partikeln verantwortlich.<sup>167,168</sup> Außerdem ist aus der Literatur bekannt, dass neben den Kupffer-Zellen auch die sinusoidalen Leberendothelzellen (liver sinusoidal epithelial cells, LSECs) Nanopartikel internalisieren können.<sup>169,170</sup> Daher wurde das Verhalten der zwitterionischen QDQRs in Echtzeit mittels Intravital-Mikroskopie in der Leber von Mäusen verfolgt und anschließend die Organverteilung der Nanopartikel ex vivo analysiert. Jeder Maus wurden pro Experiment 1,5 nmol QDQRs in physiologischer Kochsalzlösung (150 µL) in die Schwanzvene injiziert. Unter Berücksichtigung des Blutvolumens einer Maus von ca. 3 mL entspricht diese Menge einer QDQR-Konzentration von etwa 500 nM im Organismus. Bis zu dieser Konzentration konnte in den in vitro Untersuchungen keine toxische Wirkung der QDQRs beobachtet werden (vgl. Kapitel 4.5.1), weshalb diese Konzentration auch in den in vivo Versuchen verwendet wurde.

Nach der intravenösen Injektion der QDQRs mit dem kurzkettigen zwitterionischen Liganden **17a** war ein sogenanntes Lining der Blutgefäße in der Leber durch die Nanopartikel zu erkennen, was für eine Aufnahme in LSECs spricht. Zusätzlich zum Lining befanden sich die QDQRs in dichter gepackten, größeren Strukturen, was auf eine Aufnahme in Kupffer-Zellen hindeutet (s. Abbildung 37, linke Seite). Die QDQRs mit dem langkettigen zwitterionischen Liganden **17b** zeigten ebenfalls ein Lining der Blutgefäße. Im Gegensatz zu QDQRs-**17a**  konnten jedoch keine größeren Ansammlungen von Nanopartikeln festgestellt werden (s. Abbildung 37, rechte Seite). Somit schlägt sich das unterschiedliche Verhalten der QDQRs-**17a** und QDQRs-**17b** *in vitro* auch in den *in vivo* Befunden nieder. Da es in der Leber zur Aufnahme der QDQRs kam, wurde zusätzlich der Darm als stark durchblutetes Organ mit hoher Immunzellaktivität intravital-mikroskopisch untersucht. Im Gegensatz zur Leber kam es im Darm zu keiner unspezifischen Aufnahme der Nanopartikel.



Abbildung 37: Mikroskopische Aufnahmen der Leber vor und nach der Injektion von QDQRs-17a (linke Seite) und QDQRs-17b (rechte Seite). Obere Reihe: Überlagerung von Hintergrundsignal und dem Kanal, in dem die Fluoreszenz der QDQRs (rote Bereiche) gemessen wird. Untere Reihe: Kanal, in dem die Fluoreszenz der QDQRs gemessen wird.

Um Aufschluss über die größeren Strukturen in der Leber zu erhalten, in denen sich QDQRs-**17a** ansammelten, wurden in einem weiteren Experiment nach Injektion der QDQRs etwa 1 µm große FluoSpheres<sup>®</sup> injiziert. Aufgrund ihrer Größe akkumulieren die grün-fluoreszierenden Partikel ausschließlich in Phagozyten wie den Kupffer-Zellen, aber nicht in LSECs.<sup>171</sup> Abbildung 38 zeigt eine mikroskopische Aufnahme eines Leberausschnitts nach Injektion von QDQRs-**17a** und der FluoSpheres<sup>®</sup>. Die Fluoreszenz der FluoSpheres<sup>®</sup> ist dabei in Grün (A) und die Fluoreszenz der QDQRs in Rot (C) dargestellt. Abbildung 38 B zeigt die Überlagerung der beiden Bilder. Es ist deutlich eine Kolokalisation der QDQRs und der

FluoSpheres<sup>®</sup> innerhalb der gleichen Strukturen zu erkennen, was für eine Aufnahme der QDQRs-**17a** in die Kupffer-Zellen der Leber spricht.



Abbildung 38: Mikroskopische Aufnahme eines Leberausschnittes nach Injektion von QDQRs-17a und FluoSpheres<sup>®</sup>. Fluoreszenz der FluoSpheres<sup>®</sup> (A), Überlagerung der Fluoreszenz von FluoSpheres<sup>®</sup> und QDQRs-17a (B) und Fluoreszenz der QDQRs-17a (C). Die Pfeile in (B) markieren die Strukturen, in denen sich sowohl FluoSpheres<sup>®</sup> als auch QDQRs-17a befinden.

Das Lining der Blutgefäße nach Injektion von QDQRs-17a und QDQRs-17b lässt, wie schon erwähnt, auf eine Aufnahme der Nanopartikel in LSECs schließen. Um diese Annahme zu bestätigen, wurden die Mäuse nach den Experimenten perfundiert und Vibratomschnitte der Leber angefertigt, die immunohistologisch untersucht wurden. Dazu wurden die Schnitte zunächst mit einem Primärantikörper (Ratte-anti-Maus CD31) und im Anschluss mit einem Sekundärantikörper (anti-Ratte Cy5) inkubiert, um das Leberendothel zu markieren. Zusätzlich wurden die Zellkerne mit dem Fluoreszenzfarbstoff 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) angefärbt. Die Analyse der Leberschnitte erfolgte mit Hilfe eines Konfokalmikroskops. Abbildung 39 A - C zeigt mikroskopische Aufnahmen eines Leberschnittes einer Maus, der ODORs-17a injiziert wurden. Die Fluoreszenz der QDQRs ist in Rot (A) und der Endothelmarker in Violett (C) dargestellt. Die Zellkerne sind durch den Farbstoff DAPI blau gefärbt und dienen der Orientierung. Die Überlagerung der beiden Aufnahmen (B) zeigt, dass sich die QDQRs zum Teil in den Leberendothelzellen befinden, da sich die violette Färbung (Endothelmarker) und die Fluoreszenz der QDQRs an einigen Stellen überschneiden. Zusätzlich ist in diesen Bildern erneut die Aufnahme der QDQRs-17a in Kupffer-Zellen zu erkennen (größere Strukturen in Rot). In Abbildung 39 D – F sind die mikroskopischen Aufnahmen eines Leberschnittes einer Maus gezeigt, der QDQRs-17b injiziert wurden. Auch hier ist in der Überlagerung (E) der Fluoreszenz der QDQRs und des Endothelmarkers die Überschneidung

von roten und violetten Bereichen zu sehen. Es kann demnach von einer Aufnahme der QDQRs in LSECs ausgegangen werden.



Abbildung 39: Mikroskopische Aufnahmen eines Leberausschnittes nach Injektion von QDQRs-17a (A – C) bzw. QDQRs-17b (D – F). Die Fluoreszenz der QDQRs ist in Rot dargestellt (A und D), das Leberendothel ist mit CD31 markiert und in Violett dargestellt (C und F) und die Zellkerne sind mit DAPI gefärbt (blau). Aufnahmen B und E zeigen die Überlagerung von QDQRs und Endothelmarker.

Nachdem das Verhalten der QDQRs in der Leber mittels Intravital-Mikroskopie analysiert wurde und die Aufnahme der Nanopartikel in LSECs bzw. Kupffer-Zellen durch weitere Experimente belegt werden konnte, wurde die Organverteilung der QDQRs *ex vivo* untersucht. Dazu wurden nach dem Perfundieren der Mäuse Lunge, Milz, Nieren und interscapulares braunes Fettgewebe seziert und mikroskopisch analysiert. QDQRs-**17b** zeigten keine Aufnahme in den untersuchten Geweben. Im Gegensatz dazu wurden QDQRS-**17a** sowohl in der Lunge als auch in der Milz aufgenommen, wobei das Signal der Nanopartikel in diesen Organen weitaus geringer im Vergleich zur Leber war. Die Beobachtungen aus den *in vivo* Experimenten decken sich folglich mit den Ergebnissen aus den *in vitro* Untersuchungen, in denen QDQRs-**17a** eine unspezifische Aufnahme in A549-Zellen zeigten, wohingegen QDQRs-**17b** 

nur unter drastischen Bedingungen (lange Inkubationszeiten und ohne Zusatz von FCS) aufgenommen wurden. Die genaue Ursache der unterschiedlichen Aufnahme von QDQRs-**17a** und QDQRs-**17b** ist zu diesem Zeitpunkt noch nicht geklärt. Es erscheint jedoch ungewöhnlich, dass die Aufnahme nur von der Länge des verwendeten Liganden bestimmt werden sollte. Durch eine unterschiedliche Oberflächenbelegung der zwitterionischen Liganden könnte es beispielsweise zur Adhäsion verschiedener Opsonine kommen, die einen Einfluss auf die Zellaufnahme haben. Ebenso können andere physikochemische Eigenschaften wie das Aggregationsverhalten eine größenbedingte Aufnahme zur Folge haben, sodass die Aufnahme nicht durch eine klassische Struktur-Wirkungs-Beziehung zu erklären wäre. Es sind daher weitere umfassende Untersuchungen notwendig, um die Ursache der unterschiedlichen Aufnahme zu ergründen. Es könnten beispielsweise zwitterionische Liganden anderer Kettenlänge synthetisiert werden, um zusätzliche Informationen bezüglich der Abhängigkeit der Zellaufnahme von der Länge des Liganden zu erhalten. Außerdem könnten statt der elongierten QDQRs sphärische QDs für den Ligandenaustausch verwendet werden, um den Einfluss der Form zu untersuchen.

Für QDQRs-**17b** eröffnen sich dennoch interessante therapeutische Perspektiven, da sie vornehmlich nur in LSECs, aber nicht in Kupffer-Zellen aufgenommen werden. Aus der Literatur ist bekannt, dass LSECs eine große Rolle in der peripheren Immunregulation durch regulatorische T-Zellen (Tregs) spielen.<sup>172</sup> Nanopartikel, die spezifisch von LSECs aufgenommen werden, können beispielsweise mit bestimmten Autoantigen-Peptiden gekoppelt werden. Durch nanopartikelvermitteltes Targeting können LSECs diese Autoantigen-Peptide prozessieren und präsentieren. Carambia *et al.* zeigten, dass dies zu einer Induktion regulatorischer T-Zellen führt, die das Autoantigen erkennen.<sup>169</sup> Tregs wirken als Immunmodulatoren. Sie können Immunantworten dämpfen und so zur Toleranz gegenüber Antigenen beitragen. In einem Mausmodell von Multipler Sklerose (MS) wurden Nanopartikel injiziert, an denen Peptide des Myelin-Basischen-Proteins gekoppelt waren. Dies führte zu einer Induktion spezifischer Tregs, die das Fortschreiten der MS unterdrücken konnten.<sup>169</sup> Dieser Effekt war dabei allein von der Induktion der Tregs durch die LSECs abhängig. Somit könnten QDQRs-**17b** eine Möglichkeit darstellen, Substanzen spezifisch in LSECs zu transportieren, um immunoregulatorische Effekte zu vermitteln.

## 5 Zusammenfassung

Das Interesse am Einsatz von Nanopartikeln zu biochemischen oder medizinischen Zwecken ist in den letzten Jahren merklich gestiegen. QDQRs erweisen sich in diesem Zusammenhang als besonders vielversprechend für den Einsatz als Fluoreszenzmarker, da sie unter anderem aufgrund ihrer hohen PLQY und den immensen Extinktionskoeffizienten viele Vorteile gegenüber organischen Farbstoffen, aber auch sphärischen QDs vergleichbarer Größe haben. Die Anwendung von Nanopartikeln in diesen Bereichen erfordert einen hohen Forschungsaufwand und stellt eine große Herausforderung dar. Nach ihrer Synthese sind QDQRs weder wasserlöslich noch biokompatibel, sodass vor allem an das für den Phasentransfer verwendete Ligandensystem hohe Anforderungen gestellt werden. Die Liganden müssen die Nanopartikel vor äußeren Einflüssen des umgebenden Mediums abschirmen und gleichzeitig dafür sorgen, dass Bestandteile der Partikel nicht nach außen gelangen, da die Nanopartikel teilweise aus toxischen Materialien bestehen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein neues zwitterionisches Ligandensystem mit einer Dithiocarbamat-Ankergruppe für den Phasentransfer von elongierten II-VI-Halbleiternanopartikeln entwickelt. Dabei wurden sowohl Liganden mit zwei unterschiedlichen Kettenlängen als auch ein symmetrischer Ligand mit zwei zwitterionischen Kopfgruppen synthetisiert. Die mehrstufige Synthese der Liganden war einfach durchführbar, wobei die einzelnen Reaktionen in guten bis sehr guten Ausbeuten verliefen. Die Möglichkeit, die Liganden mit einer funktionellen Gruppe zu versehen, konnte beispielhaft an einem Allyl-Derivat gezeigt werden. Der anschließende Phasentransfer wurde in einem zweiphasigen System aus Methanol und n-Hexan durchgeführt und hinsichtlich des Ligandenüberschusses optimiert. Durch die Fällung der QDQRs während des Ligandenaustauschs wurden der Phasentransfer sowie die Aufreinigung der Nanopartikel stark vereinfacht. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass im Gegensatz zu vielen in der Literatur beschriebenen Phasentransferreaktionen kein toxisches TMAH benötigt wird, was für den Einsatz in der Biochemie vorteilhaft ist. Nach dem Phasentransfer blieben sowohl die Größe als auch die elongierte Form der Partikel erhalten. Im Rahmen der Ligandenaustauschreaktionen konnte weiter gezeigt werden, dass die optischen Eigenschaften der Nanopartikel nicht von der Kettenlänge des Liganden beeinflusst werden. Sowohl die Absorptions- als auch die Emissionsspektren waren leicht blauverschoben und die erhaltenen PLQY lagen in einem Bereich von 10 - 15%. Der Phasentransfer mit dem symmetrischen Liganden war hingegen nicht erfolgreich, was vermutlich auf den erhöhten Platzbedarf des Liganden auf der Nanopartikeloberfläche zurückgeführt werden kann.

In weiteren Experimenten wurde der Einfluss der Länge des Liganden auf die Stabilität der QDQRs in diversen biologisch relevanten Medien und bei pH-Werten zwischen 5,1 und 11,5 untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass die QDQRs mit dem kurzkettigen zwitterionischen Liganden insgesamt stabiler waren. Besonders interessant war das Verhalten der QDQRs in Gegenwart von Proteinen. Obwohl zwitterionische Nanopartikel als weitgehend resistent gegen die Bildung einer Proteinkorona beschrieben werden, wurde eine deutliche Erhöhung der Fluoreszenzintensität sowie eine Steigerung der kolloidalen Stabilität der Partikel nach Zugabe von BSA oder FCS beobachtet, was auf eine Wechselwirkung der Nanopartikeloberfläche mit den Proteinen in Lösung schließen lässt.

Im Rahmen von *in vitro* Zellkulturexperimenten wurde die Eignung der zwitterionischen QDQRs für den Einsatz in der Biochemie oder Medizin untersucht. In Toxizitätsmessungen zeigte sich, dass die QDQRs trotz ihres im Vergleich zu sphärischen QDs deutlich höheren Anteils an Cadmium und dem Fehlen einer passivierenden ZnS-Schale bis zu einer Konzentration von 500 nM nicht toxisch auf A549-Zellen wirkten. Dadurch erfüllen die QDQRs eine wichtige Voraussetzung für biochemische Anwendungen. In weiteren Experimenten wurde die Zellaufnahme der QDQRs mit A549-Zellen untersucht, wobei eine deutliche Abhängigkeit der Aufnahme von der Länge des Liganden festgestellt wurde. Während die Aufnahme der QDQRs mit dem langkettigen Liganden nur nach langen Inkubationszeiten ohne Zusatz von FCS aufgenommen. Generell können Nanopartikel durch verschiedenste Mechanismen von Zellen aufgenommen werden. Eine detaillierte Studie zur Klärung der Unterschiede bezüglich der Zellaufnahme *in vitro* war jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit.

Die anschließenden *in vivo* Studien zur Zellaufnahme zeigten, dass die zwitterionischen QDQRs nach intravenöser Injektion in der Leber akkumulieren. Dabei befanden sich die QDQRs mit dem kurzkettigen Liganden sowohl in Kupffer-Zellen als auch in LSECs. Im Gegensatz dazu waren die QDQRs mit dem langkettigen Liganden fast ausschließlich in LSECs zu finden. Die erstaunliche Selektivität eröffnet die Möglichkeit, diese QDQRs zur Therapie von Autoimmunkrankheiten, wie zum Beispiel Multipler Sklerose, durch gezielten Transport immunstimulierender Medikamente in LSECs einzusetzen, um die Induktion spezifischer Tregs zu stimulieren und dadurch immunoregulatorische Effekte zu vermitteln.

### 6 Summary

The interest in using nanoparticles for biochemical or medical applications has grown noticeably within the last years. In this context QDQRs prove to be especially promising for the use as fluorescent markers. They exhibit many advantages over organic dyes and even spherical QDs of comparable size because of their high PLQY and immense extinction coefficients for example. The biochemical or medical application of nanoparticles requires great research effort and is still representing a major challenge. After their synthesis QDQRs are neither soluble in water nor biocompatible which leads to high demands on the ligand system used for the phase transfer. The ligands need to protect the nanoparticles from external influences of the surrounding medium and simultaneously need to ensure that no components of the partially toxic nanoparticles can diffuse into the external medium.

In this thesis a new zwitterionic ligand system with a dithiocarbamate anchoring group was developed for the phase transfer of elongated II-VI-semiconductor nanoparticles. In this regard, ligands of two different spacer lengths as well as a symmetric ligand with two zwitterionic head groups were synthesized. The multi step synthesis of the ligands was easy to perform with good to excellent yields for each reaction. The possibility for functionalization of the ligands was demonstrated exemplary by the synthesis of an allyl-substituted derivative. The following phase transfer was performed in a biphasic system containing methanol and *n*-hexane and was optimized with regard to the ligand excess. By precipitation of the QDQRs during the ligand exchange reaction the phase transfer and the successive purification of the nanoparticles were greatly facilitated. Moreover, in contrast to many ligand exchange reactions described in literature no toxic TMAH was needed, which is beneficial for the application of nanoparticles in biochemistry. After the phase transfer the size as well as the elongated shape of the QDQRs were well preserved. Furthermore it could be shown, that the optical properties of the nanoparticles were not dependent on the spacer length of the ligands. The absorption as well as the emission spectra were slightly blue-shifted and the resulting PLQY was in the range of 10 - 15%. The phase transfer with the symmetric ligand however, was not successful, which is probably the result of an insufficient surface occupation owed to the increased spatial requirements of the ligand.

In additional experiments the influence of the spacer length of the ligands with regard to the QDQR stability in several biological relevant media as well as at pH values between 5.1 and 11.5 was analyzed. In this context, QDQRs coated with the short chain zwitterionic ligand

were more stable in comparison to QDQRs displaying the long chain zwitterionic ligand. Very interesting results were obtained for the QDQR stability in the presence of proteins. Despite the fact, that zwitterionic nanoparticles are described as remarkably resistant to protein corona formation, a major increase in fluorescence intensity and colloidal stability of the zwitterionic QDQRs was observed after addition of BSA or FCS. This suggests an interaction of the nanoparticle surface with the proteins in solution.

