

---

# **Polymerbasierte Nanokapseln zum passiven Wirkstofftransport**

---

## **INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Doktorgrades  
an der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften  
Fachbereich Chemie  
Universität Hamburg

vorgelegt von

**Sebastian Demmler**

Hamburg  
2022



**Gutachter der Dissertation** Prof. Dr. Horst Weller  
Prof. Dr. Alf Mews

**Gutachter der Disputation** Prof. Dr. Horst Weller  
Prof. Dr. Jörg Heeren  
Priv. Doz. Dr. Christoph Wutz

**Tag der Disputation** 01. April 2022



Die vorliegende Dissertation wurde im Zeitraum vom April 2019 bis März 2022 am Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung IAP im Forschungsbereich für Angewandte Nanotechnologie IAP-CAN in Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Horst Weller vom Institut für Physikalische Chemie der Universität Hamburg angefertigt.



# Sperrvermerk

Die vorliegende Dissertation mit dem Titel ***“Polymerbasierte Nanokapseln zum passiven Wirkstofftransport“*** enthält vertrauliche Daten und Informationen des Fraunhofer-Zentrums für Angewandte Nanotechnologie IAP-CAN.

Die Dissertation darf nur dem Erst- und Zweitgutachter sowie befugten Mitgliedern des Prüfungsausschusses zugänglich gemacht werden. Eine Veröffentlichung und Vervielfältigung der Dissertation ist - auch in Auszügen - nicht gestattet.

Eine Einsichtnahme der Arbeit durch Unbefugte bedarf einer ausdrücklichen Genehmigung des Verfassers und des Fraunhofer-Zentrums für Angewandte Nanotechnologie IAP-CAN.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>V</b>
<b>1. Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>2. Abstract</b>	<b>3</b>
<b>3. Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>4. Theorie</b>	<b>7</b>
4.1. Körpereigene Immunabwehr . . . . .	7
4.1.1. Besonderheit der LSECs . . . . .	8
4.2. Nano-Carrier-Systeme . . . . .	10
4.2.1. Anorganische Nanopartikel . . . . .	10
4.2.2. Organische Konstrukte . . . . .	11
4.2.3. Amphiphile als inverse Mizellbildner . . . . .	16
4.2.4. Theoretische Grundlagen zur Mizellbildung . . . . .	19
4.3. Photochemische Prozesse . . . . .	21
4.3.1. Photoinitiatoren . . . . .	24
4.3.2. Thiol-en Reaktion . . . . .	26
4.4. Quenchingeffekte bei Rhodaminfarbstoffen . . . . .	28
<b>5. Zielsetzung &amp; Konzeption</b>	<b>31</b>
<b>6. Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>33</b>
6.1. Synthese Mizellbildner . . . . .	33
6.2. Erster Phasentransfer . . . . .	39
6.2.1. Lösungsmittel-Screening . . . . .	40
6.2.2. Einfluss des Halogenids . . . . .	44

6.2.3. Fluoreszenzeigenschaften verkapselter Farbstoffe . . . . .	47
6.3. Cross-Linking . . . . .	48
6.3.1. Verschiedene Thiole . . . . .	49
6.3.2. Reaktionszeiten . . . . .	53
6.3.3. Inverse Mizellen in TEM Aufnahmen . . . . .	55
6.4. Zweiter Phasentransfer/Interkalation . . . . .	56
6.4.1. Untersuchungen der Polymerüberschüsse . . . . .	57
6.4.2. Isotonische Aufarbeitung . . . . .	60
6.4.3. Phasentransfer aus organischem Lösungsmittel . . . . .	62
6.4.4. Einfluss des pH-Wertes auf den Phasentransfer . . . . .	63
6.4.5. Beladungskapazität . . . . .	66
6.4.6. REM und TEM Aufnahmen von Nanokapseln . . . . .	68
6.5. Optimierte Nano-Carrier-Systeme . . . . .	70
6.5.1. Reproduzierbarkeit . . . . .	72
6.5.2. Stabilität . . . . .	73
6.5.3. Lyophilisation . . . . .	74
6.5.4. Toxizitätstests . . . . .	75
6.5.5. Zelluläre Aufnahme der Konstrukte . . . . .	81
<b>7. Ausblick</b>	<b>87</b>
<b>8. Experimenteller Teil</b>	<b>89</b>
8.1. Allgemeine Methoden . . . . .	89
8.1.1. Lösungsmittel und Reagenzien . . . . .	89
8.1.2. Chromatographische Methoden . . . . .	90
8.1.3. Instrumentelle Methoden . . . . .	91
8.2. Allgemeine Synthesevorschrift tertiärer Amine . . . . .	92
8.2.1. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -hexylamin . . . . .	93
8.2.2. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -octylamin . . . . .	93
8.2.3. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -decylamin . . . . .	94
8.2.4. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -dodecylamin . . . . .	94
8.2.5. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -tetradecylamin . . . . .	95
8.2.6. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -hexadecylamin . . . . .	95
8.3. Allgemeine Synthesevorschrift quartärer Ammoniumsalze . . . . .	96
8.3.1. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexylammoniumbromid (DHexAB) . . . . .	96
8.3.2. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexylammoniumiodid (DHexAI) . . . . .	97
8.3.3. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dioctylammoniumbromid (DOAB) . . . . .	97

8.3.4. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dioctylammoniumiodid (DOAI) . . . . .	98
8.3.5. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didecylammoniumbromid (DDeAB) . . . . .	98
8.3.6. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didecylammoniumiodid (DDeAI) . . . . .	99
8.3.7. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didodecylammoniumbromid (DDAB) . . . . .	99
8.3.8. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didodecylammoniumiodid (DDAI) . . . . .	100
8.3.9. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -ditetradecylammoniumbromid (DTAB) . . . . .	100
8.3.10. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexadecylammoniumbromid (DHAB) . . . . .	101
8.3.11. <i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexadecylammoniumiodid (DHAI) . . . . .	101
8.4. <i>N,N,N</i> -Triallyldodecylammoniumbromid (TDAB) . . . . .	102
8.5. <i>N,N</i> -Diallyl-dodecylammonio- <i>N</i> -propylsulfonat (DDsulfo) . . . . .	103
8.6. Verkapselung und Phasentransfer . . . . .	104
8.6.1. Bildung inverser Mizellen . . . . .	104
8.6.2. Photochemische Bestrahlung . . . . .	104
8.6.3. Interkalation und zweiter Phasentransfer . . . . .	104
8.6.4. Toxizitätstests . . . . .	105
8.6.5. Zelluläre Aufnahme in LSECs . . . . .	105
<b>9. Literaturverzeichnis</b>	<b>107</b>
<b>A. Anhang</b>	<b>IX</b>
Auflistung der verwendeten Gefahrstoffe inklusive H- und P-Sätzen . . . . .	IX
Wortlaut der H- und P-Sätze . . . . .	XIII
Gefahrenpiktogramme . . . . .	XXV
Danksagung . . . . .	XXVII
Eidesstattliche Erklärung . . . . .	XXIX



# Abkürzungsverzeichnis

<b><math>a_{av}</math></b>	durchschnittliche Oberfläche
<b><math>a_0</math></b>	optimale Oberfläche
<b>AOT</b>	Bis-(2-ethylhexyl)-sulfosuccinat Natriumsalz
<b>BS-Na</b>	Bernsteinsäure Dinatriumsalz
<b>CTAB</b>	Cetyltrimethylammoniumbromid
<b>d</b>	Dublett
<b>DC</b>	Dünnschichtchromatographie
<b>DDAB</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didodecylammoniumbromid
<b>DDAI</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didodecylammoniumiodid
<b>DDeAB</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didecylammoniumbromid
<b>DDeAI</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didecylammoniumiodid
<b>DDsulfo</b>	<i>N,N</i> -Diallyl-dodecylammonio- <i>N</i> -propylsulfonat
<b>DHAB</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexadecylammoniumbromid
<b>DHAI</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexadecylammoniumiodid
<b>DHexAB</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexylammoniumbromid
<b>DHexAI</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexylammoniumiodid
<b>ddt</b>	Dublett vom Dublett vom Triplett
<b>DLS</b>	dynamische Lichtstreuung
<b>DMAc</b>	<i>N,N</i> -Dimethylacetamid
<b>DMPA</b>	2,2-Dimethoxy-2-phenylacetophenon
<b>DOAB</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dioctylammoniumbromid
<b>DOAI</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dioctylammoniumiodid
<b>DODMAC</b>	<i>N,N</i> -Dioctyl- <i>N,N</i> -dimethylammoniumchlorid
<b>DTAB</b>	<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -ditetradecylammoniumbromid
<b>EAE</b>	experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis
<b>eq.</b>	Äquivalente
<b>ESI</b>	Elektronenspray-Ionisation
<b><i>et al.</i></b>	und andere
<b>EtOAc</b>	Ethylacetat