In several *in vitro* cell culture experiments the suitability of the zwitterionic QDQRs for their use in biochemical or medical applications was investigated. Despite of their significantly higher proportion of cadmium in comparison to spherical QDs and the absence of a passivating ZnS shell, the zwitterionic QDQRs showed no signs of toxicity towards A549 cells up to concentrations of 500 nM. Thus, the zwitterionic QDQRs appear to be promising candidates for biochemical applications. In further experiments the cell uptake of QDQRs by A549 cells was investigated. Surprisingly, the spacer length of the ligand induced clear-cut differences in cellular uptake. QDQRs coated with the short chain zwitterionic ligand were internalized by the cells under all experimental conditions. On the other hand, QDQRs with the long chain zwitterionic ligand were only internalized by the cells after long incubation times and in the absence of FCS. In general, cellular uptake of nanoparticles may occur by various biological processes. A detailed study explaining the differences in cellular uptake *in vitro* was not within the scope of this thesis.

Subsequent *in vivo* studies showed that the zwitterionic QDQRs accumulated in the liver after intravenous injection. Interestingly, QDQRs coated with the short chain ligand were found in Kupffer cells as well as LSECs, whereas QDQRs coated with the long chain ligand almost exclusively accumulated in LSECs. This remarkable selectivity provides the opportunity to use these QDQRs for the therapy of autoimmune diseases, like Multiple Sclerosis by selective transport of immunostimulatory drugs to the LSECs, in order to induce specific Tregs and thereby mediating immunoregulatory effects.

## 7 Experimenteller Teil

### 7.1 Verwendete Chemikalien

Alle in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien wurden ohne zusätzliche Aufarbeitung eingesetzt.

Agarose (BioReagent), Allylbromid (97%), n-Butyllithium (1,6 M in n-Hexan), 11-Bromundecansäure (95%), *meta*-Chlorperbenzoesäure ( $\leq$  77%), Citronensäure ( $\geq$  99,5%), Dichlormethan ( $\geq$  99,9%), Diethylether (trocken, stabilisiert mit BHT,  $\geq$  99%), Dimethylamin (33 Gew.% in Ethanol), Ethanol ( $\geq$  99,8%), Ethylacetat ( $\geq$  99,5%), *n*-Hexan ( $\geq$  99%), HEPES  $(\geq 99,5\%)$ , 3,3'-Iminobis-N,N-dimethylpropylamin (97%), Kaliumcarbonat ( $\geq 99\%$ ), Kaliumiodid ( $\geq$  99%), Kaliumpermanganat ( $\geq$  99%), Kohlenstoffdisulfid ( $\geq$  99,9%), Lithiumaluminiumhydrid (2 M in THF), Methanol ( $\geq$  99,8%), Natriumhydrogencarbonat ( $\geq$  99,5%), Natriumhydrogensulfit (40% ig), Oxalylchlorid (98%), 1,3-Propansulton (98%), Tetrahydrofuran, (trocken, stabilisiert mit 250 ppm BHT, ≥ 99,9%), Triethylamin (≥ 99%) und N,N,N'-Trimethylpropan-1,3-diamin (96%) wurden von Sigma-Aldrich, Amberlyst<sup>®</sup> A26 (OH<sup>-</sup>), Borsäure (zur Analyse), Glycin (zur Synthese), Methylamin (40 Gew.% in Wasser, zur Synthese) und Schwefelsäure (95 – 97%) von Merck, Dichlormethan (trocken, stabilisiert mit Amylen,  $\geq$  99,8%) von Acros, Amberlyst<sup>®</sup> A15 (H<sup>+</sup>) von Alfa Aesar, Dikaliumhydrogenphosphat  $(\geq 99,99\%)$ , Di-*tert*-butyldicarbonat  $(\geq 98\%)$  und Hexachloroplatin(IV)-säure (8% ige Lösung in Wasser) von Fluka und Methyl-*tert*-butylether ( $\geq$  99,5%), Natriumchlorid ( $\geq$  99,5%), Natriumhydroxid ( $\geq$  99%) und Natriumsulfat ( $\geq$  99%) von Carl Roth bezogen.

# 7.2 Verwendete Geräte, Techniken und Charakterisierungsmethoden

Die Synthesen wurden, sofern nicht anders angegeben, bei Raumtemperatur, Standarddruck und unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt.

#### Absorptionsspektroskopie

Die Absorptionsspektren wurden an einem Cary 500 Spektrometer der Firma VARIAN aufgenommen.

#### Agarose-Gelelektrophorese

Für die Gelelektrophorese wurden 0,8% ige Agarose-Gele verwendet. Dazu wurden 240 mg Agarose in 30 mL Elektrophoresepuffer in der Mikrowelle erhitzt, bis sich die Agarose vollständig gelöst hatte. Die Proben wurden mit Elektrophoresepuffer auf eine Konzentration von 100 bzw. 500 nM verdünnt. 20  $\mu$ L der Probe wurden mit 5  $\mu$ L Glycerin (30-Vol.%) versetzt und im Anschluss in die Kammern des Gels gefüllt. Je nach verwendetem Elektrophoresepuffer betrug die angelegte Spannung zwischen 20 und 90 V. Die Dauer der Elektrophorese richtete sich nach der Wanderungsgeschwindigkeit der Proben und variierte zwischen 30 und 300 Minuten.

#### Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie (DC) wurden entweder ALUGRAM® SIL G/ UV 254 (Roth) oder Aluminiumoxid 60  $F_{254}$ , neutral (Merck) DC-Platten verwendet. Die Sichtbarmachung der Substanzen erfolgte auf unterschiedliche Weise: UV-Licht der Wellenlänge 254 nm, Eintauchen in alkalische Permanganatlösung, Ansprühen mit Iodplatinat oder Veraschen mit 10% iger Schwefelsäure in EtOH.

Für die alkalische Permanganatlösung wurden 255 mg NaOH in 21,2 mL  $H_2O$  gelöst und anschließend 3,18 g Kaliumpermanganat sowie 21,21 g Kaliumcarbonat hinzugefügt. Die Mischung wurde portionsweise mit insgesamt 302 mL  $H_2O$  versetzt und so lange gerührt, bis sich alles gelöst hatte. Die Lösung wurde unter Lichtausschluss aufbewahrt.

Für die Iodplatinatlösung wurden 3 mL Hexachloroplatin(IV)-säure (8% ige wässrige Lösung) mit 97 mL H<sub>2</sub>O verdünnt. Anschließend wurden 100 mL einer 6% igen Kaliumiodidlösung in H<sub>2</sub>O hinzugefügt. Die Lösung wurde unter Lichtausschluss aufbewahrt.

#### **Dynamische Lichtstreuung und Zeta-Potential**

Messungen zur dynamischen Lichtstreuung wurden an einem Zetasizer Nano ZS durchgeführt. Die Proben wurden in Quarzküvetten vermessen und der hydrodynamische Durchmesser wurde mit Hilfe der Dispersion Technology Software Version 7.03 der Firma Malvern berechnet. Für die Bestimmung des Zeta-Potentials wurden die Proben in eine gefaltete Einweg-Kapillarzelle überführt und am Zetasizer Nano ZS vermessen. Die Auswertung erfolgte ebenfalls mit der Dispersion Technology Software.

#### Emissionsspektroskopie

Die Emissionsspektren wurden mit einem PTI QuantaMaster<sup>™</sup> 40, der mit einer 150 W Xenon-Bogenlampe ausgestattet war, gemessen. Die Bestimmung der Photolumineszenz-Quantenausbeute erfolgte mit Hilfe einer Ulbricht-Kugel. Für die Stabilitätsmessungen wurde ein Horiba/ Jobin Yvon FluoroMax-4 Spektrometer verwendet.

#### Flashchromatographie

Die chromatographische Aufreinigung der hergestellten Substanzen erfolgte mit der automatisierten Flashchromatographie CombiFlash®Rf 200 der Firma Teledyne Isco und den dort erhältlichen RediSep Flashsäulen. Die Flashsäulen waren je nach Art der zu trennenden Substanz mit Kieselgel 60 oder neutralem Aluminiumoxid gefüllt. Das verwendete Laufmittel ist bei der entsprechenden Reaktionsvorschrift angegeben.

#### Fluoreszenzabklingzeiten

Der Fluoreszenzabfall einer Probe wurde durch zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung (*time correlated single photon counting*, TCSPC) bestimmt. Zur Ermittlung der Fluoreszenzabklingzeiten wurden die Proben mit einem PDL 800-D Diodenlaser der Firma PicoQuant bei einer Wellenlänge von 438 nm und einer Pulsfrequenz von 31,25 Hz angeregt. Die Signaldetektion erfolgte mit einer Zeitauflösung von 250 ps mit einem PicoQuant PMA-M 185 Photomultiplier und das Signal wurde durch einen Constant-Fraction 200 MHz Diskriminator und einem Zeit-zu-Amplituden Konverter der Firma EG & G Ortec aufbereitet. Für die Kurvenanpassung der Zerfallskurven wurde die Software FluoFit der Firma PicoQuant verwendet. Mit Hilfe der Software wurden die Messdaten an einen biexponentiellen Zerfall angepasst.

#### Infrarot-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden mit einem ALPHA Platinum ATR-IR Gerät der Firma Bruker aufgenommen. Die Substanzen wurden dabei unverdünnt als Feststoff oder Flüssigkeit vermessen.

#### Konfokalmikroskopie

Die konfokalmikroskopischen Aufnahmen erfolgten an einem konfokalen Laser Scanning Mikroskop des Typs FV 1000 der Firma Olympus.

#### Massenspektrometrie

Die Massenspektren wurden mit einem Agilent 6224 Elektrosprayionisation-Flugzeitmassenspektrometer (ESI-TOF-MS) im positiven Modus aufgenommen.

#### Mikrowelle

Die Reaktionen in der Mikrowelle wurden mit der CEM Discover S-Class der Firma CEM je nach Reaktionsvolumen in 10 oder 35 mL Reaktionsgefäßen durchgeführt. Reaktionszeit und Temperatur sind bei der entsprechenden Reaktionsvorschrift angegeben.

#### NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren wurden an einem AvanceI Spektrometer (<sup>1</sup>H-Resonanz: 400 MHz, <sup>13</sup>C-Resonanz 100 MHz) oder einem AvanceIII Spektrometer (<sup>1</sup>H-Resonanz: 600 MHz, <sup>13</sup>C-Resonanz 150 MHz) der Firma Bruker in deuterierten Lösungsmitteln (CDCl<sub>3</sub> oder D<sub>2</sub>O) gemessen, wobei das Lösungsmittelsignal als Referenz verwendet wurde. Die Kalibrierung der <sup>13</sup>C-NMR-Spektren in D<sub>2</sub>O erfolgte durch bereits bekannte chemische Verschiebungen bestimmter Gruppen im Molekül (z.B. einer *tert*-Butyl-Gruppe). Chemische Verschiebungen δ wurden relativ zum Lösungsmittelsignal in ppm und Kopplungskonstanten in Hertz (Hz) angegeben. Die im Experimentalteil angegebene Nummerierung der Substanzen erfolgte zur Vereinfachung der Zuordnung der Signale und entspricht nicht der IUPAC-Nummerierung. Zur Auswertung der Spektren wurde die Software MestReNova 9.0.1 verwendet.

#### Transmissionselektronenmikroskopie

Für die TEM-Aufnahmen wurde ein CM-300 UT Elektronenmikroskop der Firma Philips mit einer Beschleunigungsspannung von 200 kV verwendet. Zur Probenpräparation wurden 10  $\mu$ L einer verdünnten Nanopartikellösung auf ein mit Kohlenstoff beschichtetes Kupfergrid aufgetragen. Das Lösungsmittel wurde nach 30 bis 60 Sekunden mit Hilfe eines Filterpapiers entfernt.

#### Toxizitätstests

Die Analyse der Toxizitätsproben erfolgte in 96-Well Platten mit einem Cellomics Array Scan V, einem automatischen Fluoreszenzmikroskop für Hochdurchsatzanalysen, der Firma Thermo Scientific. Das Fluoreszenzmikroskop ist mit einer Weißlichtlampe und einem CCD-Detektor ausgestattet. Während einer Messung werden mit Hilfe der Software die Intensitäten zweier Farbstoffe parallel bestimmt und Bildinformationen in Datensätze umgewandelt Aus den Datensätzen werden Informationen bezüglich der Anzahl an Zellen, der Größe und Form der Zellkerne sowie des Transmembranpotentials der Mitochondrien erhalten.

### 7.3 Funktionalisierung des 1,3-Propansultons

### 7.3.1 Darstellung des 3-Allyl-1,2-oxathiolan-2,2-dioxids

1,3-Propansulton (4,4 mL, 50,07 mmol) wurde in trockenem THF (100 mL) gelöst und auf -89 °C abgekühlt. Innerhalb von 30 Minuten wurde *n*-BuLi (1,6 M, 35 mL, 55,65 mmol) so langsam zugetropft, dass die Temperatur -80 °C nicht überstieg. Nach erneutem Abkühlen auf -95 °C wurde Allylbromid (4,3 mL, 49,76 mmol) zugetropft, wobei die Temperatur -76 °C nicht überstieg. Die Reaktionsmischung wurde auf -110 °C abgekühlt und für zwei Stunden zwischen -80 und -110 °C gerührt. Nach langsamem Erwärmen wurde bei einer Temperatur von -55 °C die Kältemischung entfernt und nach 30-minütigem Rühren war eine Temperatur von 0 °C erreicht. Die Reaktionsmischung wurde vorsichtig mit H<sub>2</sub>O (ca. 1 mL) gequencht und ein Mal mit gesättigter NaCl-Lösung (50 mL) extrahiert. Die resultierende wässrige Phase wurde zwei Mal mit DCM (je 30 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, am Rotationsverdampfer eingeengt und im Anschluss säulenchromatographisch gereinigt (*n*-Hexan/ EtOAc). Das Produkt lag in Form einer farblosen Flüssigkeit vor.

Ausbeute: 54%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7,26 (CDCl<sub>3</sub>); 5,86 – 5,76 (m, 1H, H-9); 5,26 – 5,19 (m, 2H, H-10); 4,45 – 4,33 (m, 2H, H-3); 3,35 – 3,28 (m, 1H, H-1); 2,79 – 2,72 (m, 1H, H-8a); 2,68 – 2,60 (m, 1H, H-2a); 2,46 – 2,39 (m, 1H, H-8b) und 2,36 – 2,26 (m, 1H, H-2b).

#### 7.3.2 Darstellung des 3-(Oxiran-2-ylmethyl)-1,2-oxathiolan-2,2-dioxids

3-Allyl-1,2-oxathiolan-2,2-dioxid (811 mg, 5,00 mmol) und *m*-CPBA (77%, 1,35 g, 6,02 mmol) wurden in trockenem DCM (20 mL) gelöst und 48 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Während dieser Zeit bildete sich ein farbloser Niederschlag. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Feststoff abfiltriert und die organische Phase zwei Mal mit 20% iger NaHSO<sub>3</sub>-Lösung (je 20 mL) sowie zwei Mal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 50 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM) wurde das Produkt in Form einer farblosen Flüssigkeit erhalten.

Ausbeute: 52%



Das Produkt liegt infolge der beiden Chiralitätszentren an C-1 und C-9 als Diastereomerengemisch vor. Das Verhältnis wurde nicht bestimmt, da es für die Folgereaktionen nicht relevant war. Die Signale wurden – soweit möglich – zugeordnet.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7,26 (CDCl<sub>3</sub>); 4,51 – 4,37 (m, 2H, H-3); 3,52 – 3,35 (m, 1H, H-1); 3,13 – 3,07 (m, 1H, H-9); 2,87 – 2,84 (m, 1H, H-10a); 2,79 – 2,71 (m, 1H, H-2a); 2,63 – 2,58 (m, 1H, H-10b); 2,48 – 2,38 (m, 1H, H-2b); 2,14 – 2,11 (m, 1H, H-8a) und 1,69 – 1,61 (m, 1H, H-8b).

### 7.4 Synthese der Dithiocarbamat-Precursor

## 7.4.1 Darstellung des *tert*-Butyl(3-(dimethylamino)propyl)(methyl)carbamats

N,N,N'-Trimethylpropan-1,3-diamin (586 µL, 3,98 mmol) und TEA (1,6 mL, 11,54 mmol) wurden in trockenem DCM (12 mL) gelöst und in einem Eisbad abgekühlt. Im Anschluss wurde Di-*tert*-butyldicarbonat (1 mL, 4,35 mmol) in trockenem DCM (2 mL) gelöst und bei einer Temperatur unter 2 °C langsam hinzugetropft. Die Reaktionsmischung wurde für weitere 45 Minuten bei 0 °C und über Nacht (15 Stunden) bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die organische Phase mit gesättigter NaCl, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und

 $H_2O$  (je 5 mL) extrahiert, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt lag in Form eines hellgelben Öls vor.

Ausbeute: 87%



<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7,26 (CDCl<sub>3</sub>); 3,28 – 3,20 (m, 2H, H-3); 2,84 (s, 3H, H-1); 2,31 – 2,25 (m, 2H, H-5); 2,23 (s, 6H, H-7 und H-8); 1,73 – 1,66 (m, 2H, H-4) und 1,45 (s, 9H, H-13, H-14 und H-15).

## 7.4.2 Darstellung des 3-((3-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)propyl)-dimethylammonio)-propan-1-sulfonats

*tert*-Butyl(3-(dimethylamino)propyl)(methyl)carbamat (1,11 g, 5,13 mmol) und 1,3-Propansulton (677  $\mu$ L, 7,70 mmol) wurden in trockenem DCM (25 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde für fünf Tage bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich ein perlmuttfarbener Feststoff bildete. Das Lösungsmittel wurde weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt und der Überschuss 1,3-Propansulton durch mehrmaliges Waschen mit trockenem THF abgetrennt. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und das Produkt lag als farbloser Feststoff vor.

Ausbeute: 81%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 4,79 (D<sub>2</sub>O); 3,55 – 3,51 (m, 2H, H-7); 3,42 – 3,35 (m, 4H, H-3 und H-5); 3,16 (s, 6H, H-11 und H-12); 3,02 (t, 2H, J = 7,2 Hz, H-9), 2,91 (s, 3H, H-1); 2,29 – 2,21 (m, 2H, H-8), 2,12 – 2,04 (m, 2H, H-4) und 1,50 (s, 9H, H-17, H-18 und H-19).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  [ppm] = 157,6 (C-13); 81,8 (C-16); 62,3 (C-5); 62.0 (C-7); 50,6 (C-11 und C-12); 47,2 (C-9); 45.0 (C-3); 33,8 (C-1); 27,7 (C-17, C-18 und C-19); 20,8 (C-4) und 18,2 (C-8).

ESI-MS: (m/z) ber. für C<sub>14</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S  $(M + H)^+$  339,1948, gef. 339,1955.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2973; 2925; 1679 (C=O); 1199 (S=O); 1161 (C-O); 1034 (S=O), 605 und 524.

## 7.4.3 Darstellung des 3-(Dimethyl(3-(methylamino)propyl)ammonio)propan-1-sulfonats

3-((3-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)propyl)dimethylammonio)-propan-1-sulfonat (435 mg, 1,29 mmol) wurde in Reinstwasser (13 mL) gelöst und das Reaktionsgefäß mit Stickstoff gespült. Anschließend wurde die Lösung für 90 Minuten in der Mikrowelle auf 135 °C erhitzt. Nach Entfernen des Wassers wurde das Rohprodukt in MeOH (8 mL) gelöst, mit Amberlyst A26 versetzt und vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde das Amberlyst abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Zur vollständigen Trocknung wurde der Rückstand in wenig Reinstwasser aufgenommen und lyophilisiert. Das Produkt lag als farbloser, stark hygroskopischer Feststoff vor.

Ausbeute: 88%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 4,79 (D<sub>2</sub>O); 3,52 – 3,48 (m, 2H, H-7); 3,41 – 3,37 (m, 2H, H-5); 3,13 (s, 6 H, H-11 und H-12); 3,00 (t, 2H, J = 7,1 Hz, H-9); 2,76 – 2,72 (m, 2H, H-3); 2,42 (s, 3H, H-1); 2,27 – 2,19 (m, 2H, H-8) und 2,06 – 1,99 (m, 2H, H-4).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 62,2 (C-7); 61,9 (C-5); 50,7 (C-11 und C-12); 47,1 (C-9); 46,6 (C-3); 34,1 (C-1); 21,2 (C-4) und 18,1 (C-8).

ESI-MS: (m/z) ber. für C<sub>9</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S  $(M + H)^+$  239,1424, gef. 239,1430.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3432; 3034; 2968; 1164; 1032 (S=O), 601 und 521.

#### 7.4.4 Darstellung des tert-Butyl-bis(3-(dimethylamino)propyl)carbamats

3,3'-Iminobis-N,N-dimethylpropylamin (891  $\mu$ L, 4,00 mmol) und TEA (1,6 mL, 11,54 mmol) wurden in trockenem DCM (12 mL) gelöst und in einem Eisbad abgekühlt. Im Anschluss wurde Di-*tert*-butyldicarbonat (1 mL, 4,35 mmol) in trockenem DCM (2 mL) gelöst und bei einer Temperatur unter 3 °C langsam hinzugetropft. Die Reaktionsmischung wurde für weite-re 90 Minuten bei 1 °C und über Nacht (15 Stunden) bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die organische Phase mit gesättigter NaCl, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und H<sub>2</sub>O (je 5 mL) extrahiert, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt lag in Form eines hellgelben Öls vor.

Ausbeute: 68%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7,26 ppm (CDCl<sub>3</sub>); 3,24 – 3,17 (m, 4H, H-2 und H-8); 2,25 (t, 4H, J = 7,4 Hz, H-4 und H-10); 2,21 (s, 12H, H-6, H-7, H-12 und H-13); 1,72 – 1,65 (m, 4H, H-3 und H-9) und 1,45 (s, 9H, H-18, H-19 und H-20).

## 7.4.5 Darstellung des 3,3'-((((*tert*-Butoxycarbonyl)azadiyl)bis(propan-3,1diyl))bis(dimethylammoniodiyl))bis(propan-1-sulfonats)

*tert*-Butyl-bis(3-(dimethylamino)propyl)carbamat (500 mg, 1,74 mmol) und 1,3-Propansulton (459 μL, 5,22 mmol) wurden in trockenem DCM (20 mL) gelöst. Nach 24 Stunden hatte sich ein farbloser Feststoff gebildet und die entstandene Suspension war so dickflüssig, dass erneut trockenes DCM (20 mL) hinzugefügt wurde. Die Reaktionsmischung wurde weitere drei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt und der Überschuss 1,3-Propansulton durch mehrmaliges Waschen mit trockenem THF abgetrennt. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und das Produkt lag als farbloser Feststoff vor.

Ausbeute: 91%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 4,79 (D<sub>2</sub>O); 3,55 – 3,51 (m, 4H, H-6 und H-14); 3,40 – 3,36 (m, 8H, H-2, H-4, H-10 und H-12); 3,16 (s, 12H, H-18, H-19, H-20 und H-21); 3,02 (t, 4H, J = 7,1 Hz, H-8 und H-16); 2,27 – 2,21 (m, 4H, H-7 und H-15); 2,13 – 2,05 (m, 4H, H-3 und H-11) und 1,52 (s, 9H, H-26, H-27 und H-28).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 157,1 (C-22); 82,3 (C-25); 62,2 (C-4, C-6, C-12 und C-14); 50,8 (C-18, C-19, C-20 und C-21); 47,2 (C-8 und C-16); 40,3 (C-2 und C-10); 27,7 (C-26, C-27 und C-28); 22,7 (C-3 und C-11) und 18,2 (C-7 und C-15).

ESI-MS: (m/z) ber. für C<sub>21</sub>H<sub>46</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>  $(M + H)^+$  532,2721, gef. 532,2741.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3452; 3038; 2974; 1676 (C=O), 1157 (C-O); 1033 (S=O), 602 und 521.

## 7.4.6 Darstellung des 3,3'-((Azadiylbis(propan-3,1-diyl))bis(dimethylammoniodiyl))bis-(propan-1-sulfonats)

3,3'-((((*tert*-Butoxycarbonyl)azanediyl)bis(propan-3,1-diyl))bis(dimethylammoniodiyl))bis-(propan-1-sulfonat) (783 mg, 1,47 mmol) wurde in Reinstwasser (14,7 mL) gelöst. Das Reaktionsgefäß wurde mit Stickstoff gespült und die Lösung wurde für 90 Minuten in der Mikrowelle auf 135 °C erhitzt. Nach Lyophilisation wurde das Produkt in MeOH (10 mL) gelöst und über Nacht in Gegenwart von Amberlyst A 26 gerührt. Nach Abfiltrieren des Amberlyst wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand nach Zugabe von wenig Reinstwasser erneut lyophilisiert. Das Produkt lag in Form eines hellgelben, schaumartigen Feststoffes vor.

Ausbeute: 71%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 4,79 (D<sub>2</sub>O); 3,55 – 3,51 (m, 4H, H-4 und H-12); 3,44 – 3,39 (4H, m, H-6 und H-14); 3,16 (s, 12 H, H-18, H-19, H-20 und H-21); 3,03 (t, 4H, J = 7,1 Hz, H-8 und H-16); 2,77 – 2,74 (m, 4H, H-2 und H-10); 2,30 – 2,22 (m, 4H, H-7 und H-15) und 2,07 – 1,99 (m, 4H, H-3 und H-11).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 62,2 (C-4 und C-12); 62,00 (C-6 und C-14); 50,7 (C-18, C-19, C-20 und C-21); 47,2 (C-8 und C-16); 44,9 (C-2 und C-10); 21,7 (C-7 und C-15) und 18,1 (C-3 und C-11).

ESI-MS: (m/z) ber. für C<sub>16</sub>H<sub>38</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>  $(M + H)^+$  432,2197, gef. 432,2216.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3434; 3038; 2968; 2824; 1167; 1033 (S=O), 602 und 521.

## 7.4.7 Darstellung des 1-((3-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)dimethylammonio)hex-5-en-3-sulfonats

*tert*-Butyl(3-(dimethylamino)propyl)(methyl)carbamat (434 mg, 2,01 mmol) und 3-Allyl-1,2oxathiolan-2,2-dioxid (442 mg, 2,72 mmol) wurden in trockenem DCM (20 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde für fünf Tage bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich ein perlmuttfarbener Feststoff bildete. Das Lösungsmittel wurde weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt und der Überschuss 3-Allyl-1,2-oxathiolan-2,2-dioxid durch mehrmaliges Waschen mit trockenem THF abgetrennt. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und das Produkt lag als farbloser Feststoff vor.

Ausbeute: 83%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 5,98 – 5,87 (m, 1H, H-14); 5,31 – 5,22 (m, 2H, H-15); 4,79 (D<sub>2</sub>O); 3,67 – 3,60 (m, 1H, H-7a); 3,55 – 3,31 (m, 5H, H-3, H-5 und H-7b); 3,14 (s, 6H, H-11 und H-12); 3,04 – 2,98 (m, 1H, H-9), 2,91 (s, 3H, H-1); 2,79 – 2,72 (m, 1H, H-13a); 2,42 – 2,36 (m, 1H, H-13b); 2,26 – 2,14 (m, 2H, H-8), 2,08 – 2,03 (m, 2H, H-4) und 1,50 (s, 9H, H-20, H-21 und H-22).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 157,1 (C-16); 134,2 (C-14); 118,4 (C-15); 81,8 (C-19); 61,6 (C-5 und C-7); 56,5 (C-9); 50,8 (C-11 und C-12); 45,3 (C-3); 34,0 (C-13); 33,7 (C-1); 27,7 (C-20, C-21 und C-22); 22,2 (C-8) und 20,8 (C-4).

ESI-MS: (m/z) ber. für C<sub>17</sub>H<sub>35</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S  $(M + H)^+$  379,2261, gef. 379,2284.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2976; 1679 (C=O); 1199 (S=O); 1172 (C-O); 1028 (S=O), 602 und 537.

## 7.4.8 Darstellung des 1-(Dimethyl(3-methylamino)propyl)ammonio)hex-5en-3-sulfonats

1-((3-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)dimethylammonio)hex-5-en-3-sulfonat (568 mg, 1,50 mmol) wurde in Reinstwasser (15 mL) gelöst. Das Reaktionsgefäß wurde mit Stickstoff gespült und die Lösung wurde für 90 Minuten in der Mikrowelle auf 135 °C erhitzt. Nach Lyophilisation wurde das Produkt in MeOH (10 mL) gelöst und über Nacht in Gegenwart von Amberlyst A 26 gerührt. Nach Abfiltrieren des Amberlyst wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand nach Zugabe von wenig Reinstwasser erneut lyophilisiert. Das Produkt lag in Form eines hellgelben, schaumartigen Feststoffes vor.

Ausbeute: 90%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 5,97 – 5,87 (m, 1H, H-14); 5,31 – 5,23 (m, 2H, H-15); 4,79 (D<sub>2</sub>O); 3,68 – 3,60 (m, 1H, H-7a); 3,54 – 3,47 (m, 1H, H-7b); 3,41 – 3,37 (m, 2H, H-5); 3,13 (s, 6H, H-11 und H-12); 3,04 – 2,98 (m, 1H, H-9); 2,79 – 2,72 (m, 3H, H-3 und H-13a); 2,43 (s, 3H, H-1); 2,42 – 2,36 (m, 1H, H-13b); 2,27 – 2,11 (m, 2H, H-8) und 2,06 – 1,98 (m, 2H, H-4).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 134,2 (C-14); 118,4 (C-15); 61, 7 (C-5); 61,5 (C-7); 56,5 (C-9); 50,7 (C-11 und C-12); 46,7 (C-3); 34,2 (C-1); 34,0 (C-13); 22,2 (C-8) und 21,3 (C-4).

ESI-MS: (m/z) ber. für C<sub>12</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S  $(M + H)^+$  279,1737, gef. 279,1751.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3453; 3028; 2942; 2847; 2793; 1173; 1028 (S=O), 601 und 532.

#### 7.4.9 Darstellung des 11-Brom-N-methylundecanamids

11-Bromundecansäure (5,00 g, 18,85 mmol) wurde in trockenem DCM (100 mL) gelöst und innerhalb von fünf Minuten wurde eine Lösung aus Oxalylchlorid (1,7 mL, 19,82 mmol) in trockenem DCM (10 mL) zugetropft. Es wurde zu Beginn eine Gasentwicklung beobachtet und die Reaktionsmischung wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel und überschüssiges Oxalylchlorid im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in trockenem Et<sub>2</sub>O (12 mL) gelöst. Die aktivierte Säure wurde zu einer im Eisbad gekühlten wässrigen Methylaminlösung (40% ig, 4,3 mL, 49,80 mmol) getropft, wobei sich sofort ein farbloser Niederschlag bildete. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit H<sub>2</sub>O (50 mL) gewaschen. Das Produkt lag nach Trocknung im Vakuum als farbloser Feststoff vor.

Ausbeute: 89%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7,26 (CDCl<sub>3</sub>); 5,82 (brs, 1H, NH); 3,40 (t, 2H, J = 6,9 Hz, H-2); 2,82 (s, 3H, H-14); 2,21 (t, 2H, J = 7,6 Hz, H-11); 1,88 – 1,81 (m, 2H, H-3); 1,65 – 1,60 (m, 2H, H-10); 1,43 – 1,38 (m, 2H, H-4) und 1,34 – 1,25 (m, 10H, H-5 bis H-9).

#### 7.4.10 Darstellung des 11-(Dimethylamino)-N-methylundecanamids

11-Brom-N-methylundecanamid (1,39 g, 5,00 mmol) und eine Lösung aus Dimethylamin in EtOH (33 Gew.%, 9 mL, 50,40 mmol) wurden für zwei Stunden in der Mikrowelle auf 60 °C erhitzt. Das Lösungsmittel und überschüssiges Dimethylamin wurden im Vakuum entfernt und das Hydrobromid des Produkts wurde in Form eines hellgelben Feststoffes erhalten. Der Feststoff wurde in MTBE (10 mL) suspendiert und mit 1 M NaOH (5 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt lag in Form eines hellgelben Feststoffes vor.

Ausbeute: 91%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7,26 (CDCl<sub>3</sub>); 5,50 (brs, 1H, NH); 2,80 (s, 3H, H-15); 2,33 (t, 2H, J = 7,7 Hz, H-3); 2,29 (s, 6H, H-1 und H-16); 2,15 (t, 2H, J = 7,6 Hz, H-12); 1,65 – 1,57 (m, 2H, H-11); 1,53 – 1,46 (m, 2H, H-4) und 1,34 – 1,22 (m, 12H, H-5 bis H-10).

#### 7.4.11 Darstellung des N,N,N'-Trimethylundecan-1,11-diamins

LiAlH<sub>4</sub> (2 M in trockenem THF, 2,7 mL, 5,40 mmol) in trockenem THF (5 mL) wurde in einem Eisbad auf -2 °C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurde eine Lösung von 11-(Dimethylamino)-N-methylundecanamid (660 mg, 2,72 mmol) in trockenem THF (15 mL) langsam zugetropft. Während der Zugabe wurde die Lösung trüb. Nach Zugabe wurde die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt und im Anschluss unter Rückfluss für drei Stunden erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde im Anschluss auf 0 °C abgekühlt und vorsichtig mit H<sub>2</sub>O (205  $\mu$ L), 15% iger NaOH (205  $\mu$ L) und erneut H<sub>2</sub>O (615  $\mu$ L) gequencht, wobei die anorganischen Salze ausfielen. Die Suspension wurde für weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Um den Feststoff abzutrennen, wurde die Suspension zentrifugiert und der Feststoff mehrfach mit trockenem THF gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt lag in Form eines gelben Öls vor und wurde ohne weitere Aufarbeitung eingesetzt.

Ausbeute: 96% (Rohausbeute)



<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7,26 (CDCl<sub>3</sub>); 2,55 (t, 2H, J = 7,2 Hz, H-13); 2,43 (s, 3H, H-15); 2,23 (t, 2H, J = 7,4 Hz, H-3); 2,21 (s, 6H, H-1 und H-16); 1,51 – 1,43 (m, 4H, H-4 und H-12) und 1,34 – 1,23 (m, 14H, H-5 bis H-11).
## 7.4.12 Darstellung des *tert*-Butyl(11-(dimethylamino)undecyl(methyl)carbamats

Di-*tert*-butyldicarbonat (512  $\mu$ L, 2,23 mmol) und Amberlyst 15 (76 mg, 15 Gew.%) wurden in einem Rundkolben vorgelegt. Im Anschluss wurde N,N,N'-Trimethylundecan-1,11-diamin (505 mg, 2,21 mmol) hinzugetropft und es wurde eine starke Gasentwicklung beobachtet. Die Reaktionsmischung wurde 15 Minuten gerührt, anschließend mit DCM (22 mL) verdünnt und das Amberlyst abfiltriert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (DCM/ Methanol/ TEA) gereinigt. Das Produkt lag in Form eines hellgelben Öls vor.

Ausbeute: 57%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7,26 (CDCl<sub>3</sub>); 3,17 (t, 2H, J = 6,9 Hz, H-3); 2,82 (s, 3H, H-1); 2,27 (t, 2H, J = 7,6 Hz, H-13); 2,24 (s, 6H, H-15 und H-16); 1,52 – 1,46 (m, 4H, H-4 und H-12); 1,45 (s, 9H, H-21, H-22 und H-23) und 1,28 – 1.26 (m, 14H, H-5 bis H-11).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 156.0 (C-17); 79,2 (C-20); 77,2 (CDCl<sub>3</sub>); 60,0 (C-13); 48,7 (C-3); 45,5 (C-15 und C-16); 34,2 (C-1); 29,7 – 29,5 (C-5 bis C-11); 28,6 (C-21, C-22 und C-23); 27,8 – 27,6 (C-4 und C-12) und 26,9 (C-5 bis C-11).

ESI-MS: (m/z) ber. für C<sub>19</sub>H<sub>41</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  $(M + H)^+$  329,3163, gef. 329,3169.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2973; 2925; 2854; 1696 (C=O) und 1153 (C-O).

## 7.4.13 Darstellung des 3-((11-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)undecyl)dimethylammonio)-propan-1-sulfonats

*tert*-Butyl-(11-(dimethylamino)undecyl(methyl)carbamat (250 mg, 0,76 mmol) und 1,3-Propansulton (105  $\mu$ L, 1,17 mmol) wurden in trockenem DCM (10 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 11 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt und der Überschuss 1,3-Propansulton durch mehrmaliges Waschen mit trockenem THF abgetrennt. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und das Produkt lag als farbloser Feststoff vor.

Ausbeute: 77%



<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 4,79 (D<sub>2</sub>O); 3,50 – 3,47 (m, 2H, H-15); 3,35 – 3,32 (m, 2H, H-13); 3,24 – 3,25 (m, 2H, H-3); 3,12 (s, 6H, H-26 und H-27); 2,99 (t, 2H, J = 7,1 Hz, H-17); 2,84 (s, 3H, H-1); 2,26 – 2,20 (m, 2H, H-16); 1,79 – 1,77 (m, 2H, H-12); 1,57 – 1,53 (m, 2H, H-4); 1,46 (s, 9H, H-23, H-24 und H-25); 1,38 (m, 4H, H-10 und H-11); 1,33 (m, 8H, H-6 bis H-9) und 1,30 – 1,28 (m, 2H, H-5).