## Abkürzungsverzeichnis

<b>EtOH</b>	Ethanol
<b>HepG2</b>	HepG2-Zelllinie
<b>HeLa</b>	HeLa-Zelllinie
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IC</b>	Internal Conversion
<b>IR</b>	Infrarot
<b>ISC</b>	Intersystem crossing
<b><i>J</i></b>	Kopplungskonstante
<b><i>l<sub>k</sub></i></b>	kritische Länge
<b>LSECs</b>	sinusoidale Leberendothelzellen
<b><i>M</i></b>	Molmasse
<b>MS</b>	Massenspektren
<b>m/z</b>	Masse zu Ladung
<b><i>N</i></b>	Vielfaches
<b><i>v</i></b>	Volumen des Mizellbildners
<b>NMR</b>	<i>nuclear magnetic resonance</i>
<b><i>O</i><sub>Gesamt</sub></b>	Gesamtoberfläche
<b><i>O</i><sub>IM</sub></b>	Oberfläche der inversen Mizelle
<b>OD</b>	Octadecan
<b>p</b>	Quintett
<b><i>P</i></b>	Packungsparameter
<b>PEG</b>	Polyethylenglycol
<b>PETMP</b>	Pentaerythritetrakis(3-mercaptopropionat)
<b>PMAcOD</b>	Poly(Maleinsäure- <i>alt</i> -1-Octadecen)
<b>PMAOD</b>	Poly(Maleinsäureanhydrid- <i>alt</i> -1-Octadecen)
<b>ppm</b>	<i>parts per million</i>
<b>PTFE</b>	Poly(tetrafluorethylen)
<b>q</b>	Quartett
<b>r</b>	Radius
<b>REM</b>	Rasterelektronenmikroskopie
<b>RT</b>	Raumtemperatur
<b>s</b>	Singulett
<b>SC</b>	Säulenchromatographie
<b>sept</b>	Septett
<b>Smp.</b>	Schmelzpunkt
<b>SPIOs</b>	superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel

## Abkürzungsverzeichnis

<b>t</b>	Triplet
<b>TEM</b>	Transmissionselektronenmikroskopie
<b>TOF</b>	Flugzeit ( <i>time of flight</i> )
<b>THF</b>	Tetrahydrofuran
<b>TDAB</b>	<i>N,N,N</i> -Triallyldodecylammoniumbromid
$V_{\text{Gesamt}}$	Gesamtvolumen
$W_0$	Wasser-zu-Mizellbildner-Anteil



# 1. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird eine neuartige Verkapselungsmethode zur Herstellung beladener Polymerkapseln gezeigt. Durch die gewählte Polymeroberfläche, die Optimierung der Partikelgröße sowie in Abhängigkeit des Zetapotenzials, wird eine gezielte Adressierung der sinusoidalen Leberendothelzellen (LSECs) ermöglicht. Der Aufbau der Nanokonstrukte beruht auf der Ausbildung einer inversen Mizelle, in der die hydrophile Beladung eingeschlossen ist. Eine Quervernetzung sorgt für die nötige Stabilität und verhindert die unspezifische Freisetzung der Beladung. Durch einen Interkalationsprozess, der auf VAN DER WAALS-Wechselwirkungen aliphatischer Seitenketten basiert, konnte eine Polymeroberfläche eingebracht und somit eine Wasserlöslichkeit der Gesamtkonstrukte erreicht werden.

Die Ausbildung der inversen Mizellen erfolgte durch die Verwendung von Ammoniumsalzen. Diese wurden zunächst in einer zweistufigen Synthese mit unterschiedlichen aliphatischen Seitenketten in guten Ausbeuten und hoher Reinheit synthetisiert. Zum Tracking der Polymerkapseln in *in vitro* und *in vivo* Studien, wurden fluoreszente Rhodaminfarbstoffe eingesetzt. In einem Lösungsmittel-Screening wurden in Tetrahydrofuran (THF) die kleinsten Mizellen unter Erhaltung der Fluoreszenzeigenschaften der Farbstoffe erhalten. Durch eine photoinduzierte Thiol-en Reaktion konnte für einige Ammoniumbromide eine vollständige Quervernetzung bereits nach kurzer Bestrahlungszeit und eine Stabilität der mizellaren Konstrukte über mehrere Wochen erreicht werden. Ein ausgiebiger Optimierungsprozess für den zweiten Phasentransfer beinhaltete die Reduzierung des notwendigen Polymeranteils sowie die Verkleinerung der erhaltenen Nanokapseln, um die größenspezifische Zellaufnahme<sup>[1-3]</sup> in Kupffer-Zellen zu vermindern. Dadurch konnten langzeitstabile Lösungen sowie die erfolgreiche Adressierung der LSECs gezeigt werden. Weiterhin bieten die hergestellten Nano-Carrier die Möglichkeit das Lösungsmittel unter Erhalt der Stabilität vollständig zu entfernen, wodurch eine Lagerung im trockenen Zustand sowie das anschließende Lösen in wässrigen Medien mit exakten Konzentrationsangaben ermöglicht wird.



## 2. Abstract

In the present work, a new encapsulation method for loaded polymer based nanoparticles is presented. Based on the polymer surface, the optimization process regarding the overall size and the value of the zeta potential, an accumulation in the liver sinusoidal endothelial cells (LSECs) occurred almost exclusively. The structure of the nanoconstructs consists of the entrapment of hydrophilic cargo within a reverse micelle. Stability is given via cross-linking and furthermore inhibits unspecific release of cargo. As a result of the intercalation process, based on VAN DER WAALS interactions, a polymer shell could be introduced and therefore gave rise to water-soluble nano-carriers.

The formation of reverse micelles was based on ammonium salts with different aliphatic side chains, which were synthesized in a two-step synthesis. The compounds could be isolated in good yields and high purity. For tracking the loaded nanoparticles *in vitro* and *in vivo*, fluorescent rhodamine dyes were used as cargo. During a solvent screening, tetrahydrofuran (THF) showed the formation of small micelles keeping the fluorescent properties intact. In a photoinduced thiol-ene reaction, a complete turnover could be achieved for some ammonium bromides within a short reaction time and therefore allow stability of the micellar structures for weeks. A thorough optimization process during the second phase transfer implicated a tremendous reduction of required polymer and decrease in particle diameter, thus reducing size-dependent cellular uptake<sup>[1-3]</sup> by Kupffer cells. Additionally, long-term stability in solution and selective delivery to LSECs was achieved. By removal of the solvent, the nano-carrier showed complete stability allowing storage in dryness as well as preparing aqueous solutions with exact concentrations.



## 3. Einleitung

Alle vielzelligen Tiere, auch Metazoa genannt, besitzen ein komplexes, angeborenes Immunsystem als Schutz vor schädlichen Mikroorganismen.<sup>[4]</sup> Das Grundprinzip beruht auf der Bildung arttypischer Rezeptoren, die wiederkehrende Muster in den Pathogenen erkennen.<sup>[5]</sup> Die Anforderungen, welche an dieses System gestellt werden, beinhalten die Erkennung und Beseitigung von Pathogenen, ohne dabei eigenes Gewebe anzugreifen. Dieses universelle und rapide agierende Schutzsystem bewahrt vor einer Vielzahl schwerwiegender Infektionen, kann durch die Immunantwort allerdings auch das eigene System schädigen. Dadurch wird unter anderem zu der Entwicklung von Autoimmunkrankheiten und Asthma beigetragen. Wirbeltiere besitzen neben dem angeborenen noch das adaptive Immunsystem.<sup>[4,6]</sup> Dieses unterscheidet sich vom angeborenen Immunsystem, da es in der Lage ist ein immunologisches Gedächtnis zu entwickeln und somit die Grundlage für die Immunisierung vor Infektionskrankheiten darstellt. Dies geschieht, indem es eine Vielzahl an Leukozyten produziert, die jeweils unterschiedliche Antigen-Rezeptoren besitzen. Eine Klasse der Leukozyten sind die Lymphozyten, die mithilfe der sich auf der Oberfläche befindlichen Rezeptoren die pathogenen Antigene erkennen und passende Antikörper generieren.<sup>[5]</sup> Trotz dieser komplexen Schutzvorkehrungen des Körpers sind Krankheiten allzu gegenwärtig und das Interesse am Verständnis der Wirkweise und der Beeinflussung des Immunsystems immens.<sup>[7,8]</sup> Es spielen nicht nur die interzelluläre Kommunikation der Leukozyten und die daraus resultierende Immunantwort eine wichtige Rolle, sondern zudem auch der Schutz der verwendeten Medikamente vor Proteolyse,<sup>[9]</sup> ungewollter Wechselwirkung mit hydrophoben Oberflächen<sup>[10]</sup> sowie der mit Nebenwirkungen behaftete metabolische Abbau.<sup>[11]</sup> Hier kommt die Nanotechnologie zum Einsatz, die sich mit der Wissenschaft von Partikeln im Bereich von 0.1–100 nm beschäftigt.<sup>[12]</sup> Durch die Verwendung von sogenannten Nano-Carriern wie beispielsweise Liposomen, Hydrogelen, Mizellen oder Nanopartikeln, können zum einen wasserlösliche Substanzen eingesetzt und zum anderen die Proteine und Peptide geschützt werden. Einige dieser Konstrukte befinden sich bereits in der klinischen Studie oder

sind kommerziell erhältlich.<sup>[13,14]</sup> Ein wichtiger Aspekt bei der Verkapselung der eingesetzten Peptide ist die Erhaltung der Entität. Das bedeutet, die Molekülstruktur darf sich beim Verkapselungsprozess nicht verändern, da ansonsten eine erneute Zulassung des Medikaments nötig wäre. Weiterhin ist eine große Herausforderung, eine zellspezifische Adressierung dieser Nano-Carrier zu erreichen, um die Medikamentendosis verringern und so die Wahrscheinlichkeit von Nebenwirkungen reduzieren zu können.