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 156,8 (C-19); 81,1 (C-22); 65,1 (C-13); 62,9 (C-15); 51,5 (C-26 und C-27); 49,4 (C-3); 48,2 (C-17); 34,5 (C-1); 29,9 – 29,3 (C-5 bis C-10); 28,8 (C-23, C-24 und C-25); 26,9 (C-4); 26,5 (C-12); 22, 8 (C-11) und 19,0 (C-16).

ESI-MS: (m/z) ber. für C<sub>22</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S  $(M + H)^+$  451,3200, gef. 451,3214.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3456; 2973; 2925; 2855; 1680 (C=O); 1165 (C-O); 1035 (S=O), 606 und 521.

### 7.4.14 Darstellung des 3-(Dimethyl(11-(methylamino)undecyl)ammonio)propan-1-sulfonats

3-((11-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)undecyl)dimethylammonio)-propan-1-sulfonat (600 mg, 1,33 mmol) wurde in Reinstwasser (13 mL) gelöst. Das Reaktionsgefäß wurde mit Stickstoff gespült und die Lösung wurde für 90 Minuten in der Mikrowelle auf 135 °C erhitzt. Das Wasser wurde durch Lyophilisation entfernt und das Produkt lag als farbloser, stark hygroskopischer Feststoff vor.

Ausbeute: 93%



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 4,79 (D<sub>2</sub>O); 3,51 – 3,46 (m, 2H, H-15); 3,36 – 3,32 (m, 2H, H-13); 3,12 (s, 6H, H-19 und H-20); 3,01 (t, 2H, J = 7,2 Hz, H-17); 2,95 – 2,91 (m, 2H, H-3); 2,63 (s, 3H, H-1); 2,28 – 2,20 (m, 2H, H-16); 1,81 – 1,77 (m, 2H, H-12); 1,69 – 1,61 (m, 2H, H-4); 1,39 (m, 4H, H-5 und H-11) und 1,33 (m, 10H, H-6 bis H-10).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 64,2 (C-13); 61,9 (C-15); 50,6 (C-19 und C-20); 49,5 (C-3); 47,3 (C-17); 33,0 (C-1); 28,4 – 28,1 (C-6 bis C-10); 26,0 (C-4); 25,7 – 25.4 (C-5 und C-11); 21,7 (C-12) und 18,1 (C-16).

ESI-MS: (m/z) ber. für  $C_{17}H_{39}N_2O_3S(M + H)^+$  351,2676, gef. 351,2689.

IR (neat):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2919; 2849; 1196 (S=O); 1036 (S=O), 603 und 526.

### 7.5 Dithiocarbamat-Bildung

Die Dithiocarbamat-Bildung wurde absorptionsspektroskopisch im Bereich von 230-400 nm verfolgt. Dazu wurden 1 mL einer 25 mM Lösung des Amins und 500  $\mu$ L einer 0,66 M Lösung CS<sub>2</sub> in MeOH angesetzt. Für die Referenzmessungen der Ausgangssubstanzen wurden je

10  $\mu$ L der Stammlösungen mit 1.5 mL MeOH in einer UV-Halbmikroküvette verdünnt und die Absorption gemessen. Zur Verfolgung der Dithiocarbamat-Bildung wurden 38  $\mu$ L der CS<sub>2</sub>-Lösung zur restlichen Aminlösung gegeben und die Absorption über einen Zeitraum von 40 bzw. 110 Minuten verfolgt. Dazu wurden 10  $\mu$ L der Reaktionsmischung nach unterschiedlichen Zeitintervallen mit 1,5 mL MeOH verdünnt und am Absorptionsspektrometer vermessen.

### 7.6 Ligandenaustauschversuche

Vor dem Ligandenaustausch wurden die QDQRs (1 nmol) drei Mal mit MeOH gefällt und bei 6.700 x g zentrifugiert. Der farblose Überstand wurde verworfen und die Nanopartikel in 2,5 mL *n*-Hexan aufgenommen. Des Weiteren wurden Verdünnungen der zwitterionischen Amine **8a**, **8b**, **9** und **16** (je 0,2 M) sowie des CS<sub>2</sub> (0,66 M) in MeOH angesetzt. Die Ligandenüberschüsse variierten zwischen 10.000 und 100.000 bezogen auf die Konzentration an Nanopartikeln, wobei das Verhältnis von Amin zu CS<sub>2</sub> 1:1 betrug. Zur Bildung der Dithiocarbamat-Liganden wurden die entsprechenden Mengen Amin und CS<sub>2</sub> auf ein Gesamtvolumen von 1 mL mit MeOH aufgefüllt und 15 Minuten (für die Amine **8a**, **8b** und **16**) bzw. 90 Minuten (für das Amin **9**) bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde die Ligandlösung zu den Nanopartikeln in *n*-Hexan gegeben und das Zweiphasensystem wurde 30 Minuten kräftig gerührt, bis die QDQRs aus der Reaktionslösung ausfielen. In manchen Fällen war eine verlängerte Reaktionszeit von bis zu sechs Stunden notwendig, um eine Fällung der Nanopartikel zu erreichen. Nach kurzer Zentrifugation (1 Minute bei 1.000 x g) wurden die nun farblosen organischen Phasen entfernt, die Nanopartikel im Stickstoffstrom vorsichtig getrocknet und anschließend in Reinstwasser (0,5 – 1 mL) aufgenommen.

### 7.7 Bestimmung der Photolumineszenz-Quantenausbeute

Die PLQY der Proben wurde als Absolutwert mit Hilfe einer Ulbricht-Kugel bestimmt. Die absolute PLQY ergibt sich unmittelbar aus dem Verhältnis der Anzahl der emittierten Photonen zur Anzahl der absorbierten Photonen:

$$PLQY = \frac{\Phi_{emi}}{\Phi_{abs}} \tag{2}$$

Die Anzahl der emittierten Photonen entspricht dem Integral des Probensignals im Emissionsspektrum. Die Anzahl der absorbierten Photonen hingegen ergibt sich aus der Differenz der Integrale des Lampensignals im Emissionsspektrum des Lösungsmittels und des Lampensignals im Emissionsspektrum der Probe.

Für die Bestimmung der PLQY wurde zunächst ein Absorptionsspektrum der Probe gemessen und anhand dessen die optische Dichte im ersten Absorptionsmaximum auf den Wert 0,1 eingestellt. Das Volumen der Probenlösung betrug dabei immer 3 mL. Die Anregungswellenlänge für die Emissionsmessung entsprach der Wellenlänge, bei der die Absorption der Probe erneut einen Wert von 0,1 aufwies. Der Eintrittsspalt des Anregungsmonochromators wurde manuell auf 6 nm eingestellt. Der Eintrittsspalt des Emissionsmonochromators wurde manuell so eingestellt, dass die Intensität des Lampensignals während der Referenzmessung (reines Lösungsmittel ohne Probe) zwischen 1,75 und 2 Millionen counts/Sekunde lag. Anschließend wurde die Probe mit denselben Einstellungen vermessen.

### 7.8 Messung der Fluoreszenzabklingkurven

Zur Messung der Fluoreszenzabklingkurven wurden 10  $\mu$ L einer 2  $\mu$ M QDQR-Lösung mit 990  $\mu$ L Reinstwasser bzw. PBS (pH 7,4) verdünnt (Endkonzentration: 20 nM). Nach 15 Minuten wurden die Fluoreszenzabklingkurven der Proben gemessen. Die Fluoreszenzabklingzeit wurde durch den biexponentiellen Zerfall (3) mit Hilfe des FluoFits und die durchschnittliche Fluoreszenzabklingzeit <  $\tau$  > mit Hilfe von Gleichung (4) bestimmt.

$$I(t) = A_1 e^{t/\tau_1} + A_2 e^{t/\tau_2}$$
(3)

$$<\tau>=\frac{A_{1}\tau_{1}+A_{2}\tau_{2}}{A_{1}+A_{2}}$$
(4)

### 7.9 Stabilitätsmessungen

Für die Stabilitätsmessungen wurden folgende pH-Puffer angesetzt:

#### Citrat-Puffer pH 5,1

Citronensäure (960 mg, 5 mmol) wurde in einem 50 mL Maßkolben abgewogen, in Reinstwasser (ca. 40 mL) gelöst und mit Hilfe einer 1 M NaOH auf einen pH Wert von 5,1 eingestellt. Anschließend wurde bis zur Markierung mit Reinstwasser aufgefüllt (Konzentration: 0,1 M).

### Phosphat-Puffer pH 7,4

PBS-Puffer mit einem pH Wert von 7,4 wurde kommerziell erworben.

#### Borat-Puffer pH 9,0

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (62 mg, 1 mmol) wurde in einem 50 mL Maßkolben abgewogen, in Reinstwasser (ca. 40 mL) gelöst und mit Hilfe einer 1 M NaOH auf einen pH Wert von 9,0 eingestellt. Anschließend wurde bis zur Markierung mit Reinstwasser aufgefüllt (Konzentration: 20 mM).

#### Phosphat-Puffer pH 11,5

 $K_2$ HPO<sub>4</sub> (8,71 g, 50 mmol) wurde in einem 50 mL Maßkolben abgewogen und in wenig Reinstwasser gelöst. Anschließend wurde bis zur Markierung mit Reinstwasser aufgefüllt (Konzentration: 1 M). Von dieser Lösung wurden 500 µL mit 49,5 mL Reinstwasser verdünnt (Konzentration 0,01 M) und mit Hilfe einer 1 M NaOH wurde ein pH Wert von 11,5 eingestellt. Des Weiteren wurden für die Stabilitätsmessungen folgende Medien verwendet: 10 mM HEPES, DMEM (ohne Phenolrot), 10% FCS in DMEM, PBS und 1% BSA in PBS.

Für die Stabilitätsmessungen wurden 990  $\mu$ L des pH-Puffers oder Mediums in einer Quarzküvette vorgelegt und 10  $\mu$ L der Nanopartikellösung hinzugefügt (Endkonzentration: 20 nM). Nach einer Inkubationszeit von zwei Minuten wurde die Fluoreszenzintensität der Proben innerhalb der ersten zwei Stunden alle 20 Minuten, im weiteren Verlauf des ersten Tages stündlich und im Anschluss daran alle 24 Stunden gemessen. Insgesamt wurde die Fluoreszenzintensität über einen Zeitraum von einer Woche verfolgt. Die Messungen wurden bei einer Anregungswellenlänge von 350 nm durchgeführt.

### 7.10 Zellkulturexperimente

Die Zellkulturexperimente wurden von Charis Schlundt (CAN GmbH) und die anschließenden Aufnahmen am Konfokalmikroskop von Dr. Johannes Ostermann (CAN GmbH) durchgeführt. Das Kultivierungsmedium bestand aus 10% FCS in DMEM mit je 1% PenStrep und Natriumpyruvat. Die Inkubation der Zellen fand stets bei 37 °C und einem CO<sub>2</sub>-Gehalt von 5% statt.

#### 7.10.1 Toxizitätstests

Für die Toxizitätstests wurden A549-Zellen in Kultivierungsmedium auf einer 96-Well Platte ausplattiert (10.000 Zellen pro Well) und über Nacht inkubiert. Nach Absaugen des Mediums wurden die zu testenden Proben (verdünnt mit Kultivierungsmedium, 100 μL pro Well) in unterschiedlichen Konzentrationen aufgetragen und für 16 Stunden inkubiert. Im Anschluss wurden die Proben entfernt und die Zellen mit 100 μL Färbelösung (Endkonzentration: 75 nM MitoTracker<sup>®</sup> Deep Red und 2,5 μg/ml Hoechst 33342 in DMEM mit 10% FCS) versetzt und weitere 30 Minuten inkubiert. Zur Fixierung der Zellen wurde die Färbelösung entfernt und 100 μL einer warmen Fixierlösung (3,7% Formaldehyd in Dulbecco`s PBS, DPBS) hinzugegeben. Nach 20 Minuten wurde die Fixierlösung abgesaugt und zwei Mal mit DPBS gewaschen, bevor die Proben am Cellomics Array Scan vermessen wurden.

#### 7.10.2 Zellaufnahmeversuche mit A549-Zellen

Für die Zellaufnahmeversuche wurden A549-Zellen in Kultivierungsmedium auf einem 8-Well Labtek ausplattiert (20.000 Zellen pro Well) und 24 bzw. 48 Stunden inkubiert. Das Medium wurde abgesaugt und die zu untersuchenden Proben (verdünnt mit DMEM und ent-sprechend mit oder ohne 10% FCS, Konzentration: 100 nM) hinzugegeben. Im Anschluss wurden die Zellen für vier bzw. 16 Stunden inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde das Medium entfernt, die Zellen mit einer Färbelösung (Endkonzentration: 2,5  $\mu$ g/ml Hoechst 33342 in DMEM, 200  $\mu$ L pro Well) versetzt und erneut für 30 Minuten inkubiert. Die Fixierung der Zellen erfolgte ebenfalls mit einer 3,7% igen Formaldehyd-Lösung in DPBS für 20 Minuten. Nach zweimaligem Waschen der Zellen mit DPBS wurden die Proben am Konfokalmikroskop vermessen.

### 7.11 In vivo Experimente

Die *in vivo* Experimente wurden von Alexander Fischer am Universitätsklinikum Eppendorf in Hamburg durchgeführt. 12 Wochen alte FVB Mäuse wurden durch Inhalation von 4% igem Isofluran narkotisiert. Während der Experimente wurde die Narkose durch Inhalation von 1-1,5% igem Isofluran aufrechterhalten.

### 7.11.1 Intravital-Mikroskopie

Unter Narkose wurden die Leber und der Darmtrakt der Maus freigelegt und an einem Deckgläschen befestigt. Um eine Hypothermie der Maus zu vermeiden, wurden die Experimente in einer klimatisierten Kammer bei einer Temperatur von 32 °C durchgeführt. Die Visualisierung der Nanopartikelaufnahme erfolgte mit Hilfe eines Konfokalmikroskops, das mit einem resonanten Scanner (Nikon A1R) ausgestattet war. Der Maus wurden intravenös 150  $\mu$ L einer 10  $\mu$ M QDQR-Lösung in steriler, physiologischer NaCl verabreicht und die Aufnahme der Nanopartikel wurde mit einer Abtastrate von 30 Bildern pro Sekunde verfolgt. Zusätzlich wurden Bilder der Leber vor und nach Injektion der QDQRs aufgenommen. Zur Markierung der Makrophagen wurden grün-emittierende, etwa 1  $\mu$ m große FluoSpheres<sup>®</sup> aus Polystyrol (~ 10<sup>8</sup> Partikel/ Maus) 15 Minuten nach Injektion der QDQRs intravenös verabreicht.

Um die Aufnahme in andere Gewebe zu untersuchen wurde die Maus 15 Minuten nach Injektion der QDQRs mit 4% igem Paraformaldehyd in PBS perfundiert. Nach Entnahme von Lunge, Milz, Niere und interskapularem, braunen Fettgewebe wurden die Gewebe sofort mikroskopisch analysiert.

#### 7.11.2 Immunohistologie

Für die Immunfärbung wurden nach der Perfusion der Maus 200 µm dicke Leberschnitte mit Hilfe eines VT1000S Mikrotom (Leica) angefertigt. Die Schnitte wurden mit PBS gewaschen und zur Reduktion der Autofluoreszenz für 30 Minuten mit 5% Glycin in PBS inkubiert. Im Anschluss wurden die Schnitte für zwei Stunden in 3% BSA und 0,3% Triton X-100 (jeweils in PBS) blockiert und permeabilisiert. Nach erneutem Waschen der Schnitte wurden diese für 48 Stunden bei 4 °C mit dem Primärantikörper (Ratte-Anti-Maus CD31, 1:500 in 1% BSA) inkubiert. Daraufhin wurde die Schnitte drei Mal für je 10 Minuten mit PBS gewaschen und über Nacht bei 4 °C mit dem Sekundärantikörper (anti-Ratte Cy5, 1:500 in 1% BSA) inkubiert. Die Schnitte wurden erneut drei Mal mit PBS gewaschen und die Zellkerne mit DAPI angefärbt. Die Analyse der Schnitte erfolgte mit Hilfe eines Konfokalmikroskops (Nikon A1R).

## Abbildungen

Abbildung 1:

	durch die Aufspaltung in Molekülorbitale. (Darstellung in Anlehnung an <sup>28</sup> .)6
Abbildung 2:	Absorptions- und normierte Emissionsspektren unterschiedlich großer CdSe- Nanopartikel. Der Übersichtlichkeit halber sind die Spektren vertikal verschoben. (Geänderte Abbildung nach <sup>35</sup> .)
Abbildung 3:	Schematische Darstellung der Bandstrukturen der unterschiedlichen Typen von Kern/Schale-Nanopartikeln. Die oberen und unteren Kanten der Rechtecke repräsentieren die Lage der Valenz- und Leitungsbandkante im Kern (dargestellt in Rot) und der Schale (dargestellt in Blau, Hellblau bzw. Grün). (Abbildung in Anlehnung an <sup>12</sup> .)
Abbildung 4:	Strukturformel eines Carboxy-, Phospho- und Sulfobetains (R = organischer Rest)
Abbildung 5:	Mögliche Aufnahmepfade in die Zelle. (Geänderte Abbildung nach <sup>118</sup> .)23
Abbildung 6:	Zielstruktur der zwitterionischen Dithiocarbamat-Precursor
Abbildung 7:	Synthese des N,N,N'-Trimethylundecan-1,11-diamins (5) ausgehend von 11- Bromundecansäure (2) in drei Stufen
Abbildung 8:	Syntheseschema zur Bildung der zwitterionischen Amine 8a und b mit einer Propyl- (C3-ZW) bzw. Undecylkette (C11-ZW) als Spacer30
Abbildung 9:	Vergleich der <sup>1</sup> H-NMR-Spektren der zwitterionischen Verbindung 8a (C3- ZW, blau) in D <sub>2</sub> O und des Ausgangsmaterials N,N,N'-Trimethylpropan-1,3- diamin (rot) in CDCl <sub>3</sub>
Abbildung 10:	Strukturformel des Liganden Bis-C3-ZW (9) mit zwei zwitterionischen Kopfgruppen

Entstehung der Energiebänder mit größer werdender Anzahl an Atomen

- Abbildung 17: Fotos zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Ligandenaustauschs von QDQRs mit einem 25.000-fachen Überschuss C3-ZW-DTC unter Weißlicht und UV-Licht. Zwei-Phasen-System vor dem Ligandenaustausch (A), nach 30 Minuten Reaktionszeit (B) und nach Überführung der QDQRs in Wasser (C).42
- Abbildung 18: Absorptions- (A) und Emissionsspektren (B) der QDQRs vor und nach Phasentransfer mit verschiedenen Überschüssen C3-ZW-DTC 17a. Einsatz in A: Ausschnitt des ersten Absorptionsmaximums in höherer Vergrößerung. .43

- Abbildung 23: TEM-Aufnahmen der grün-emittierenden QDQRs in *n*-Hexan (A) und nach Phasentransfer mit Ligand 17a (B) bzw. Ligand 17b (C) in Wasser......51
- Abbildung 24: TEM-Aufnahmen der rot-emittierenden QDQRs in *n*-Hexan (A) und nach Phasentransfer mit Ligand 17a (B) bzw. Ligand 17b (C) in Wasser......52
- Abbildung 25: Normierte Fluoreszenzabklingkurven der grün- (A), gelb- (B) und rotemittierenden (C) QDQRs in *n*-Hexan sowie nach dem Phasentransfer mit den zwitterionischen Liganden 17a und 17b in Wasser bzw. PBS.......54

- Abbildung 28: Absolute Photolumineszenz-Quantenausbeuten der QDQRs-17a und QDQRs-17b in Anwesenheit von BSA und FCS im Verlauf einer Woche...60

- Abbildung 31: Quantifizierung der Toxizitätstests der QDQRs-17a und QDQRs-17b sowie des Cadmiumchlorids. (A) Anzahl der Zellen, (B) Intensität des Zellkernfarbstoffs Hoechst 33342, (C) Größe der Zellkerne und (D) Transmembranpotential der Mitochondrien. Anmerkung: Da

- Abbildung 36: 0,8% iges Agarose-Gel unter UV-Licht nach 30 Minuten Laufzeit bei 90 V in TAE-Puffer. Die Kammern 1, 2, 5 und 6 sind mit QDQRs-17a, die Kammern 3, 4, 7 und 8 mit QDQRs-17b befüllt. Die Konzentration der Proben beträgt

- Abbildung 38: Mikroskopische Aufnahme eines Leberausschnittes nach Injektion von QDQRs-17a und FluoSpheres<sup>®</sup>. Fluoreszenz der FluoSpheres<sup>®</sup> (A), Überlagerung der Fluoreszenz von FluoSpheres<sup>®</sup> und QDQRs-17a (B) und Fluoreszenz der QDQRs-17a (C). Die Pfeile in (B) markieren die Strukturen, in denen sich sowohl FluoSpheres<sup>®</sup> als auch QDQRs-17a befinden......77

### Literaturverzeichnis

- 1. www.statnano.com, zuletzt aufgerufen am 30.11.2015.
- 2. Goesmann, H.; Feldmann, C. Nanopartikuläre Funktionsmaterialien. *Angew. Chemie* **2010**, *122*, 1402–1437.
- 3. Loth, S.; Baumann, S.; Lutz, C. P.; Eigler, D. M.; Heinrich, A. J. Bistability in Atomic-Scale Antiferromagnets. *Science* **2012**, *335*, 196–199.
- 4. Dai, X.; Zhang, Z.; Jin, Y.; Niu, Y.; Cao, H.; Liang, X.; Chen, L.; Wang, J.; Peng, X. Solution-Processed, High-Performance Light-Emitting Diodes Based on Quantum Dots. *Nature* **2014**, *515*, 96–99.
- 5. Rühle, S.; Shalom, M.; Zaban, A. Quantum-Dot-Sensitized Solar Cells. *ChemPhysChem* **2010**, *11*, 2290–2304.
- Eustis, S.; El-Sayed, M. A. Why Gold Nanoparticles Are More Precious than Pretty Gold: Noble Metal Surface Plasmon Resonance and Its Enhancement of the Radiative and Nonradiative Properties of Nanocrystals of Different Shapes. *Chem. Soc. Rev.* 2006, *35*, 209–217.
- 7. Barreto, J. A.; O'Malley, W.; Kubeil, M.; Graham, B.; Stephan, H.; Spiccia, L. Nanomaterials: Applications in Cancer Imaging and Therapy. *Adv. Mater.* **2011**, *23*, H18–H40.
- 8. Wilson, R. The Use of Gold Nanoparticles in Diagnostics and Detection. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 2028–2045.
- 9. Taupitz, M.; Schmitz, S.; Hamm, B. Superparamagnetische Eisenoxidpartikel: Aktueller Stand Und Zukünftige Entwicklungen. *Fortschr. Röntgenstr.* **2003**, *175*, 752–765.
- Mekis, I.; Talapin, D. V.; Kornowski, A.; Haase, M.; Weller, H. One-Pot Synthesis of Highly Luminescent CdSe/CdS Core–Shell Nanocrystals via Organometallic and "Greener" Chemical Approaches. J. Phys. Chem. B 2003, 107, 7454–7462.
- Talapin, D. V; Mekis, I.; Go, S.; Kornowski, A.; Benson, O.; Weller, H. CdSe/CdS/ZnS and CdSe/ZnSe/ZnS Core-Shell-Shell Nanocrystals. J. Phys. Chem. B 2004, 108, 18826–18831.
- 12. Reiss, P.; Protière, M.; Li, L. Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. *Small* **2009**, *5*, 154–168.
- Kim, S.; Fisher, B.; Eisler, H.-J.; Bawendi, M. Type-II Quantum Dots: CdTe/CdSe(Core/Shell) and CdSe/ZnTe(Core/Shell) Heterostructures. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 11466–11467.

- 14. Resch-Genger, U.; Grabolle, M.; Cavaliere-Jaricot, S.; Nitschke, R.; Nann, T. Quantum Dots versus Organic Dyes as Fluorescent Labels. *Nat. Methods* **2008**, *5*, 763–775.
- Boldt, K.; Kirkwood, N.; Beane, G. A.; Mulvaney, P. Synthesis of Highly Luminescent and Photo-Stable, Graded Shell CdSeCd<sub>x</sub>Zn<sub>1-x</sub>S Nanoparticles by In Situ Alloying. *Chem. Mater.* 2013, 25, 4731–4738.
- Chen, O.; Zhao, J.; Chauhan, V. P.; Cui, J.; Wong, C.; Harris, D. K.; Wei, H.; Han, H.-S.; Fukumura, D.; Jain, R. K.; *et al.* Compact High-Quality CdSe-CdS Core-Shell Nanocrystals with Narrow Emission Linewidths and Suppressed Blinking. *Nat. Mater.* 2013, *12*, 445–451.
- Talapin, D. V.; Koeppe, R.; Götzinger, S.; Kornowski, A.; Lupton, J. M.; Rogach, A. L.; Benson, O.; Feldmann, J.; Weller, H. Highly Emissive Colloidal CdSe/CdS Heterostructures of Mixed Dimensionality. *Nano Lett.* 2003, *3*, 1677–1681.
- Yu, W. W.; Qu, L.; Guo, W.; Peng, X. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. *Chem. Mater.* 2003, 15, 2854– 2860.
- 19. Hildebrandt, N. Biofunctional Quantum Dots: Controlled Conjugation for Multiplexed Biosensors. *ACS Nano* **2011**, *5*, 5286–5290.
- 20. Chan, W. C.; Nie, S. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science* **1998**, *281*, 2016–2018.
- 21. Medintz, I. L.; Uyeda, H. T.; Goldman, E. R.; Mattoussi, H. Quantum Dot Bioconjugates for Imaging, Labelling and Sensing. *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 435–446.
- 22. Michalet, X.; Pianud, F. F.; Bentolila, L. A.; Tsay, J. M.; Doose, S.; Li, J. J.; Sundaresan, G.; Wu, A. M.; Gambhir, S. S.; Weiss, S. Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics. *Science* **2005**, *307*, 538–545.
- 23. Jokerst, J. V; Lobovkina, T.; Zare, R. N.; Gambhir, S. S. Nanoparticle PEGylation for Imaging and Therapy. *Nanomedicine* **2011**, *6*, 715–728.
- 24. Karakoti, A. S.; Das, S.; Thevuthasan, S.; Seal, S. PEGylated Inorganic Nanoparticles. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2011**, *50*, 1980–1994.
- 25. Zhang, F.; Liu, M.; Wan, H. Discussion about Several Potential Drawbacks of PEGylated Therapeutic Proteins. *Biol. Pharm. Bull.* **2014**, *37*, 335–339.
- 26. García, K. P.; Zarschler, K.; Barbaro, L.; Barreto, J. A.; O'Malley, W.; Spiccia, L.; Stephan, H.; Graham, B. Zwitterionic-Coated "Stealth" Nanoparticles for Biomedical Applications: Recent Advances in Countering Biomolecular Corona Formation and Uptake by the Mononuclear Phagocyte System. *Small* **2014**, *10*, 2516–2529.
- Liu, W.; Choi, H. S.; Zimmer, J. P.; Tanaka, E.; Frangioni, J. V; Bawendi, M. Compact Cysteine-Coated CdSe(ZnCdS) Quantum Dots for in Vivo Applications. J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 14530–14531.

- 28. Salcher, A. Correlation between Physicochemical Properties of Quantum Dots and Their Cellular Response, Universität Hamburg, 2009.
- 29. Hollemann, A. F.; Wiberg, N. Einige Grundlagen Der Festkörperchemie. In *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*; Walter de Gruyter: Berlin, 2007; pp. 1401–1432.
- 30. Weller, H. Kolloidale Halbleiter-Q-Teilchen: Chemie Im Übergangsbereich Zwischen Festkörper Und Molekül. *Angew. Chemie* **1993**, *105*, 43–55.
- 31. Yoffe, A. D. Low-Dimensional Systems: Quantum Size Effects and Electronic Properties of Semiconductor Microcrystallites (Zero-Dimensional Systems) and Some Quasi-Two- Dimensional Systems. *Adv. Phys.* **1993**, *51*, 799–890.
- 32. Brus, L. E. Electron-Electron and Electron-Hole Interactions in Small Semiconductor Crystallites: The Size Dependence of the Lowest Excited Electronic State. *J. Chem. Phys.* **1984**, *80*, 4403–4409.
- 33. Stokes, G. G. On the Change of Refrangibility of Light. *Philos. Trans. R. Soc. London* **1852**, *142*, 463–562.
- 34. Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; 3rd ed.; Springer: New York, 2010.
- 35. Reiss, P. Synthesis of Semiconductor Nanocrystals in Organic Solvents. In *Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots*; Rogach, A. L., Ed.; Springer: Wien/ New York, 2008; pp. 35–72.
- 36. Vaxenburg, R.; Rodina, A.; Shabaev, A.; Lifshitz, E.; Efros, A. L. Nonradiative Auger Recombination in Semiconductor Nanocrystals. *Nano Lett.* **2015**, *15*, 2092–2098.
- Dabbousi, B. O.; Rodriguez-Viejo, J.; Mikulec, F. V.; Heine, J. R.; Mattoussi, H.; Ober, R.; Jensen, K. F.; Bawendi, M. G. (CdSe)ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. J. Phys. Chem. B 1997, 101, 9463–9475.
- 38. Zhong, X.; Xie, R.; Zhang, Y.; Basché, T.; Knoll, W. High-Quality Violet- to Red-Emitting ZnSe/CdSe Core/Shell Nanocrystals. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 4038–4042.
- 39. Pan, Z.; Zhang, H.; Cheng, K.; Hou, Y.; Hua, J.; Zhong, X. Highly Efficient Inverted Type-I CdS/CdSe Core/Shell Structure QD-Sensitized Solar Cells. *ACS Nano* **2012**, *6*, 3982–3991.
- 40. Smith, A. M.; Mohs, A. M.; Nie, S. Tuning the Optical and Electronic Properties of Colloidal Nanocrystals by Lattice Strain. *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 56–63.
- 41. Bleuse, J.; Carayon, S.; Reiss, P. Optical Properties of Core/Multishell CdSe/Zn(S,Se) Nanocrystals. *Phys. E Low-Dimensional Syst. Nanostructures* **2004**, *21*, 331–335.

- 42. Xie, R.; Kolb, U.; Li, J.; Basché, T.; Mews, A. Synthesis and Characterization of Highly Luminescent CdSe-Core CdS/Zn<sub>0.5</sub>Cd<sub>0.5</sub>S/ZnS Multishell Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7480–7488.
- 43. Hu, J.; Li Liang-shi; Yang, W.; Manna, L.; Wang Lin-wang; Alivisatos, A. P. Linearly Polarized Emission from Colloidal Semiconductor Quantum Rods. *Science* **2001**, *292*, 2060–2063.
- 44. Peng, Z. A.; Peng, X. Mechanisms of the Shape Evolution of CdSe Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1389–1395.
- Carbone, L.; Nobile, C.; De Giorgi, M.; Della Sala, F.; Morello, G.; Pompa, P.; Hytch, M.; Snoeck, E.; Fiore, A.; Franchini, I. R.; *et al.* Synthesis and Micrometer-Scale Assembly of Colloidal CdSe/CdS Nanorods Prepared by a Seeded Growth Approach. *Nano Lett.* 2007, *7*, 2942–2950.
- 46. Talapin, D. V; Nelson, J. H.; Shevchenko, E. V; Aloni, S.; Sadtler, B.; Alivisatos, A. P. Seeded Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Nano-Heterostructures with Rod and Tetrapod Morphologies. *Nano Lett.* **2007**, *7*, 2951–2959.
- Rabouw, F. T.; Lunnemann, P.; Van Dijk-Moes, R. J. A.; Frimmer, M.; Pietra, F.; Koenderink, A. F.; Vanmaekelbergh, D. Reduced Auger Recombination in Single CdSe/CdS Nanorods by One-Dimensional Electron Delocalization. *Nano Lett.* 2013, 13, 4884–4892.
- 48. Zavelani-Rossi, M.; Lupo, M. G.; Tassone, F.; Manna, L.; Lanzani, G. Suppression of Biexciton Auger Recombination in CdSe/CdS Dot/Rods: Role of the Electronic Structure in the Carrier Dynamics. *Nano Lett.* **2010**, *10*, 3142–3150.
- 49. Nyk, M.; Szeremeta, J.; Wawrzynczyk, D.; Samoc, M. Enhancement of Two-Photon Absorption Cross Section in CdSe Quantum Rods. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118*, 17914–17921.
- Xing, G.; Chakrabortty, S.; Chou, K. L.; Mishra, N.; Huan, C. H. A.; Chan, Y.; Sum, T. C. Enhanced Tunability of the Multiphoton Absorption Cross-Section in Seeded CdSe/CdS Nanorod Heterostructures. *Appl. Phys. Lett.* **2010**, *97*, 98–101.
- Dimitrijevic, J.; Krapf, L.; Wolter, C.; Schmidtke, C.; Merkl, J.-P.; Jochum, T.; Kornowski, A.; Schüth, A.; Gebert, A.; Hüttmann, G.; *et al.* CdSe/CdS-Quantum Rods: Fluorescent Probes for *in Vivo* Two-Photon Laser Scanning Microscopy. *Nanoscale* 2014, *6*, 10413–10422.
- 52. Sitt, A.; Salant, A.; Menagen, G.; Banin, U. Highly Emissive Nano Rod-in-Rod Heterostructures with Strong Linear Polarization. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 2054–2060.
- 53. Yong, K.-T.; Qian, J.; Roy, I.; Lee, H. H.; Bergey, E. J.; Tramposch, K. M.; He, S.; Swihart, M. T.; Maitra, A.; Prasad, P. N. Quantum Rod Bioconjugates as Targeted Probes for Confocal and Two-Photon Fluorescence Imaging of Cancer Cells. *Nano Lett.* 2007, 7, 761–765.

- Fu, A.; Gu, W.; Boussert, B.; Koski, K.; Gerion, D.; Manna, L.; Le Gros, M.; Larabell, C.; Alivisatos, A. P. Semiconductor Quantum Rods as Single Molecule Fluorescent Biological Labels. *Nano Lett.* 2007, *7*, 179–182.
- 55. Deka, S.; Quarta, A.; Lupo, M. G.; Falqui, A.; Boninelli, S.; Giannini, C.; Morello, G.; De Giorgi, M.; Lanzani, G.; Spinella, C.; *et al.* CdSe/CdS/ZnS Double Shell Nanorods with High Photoluminescence Efficiency and Their Exploitation As Biolabeling Probes. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2948–2958.
- 56. Yong, K. T.; Roy, I.; Pudavar, H. E.; Bergey, E. J.; Tramposch, K. M.; Swihart, M. T.; Prasad, P. N. Multiplex Imaging of Pancreatic Cancer Cells by Using Functionalized Quantum Rods. *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 1412–1417.
- 57. Hikmet, R. A. M.; Chin, P. T. K.; Talapin, D. V.; Weller, H. Polarized-Light-Emitting Quantum-Rod Diodes. *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 1436–1439.
- Castelli, A.; Meinardi, F.; Pasini, M.; Galeotti, F.; Pinchetti, V.; Lorenzon, M.; Manna, L.; Moreels, I.; Giovanella, U.; Brovelli, S. High Efficiency All-Solution-Processed LEDs Based on Anisotropic Colloidal Heterostructures with Polar Polymer Injecting Layers. *Nano Lett.* 2015, 15, 5455–5464.
- Murray, C. B.; Norris, D. J.; Bawendi, M. G. Synthesis and Characterization of Nearly Monodisperse CdE (E=S, Se, Te) Semiconductor Nanocrystallites. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 8706–8715.
- 60. Kalyuzhny, G.; Murray, R. W. Ligand Effects on Optical Properties of CdSe Nanocrystals. J. Phys. Chem. B 2005, 109, 7012–7021.
- 61. Rogach, A. L.; Kornowski, A.; Gao, M.; Eychmüller, A.; Weller, H. Synthesis and Characterization of a Size Series of Extremely Small Thiol-Stabilized CdSe Nanocrystals. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 3065–3069.
- 62. Gaponik, N.; Talapin, D. V; Rogach, A. L.; Hoppe, K.; Shevchenko, E. V; Kornowski, A.; Eychmüller, A.; Weller, H. Thiol-Capping of CdTe Nanocrystals : An Alternative to Organometallic Synthetic Routes. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 7177–7185.
- 63. Shang, L.; Nienhaus, K.; Nienhaus, G. U. Engineered Nanoparticles Interacting With Cells: Size Matters. *J. Nanobiotechnology* **2014**, *12*, 5–16.
- 64. Jiang, W.; Kim, B. Y. S.; Rutka, J. T.; Chan, W. C. W. Nanoparticle-Mediated Cellular Response Is Size-Dependent. *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 145–150.
- 65. Cheng, L.-C.; Jiang, X.; Wang, J.; Chen, C.; Liu, R.-S. Nano-Bio Effects: Interaction of Nanomaterials with Cells. *Nanoscale* **2013**, *5*, 3547–3469.
- 66. Albanese, A.; Tang, P. S.; Chan, W. C. W. The Effect of Nanoparticle Size, Shape, and Surface Chemistry on Biological Systems. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2012**, *14*, 1–16.