## 4. Theorie

### 4.1. Körpereigene Immunabwehr

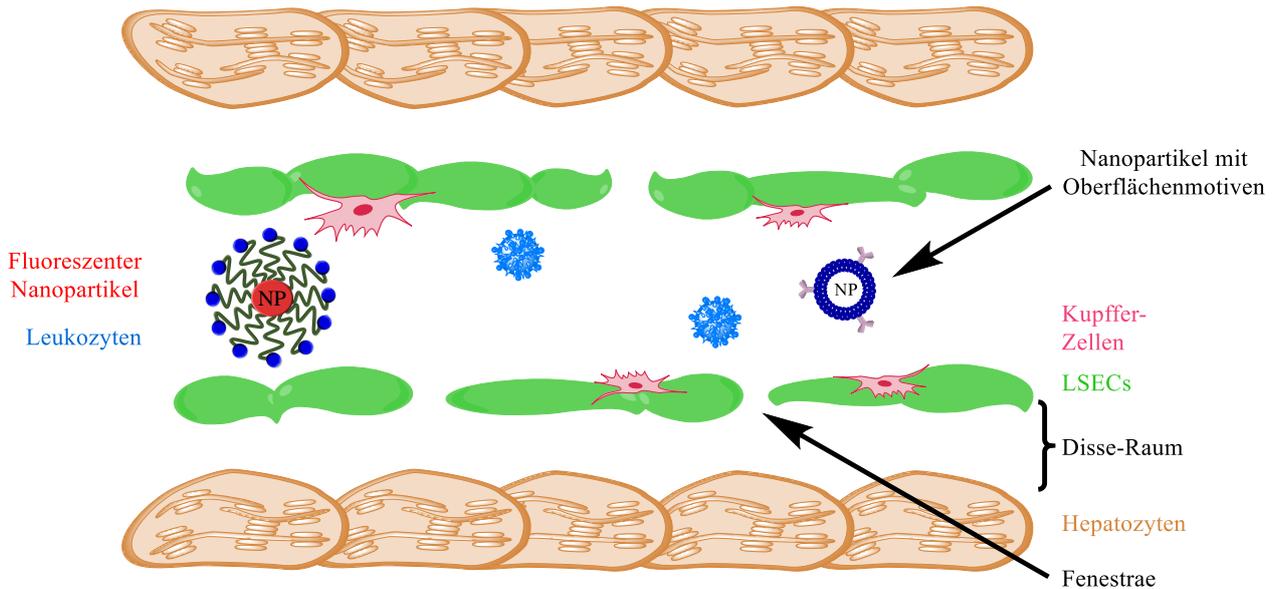
Der Schutz des menschlichen Körpers vor schädlichen Mikroorganismen setzt sich aus dem angeborenen und dem adaptiven Immunsystem zusammen. Dabei nutzt das angeborene Immunsystem unterschiedliche Mechanismen aus, deren Wichtigkeit im Folgenden verdeutlicht werden soll. Der saure pH-Wert des Magens ist in der Lage unverdaute Mikroorganismen abzutöten. Weiterhin kann durch die Erhöhung der Körpertemperatur das Wachstum einiger Pathogene gehemmt werden. Schleimhäute, beispielsweise die des Darms, fungieren als weitere Schutzbarriere.<sup>[6]</sup> Im Darmtrakt erfolgt die Verdauung, Absorption und der Metabolismus der aufgenommenen Nährstoffe, die anschließend ins Blut übertragen und zur Leber transportiert werden. Folglich ist eine gesunde Darmschleimhaut von großer Wichtigkeit. Allerdings ist es auch möglich, dass Pathogene die Schutzfunktion des Darms unbemerkt passieren oder durch das Gallenepithel direkt zur Leber und somit in den Blutkreislauf gelangen. Es sind daher weitere Schutzfunktionen notwendig, um den Körper ausreichend zu schützen.<sup>[15]</sup> Das angeborene Immunsystem ist in der Lage, Chemokine und Cytokine zu produzieren, die zur Zellkommunikation benötigt werden. Diese bekämpfen die Erreger nicht direkt, sondern steuern den Blutfluss zum infektiösen Gewebe, so dass eine Anreicherung von Leukozyten erfolgt.<sup>[4]</sup> Zu der Zellklasse der Leukozyten gehören unter anderem die sogenannten Makrophagen. Diese können Schadstoffe erkennen, aufnehmen und abtöten (Phagozytose). Weiterhin initiieren sie die Immunantwort gegenüber Pathogenen, indem sie die Antigene den zum adaptiven Immunsystem gehörigen antigenspezifischen CD4<sup>+</sup> T-Zellen vorstellen.<sup>[4,5]</sup> Eine wichtige Funktion beim Schutz vor schädlichen Erregern gilt der Leber, da vor allem dort die Expression von Cytochrom-P450-Monooxygenasen stattfindet. Diese Enzyme metabolisieren unter anderem eine Vielzahl an Medikamenten, die im Blut durch die Pfortader aus dem Magen-Darm-Trakt zur Leber kommen. In der Leber kann so die Konzentration der (Schad-)Substanzen im systemischen Blutkreislauf herabgesetzt werden. Der

metabolische Abbau der Medikamente durch die Cytochrom-P450-Enzyme kann allerdings die Wirkung stark herabsetzen oder sogar ganz unterbinden. Darüber hinaus resultieren etwa die Hälfte der schweren Nebenwirkungen von Medikamenten aus dem Metabolismus durch Cytochrom-P450-Enzyme.<sup>[11]</sup> Weiterhin muss die Leber zwischen pathogenen und den lebensnotwendigen Substanzen differenzieren können.<sup>[16]</sup> Dies erfolgt durch antigenpräsentierende Zellen, die in der Lage sind die Oberflächenantigene gesunder und schädlicher Zellen zu erkennen. Durch die Produktion antigenspezifischer, regulatorischer T-Zellen, ist sie in der Lage die Immunantwort zu beeinflussen.<sup>[17,18]</sup> Hier konnten CARAMBIA *et al.*<sup>[19]</sup> zeigen, dass die regulatorischen T-Zellen über sogenannte sinusoidale Leberendothelzellen (LSECs) induziert werden.

Aufgrund des großen Einflusses der Leber in der Immunabwehr sowie -toleranz, soll im folgenden Abschnitt der Aufbau und die Funktionsweise des Lebersinusoids genauer betrachtet werden.

##### 4.1.1. Besonderheit der LSECs

Die Leber wird zum einen mit nährstoffreichem Blut aus den Bauchorganen durch die Leberpfortader und zum anderen mit sauerstoffreichem Blut durch die hepatische Arterie versorgt. Hepatische Gefäße, in denen das Blut zusammengeführt wird, werden Sinusoid genannt, haben einen Durchmesser von 5–10 µm und nehmen ungefähr 10–30 % des Lebervolumens ein.<sup>[20]</sup> Die Architektur der Leber kann durch ein Netzwerk sich wiederholender sinusoidaler Gefäßstrukturen beschrieben werden. Aufgrund des Aufbaus wird die Blutversorgung der Hepatozyten, die durch eine dünne, gefensterte Schicht aus LSECs vom Blutstrom getrennt sind, ermöglicht. Die LSECs repräsentieren 2.5 vol% der Leber.<sup>[21]</sup> Mit einer Größe von 50–200 nm<sup>[22]</sup> der Fenestration ist der passive Molekülaustausch gegeben. Die hepatischen Makrophagen werden Kupffer-Zellen genannt. Insgesamt wird das hepatische Retikuloendotheliale System durch die Kupffer-, dendritischen Leberzellen (Leukozyten) und LSECs dargestellt (Abb. 4.1). Die Aufgabe ist die Beseitigung von Antigenen, Zerfallsprodukten und Toxinen.<sup>[23]</sup> Aufgrund des speziellen Aufbaus der Leber erfolgt die Phagozytose der Partikel ausschließlich durch Kupffer-Zellen.<sup>[24]</sup> Die hepatische Aufnahme der Konstrukte erfolgt dabei größenspezifisch.<sup>[25]</sup> Darüber hinaus besitzt die Leber zahlreiche natürliche Killer- und T-Killerzellen, die das angeborene Immunsystem darstellen.<sup>[26]</sup>



**Abb. 4.1.:** Vereinfachter Aufbau des Lebersinusoids unter Vernachlässigung von Größenverhältnissen. Die selektive Adressierung der LSECs wird hier durch die (fluoreszenten) Nanopartikel schematisch dargestellt.

Die Kupfer-, dendritischen Zellen sowie LSECs sind in der Lage  $CD4^+$  T-Zellen zu stimulieren. LSECs sowie eine Vielzahl weiterer nicht-blutbildender Leberzellen enthalten immunsuppressive Cytokine.<sup>[26]</sup> Durch die Möglichkeit der Leber, antigenspezifische regulatorische T-Zellen zu produzieren, kann eine hepatische Toleranz induziert werden. Die Präsentation dieser Zellen konnte durch die gezielte Aufnahme von LSECs induziert werden.<sup>[27–29]</sup> Aus diesem Grund eignet sich die Adressierung der Leberzellen besonders zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten.<sup>[30]</sup> Im Jahr 2015 konnten CARAMBIA *et al.*<sup>[30]</sup> Nanopartikel, welche mit einem autoantigenen Peptid beladen waren, selektiv an LSECs adressieren und somit antigenspezifische regulatorische T-Zellen erzeugen. In einem experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE)-Modell konnte auf diesem Wege nicht nur die EAE unterdrückt, sondern zudem auch therapiert werden.