- Ling, D.; Hackett, M. J.; Hyeon, T. Surface Ligands in Synthesis, Modification, Assembly and Biomedical Applications of Nanoparticles. *Nano Today* 2014, 9, 457– 477.
- 68. Zhang, Y.; Clapp, A. Overview of Stabilizing Ligands for Biocompatible Quantum Dot Nanocrystals. *Sensors* **2011**, *11*, 11036–11055.
- Palui, G.; Aldeek, F.; Wang, W.; Mattoussi, H. Strategies for Interfacing Inorganic Nanocrystals with Biological Systems Based on Polymer-Coating. *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44, 193–227.
- 70. Stöber, W.; Fink, A.; Bohn, E. Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range. *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, *26*, 62–69.
- 71. Darbandi, M.; Thomann, R.; Nann, T. Single Quantum Dots in Silica Spheres by Microemulsion Synthesis. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 5720–5725.
- 72. Darbandi, M.; Urban, G.; Krüger, M. A Facile Synthesis Method to Silica Coated CdSe/ZnS Nanocomposites with Tuneable Size and Optical Properties. *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *351*, 30–34.
- Dubertret, B.; Skourides, P.; Norris, D. J.; Noireaux, V.; Brivanlou, A. H.; Libchaber, A. In Vivo Imaging of Quantum Dots Encapsulated in Phospholipid Micelles. *Science* 2002, 298, 1759–1762.
- 74. Galloway, J. F.; Winter, A.; Lee, K. H.; Park, J. H.; Dvoracek, C. M.; Devreotes, P.; Searson, P. C. Quantitative Characterization of the Lipid Encapsulation of Quantum Dots for Biomedical Applications. *Nanomedicine NBM* **2012**, *8*, 1190–1199.
- 75. Yong, K. T.; Hu, R.; Roy, I.; Ding, H.; Vathy, L. A.; Bergey, E. J.; Mizuma, M.; Maitra, A.; Prasad, P. N. Tumor Targeting and Imaging in Live Animals with Functionalized Semiconductor Quantum Rods. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 710–719.
- 76. Pellegrino, T.; Manna, L.; Kudera, S.; Liedl, T.; Koktysh, D.; Rogach, A. L.; Keller, S.; Rädler, J.; Natile, G.; Parak, W. J. Hydrophobic Nanocrystals Coated with an Amphiphilic Polymer Shell: A General Route to Water Soluble Nanocrystals. *Nano Lett.* 2004, *4*, 703–707.
- 77. Ostermann, J.; Merkl, J.-P.; Flessau, S.; Wolter, C.; Kornowksi, A.; Schmidtke, C.; Pietsch, A.; Kloust, H.; Feld, A.; Weller, H. Controlling the Physical and Biological Properties of Highly Fluorescent Aqueous Quantum Dots Using Block Copolymers of Different Size and Shape. ACS Nano 2013, 7, 9156–9167.
- Pöselt, E.; Schmidtke, C.; Fischer, S.; Peldschus, K.; Salamon, J.; Kloust, H.; Tran, H.; Pietsch, A.; Heine, M.; Adam, G.; *et al.* Tailor-Made Quantum Dot and Iron Oxide Based Contrast Agents for *in Vitro* and *in Vivo* Tumor Imaging. *ACS Nano* 2012, 6, 3346–3355.

- Schmidtke, C.; Pöselt, E.; Ostermann, J.; Pietsch, A.; Kloust, H.; Tran, H.; Schotten, T.; Bastús, N. G.; Eggers, R.; Weller, H. Amphiphilic, Cross-Linkable Diblock Copolymers for Multifunctionalized Nanoparticles as Biological Probes. *Nanoscale* 2013, *5*, 7433–7444.
- Schmidtke, C.; Lange, H.; Tran, H.; Ostermann, J.; Kloust, H.; Bastús, N. G.; Merkl, J.-P.; Thomsen, C.; Weller, H. Radical Initiated Reactions on Biocompatible CdSe-Based Quantum Dots: Ligand Cross-Linking, Crystal Annealing, and Fluorescence Enhancement. J. Phys. Chem. C 2013, 117, 8570–8578.
- 81. Kumar, R.; Ding, H.; Hu, R.; Yong, K. T.; Roy, I.; Bergey, E. J.; Prasad, P. N. In Vitro and In Vivo Optical Imaging Using Water-Dispersible, Noncytotoxic, Luminescent, Silica-Coated Quantum Rods. *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 2261–2267.
- 82. Ji, X.; Copenhaver, D.; Sichmeller, C.; Peng, X. Ligand Bonding and Dynamics on Colloidal Nanocrystals at Room Temperature: The Case of Alkylamines on CdSe Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5726–5735.
- Breus, V. V; Heyes, C. D.; Nienhaus, G. U. Quenching of CdSe-ZnS Core-Shell Quantum Dot Luminescence by Water-Soluble Thiolated Ligands. J. Phys. Chem. C 2007, 111, 18589–18594.
- 84. Algar, W. R.; Krull, U. J. Luminescence and Stability of Aqueous Thioalkyl Acid Capped CdSe/ZnS Quantum Dots Correlated to Ligand Ionization. *Eur. J. Chem. Phys. Phys. Chem.* **2007**, *8*, 561–568.
- 85. Pons, T.; Uyeda, H. T.; Medintz, I. L.; Mattoussi, H. Hydrodynamic Dimensions, Electrophoretic Mobility, and Stability of Hydrophilic Quantum Dots. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 20308–20316.
- 86. Smith, A. M.; Duan, H.; Rhyner, M. N.; Ruan, G.; Nie, S. A Systematic Examination of Surface Coatings on the Optical and Chemical Properties of Semiconductor Quantum Dots. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 3895–3903.
- 87. Hollemann, A. F.; Wiberg, N. Grundlagen Der Komplexchemie. In *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*; Walter de Gruyter: Berlin, 2007; pp. 1315–1400.
- Thiry, M.; Boldt, K.; Nikolic, M. S.; Schulz, F.; Ijeh, M.; Panicker, A.; Vossmeyer, T.; Weller, H. Fluorescence Properties of Hydrophilic Semiconductor Nanoparticles with Tridentate Polyethylene Oxide Ligands. ACS Nano 2011, 5, 4965–4973.
- Giovanelli, E.; Muro, E.; Sitbon, G.; Hanafi, M.; Pons, T.; Dubertret, B.; Lequeux, N. Highly Enhanced Affinity of Multidentate versus Bidentate Zwitterionic Ligands for Long-Term Quantum Dot Bioimaging. *Langmuir* 2012, 28, 15177–15184.
- 90. Muro, E.; Pons, T.; Lequeux, N.; Fragola, A.; Sanson, N.; Lenkei, Z.; Dubertret, B. Small and Stable Sulfobetaine Zwitterionic Quantum Dots for Functional Live-Cell Imaging. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4556–4557.

- 91. Zhan, N.; Palui, G.; Mattoussi, H. Preparation of Compact Biocompatible Quantum Dots Using Multicoordinating Molecular-Scale Ligands Based on a Zwitterionic Hydrophilic Motif and Lipoic Acid Anchors. *Nat. Protoc.* **2015**, *10*, 859–874.
- 92. Susumu, K.; Oh, E.; Delehanty, J. B.; Blanco-Canosa, J. B.; Johnson, B. J.; Jain, V.; Hervey, W. J.; Algar, W. R.; Boeneman, K.; Dawson, P. E.; *et al.* Multifunctional Compact Zwitterionic Ligands for Preparing Robust Biocompatible Semiconductor Quantum Dots and Gold Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, *133*, 9480–9496.
- 93. Susumu, K.; Uyeda, H. T.; Medintz, I. L.; Pons, T.; Delehanty, J. B.; Mattoussi, H. Enhancing the Stability and Biological Functionalities of Quantum Dots via Compact Multifunctional Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13987–13996.
- Liu, W.; Howarth, M.; Greytak, A. B.; Zheng, Y.; Nocera, D. G.; Ting, A. Y.; Bawendi, M. G. Compact Biocompatible Quantum Dots Functionalized for Cellular Imaging. J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 1274–1284.
- Park, J.; Nam, J.; Won, N.; Jin, H.; Jung, S.; Jung, S.; Cho, S.-H.; Kim, S. Compact and Stable Quantum Dots with Positive, Negative, or Zwitterionic Surface: Specific Cell Interactions and Non-Specific Adsorptions by the Surface Charges. *Adv. Funct. Mater.* 2011, 21, 1558–1566.
- 96. Palui, G.; Avellini, T.; Zhan, N.; Pan, F.; Gray, D.; Alabugin, I.; Mattoussi, H. Photoinduced Phase Transfer of Luminescent Quantum Dots to Polar and Aqueous Media. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 16370–16378.
- 97. Dubois, F.; Mahler, B.; Dubertret, B.; Doris, E.; Mioskowski, C. A Versatile Strategy for Quantum Dot Ligand Exchange. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 482–483.
- 98. Zhang, Y.; Schnoes, A. M.; Clapp, A. R. Dithiocarbamates as Capping Ligands for Water-Soluble Quantum Dots. *Appl. Mater. Interfaces* **2010**, *2*, 3384–3395.
- 99. Wang, J.; Xu, J.; Goodman, M. D.; Chen, Y.; Cai, M.; Shinar, J.; Lin, Z. A Simple Biphasic Route to Water Soluble Dithiocarbamate Functionalized Quantum Dots. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 3270–3274.
- Li, Y.; Shen, B.; Liu, L.; Xu, H.; Zhong, X. Stable Water-Soluble Quantum Dots Capped by Poly(ethylene Glycol) Modified Dithiocarbamate. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2012, 410, 144–152.
- 101. Wang, S.; Song, H.; Ong, W. Y.; Han, M. Y.; Huang, D. Positively Charged and pH Self-Buffering Quantum Dots for Efficient Cellular Uptake by Charge Mediation and Monitoring Cell Membrane Permeability. *Nanotechnology* **2009**, *20*, 425102.
- 102. Zhao, Y.; Pérez-Segarra, W.; Shi, Q.; Wei, A. Dithiocarbamate Assembly on Gold. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 7328–7329.
- 103. Working, P. K.; Newman, M. S.; Johnson, J.; Cornacoff, J. B. *Safety of Poly(ethylene Glycol) and Poly(ethylene Glycol) Derivatives*; ACS Books: Washington DC, 1997.

- 104. Breus, V. V; Heyes, C. D.; Tron, K.; Nienhaus, G. U. Zwitterionic Biocompatible Quantum Dots for Wide pH Stability and Weak Nonspecific Binding to Cells. ACS Nano 2009, 3, 2573–2580.
- 105. Römpp, H.; Falbe, J.; Regitz, M. *Römpp Lexikon Chemie Band 1*; 9th ed.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1989.
- 106. Zhan, N.; Palui, G.; Safi, M.; Ji, X.; Mattoussi, H. Multidentate Zwitterionic Ligands Provide Compact and Highly Biocompatible Quantum Dots. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 13786–13795.
- 107. Rizzo, L. Y.; Theek, B.; Storm, G.; Kiessling, F.; Lammers, T. Recent Progress in Nanomedicine: Therapeutic, Diagnostic and Theranostic Applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2013, 24, 1159–1166.
- 108. Wagner, V.; Dullaart, A.; Bock, A.-K.; Zweck, A. The Emerging Nanomedicine Landscape. *Nat. Biotechnol.* **2006**, *24*, 1211–1217.
- Peng, X.; Manna, L.; Yang, W.; Wickham, J.; Scher, E.; Kadavanich, A.; Alivisatos, A. P. Shape Control of CdSe Nanocrystals. *Nature* 2000, 404, 59–61.
- 110. Derfus, A. M.; Chan, W. C. W.; Bhatia, S. N. Probing the Cytotoxicity of Semiconductor Quantum Dots. *Nano Lett.* **2004**, *4*, 11–18.
- 111. Ipe, B. I.; Lehnig, M.; Niemeyer, C. M. On the Generation of Free Radical Species from Quantum Dots. *Small* **2005**, *1*, 706–709.
- 112. Lovrić, J.; Cho, S. J.; Winnik, F. M.; Maysinger, D. Unmodified Cadmium Telluride Quantum Dots Induce Reactive Oxygen Species Formation Leading to Multiple Organelle Damage and Cell Death. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 1227–1234.
- 113. Tsoi, K. M.; Dai, Q.; Alman, B. A.; Chan, W. C. W. Are Quantum Dots Toxic? Exploring the Discrepancy Between Cell Culture and Animal Studies. *Acc. Chem. Res.* 2013, 46, 662–671.
- Kirchner, C.; Liedl, T.; Kudera, S.; Pellegrino, T.; Javier, A. M.; Gaub, H. E.; Stölzle, S.; Fertig, N.; Parak, W. J. Cytotoxicity of Colloidal CdSe and CdSe/ZnS Nanoparticles. *Nano Lett.* 2005, *5*, 331–338.
- 115. Fröhlich, E. The Role of Surface Charge in Cellular Uptake and Cytotoxicity of Medical Nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine* **2012**, *7*, 5577–5591.
- 116. Tominaga, H.; Ishiyama, M.; Ohseto, F.; Sasamoto, K.; Hamamoto, T.; Suzuki, K.; Watanabe, M. A Water-Soluble Tetrazolium Salt Useful for Colorimetric Cell Viability Assay. *Anal. Commun.* **1999**, *36*, 47–50.
- 117. Love, S. A.; Maurer-Jones, M. A.; Thompson, J. W.; Lin, Y.-S.; Haynes, C. L. Assessing Nanoparticle Toxicity. *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2012**, *5*, 181–205.

- 118. Chou, L. Y. T.; Ming, K.; Chan, W. C. W. Strategies for the Intracellular Delivery of Nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 233–245.
- 119. Aderem, A.; Underhill, D. M. Mechanisms of Phagocytosis in Macrophages. *Annu. Rev. Immunol.* **1999**, *17*, 593–623.
- 120. Mitragotri, S.; Lahann, J. Physical Approaches to Biomaterial Design. *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 15–23.
- 121. Vonarbourg, A.; Passirani, C.; Saulnier, P.; Benoit, J. P. Parameters Influencing the Stealthiness of Colloidal Drug Delivery Systems. *Biomaterials* **2006**, *27*, 4356–4373.
- 122. Tabata, Y.; Ikada, Y. Effect of the Size and Surface Charge of Polymer Microspheres on Their Phagocytosis by Macrophage. *Biomaterials* **1988**, *9*, 356–362.
- 123. Mukherjee, S.; Ghosh, R. N.; Maxfield, F. R. Endocytosis. *Physiol. Rev.* **1997**, 77, 759–803.
- 124. Hillaireau, H.; Couvreur, P. Nanocarriers' Entry into the Cell: Relevance to Drug Delivery. *Cell. Mol. Life Sci.* **2009**, *66*, 2873–2896.
- 125. Bareford, L. M.; Swaan, P. W. Endocytic Mechanisms For Targeted Drug Delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, *59*, 748–758.
- 126. Petros, R. A.; DeSimone, J. M. Strategies in the Design of Nanoparticles for Therapeutic Applications. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, *9*, 615–627.
- 127. Weissleder, R.; Kelly, K.; Sun, E. Y.; Shtatland, T.; Josephson, L. Cell-Specific Targeting of Nanoparticles by Multivalent Attachment of Small Molecules. *Nat. Biotechnol.* 2005, 23, 1418–1423.
- 128. Chithrani, B. D.; Chan, W. C. W. Elucidating the Mechanism of Cellular Uptake and Removal of Protein-Coated Gold Nanoparticles of Different Sizes and Shapes. *Nano Lett.* **2007**, *7*, 1542–1550.
- 129. Chithrani, B. D.; Ghazani, A. A.; Chan, W. C. W. Determining the Size and Shape Dependence of Gold Nanoparticle Uptake into Mammalian Cells. *Nano Lett.* **2006**, *6*, 662–668.
- Breus, V. V; Pietuch, A.; Tarantola, M.; Basché, T.; Janshoff, A. The Effect of Surface Charge on Nonspecific Uptake and Cytotoxicity of CdSe/ZnS Core/Shell Quantum Dots. *Beilstein J. Nanotechnol.* 2015, 6, 281–292.
- 131. Ryman-Rasmussen, J. P.; Riviere, J. E.; Monteiro-Riviere, N. A. Variables Influencing Interactions of Untargeted Quantum Dot Nanoparticles with Skin Cells and Identification of Biochemical Modulators. *Nano Lett.* **2007**, *7*, 1344–1348.
- 132. Hühn, D.; Kantner, K.; Geidel, C.; Brandholt, S.; De Cock, I.; Soenen, S. J. H.; Riveragil, P.; Montenegro, J. M.; Braeckmans, K.; Müllen, K.; *et al.* Polymer-Coated

Nanoparticles Interacting with Proteins and Cells: Focusing on the Sign of the Net Charge. *ACS Nano* **2013**, *7*, 3253–3263.

- 133. Lesniak, A.; Fenaroli, F.; Monopoli, M. P.; Åberg, C.; Dawson, K. A.; Salvati, A. Effects of the Presence or Absence of a Protein Corona on Silica Nanoparticle Uptake and Impact on Cells. *ACS Nano* **2012**, *6*, 5845–5857.
- Lane, L. A.; Qian, X.; Smith, A. M.; Nie, S. Physical Chemistry of Nanomedicine: Understanding the Complex Behaviors of Nanoparticles in Vivo. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 2015, 66, 521–547.
- 135. Wang, S.; Li, C.; Yang, P.; Ando, M.; Murase, N. Silica Encapsulation of Highly Luminescent Hydrophobic Quantum Dots by Two-Step Microemulsion Method. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2012**, *395*, 24–31.
- 136. Koeberle, P.; Laschewsky, A.; van den Boogaard, D. Self-Organization of Hydrophobized Polyzwitterions. *Polymer* **1992**, *33*, 4029–4039.
- 137. Williams, S. R.; Barta, Z.; Ramirez, S. M.; Long, T. E. Synthesis of 12,12-Ammonium Ionenes with Functionality for Chain Extension and Cross-Linking *via* UV Irradiation. *Macromol. Chem. Phys.* 2009, 210, 555–564.
- Kumar, K. S.; Iqbal, J.; Pal, M. Amberlyst-15: A Mild, Efficient and Reusable Heterogeneous Catalyst for *N-Tert*-Butoxycarbonylation of Amines. *Tetrahedron Lett.* 2009, 50, 6244–6246.
- 139. Wang, G.; Li, C.; Li, J.; Jia, X. Catalyst-Free Water-Mediated *N*-Boc Deprotection. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1438–1440.
- 140. Zinelaabidine, C.; Souad, O.; Zoubir, J.; Malika, B.; Nour-Eddine, A. A Simple and Efficient Green Method for the Deprotection of *N*-Boc in Various Structurally Diverse Amines under Water-Mediated Catalyst-Free Conditions. *Int. J. Chem.* **2012**, *4*, 73–79.
- 141. www.molinspiration.com/cgi-bin/properties, zuletzt aufgerufen am 21.10.2015.
- 142. Hermanson, G. T. The Chemistry of Reactive Groups. In *Bioconjugate Techniques*; Elsevier, 2008; pp. 169–212.
- 143. Hermanson, G. T. Chemoselective Ligation: Bioorthogonal Reagents. In *Bioconjugate Techniques*; Elsevier, 2008; pp. 666–706.
- Preston, A. J.; Gallucci, J. C.; Paquette, L. A. Synthesis and Selected Reactions of a Bicyclic Sultam Having Sulfur at the Apex Position. J. Org. Chem. 2006, 71, 6573– 6578.
- 145. Wang, P. C.; Wingard, R. E. Epoxysultone. 4138409, 1979.
- 146. Huisgen, R. 1.3-Dipolare Cycloadditionen Rückschau Und Ausblick. *Angew. Chemie* **1963**, 75, 604–637.