## 4.2. Nano-Carrier-Systeme

Die Verwendung von Nano-Carrier-Systemen ermöglicht eine zielgerichtete Ansteuerung von Zellen (selektives Drug Delivery) mit bioaktiven Molekülen. Durch die geringere notwendige Dosis können Nebenwirkungen reduziert werden, da eine Wechselwirkung ausschließlich mit den gewünschten Zellen erfolgt.<sup>[12,31]</sup> Darüber hinaus kann eine personenspezifische Anpassung der Beladung vorgenommen werden. In Abschnitt 4.2.1 werden anorganische Nanopartikel und deren Einsatz im nanomedizinischen Kontext erläutert. In den darauffolgenden Abschnitten werden organische Konstrukte (Abschnitt 4.2.2) und Amphiphile als inverse Mizellbildner (Abschnitt 4.2.3) vorgestellt sowie die Grundlagen zur Ausbildung geometrischer Körper erklärt (Abschnitt 4.2.4).

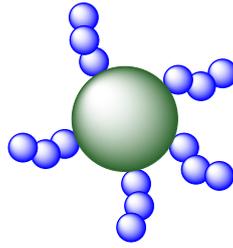
### 4.2.1. Anorganische Nanopartikel

Es gibt eine Vielzahl nanoskopischer Partikel wie superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (SPIOs),<sup>[32]</sup> Quantendots,<sup>[33]</sup> Nanohybride,<sup>[33–35]</sup> Silber- und Goldnanopartikel,<sup>[36–38]</sup> deren Oberfläche modifiziert werden kann.<sup>[39]</sup> Die Vorteile sind die freie Einstellbarkeit der Partikelgröße sowie der Löslichkeit.<sup>[40]</sup> Quantendots stechen durch ihre sehr starke Fluoreszenz, enorme Bleaching-Stabilität und besonders schmalen Emissionswellenlängenbereiche hervor, wodurch Fluoreszenzmikroskopie und auch Multiplexing mit sehr geringen Partikelkonzentrationen möglich ist.<sup>[33,41]</sup> Es ist daher naheliegend beispielsweise Proteine an fluoreszente Quantendots für physiologisches Tracking, aber auch andere Applikationen einzusetzen.<sup>[41]</sup> Um Quantendots mit herausragenden optischen Eigenschaften zu erhalten, wird häufig Cadmiumselenid verwendet, was beim Einsatz im physiologischen Umfeld zu einer akuten Toxizität führen kann.<sup>[42]</sup> Eine Idee war es daher die Nanopartikel in Lipoproteinen zu verkapseln.<sup>[43]</sup> Abseits von Fluorophoren kommen auch andere Klassen von Nanopartikeln wie beispielsweise SPIOs in biologischen Systemen zum Einsatz. Diese können aufgrund ihrer superparamagnetischen Eigenschaften als Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie<sup>[44]</sup> sowie der Magnetpartikelbildgebung<sup>[45]</sup> eingesetzt werden. Dabei wird die Oberfläche der SPIOs mit Polyethylenglycol (PEG) modifiziert,<sup>[44]</sup> um eine Wasserlöslichkeit zu erreichen. Mithilfe eines amphiphilen Diblock-Copolymer-Systems aus Poly(Isopren-*block*-ethylenglycol) wird die gezielte Bildung von Überstrukturen von der einzelnen Verkapselung bis hin zu Clustern ermöglicht.<sup>[46]</sup> Isotopenmarkierte Eisenoxidnanopartikel eignen sich darüber hinaus auch für *in vivo* Quantifizierungsuntersuchungen.<sup>[47]</sup>

Die Konjugation von Proteinen an Nanopartikel kann entweder direkt an die Oberfläche des Partikels oder über die Oberflächenliganden mit geeigneten funktionellen Gruppen erfolgen. Die Struktur und Funktion der Nanopartikel-Protein-Konjugate wird durch eine Vielzahl an Charakteristika beeinflusst. Dazu zählen unter anderem die Partikelgröße und -zusammensetzung, die Stöchiometrie des Proteins an der Oberfläche sowie die Art der Bindung des Proteins.<sup>[48]</sup> Es gibt zwei Möglichkeiten die Protein-Nanopartikel-Konjugate zu erhalten, mittels Adsorption oder kovalenter Bindung. Allerdings zeigte sich, dass die Adsorption an die Oberfläche lediglich eine labile Konjugationsform darstellt, sodass auch freies Protein in Lösung detektiert werden konnte.<sup>[49]</sup> Dadurch ist die Adsorptionsmethode für das selektive Drug Delivery eher nicht geeignet. Hingegen konnte bei kovalent gebundenem Protein kein freies Protein in Lösung detektiert werden.<sup>[49]</sup> Durch die Verwendung labiler Gruppen kann eine gezielte Freisetzung des kovalent gebundenen Proteins erfolgen.<sup>[50]</sup> Neben den positiven Eigenschaften der anorganischen Nanopartikel, existieren allerdings auch einige Nachteile. Durch die kovalente Bindung der Substanz an die Oberfläche, wird die chemische Entität verändert, wodurch die Zulassung der Substanz die Gültigkeit verliert. Die Beladungsmenge wird durch die Größe (Oberfläche) der Partikel limitiert. Bei einer hohen Medikamentenapplikation nimmt somit auch die Belastung des Körpers durch einen erhöhten Eisenanteil im Falle von SPIO-Konjugaten zu. Weiterhin bedarf es einer Vielzahl an funktionellen Gruppen, um die Beladung zu binden. Durch die Modifikation der Oberfläche kann zudem eine Änderung des Zetapotenzials resultieren, welches die Interaktion mit den Zielzellen beeinflussen kann.<sup>[51]</sup> Aus diesem Grund sind nanoskopische Konstrukte gefragt, bei denen die Entität der Beladung unverändert bleibt und die Modifikation durch Oberflächenchemie auf ein Minimum reduziert wird. Dazu werden im folgenden Abschnitt einige organische Konstrukte vorgestellt, die einen Lösungsansatz dieser Fragestellung bieten.

#### 4.2.2. Organische Konstrukte

Im folgenden Abschnitt werden einige Nano-Carrier-Systeme für den physiologischen Einsatz vorgestellt, welche auf rein organischen Bausteinen basieren. Polymernanopartikel können als organisches Äquivalent zu den in Abschnitt 4.2.1 beschriebenen anorganischen Nanopartikeln beschrieben werden. Sie können beispielsweise einen inerten Polymerkern besitzen, der durch hydrophile Blöcke stabilisiert und modifiziert werden kann (Abb. 4.2). Weiterhin ist es möglich Konjugate mit bioaktiven Substanzen an der Oberfläche zu erhalten. Die Kerne können dabei aus unterschiedlichen Polymeren bestehen.

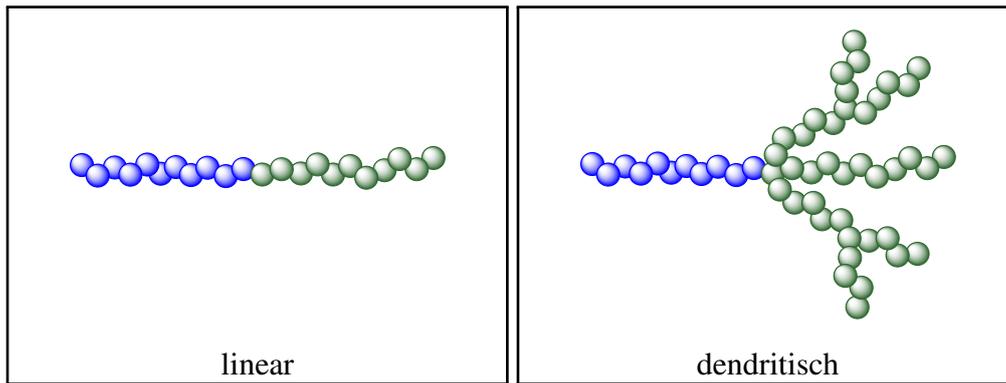


**Abb. 4.2.:** Die Oberfläche inerter, hydrophober (grün) Polymerpartikel kann hydrophil (blau) modifiziert werden.

Durch die Verwendung einer hydrophilen Polymerhülle konnte die hepatische Aufnahme von Polystyrol Mikropartikeln im Vergleich zu nicht gecoateten Konstrukten drastisch verringert werden.<sup>[25]</sup> Weiterhin konnten inerte Polystyrol-Partikel mit Polyacrylamid stabilisiert und anschließend ein Oberflächen-Konjugat mit microRNA hergestellt werden.<sup>[52]</sup> Das Protein Bovines Serumalbumin wurde mit einem Fluoreszenzmarker modifiziert und anschließend mit Immunglobulin G, abwechselnd auf Polystyrol-Partikel mit einem Durchmesser von 640 nm, angelagert.<sup>[53]</sup> Allerdings ist auch bei diesem Ansatz die Konjugation bioaktiver Moleküle über die Oberfläche notwendig, weshalb im Folgenden weitere Möglichkeiten vorgestellt werden sollen.