- 147. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.
- 148. Durst, T.; Du Manoir, J. Metallation of 5- and 6-Membered Ring Sultones. *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 1230–1233.
- Priem, T.; Bouteiller, C.; Camporese, D.; Romieu, A.; Renard, P.-Y. Synthesis and Reactivity of a Bis-Sultone Cross-Linker for Peptide Conjugation and [<sup>18</sup>F]-Radiolabelling *via* Unusual "Double Click" Approach. Org. Biomol. Chem. 2012, 10, 1068–1078.
- Zhu, H.; Coleman, D. M.; Dehen, C. J.; Geisler, I. M.; Zemlyanov, D.; Chmielewski, J.; Simpson, G. J.; Wei, A. Assembly of Dithiocarbamate-Anchored Monolayers on Gold Surfaces in Aqueous Solutions. *Langmuir* 2008, 24, 8660–8666.
- 151. Lee, A. W. M.; Chan, W. H.; Chiu, C. M. L.; Tang, K. T. Ultraviolet Spectrophotometric Determination of Primary and Secondary Aliphatic Amines by Formation of Dithiocarbamates. *Anal. Chim. Acta* **1989**, *218*, 157–160.
- 152. Von Wrochem, F.; Gao, D.; Scholz, F.; Nothofer, H.-G.; Nelles, G.; Wessels, J. M. Efficient Electronic Coupling and Improved Stability With Dithiocarbamate-Based Molecular Junctions. *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 618–624.
- 153. Aldana, J.; Wang, Y. A.; Peng, X. Photochemical Instability of CdSe Nanocrystals Coated by Hydrophilic Thiols. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8844–8850.
- 154. Poderys, V.; Matulionyte, M.; Selskis, A.; Rotomskis, R. Interaction of Water-Soluble CdTe Quantum Dots with Bovine Serum Albumin. *Nanoscale Res. Lett.* **2011**, *6*, 1–6.
- 155. Murthy, A. K.; Stover, R. J.; Hardin, W. G.; Schramm, R.; Nie, G. D.; Gourisankar, S.; Truskett, T. M.; Sokolov, K. V.; Johnston, K. P. Charged Gold Nanoparticles with Essentially Zero Serum Protein Adsorption in Undiluted Fetal Bovine Serum. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, *135*, 7799–7802.
- Coto-García, A. M.; Fernández-Argüelles, M. T.; Costa-Fernández, J. M.; Sanz-Medel, A.; Valledor, M.; Campo, J. C.; Ferrero, F. J. The Influence of Surface Coating on the Properties of Water-Soluble CdSe and CdSe/ZnS Quantum Dots. *J. Nanoparticle Res.* 2013, *15*, 1330–1340.
- 157. Boldt, K.; Bruns, O. T.; Gaponik, N.; Eychmüller, A. Comparative Examination of the Stability of Semiconductor Quantum Dots in Various Biochemical Buffers. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 1959–1963.
- 158. Sato, K.; Kojima, S.; Hattori, S.; Chiba, T.; Ueda-Sarson, K.; Torimoto, T.; Tachibana, Y.; Kuwabata, S. Controlling Surface Reactions of CdS Nanocrystals: Photoluminescence Activation, Photoetching and Photostability under Light Irradiation. *Nanotechnology* **2007**, *18*, 465702.
- 159. Chen, N.; He, Y.; Su, Y.; Li, X.; Huang, Q.; Wang, H.; Zhang, X.; Tai, R.; Fan, C. The Cytotoxicity of Cadmium-Based Quantum Dots. *Biomaterials* **2012**, *33*, 1238–1244.

- 160. Lesniak, A.; Salvati, A.; Santos-Martinez, M. J.; Radomski, M. W.; Dawson, K. A.; Åberg, C. Nanoparticle Adhesion to the Cell Membrane and Its Effect on Nanoparticle Uptake Efficiency. J. Am. Chem. Soc. 2013, 135, 1438–1444.
- 161. Treuel, L.; Docter, D.; Maskos, M.; Stauber, R. H. Protein Corona From Molecular Adsorption to Physiological Complexity. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2015**, *6*, 857–873.
- 162. Jian, Y.; Xu, X.; Li, Y.; Gu, Z. Effect of Serum on PEGylated Quantum Dots: Cellular Uptake and Intracellular Distribution. *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.* **2013**, *23*, 566–572.
- 163. Shang, L.; Nienhaus, K.; Jiang, X.; Yang, L.; Landfester, K.; Mailänder, V.; Simmet, T.; Nienhaus, G. U. Nanoparticle Interactions with Live Cells: Quantitative Fluorescence Microscopy of Nanoparticle Size Effects. *Beilstein J. Nanotechnol.* 2014, 5, 2388–2397.
- 164. Arvizo, R. R.; Miranda, O. R.; Thompson, M. A.; Pabelick, C. M.; Bhattacharya, R.; David Robertson, J.; Rotello, V. M.; Prakash, Y. S.; Mukherjee, P. Effect of Nanoparticle Surface Charge at the Plasma Membrane and Beyond. *Nano Lett.* 2010, 10, 2543–2548.
- Longmire, M. R.; Ogawa, M.; Choyke, P. L.; Kobayashi, H. Biologically Optimized Nanosized Molecules and Particles: More Than Just Size. *Bioconjug. Chem.* 2011, 22, 993–1000.
- 166. Schipper, M. L.; Iyer, G.; Koh, A. L.; Cheng, Z.; Ebenstein, Y.; Aharoni, A.; Keren, S.; Bentolila, L. A.; Li, J.; Rao, J.; *et al.* Particle Size, Surface Coating, and PEGylation Influence the Biodistribution of Quantum Dots in Living Mice. *Small* 2009, *5*, 126– 134.
- 167. Fischer, H. C.; Liu, L.; Pang, K. S.; Chan, W. C. W. Pharmacokinetics of Nanoscale Quantum Dots: In Vivo Distribution, Sequestration, and Clearance in the Rat. Adv. Funct. Mater. 2006, 16, 1299–1305.
- 168. Ilium, L.; Davis, S. S.; Wilson, C. G.; Thomas, N. W.; Frier, M.; Hardy, J. G. Blood Clearance and Organ Deposition of Intravenously Administered Colloidal Particles. The Effects of Particle Size, Nature and Shape. *Int. J. Pharm.* **1982**, *12*, 135–146.
- 169. Carambia, A.; Freund, B.; Schwinge, D.; Bruns, O. T.; Salmen, S. C.; Ittrich, H.; Reimer, R.; Heine, M.; Huber, S.; Waurisch, C.; *et al.* Nanoparticle-Based Autoantigen Delivery to Treg-Inducing Liver Sinusoidal Endothelial Cells Enables Control of Autoimmunity in Mice. *J. Hepatol.* **2015**, *62*, 1349–1356.
- 170. Sørensen, K. K.; McCourt, P.; Berg, T.; Crossley, C.; Le Couteur, D.; Wake, K.; Smedsrød, B. The Scavenger Endothelial Cell - A New Player in Homeostasis and Immunity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2012**, *303*, R1217–R1230.
- Kamimoto, M.; Rung-Ruangkijkrai, T.; Iwanaga, T. Uptake Ability of Hepatic Sinusoidal Endothelial Cells and Enhancement by Lipopolysaccharide. *Biomed. Res.* 2005, 26, 99–107.

172. Carambia, A.; Freund, B.; Schwinge, D.; Heine, M.; Laschtowitz, A.; Huber, S.; Wraith, D. C.; Korn, T.; Schramm, C.; Lohse, A. W.; *et al.* TGF-β-Dependent Induction of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs by Liver Sinusoidal Endothelial Cells. *J. Hepatol.* 2014, *61*, 594–599.

# Anhang A – Sicherheit

## Piktogramme

Gefahrenpiktogramme	Kodierung	Gefahrenklasse
	GHS01	Explosionsgefahr
	GHS02	Entzündbar
	GHS03	Oxidierend
$\diamond$	GHS04	Gase unter Druck
	GHS05	Ätzwirkung
	GHS06	Akute Toxizität
	GHS07	Achtung/ Gefahr
	GHS08	Gesundheitsgefahr
¥2	GHS09	Umweltgefährdend

# Gefahrenhinweise (H-Sätze)

## H200-Reihe: Physikalische Gefahren

H200	Instabil, explosiv.
H201	Explosiv; Gefahr der Massenexplosion.
H202	Explosiv; Gefahr durch Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
H203	Explosiv; Gefahr durch Feuer, Luftdruck oder Splitter, Spreng- und
	Wurfstücke.
H204	Gefahr durch Feuer oder Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
H205	Gefahr der Massenexplosion bei Feuer.
H220	Extrem entzündbares Gas.
H221	Entzündbares Gas.
H222	Extrem entzündbares Aerosol.
H223	Entzündbares Aerosol.
H224	Flüssigkeit und Dampf extrem entzündbar.
H225	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H226	Flüssigkeit und Dampf entzündbar.
H228	Entzündbarer Feststoff.
H240	Erwärmung kann Explosion verursachen.
H241	Erwärmung kann Brand oder Explosion verursachen.
H242	Erwärmung kann Brand verursachen.
H250	Entzündet sich in Berührung mit Luft von selbst.
H251	Selbsterhitzungsfähig; kann in Brand geraten.
H252	In großen Mengen selbsterhitzungsfähig; kann in Brand geraten.
H260	In Berührung mit Wasser entstehen entzündbare Gase, die sich
	spontan entzünden können.
H261	In Berührung mit Wasser entstehen entzündbare Gase.
H270	Kann Brand verursachen oder verstärken; Oxidationsmittel.
H271	Kann Brand oder Explosion verursachen; starkes Oxidationsmittel.
H272	Kann Brand verstärken; Oxidationsmittel.
H280	Enthält Gas unter Druck; kann bei Erwärmung explodieren.

H281	Enthält tiefgekühltes Gas; kann Kälteverbrennungen oder Verlet
	zungen verursachen.
H290	Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

## H300-Reihe: Gesundheitsgefahren

H300	Lebensgefahr bei Verschlucken.
H301	Giftig bei Verschlucken.
H302	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H304	Kann bei Verschlucken oder Eindringen in die Atemwege tödlich
	sein.
H310	Lebensgefahr bei Hautkontakt.
H311	Giftig bei Hautkontakt.
H312	Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt.
H314	Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschä-
	den.
H315	Verursacht Hautreizungen.
H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
H318	Verursacht schwere Augenschäden.
H319	Verursacht schwere Augenreizung.
H330	Lebensgefahr bei Einatmen.
H331	Giftig bei Einatmen.
H332	Gesundheitsschädlich bei Einatmen.
H334	Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembe-
	schwerden verursachen.
H335	Kann die Atemwege reizen.
H336	Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
H340	Kann genetische Defekte verursachen (Expositionsweg angeben,
	sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen
	Expositionsweg besteht).

H341	Kann vermutlich genetische Defekte verursachen (Expositionsweg
	angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem
	anderen Expositionsweg besteht).
H350	Kann Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig
	belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg
	besteht).
H350i	Kann bei Einatmen Krebs erzeugen.
H351	Kann vermutlich Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern
	schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositi-
	onsweg besteht).
H360	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib
	schädigen (konkrete Wirkung angeben, sofern bekannt) (Expositi-
	onsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei
	keinem anderen Expositionsweg besteht).
H360F	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H360D	Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
H360FD	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das Kind im Mutter-
	leib schädigen.
H360Fd	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann vermutlich das Kind
	im Mutterleib schädigen.
H360Df	Kann das Kind im Mutterleib schädigen. Kann vermutlich die
	Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H361	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im
	Mutterleib schädigen (konkrete Wirkung angeben, sofern bekannt)
	(Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese
	Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H361f	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H361d	Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
H361fd	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann vermutlich
	das Kind im Mutterleib schädigen.
H362	Kann Säuglinge über die Muttermilch schädigen.

H370	Schädigt die Organe (alle betroffenen Organe nennen, sofern be-
	kannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass
	diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H371	Kann die Organe schädigen (alle betroffenen Organe nennen, sofern
	bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass
	diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H372	Schädigt die Organe (alle betroffenen Organe nennen, sofern be-
	kannt) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg
	angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem
	anderen Expositionsweg besteht).
H373	Kann die Organe schädigen (alle betroffenen Organe nennen, sofern
	bekannt) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg
	angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem
	anderen Expositionsweg besteht).

## H400-Reihe: Umweltgefahren

H400	Sehr giftig für Wasserorganismen.
H410	Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
H411	Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
H413	Kann für Wasserorganismen schädlich sein, mit langfristiger Wir-
	kung.

# Ergänzende Gefahrenmerkmale (EUH-Sätze)

EUH001	In trockenem Zustand explosiv.
EUH006	Mit und ohne Luft explosionsfähig.
EUH014	Reagiert heftig mit Wasser.
EUH018	Kann bei Verwendung explosionsfähige/ entzündbare Dampf/ Luft-
	Gemische bilden.

EUH019	Kann explosionsfähige Peroxide bilden.
EUH044	Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluss.
EUH029	Entwickelt bei Berührung mit Wasser giftige Gase.
EUH031	Entwickelt bei Berührung mit Säure giftige Gase.
EUH032	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
EUH066	Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen.
EUH070	Giftig bei Berührung mit den Augen.
EUH071	Wirkt ätzend auf die Atemwege.
EUH059	Die Ozonschicht schädigend.
EUH201	Enthält Blei. Nicht für den Anstrich von Gegenständen verwenden,
	die von Kindern gekaut oder gelutscht werden könnten.
EUH201 A	Achtung! Enthält Blei.
EUH202	Cyanacrylat. Gefahr. Klebt innerhalb von Sekunden auf der Haut
	und Augenlider zusammen. Darf nicht in Hände von Kindern gelan-
	gen.
EUH203	Enthält Chrom (VI). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH204	Enthält Isocyanate. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH205	Enthält epoxidhaltige Verbindungen. Kann allergische Reaktionen
	hervorrufen.
EUH206	Achtung! Nicht zusammen mit anderen Produkten verwenden, da
	gefährliche Gase (Chlor) freigesetzt werden können.
EUH207	Achtung! Enthält Cadmium. Bei der Verwendung entstehen gefähr-
	liche Dämpfe. Hinweise des Herstellers beachten. Sicherheits-
	anweisungen einhalten.
EUH208	Enthält (Name des sensibilisierenden Stoffes). Kann allergische Re-
	aktionen hervorrufen.
EUH209	Kann bei Verwendung leicht entzündbar werden.
EUH209 A	Kann bei Verwendung entzündbar werden.
EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.
EUH401	Zur Vermeidung von Risiken für Mensch und Umwelt die Ge-
	brauchsanleitung einhalten.

# Sicherheitshinweise (P-Sätze)

## P100-Reihe: Allgemeines

P101	Ist ärztlicher Rat erforderlich, Verpackung oder Kennzeichnungseti-
	kett bereithalten.
P102	Darf nicht in Hände von Kindern gelangen.
P103	Vor Gebrauch Kennzeichnungsetikett lesen.

### P200-Reihe: Prävention

P201	Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202	Vor Gebrauch alle Sicherheitsanweisungen lesen und verstehen.
P210	Vor Hitze/ Funken/ offener Flamme/ heißen Oberflächen fernhalten.
	Nicht rauchen.
P211	Nicht gegen offene Flamme oder andere Zündquelle sprühen.
P220	Von Kleidung // brennbaren Materialien fernhalten/ entfernt auf-
	bewahren.
P221	Mischen mit brennbaren Stoffen / unbedingt verhindern.
P222	Kontakt mit Luft nicht zulassen.
P223	Kontakt mit Wasser wegen heftiger Reaktion und möglichem Auf-
	flammen unbedingt verhindern.
P230	Feucht halten mit
P231	Unter inertem Gas handhaben.
P232	Vor Feuchtigkeit schützen.
P233	Behälter dicht verschlossen halten.
P234	Nur im Originalbehälter aufbewahren.
P235	Kühl halten.
P240	Behälter und zu befüllende Anlage erden.
P241	Explosionsgeschützte elektrische Betriebsmittel/ Lüftungsanlagen/
	Beleuchtung/ verwenden.
P242	Nur funkenfreies Werkzeug verwenden.

P243	Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladungen treffen.
P244	Druckminderer frei von Fett und Öl halten.
P250	Nicht schleifen/ stoßen/ / reiben.
P251	Behälter steht unter Druck: Nicht durchstechen oder verbrennen,
	auch nicht nach der Verwendung.
P260	Staub/ Rauch/ Gas / Nebel/ Dampf/ Aerosol vermeiden.
P261	Einatmen von Staub/ Rauch/ Gas / Nebel/ Dampf/ Aerosol vermei-
	den.
P262	Nicht in die Augen, auf die Haut oder die Kleidung gelangen lassen.
P263	Kontakt während der Schwangerschaft/ und der Stillzeit vermeiden.
P264	Nach Gebrauch gründlich waschen.
P270	Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
P271	Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.
P272	Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes
	tragen.
P273	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P280	Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz
	tragen.
P281	Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
P282	Schutzhandschuhe/ Gesichtsschild/ Augenschutz mit Kälteisolierung
	tragen.
P283	Schwer entflammbare/ flammhemmende Kleidung tragen.
P284	Atemschutz tragen.
P285	Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen.
P231 + P232	Unter inertem Gas handhaben. Vor Feuchtigkeit schützen.
P235 + P410	Kühl halten. Vor Sonnenbestrahlung schützen.

### P300-Reihe: Reaktion

P301	Bei Verschlucken:
P302	Bei Berührung mit der Haut:
P303	Bei Berührung mit der Haut (oder dem Haar):
P304	Bei Einatmen:
------	-----------------------------------------------------------------------
P305	Bei Kontakt mit den Augen:
P306	Bei kontaminierter Kleidung:
P307	Bei Exposition:
P308	Bei Exposition oder falls betroffen:
P309	Bei Exposition oder Unwohlsein:
P310	Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
P311	Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
P312	Bei Unwohlsein Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
P313	Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P314	Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuzie-
	hen.
P315	Sofort ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P320	Besondere Behandlung dringend erforderlich (siehe auf diesem
	Kennzeichnungsetikett).
P321	Besondere Behandlung erforderlich (siehe auf diesem Kenn-
	zeichnungsetikett).
P322	Gezielte Maßnahmen (siehe auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P330	Mund ausspülen.
P331	Kein Erbrechen herbeiführen.
P332	Bei Hautreizung:
P333	Bei Hautreizung oder –ausschlag:
P334	In kaltes Wasser tauchen/ nassen Verband anlegen.
P335	Lose Partikel von der Haut abbürsten.
P336	Vereiste Bereiche mit lauwarmem Wasser auftauen. Betroffenen
	Bereich nicht reiben.
P337	Bei anhaltender Augenreizung:
P338	Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen.
	Weiter ausspülen.
P340	Die betroffenen Person an die frische Luft bringen und in einer Posi-
	tion ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
P341	Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Posi-
	tion ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.