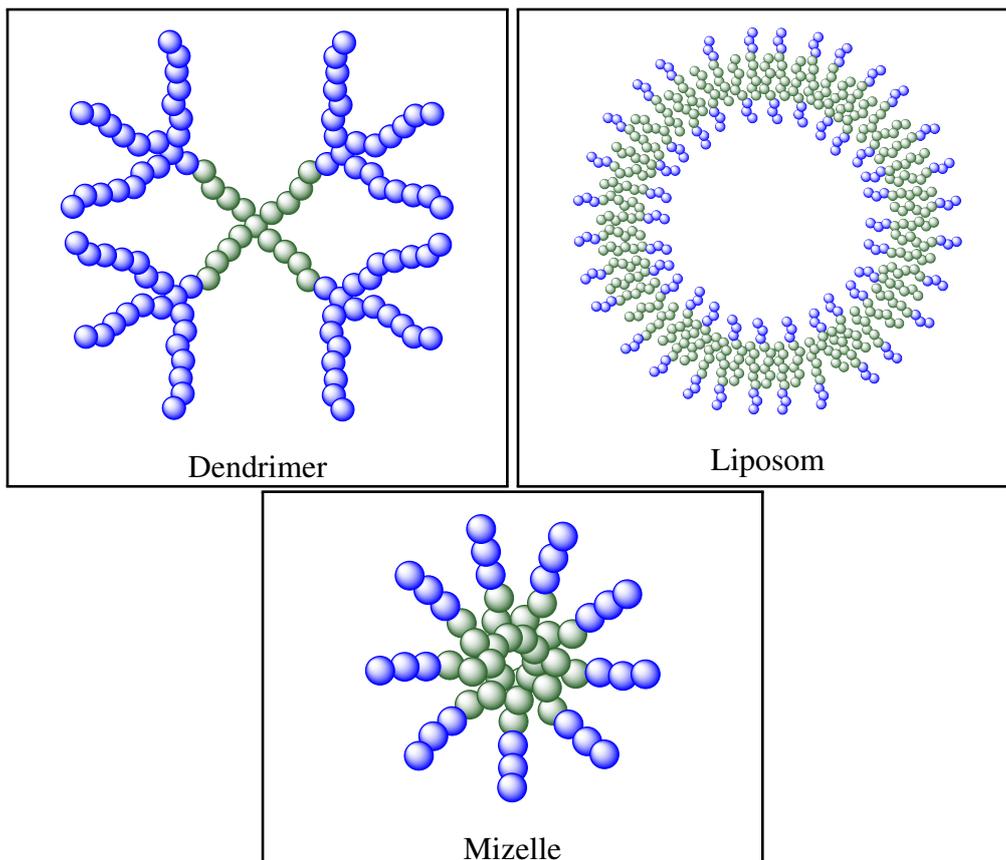
Sogenannte Nanogele können aus Polymeren mit unterschiedlichen Grundgerüsten erhalten werden. Beispielsweise konnten durch die Verwendung von Hyaluronsäure Nano-Carrier-Systeme mit einem Durchmesser von 200 nm erhalten und die Verkapselung von siRNA ermöglicht werden.<sup>[54]</sup> Darüber hinaus wurden Nanogele beschrieben, die sowohl hydrophile als auch hydrophobe Substanzen transportieren konnten. Die hydrophoben Substanzen wurden durch hydrophobe Wechselwirkungen verkapselt, die Hydrophilen mussten hingegen kovalent gebunden werden.<sup>[55]</sup> Auch inverse Flüssigkristalle, in denen Aminosäuren verkapselt wurden, konnten in der Literatur gezeigt werden.<sup>[56]</sup>

Die vorliegende Arbeit richtet ihren Fokus auf eine andere Klasse von Nano-Carrier-Systemen, deren Aufbau auf der Verwendung amphiphiler Moleküle beruht. Diese Amphiphilen können entweder einzelne Moleküle mit unterschiedlichen Löslichkeiten sein oder aber aus Diblock-Copolymeren mit linearem<sup>[57]</sup> oder dendritischem<sup>[58]</sup> Grundgerüst (Abb. 4.3) bestehen.



**Abb. 4.3.:** Schematische Struktur amphiphiler Diblock-Copolymere mit hydrophilen (blau) und lipophilen (grün) Blöcken.

Lineare und dendritische Amphiphile können durch den Prozess der Selbstassemblierung Überstrukturen ausbilden (Abb. 4.4). Selbstassemblierung ist der spontane Prozess, bei dem sich Moleküle im Gleichgewicht zu stabilen geometrischen Körpern zusammenlagern.<sup>[59]</sup>



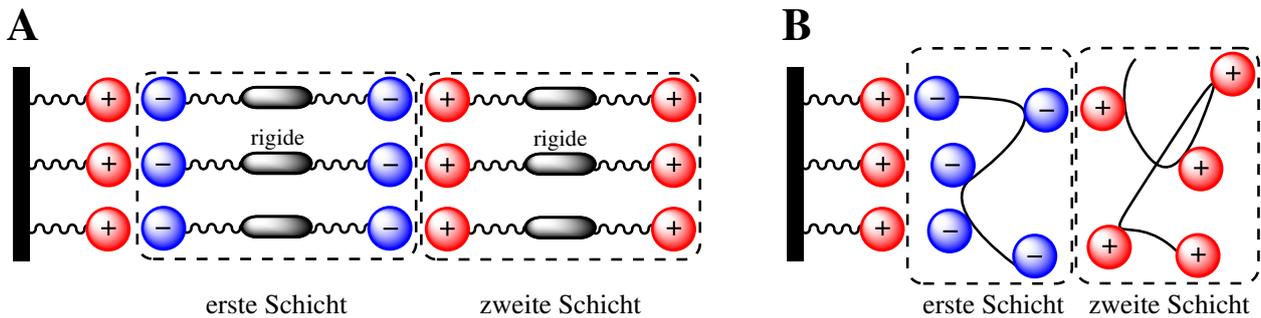
**Abb. 4.4.:** Organische Nano-Carrier-Konstrukte aus Amphiphilen in hydrophilem Medium: Lineare Amphiphile können Mizellen und Liposomen ausbilden. Durch stark verzweigte dendritische Amphiphile können sternförmige Dendrimere erhalten werden.

Mit steigendem Verzweigungsgrad der eingesetzten Amphiphile können Dendrimere erhalten werden. Bei der Untersuchung dieser Konstrukte konnte die Relevanz funktioneller Gruppen an der Oberfläche gezeigt werden. Besaßen die Konstrukte terminale Aminogruppen, zeigten diese selbst bei geringen Konzentrationen (10 µg/mL) nach 1 h hämolytische Toxizität und kationische Dendrimere Cytotoxizität. Durch eine Oberflächenfunktionalisierung mit PEG- und Natriumcarboxylaten wurden bei Konzentrationen unterhalb 1 mg/mL weder Hämolyse noch Cytotoxizität beobachtet.<sup>[60]</sup>

Eine große Gruppe der Nano-Carrier-Systeme wird durch sogenannte Liposomen gebildet. Diese bestehen aus Amphiphilen mit einer polaren Phosphatgruppe, die mit langkettigen Aliphaten alkyliert ist.<sup>[61]</sup> Unter Verwendung von *N,N*-Didodecyl-*N,N*-dimethylammoniumbromid wurde auch eine Doppelschicht erhalten, die Liposomstruktur ähnelt.<sup>[62]</sup> Durch das Zusammenlagern der hydrophoben Seitenketten zu einer Doppelschicht, können wasserlösliche Vesikel ausgebildet werden, bei denen sowohl die innere als auch die äußere Hülle hydrophil ist. Diese Schutzhüllen sind vor allem bei oral verabreichten Medikamenten notwendig, da die Substanzen mit dem sauren Milieu im Magen in Berührung kommen.<sup>[61]</sup> Durch das Coating der Liposomen mit PEG wird die Erkennung durch das hepatische Retikulohistiozytäre System verhindert (*stealth effect*)<sup>[63]</sup> und zudem die Adsorption von Blutplasmabestandteilen verlangsamt, wodurch eine Verlängerung der Blutzirkulation um 30 % resultiert.<sup>[64,65]</sup> Das Transportieren von Cholesterol, Triglyceriden sowie weiterer lipophiler Substanzen durch Lipoproteine konnte gezeigt werden.<sup>[43,66]</sup> Die Verwendung von Lipidnanopartikeln ermöglicht die Verkapselung sowohl hydrophober als auch hydrophiler Substanzen, die sich in unterschiedlichen Bereichen der Liposomen anlagern. Diese Nanopartikel bestehen aus kationischen und neutralen Phospholipiden, PEG-Lipiden und Cholesterol.<sup>[67–69]</sup> Zwischen Liposomen und anderen Molekülen gibt es allerdings einen Lipidaustausch, wodurch die verkapselte Beladung verloren gehen kann. Das Durchdringen der Liposomen-Oberfläche wird durch nicht-liposomale Substanzen, Verunreinigungen, Strukturdefekte, Phasengrenzen und große Radii vereinfacht.<sup>[63]</sup>

Die bei Liposomen ausgebildete Doppelschicht beruht auf hydrophoben Wechselwirkungen der aliphatischen Seitenketten. Solche Schutzhüllen können allerdings auch durch die *Layer-by-Layer* Methode eingeführt werden. Diese beruht auf elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Oberflächenladungen. Durch die Verwendung eines rigiden Biphenylgerüsts am amphiphilen Linker wird verhindert, dass das Amphiphil mit beiden Endgruppen koordiniert (Abb. 4.5 A). Beim abwechselnden

Einsatz von Polyanionen und Polykationen können ebenfalls mehrere Schichten aufgebaut werden (Abb. 4.5 B).<sup>[70,71]</sup>



**Abb. 4.5.:** *Layer-by-Layer* Methode zum Aufbau von *Multi-Layer*-Systemen (modifiziert nach DECHER und HONG<sup>[70,71]</sup>). Durch die Verwendung von Amphiphilen mit einem rigiden Grundgerüst wird die Ausbildung von Schleifen verhindert (A). Die abwechselnde Verwendung von Polyanionen und Polykationen ermöglicht ebenfalls die Ausbildung mehrschichtiger Systeme (B).

Silica-Nanopartikel wurden mithilfe der *Layer-by-Layer* Methode ge-coated und anschließend der Silica-Kern entfernt. Dadurch wurden mehrschichtige leere Mizellen mit Größen von 720–1000 nm erhalten.<sup>[72,73]</sup> Auf ein positiv geladenes Chitosan-Gerüst wurde negativ geladenes Poly(Maleinsäure-*alt*-1-Octadecen) (PMAcOD) angelagert. Anschließend wurde Ampicillin-Trihydrat in den hydrophoben Abschnitten verkapselt und Partikel mit einer Größe von 175–220 nm erhalten.<sup>[74]</sup>

Biokompatible Kern-Schale-Schale Partikel können aus Polysacchariden erhalten werden und erlauben die Verkapselung einer Vielzahl hydrophiler Ladungen, wie Fluoreszenzfarbstoffen, aber auch anorganischer Nanopartikel. Nach der Verkapselung der Beladung erfolgt die Stabilisierung durch eine Quervernetzung (*Cross-Linking*) der Carboxyl-, Amino- und Thiol-Gruppen. Die zweite Schale kommt durch das Einstellen eines sauren pH-Wertes zustande und beruht auf elektrostatischen Wechselwirkungen überschüssiger, nicht gecross-linkter Polysaccharide, die sich dann auf der geladenen Oberfläche komplexieren. Die Kern-Schale und die Kern-Schale-Schale Partikel besitzen jeweils Durchmesser von  $\geq 150$  nm.<sup>[75]</sup> Da das *Cross-Linking* auf der Reaktion der Carboxyl-, Amino- und Thiol-Gruppen beruht, sind diese Konstrukte für die Verkapselung von Peptiden ungeeignet.

Die oben bereits erwähnten Mizellen sind sphärische Körper, die in Abhängigkeit des hydrophilen und lipophilen Charakters des Amphiphils erhalten werden. Die Ausbildung dieser geometrischen Körper beruht auf der Wechselwirkung der lipophilen Seitenketten mit dem Lösungsmittel. Amphiphile, deren polare Kopfgruppe nur eine

aliphatische Seitenkette trägt, bilden eine Vielzahl an Mizellkörpern und Größen aus.<sup>[76]</sup> Durch repulsive Wechselwirkungen mit einem hydrophilen Medium und attraktiver VAN DER WAALS-Kräfte zwischen den Kohlenstoffketten wird die sphärische Struktur begünstigt. Bei der Selbstassemblierung der amphiphilen Moleküle nähern sich die polaren Kopfgruppen an, woraus je nach Abstand repulsive COULOMB-Kräfte resultieren können. Bei der Mizellbildung stellt sich somit ein Gleichgewicht der Kräfte ein.<sup>[77,78]</sup> In lipophilen Lösungsmitteln können aufgrund der Wechselwirkungen zwischen den polaren Gruppen und den Lösungsmittelmolekülen hingegen inverse Mizellen erhalten werden. Die theoretischen Grundlagen hierfür werden in Abschnitt 4.2.4 genauer behandelt.

Bei der Wahl geeigneter Diblock-Copolymeren als Amphiphile können thermoresponsive<sup>[57]</sup> und pH-sensitive<sup>[79]</sup> Konstrukte erhalten werden. Dadurch können die Bedingungen zum Freisetzen der Beladung fein eingestellt werden. Weiterhin konnte die Verkapselung von Doxorubicin in Mizellen mit 100–200 nm Durchmesser, sowie der kontrollierten Freisetzung gezeigt werden.<sup>[80]</sup> Durch die Verwendung eines Copolymers aus PEG und Polylactid konnte eine kontrollierte Freisetzung hydrophober und hydrophiler Substanzen über einen Zeitraum von bis zu 160 h ermöglicht werden.<sup>[81]</sup>

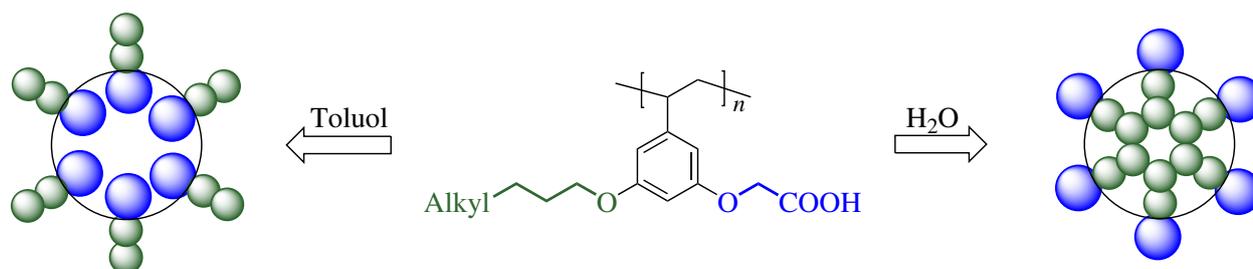
#### 4.2.3. Amphiphile als inverse Mizellbildner

Je nach Art des verwendeten Lösungsmittels können entweder Mizellen oder inverse Mizellen erhalten werden. Wenn das Amphiphil einen Wassertropfen in einem unpolaren organischen Lösungsmittel von diesem abgrenzt, sind die hydrophoben Seitenketten nach außen gerichtet und es wird eine inverse Mizelle ausgebildet. Dabei ist die Größe der Partikel vom Verhältnis der wässrigen Lösung zum Mizellbildner abhängig und wird durch den Wasser-zu-Mizellbildner-Anteil  $W_0$  beschrieben (Gl. 4.1).<sup>[82]</sup>

$$W_0 = \frac{[\text{H}_2\text{O}]}{[\text{Mizellbildner}]} \quad (4.1)$$

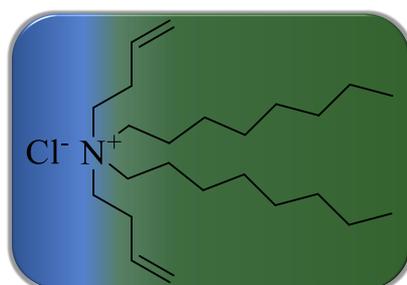
Durch die Verwendung von Poly((butylen-co-ethylen)-*block*-(ethylenoxide)) in Cyclohexan konnte ein wasserlöslicher, fluoreszenter Rhodaminfarbstoff verkapselt werden. Eine nachträgliche Polyadditionsreaktion von 1,6-Hexandiol mit Toluol-2,4-diisocyanat bildete eine Polyurethan-Schicht um die Kapsel, deren Löslichkeitseigenschaften durch

eine Oberflächenmodifikation eingestellt werden konnte. Abschließend wurden Partikel mit einer Größe von 150–300 nm erhalten.<sup>[83]</sup> Mit Block-Copolymeren aus 2-Ethyl-2-oxazolin und 2-Nitrobenzylacrylat konnte die Verkapselung von Eosin B in Dichlormethan gezeigt werden. Dabei wurden inverse Mizellen mit einer sphärischen Gestalt und einem Durchmesser von 90 nm erhalten.<sup>[84]</sup> Durch das in Abb. 4.6 gezeigte Polymer konnte Bengalrosa in inversen Mizellen mit einer Größe von 20 nm verkapselt werden.<sup>[85,86]</sup>



**Abb. 4.6.:** Amphiphiles Polymergerüst zum Ausbau inverser Mizellen in wässrigen Lösungen sowie Mizellstrukturen in unpolaren Lösungsmitteln nach BASU *et al.*<sup>[85]</sup>

Nicht nur Diblock-Copolymere sind in der Lage inverse Mizellen auszubilden, sondern auch niedermolekulare Verbindungen. Die meisten Untersuchungen zu inversen Mizellen nutzten Bis-(2-ethylhexyl)-sulfosuccinat Natriumsalz (AOT) als Mizellbildner.<sup>[82]</sup> Inverse Mizellen aus AOT wurden beispielsweise als Mikroreaktoren verwendet.<sup>[87]</sup> Mithilfe von AOT, *N,N,N*-Trioctyl-*N*-methylammoniumchlorid und *N,N*-Dioctyl-*N,N*-dimethylammoniumchlorid (DODMAC) gelang es Proteine aus einer wässrigen Lösung zu extrahieren.<sup>[88]</sup> Am Beispiel von DODMAC soll die Amphiphilie quartärer Ammoniumsalze veranschaulicht werden (Abb. 4.7). Die Wasserlöslichkeit wird durch die Bildung des quartären Ammoniumsalzes erreicht (blau). Durch die Substitution mit aliphatischen Seitenketten am Stickstoffatom wird der lipophile Teil in der Molekülstruktur erhalten (grün).



**Abb. 4.7.:** Veranschaulichung der Amphiphilie von DODMAC. Die Ammoniumchlorid-Gruppe ist hydrophil (blau) und die aliphatischen Seitenketten lipophil (grün).