P342	Bei Symptomen der Atemwege:
P350	Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen.
P351	Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen.
P352	Mit viel Wasser und Seife waschen.
P353	Haut mit Wasser abwaschen/ duschen.
P360	Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abwaschen
	und danach Kleidung ausziehen.
P361	Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen.
P362	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen wa-
	schen.
P363	Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
P370	Bei Brand:
P371	Bei Großbrand und große Mengen:
P372	Explosionsgefahr bei Brand.
P373	Keine Brandbekämpfung, wenn das Feuer explosive Stoffe/ Gemi-
	sche/ Erzeugnisse erreicht.
P374	Brandbekämpfung mit üblichen Vorsichtsmaßnahmen aus angemes-
	sener Entfernung.
P375	Wegen Explosionsgefahr Brand aus Entfernung bekämpfen.
P376	Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.
P377	Brand von ausströmendem Gas: Nicht löschen, bis Undichtigkeit
	gefahrlos beseitigt werden kann.
P378	zum Löschen verwenden.
P380	Umgebung räumen.
P381	Alle Zündquellen entfernen, wenn gefahrlos möglich.
P390	Verschüttete Mengen aufnehmen, um Materialschäden zu vermei-
	den.
P391	Verschüttete Mengen aufnehmen.
P301 + P310	Bei Verschlucken: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anru-
	fen.
P301 + P312	Bei Verschlucken: Bei Unwohlsein Giftinformationszentrum oder
	Arzt anrufen.
P301 + P330 + P331	Bei Verschlucken: Mund ausspülen. Kein Erbrechen herbeiführen.

P302 + P334	Bei Kontakt mit der Haut: In kaltes Wasser tauchen/ nassen Verband
	anlegen.
P302 + P350	Bei Kontakt mit der Haut: Behutsam mit viel Wasser und Seife wa-
	schen.
P302 + P352	Bei Kontakt mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen.
P303 + P361 + P353	Bei Kontakt mit der Haut (oder dem Haar): Alle beschmutzten, ge-
	tränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwa-
	schen/ duschen.
P304 + P340	Bei Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ru-
	higstellen, die das Atmen erleichtert.
P304 + P341	Bei Einatmen: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen
	und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
P305 + P351 + P338	Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit
	Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfer-
	nen. Weiter spülen.
P306 + P360	Bei Kontakt mit der Kleidung: Kontaminierte Kleidung und Haut
	sofort mit viel Wasser abwaschen und danach Kleidung ausziehen.
P307 + P311	Bei Exposition: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
P308 + P313	Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ ärztli-
	che Hilfe hinzuziehen.
<b>P309 + P311</b>	Bei Exposition oder Unwohlsein: Giftinformationszentrum oder
	Arzt anrufen.
P332 + P313	Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuzie-
	hen.
P333 + P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche
	Hilfe hinzuziehen.
P335 + P334	Lose Partikel von der Haut abbürsten: In kaltes Wasser tauchen/
	nassen Verband anlegen.
P337 + P313	Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche
	Hilfe hinzuziehen.
P342 + P311	Bei Symptomen der Atemwege: Giftinformationszentrum oder Arzt
	anrufen.
P370 + P376	Bei Brand: Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.

P370 + P378	Bei Brand: zum Löschen verwenden.			
P370 + P380	Bei Brand: Umgebung räumen.			
P370 + P380 + P375	Bei Brand: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brand aus			
	der Entfernung bekämpfen.			
P371 + P380 + P375	Bei Großbrand und großen Mengen: Umgebung räumen. Wegen			
	Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.			

### P400-Reihe: Aufbewahrung

P401	aufbewahren.
P402	An einem trockenen Ort aufbewahren.
P403	An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P404	In einem geschlossenen Behälter aufbewahren.
P405	Unter Verschluss aufbewahren.
P406	In korrosionsbeständigem/ Behälter mit korrosionsbeständiger
	Auskleidung aufbewahren.
P407	Luftspalt zwischen Stapeln/ Paletten lassen.
P410	Vor Sonnenbestrahlung schützen.
P411	Bei Temperaturen von nicht mehr als °C/ aufbewahren.
P412	Nicht Temperaturen von mehr als 50 °C aussetzen.
P413	Schüttgut in Mengen von mehr als kg bei Temperaturen von
	nicht mehr als °C aufbewahren.
P420	Von anderen Materialien entfernt aufbewahren.
P422	Inhalt in/ unter aufbewahren.
P402 + P404	In einem geschlossenen Behälter an einem trockenen Ort aufbewah-
	ren.
P403 + P233	Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewah-
	ren.
P403 + P235	Kühl an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P410 + P403	Vor Sonnenbestrahlung geschützt an einem gut belüfteten Ort auf-
	bewahren.

P410 + P412	Vor Sonnenbestrahlung schützen und nicht Temperaturen von mehr
	als 50 °C aussetzen.
P411 + P235	Kühl und bei Temperaturen von nicht mehr als °C aufbewahren.

### P500-Reihe: Entsorgung

P501 Inhalt/ Behälter ... zuführen.

# Verwendete Chemikalien

Substanz	Piktogramme	H-Sätze	P-Sätze
Agarose	-	-	-
Allylbromid (97%)	GHS02, GHS05,	H225-H301-H314-	P201-P210-P273-
	GHS06, GHS08,	Н340-Н350-Н400	P280-P301+P310-
	GHS09		P305+P351+P338
	Gefahr		
Amberlyst A15 (H <sup>+</sup> )	-	-	-
Amberlyst A26 (OH <sup>-</sup> )	-	-	-
Borsäure	GHS08	H360fd	P201-P308+313
	Gefahr		
<i>n</i> -Butyllithium (1,6 M in <i>n</i> -	GHS02, GHS05,	H225-H250-H261-	P210-P222-
Hexan)	GHS07, GHS08,	H304-H314-H336-	P231+P232-P261-
	GHS09	H361f-H373-H411	P273-P422
	Gefahr		
11-Bromundecansäure	-	-	-
(95%)			
meta-Chlorperbenzoesäure	GHS07, GHS08	H242-H315-H317-	P220-P261-P280-
(≤77%)	Gefahr	Н319-Н335	P305+P351+P338-
			P410-P411+P235
Citronensäure	GHS07	H319	P305+P351+P338
	Achtung		
Dichlormethan	GHS07, GHS08	Н351-Н373-Н315-	P281-P201-P202-
	Achtung	Н319-Н335-Н336	P261-
			P305+P351+P338-
			P309+P311
Diethylether	GHS02, GHS07	H224-H302-H336	P210-P261
	Gefahr		
Dikaliumhydrogenphosphat	-	-	-

Substanz	Piktogramme	H-Sätze	P-Sätze
Dimethylamin (33 Gew.%	GHS02, GHS05,	H225-H314-H335-	P210-P261-P273-
in Ethanol)	GHS07	H412	P280-
	Gefahr		P305+P351+P338-
			P310
Di-tert-butyldicarbonat	GHS02, GHS06	H226-H315-H317-	P260-P280-P284-
(≥98%)	Gefahr	Н319-Н330-Н335	P305+P351+P338-
			P310
Ethanol	GHS02	H225	P210
	Gefahr		
Ethylacetat	GHS02, GHS07	Н225-Н319-Н336	P210-P261-
	Gefahr		P305+P351+P338
Glycin	-	-	-
Hexachloroplatin(IV)-säure	GHS05, GHS07,	H302-H314-H317-	P261-P280-
(8% ige Lösung in Wasser)	GHS08	H334	P305+P351+P338-
	Gefahr		P310
<i>n</i> -Hexan	GHS02, GHS07,	H225-H304-H315-	P210-P261-P273-
	GHS08, GHS09	H336-H361f-	P281-P301+P310-
	Gefahr	H373-H411	P331
HEPES	-	-	-
3,3'-Iminobis-N,N-	GHS05, GHS06	H302-H311-H314	P280-
dimethylpropylamin (97%)	Gefahr		P305+P351+P338-
			P310
Kaliumcarbonat	GHS07	Н302-Н315-Н319-	P261-
	Achtung	H335	P305+P351+P338
Kaliumiodid	GHS07	H302-H315-H319	P305+P351+P338
	Achtung		
Kaliumpermanganat	GHS03, GHS05,	H272-H302-H314-	P220-P273-P280-
	GHS07, GHS09	H410	P305+P351+P338-
	Gefahr		P310-P501
Kohlenstoffdisulfid	GHS02, GHS07,	H225-H302-H315-	P210-P281-
(≥99,9%)	GHS08	H319-H361fd-	P305+P351+P338-
	Gefahr	H372	P314

Substanz	Piktogramme	H-Sätze	P-Sätze
Lithiumaluminiumhydrid	GHS02, GHS05,	H225-H260-H314-	P210-P223-
(2 M in THF)	GHS07, GHS08	H335-H351	P231+P232-P261-
	Gefahr		P370+P378-P422
Methanol	GHS02, GHS06,	H225-H301-H311-	P210-P260-P280-
	GHS08	Н331-Н370	P301+P310-P311
	Gefahr		
Methylamin (40 Gew.% in	GHS02, GHS05,	H225-H302-H314-	P210-P261-P280-
Wasser)	GHS06	Н331-Н335	P305+P351+P338-
	Gefahr		P310
Methyl-tert-butylether	GHS02, GHS07	H225-H315	P280-P210-
	Gefahr		P302+P352
Natriumchlorid	-	-	-
Natriumhydrogencarbonat	-	-	-
Natriumhydrogensulfit	GHS07	H302	P264-P270-
(40%-ige Lösung)	Achtung	EUH031	P301+P312-P330-
			P501
Natriumhydroxid	GHS05	H290-H314	P280-
	Gefahr		P305+P351+P338-
			P301+P330+P331-
			P310
Natriumsulfat	-	-	-
Oxalylchlorid	GHS05, GHS06	H314-H331-H335	P261-P280-
	Gefahr		P305+P351+P338-
			P310
1,3-Propansulton (98%)	GHS07, GHS08	Н302-Н312-Н319-	P201-P280-
	Gefahr	H350	P305+P351+P338-
			P308+P313
Schwefelsäure (95 – 97%)	GHS 05	H290-H314	P280-
	Gefahr		P301+P330+P331-
			P305+P351+P338-
			P308+P310

Substanz	Piktogramme	H-Sätze	P-Sätze
Tetrahydrofuran	GHS02, GHS07,	H225-H319-H335-	P210-P261-P281-
	GHS08	H351	P305+P351+P338
	Gefahr		
Triethylamin	GHS02, GHS05,	H225-H302-	P210-P261-P280-
	GHS06	H311+H331-H314-	P305+P351+P338-
	Gefahr	H335	P310
N,N,N'-Trimethylpropan-	GHS02, GHS05,	H226-H302-H312-	P280-
1,3-diamin (96%)	GHS07	H314-H332	P305+P351+P338-
	Gefahr		P310

### Anhang B – NMR-Spektren

Teilweise waren in den <sup>13</sup>C-NMR-Spektren einige Signale infolge mangelhafter Relaxation extrem verbreitert, so dass sie mit den Standard-Messprotokollen nicht oder nicht sicher erfasst werden konnten. Dieses Phänomen ist häufig bei quaternären und Carbonyl-Kohlenstoffatomen sowie Kohlenstoffatomen in Nachbarschaft zu Stickstoffatomen zu beobachten. In diesen Fällen wurden mittels 2D-NMR-Spektren (HSQC und HMBC, hier nicht gezeigt) alle Signale zweifelsfrei detektiert, die chemische Verschiebung der Kohlenstoffatomen zu bezugeordnet und die Integrität der synthetisierten Strukturen somit sichergestellt.



Abbildung B1: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von 3-((3-((tert-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-propyl)dimethylammonio)-propan-1-sulfonat 7a in D<sub>2</sub>O.



Abbildung B2: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von 3-(Dimethyl(3-(methylamino)propyl)ammonio)-propan-1-sulfonat 8a in D<sub>2</sub>O.



Abbildung B3: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von 3,3'-((((*tert*-Butoxycarbonyl)azadiyl)bis-(propan-3,1-diyl))bis(dimethylammoniodiyl))bis(propan-1-sulfonat) in D<sub>2</sub>O.



Abbildung B4: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von 3,3'-((Azadiylbis(propan-3,1-diyl))bis-(dimethyl-ammoniodiyl))bis-(propan-1-sulfonat) 9 in D<sub>2</sub>O.



Abbildung B5: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von 1-((3-((*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino)dimethylammonio)hex-5-en-3-sulfonat in D<sub>2</sub>O.



Abbildung B6: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von 1-(Dimethyl(3-methylamino)propyl)ammonio)hex-5-en-3-sulfonat 16 in D<sub>2</sub>O.



Abbildung B7: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von *tert*-Butyl(11-(dimethylamino)undecyl(methyl)carbamat 6b in CDCl<sub>3</sub>.



Abbildung B8: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von 3-((11-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)undecyl)dimethylammonio)-propan-1-sulfonat 7b in D<sub>2</sub>O. (Die Multipletts bei 3,77 und 1,90 ppm im <sup>1</sup>H- sowie die beiden Signale bei 68,7 und 25,8 ppm im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum stammen von THF.)



Abbildung B9: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von 3-(Dimethyl(11-(methylamino)undecyl)ammonio)-propan-1-sulfonat 8b in D<sub>2</sub>O.

### Anhang C – Massenspektren



Abbildung C1: ESI-Massenspektrum von 3-((3-((*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino)propyl)dimethylammonio)-propan-1-sulfonat 7a im positiven Modus.



Abbildung C2: ESI-Massenspektrum von 3-(Dimethyl(3-(methylamino)propyl)ammonio)propan-1-sulfonat 8a im positiven Modus.

#### Erläuterungen zu Abbildung C3 und C4:



Abbildung C3: ESI-Massenspektrum von 3,3'-((((*tert*-Butoxycarbonyl)azadiyl)bis(propan-3,1-diyl))bis(dimethyl-ammoniodiyl))bis(propan-1-sulfonat) im positiven Modus.



Abbildung C4: ESI-Massenspektrum von 3,3'-((Azadiylbis(propan-3,1-diyl))bis(dimethyl-ammoniodiyl))bis-(propan-1-sulfonat) 9 im positiven Modus.



Abbildung C5: ESI-Massenspektrum von 1-((3-((*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino)dimethylammonio)hex-5-en-3-sulfonat im positiven Modus.



Abbildung C6: ESI-Massenspektrum von 1-(Dimethyl(3-methylamino)propyl)ammonio)hex-5en-3-sulfonat 16 im positiven Modus.



Abbildung C7: ESI-Massenspektrum von *tert*-Butyl(11-(dimethylamino)undecyl(methyl)carbamat 6b im positiven Modus.



Abbildung C8: ESI-Massenspektrum von 3-((11-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)undecyl)dimethylammonio)-propan-1-sulfonat 7b im positiven Modus.



Abbildung C9: ESI-Massenspektrum von 3-(Dimethyl(11-(methylamino)undecyl)ammonio)propan-1-sulfonat 8b im positiven Modus.

#### Anhang D – Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei den vielen Menschen bedanken, die mich während meiner Promotionszeit unterstützt und diese Arbeit dadurch ermöglicht haben.

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Horst Weller für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis, die Überlassung des interessanten und neuen Themas, das mir entgegengebrachte Vertrauen und die während der gesamten Zeit gewährten Freiheiten.

Herrn Prof. Dr. Volker Abetz danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Dr. Theo Schotten danke ich für die gute Zusammenarbeit und die hilfreichen Diskussionen im Rahmen meiner Doktorarbeit.

Bei Beate Kreutzer und Sigrid Zeckert bedanke ich mich ganz herzlich für die Unterstützung bei allen organisatorischen Belangen. Sie hatten stets ein offenes Ohr und fanden schnell Lösungen für Probleme jeglicher Art.

Stefan Werner und Andreas Kornowski danke ich für die TEM-Messungen sowie die sehr hilfreichen fachlichen Diskussionen.

Ich bedanke mich bei der CAN GmbH für meine zwischenzeitliche Anstellung als wissenschaftliche Mitarbeiterin und die Bereitstellung der Geräte und Materialien sowie des Laborplatzes. Den Mitarbeitern der CAN GmbH danke ich ebenfalls, insbesondere Dr. Jan Niehaus und Tobias Jochum für die Versorgung mit diversen Chargen Quantum Dot in Quantum Rods und die vielen fachlichen Diskussionen rund um dieses Thema. Bei Carsten Ott bedanke ich mich für die Hilfestellungen im Bereich organischer Synthesen und Ligandenaustausch. Katja Werner und Marieke Diekmann danke ich für die stete Bereitschaft, mir bei Fragen im Biobereich zu helfen. Charis Schlundt danke ich für die Durchführung der Toxizitätsexperimente und der Zellaufnahmestudien meiner Partikel sowie den Diskussionen zu diesen Versuchen. Dr. Johannes Ostermann danke ich für die konfokalmikroskopischen Aufnahmen.

Bei dem gesamten Arbeitskreis Weller, ganz besonders meiner Bürokollegin Anna-Marlena Kreuziger, bedanke ich mich für die tolle Zeit während meiner Promotion.

Jan-Philip Merkl danke ich für die Messung der Fluoreszenzabklingkurven und die Hilfe bei der Auswertung.

Für die Zusammenarbeit bei den Biothemen bedanke ich mich bei unserer Biogruppe, insbesondere Dr. Johannes Ostermann, Jan-Philip Merkl und Anna-Marlena Kreuziger.

Sören, Stefan, Sebastian, Jan und Tobias gilt mein Dank für die stets lustigen Mittagspausen.

Meinen Praktikanten Vanessa Wulf, Jim Uther, Oliver Dabrowski und Patrick Jabs danke ich für ihr Engagement und die tolle Mitarbeit.

Dr. Thomas Hackl und dem Team der NMR-Abteilung danke ich für die vielen gemessenen Spektren und die fachlichen Diskussionen rund um das Thema NMR.

Dr. Maria Riedner und dem Team der Massenspektrometrie-Abteilung danke ich für die Aufnahme der Massenspektren.

Bei Alexander Fischer vom Universitätsklinikum Eppendorf bedanke ich mich für die Durchführung der *in vivo* Experimente.

Für das Korrekturlesen meiner Arbeit danke ich Dr. Theo Schotten, Dr. Johannes Ostermann, Jan-Philip Merkl und meiner Mutter Frauke Steuter.

Zu guter Letzt bedanke ich mich ganz herzlich bei meiner Familie und bei Boris für die ständige Unterstützung, Hilfe und Geduld während meiner Promotionszeit.

# Anhang E – Lebenslauf

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

XXXVI

# Anhang F – Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsvorhaben eingereicht wurde.

Bremen, den 14.12.2015

Michaela Steuter