Quartäre Ammoniumsalze wurden in der Literatur vielfach auf ihr Extraktionsvermögen hin untersucht. Mithilfe von DODMAC konnten bioaktive Moleküle von der wässrigen in eine organische Phase extrahiert werden. Das Extraktionsvermögen von Proteinen nahm mit steigendem pH-Wert zu und mit steigender Salz-Konzentration ab, da die Extraktion auf einem Anionenaustausch beruht. Das Gegenion des Ammoniumhalogenids wurde gegen das negativ geladene Protein ausgetauscht.<sup>[88]</sup> Der Phasentransfer des wasserlöslichen Enzyms Lysozym<sup>[89]</sup> und einiger hydrophiler Aminosäuren<sup>[90]</sup> in ein Gemisch aus Isooctan und 1-Decanol konnte mit DODMAC gezeigt werden. Die Temperatur hatte einen vernachlässigbaren Einfluss auf das Verkapselungsmaximum, die Ionenkonzentration der wässrigen Phase spielte allerdings eine wichtige Rolle.<sup>[89]</sup> Auch die Extraktion der anorganischen Salze  $\text{HAuCl}_4$  und  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$  in ein Lösungsmittelgemisch aus Heptan/Chloroform konnte durch ZHANG<sup>[91]</sup> mit verschiedenen quartären Ammoniumsalzen erreicht werden. Bei Mizellbildnern mit nur einer aliphatischen Kette konnten lösungsmittelabhängige Agglomerationen gezeigt werden. Bei der Verwendung von zwei lipophilen Seitenketten, konnte diese dann unterbunden werden.

Die Stabilität inverser Mizellen beruht lediglich auf elektrostatischen Wechselwirkungen der polaren Kopfgruppe. Ein Cross-Linking durch die Verwendung polymerisierbarer Gruppen stabilisiert die Konstrukte, wobei die Stabilität mit zunehmender Quervernetzung steigt.<sup>[91]</sup> Je nach Lage der funktionellen Gruppen kann dies entweder an der Hülle oder aber am Kern erfolgen.<sup>[92]</sup> Bei ZHANG wurden allylische Gruppen eingeführt, die in einer Thiol-en Reaktion mit Dithiothreitol polymerisiert wurden. Dabei ist es notwendig, dass die funktionellen Gruppen nahe am Kerninneren liegen, da ansonsten Einbußen in der Stabilität sowie intermizellares Cross-Linking die Folge ist. Eine Reorganisation der inversen Mizellen wird durch kurze Reaktionszeiten verhindert. Anschließend erfolgte der Phasentransfer der Edelmetallsalze.<sup>[91]</sup>

Quartäre Ammoniumsalze wurden aber nicht nur auf ihr Extraktionsvermögen, sondern auch als mögliche Drug Delivery Systeme untersucht. SHAPIRO entwickelten eine Synthese<sup>[93]</sup> von DDAB sowie die anschließende Verkapselung von  $\alpha$ -Chymotrypsin.<sup>[94]</sup> Zur Bildung der inversen Mizellen wurde ein Lösungsmittelgemisch aus Cyclohexan/Chloroform (50:1 vol%) und einer Konzentration bis zu 10 mmolar verwendet. Die Quervernetzung der terminalen Doppelbindungen erfolgte durch die Bestrahlung mit UV-Licht für 15 Min und einem Umsatz von bis zu 67 %. Im zweiten Schritt wurde der Phasentransfer ins Wasser durch verschiedene Mizellbildner erreicht.<sup>[94]</sup>

Inwiefern sich der pH-Wert einer Pufferlösung beim Verkapseln mit quartären Ammoniumsalzen innerhalb der inversen Mizelle verändert, zeigten Untersuchungen anhand von Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB). Der pH-Wert in der Mizelle

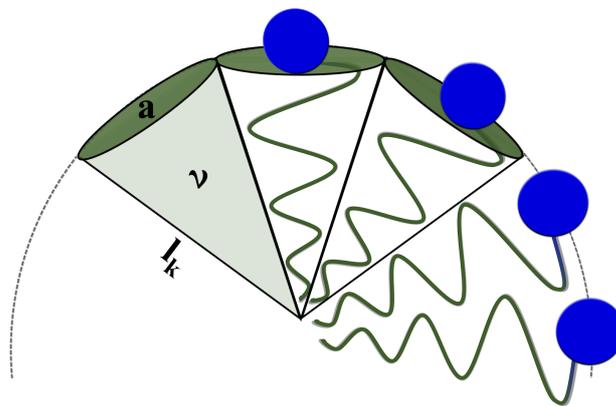
unterschied sich nur um 0.5 pH-Einheiten von dem der verwendeten Pufferlösung.<sup>[95]</sup> Auf Grundlage dieser Ergebnisse ist es denkbar quartäre Ammoniumsalze auch für die Verkapselung pH-labiler Substanzen einzusetzen.

Im Folgenden soll die Bildung sphärischer Mizellen und die Anforderungen an die amphiphilen Moleküle genauer betrachtet werden.

#### 4.2.4. Theoretische Grundlagen zur Mizellbildung

Die Kugel ist die thermodynamisch günstigste Form einer Mizelle, da in ihr das größte unlösliche Volumen bezogen auf die Oberfläche erhalten wird. Bei der Selbstassemblierung treten komplementäre (attraktive und repulsive) Kräfte auf. Zum einen wird durch die Ausbildung sphärischer Mizellen die Wechselwirkung der lipophilen Seitenketten mit dem Lösungsmittel minimiert und es werden attraktive VAN DER WAALS-Kräfte zwischen den Kohlenstoffketten ausgebildet. Zum anderen werden bei der Ausbildung der sphärischen Form die polaren Kopfgruppen einander angenähert, was zu repulsiven COULOMB-Kräften führt. Bei der Mizellbildung stellt sich ein Gleichgewicht der Kräfte ein.<sup>[77,78]</sup>

Für Mizellbildner mit einer kleinen Polydispersität, kann die durchschnittliche Oberfläche ( $a_{av}$ ) des Amphiphils als optimale Oberfläche ( $a_0$ ) angesehen werden. So können energetische und geometrische Aspekte von der thermodynamischen Betrachtungsweise vernachlässigt werden.<sup>[77]</sup> Ein Mizellbildner mit einem Volumen  $v$ , einer kritischen Länge  $l_k$  und  $a_0$  bildet die in Abbildung 4.8 gezeigte sphärische Mizelle aus.



**Abb. 4.8.:** Schematische Darstellung einer sphärischen Mizelle mit einem hydrophoben Schwanz (grün) und einer polaren Kopfgruppe (blau). Die ausgebildete Struktur eines Amphiphils wird durch die Oberfläche  $a$ , das Volumen  $v$  sowie den kritischen Radius  $l_k$  in Abhängigkeit des verwendeten Lösungsmittels bestimmt.

Das Gesamtvolumen ( $V_{\text{Gesamt}}$ ) einer sphärischen Mizelle mit  $l_k$  entspricht dem einer Kugel mit dem Radius ( $r$ ) (Gl. 4.2). Der Wert für  $l_k$  entspricht dabei maximal der Länge der vollständig gestreckten aliphatischen Kette.

$$V_{\text{Gesamt}} = \frac{4}{3}\pi r^3 = \frac{4}{3}\pi l_k^3 \quad (4.2)$$

Wie in Abb. 4.8 veranschaulicht, ergibt sich  $V_{\text{Gesamt}}$  aus einem Vielfachen  $N$  des Volumens des Mizellbildners  $v$  ( $V_{\text{Gesamt}} = Nv$ ). Durch das Umstellen und dem Ersetzen von  $V_{\text{Gesamt}}$  durch Gl. 4.2 kann  $N$  berechnet werden (Gl. 4.3).

$$N = \frac{V_{\text{Gesamt}}}{v} = \frac{4\pi l_k^3}{3v} \quad (4.3)$$

Der kritische Radius kann durch das Umstellen von Gl. 4.3 nach  $l_k$  berechnet werden (Gl. 4.4).

$$l_k = \frac{3vN}{4\pi l_k^2} \quad (4.4)$$

Die Gesamtoberfläche ( $O_{\text{Gesamt}}$ ) der sphärischen Mizelle kann durch die Oberfläche einer Kugel ( $4\pi l_k^2$ ) sowie durch das Vielfache  $N$  von  $a_0$  beschrieben werden (Gl. 4.5).

$$O_{\text{Gesamt}} = 4\pi l_k^2 = a_0 N \quad (4.5)$$

Durch Einsetzen von Gl. 4.5 in Gl. 4.4 wird Gl. 4.6 erhalten.

$$l_k = \frac{3v}{a_0} \quad (4.6)$$

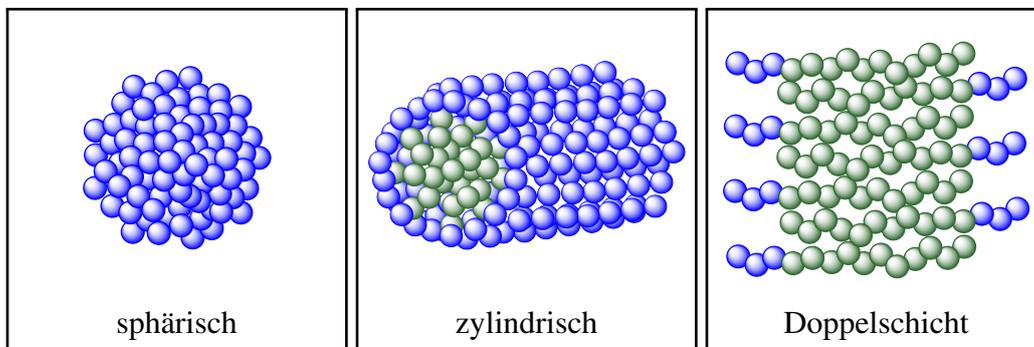
Aus Gl. 4.6 ergibt sich der Packungsparameter ( $P$ ) für eine sphärische Mizelle (Gl. 4.7).

$$P = \frac{v}{a_0 \cdot l_k} = \frac{1}{3} \quad (4.7)$$

Folglich können nur dann sphärische Mizellen erhalten werden, wenn  $P \leq \frac{1}{3}$ . Ist dieser Zusammenhang nicht gegeben, werden unterschiedliche Mizellkörper ausgebildet (Tab. 4.1, Abb. 4.9). Für  $P > 1$  werden inverse Mizellen erhalten, wobei mit steigendem  $P$  der Durchmesser der Partikel abnimmt.<sup>[82]</sup>

**Tab. 4.1.:** Geometrische Form der gebildeten Mizellen in Abhängigkeit des Packungsparameters  $P$ .<sup>[77,82]</sup>

$P$	Mizellkörper
$\leq \frac{1}{3}$	sphärisch
$\frac{1}{3} < P \leq \frac{1}{2}$	zylindrisch
$\frac{1}{2} < P \leq 1$	planare Doppelschicht
$> 1$	invers



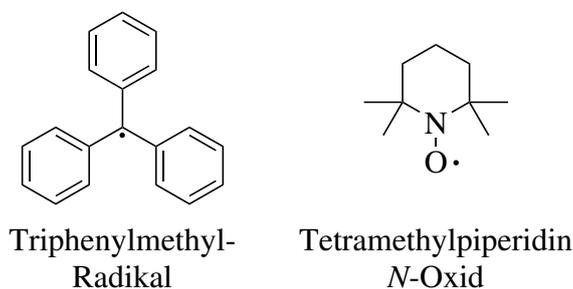
**Abb. 4.9.:** Schematische Abbildung geometrischer Körper aus Amphiphilen in Abhängigkeit des Packungsparameters  $P$ .

Neben  $P$ , der sich aus den geometrischen Verhältnissen der hydrophilen und hydrophoben Bausteine ergibt (Gl. 4.7), hat auch der pH-Wert<sup>[79,96]</sup> und die Temperatur<sup>[57]</sup> einen Einfluss auf die Geometrie der Überkonstrukte. Darüber hinaus besitzen die meisten kleinen löslichen Mizellen eher eine elliptische als eine sphärische Geometrie.<sup>[76]</sup>

### 4.3. Photochemische Prozesse

Polymerisationen eines oder mehrerer Monomere können nicht nur thermisch, sondern auch durch Photonen initiiert werden.<sup>[97–100]</sup> Dabei kommt es zur Entstehung reaktiver Radikale, die die Polymerisation starten. Zum besseren Verständnis soll zunächst kurz die Klasse der Radikale im Allgemeinen vorgestellt werden. Radikale entstehen bei der homolytischen Spaltung einer Bindung zweier Atome. Dabei werden

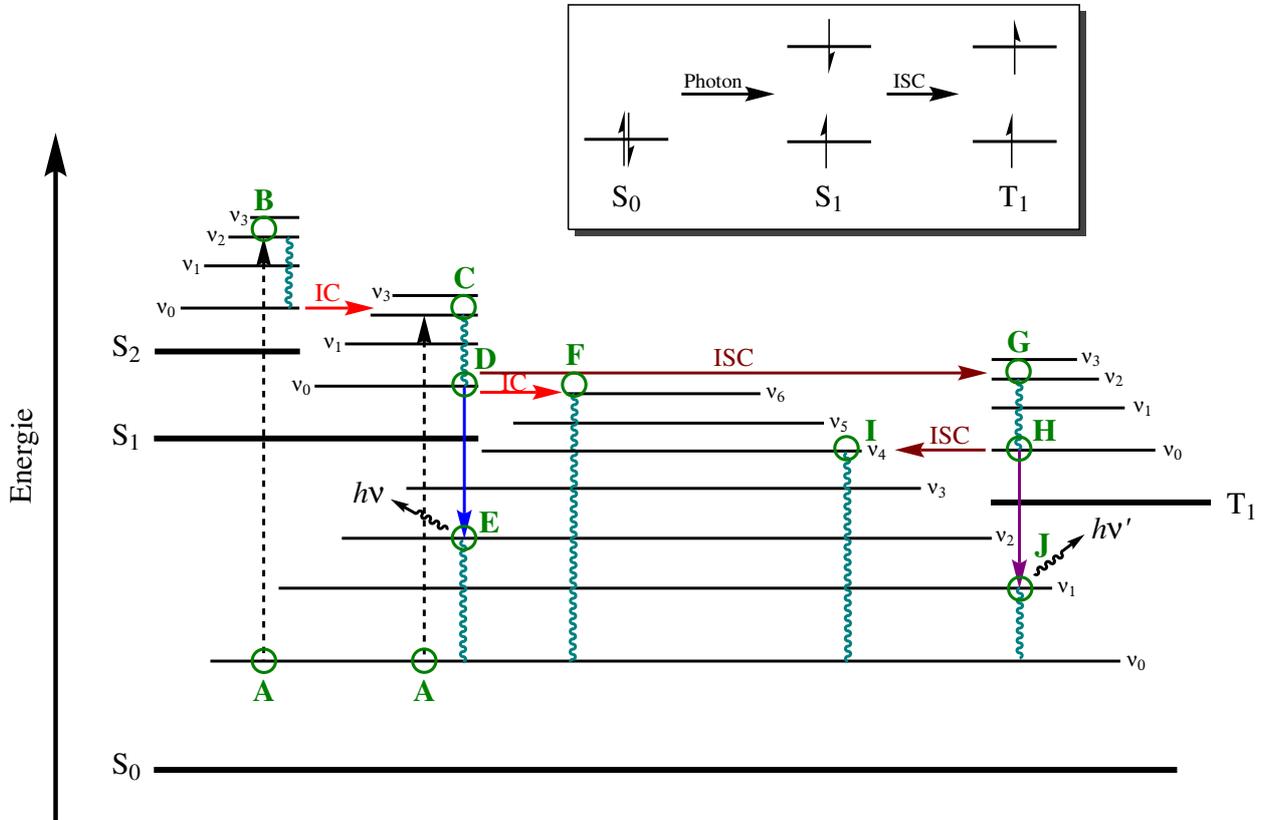
die beiden zur Bindung notwendigen Elektronen auf die Atome aufgeteilt, sodass jeder Bindungspartner ein freies ungepaartes Elektron erhält. Zur Spaltung wird je nach Bindung unterschiedlich viel Energie benötigt. In der Regel wird ab einer Temperatur von 200 °C genug thermische Energie aufgebracht, dass alle Bindungen homolytisch gespalten werden. Es gibt einige labile funktionelle Gruppen, die bereits bei Raumtemperatur oder leichtem Erwärmen homolytisch gespalten werden. Diese Eigenschaft wird bei thermischen Radikalstartern ausgenutzt, um radikalische Polymerisationen zu initiieren. Das Aufbringen der Energie kann allerdings auch aus anderen Energiequellen wie bspw. Licht mithilfe von Photonen erfolgen. Dazu ist es allerdings notwendig, dass die Photonen eine Energie besitzen, die vom Molekül absorbiert werden kann, da ansonsten keine Homolyse stattfindet. Wie bei Säure-Base-Reaktionen Protonen abstrahiert werden, kann beim Zusammenstoß optisch angeregter Atome und Moleküle eine Energieübertragung stattfinden, die in einem Elektronenübergang resultiert.<sup>[101,102]</sup> Aufgrund des Elektronendefizits in der äußersten, nicht voll besetzten Schale sind Radikale hoch reaktiv und besitzen daher nur eine sehr kurze Lebenszeit. Allerdings existieren auch unreaktive Radikale, die durch eine hohe Stabilisierung, bspw. durch Delokalisierung, erhalten werden. Als Beispiele sind hier das Triphenylmethyl-Radikal und Tetramethylpiperidin *N*-oxid zu nennen (Abb. 4.10).<sup>[101]</sup>



**Abb. 4.10.:** Durch Delokalisierung stabilisierte Radikale.

Die photoinduzierte Anregung eines Elektrons sowie die darauffolgenden Relaxationsprozesse in den Grundzustand werden mithilfe eines JABLONSKI-Diagramms veranschaulicht (Abb. 4.11). Durch die grünen Kreise sollen die möglichen Zwischenschritte eines angeregten Elektrons, ausgehend vom Grundzustand über verschiedene Schwingungsniveaus im Singulett- ( $S_n$ ) und Triplettzustand ( $T_n$ ), verdeutlicht werden. Zur Übersichtlichkeit wird im nachfolgenden Diagramm lediglich ein Triplettzustand  $T_1$  gezeigt. Die petrolfarbenen Schlangellinien zeigen die strahlungslose Schwingungsrelaxation innerhalb eines Energieniveaus. Wird ein strahlungsloser Wechsel in einen

energetisch niedrigeren elektronischen Zustand erreicht, dann wird von einer Internal Conversion (IC) gesprochen. Beim Intersystem crossing (ISC) kann durch eine Spinumkehr (Änderung der Multiplizität) ein strahlungsloser Übergang in den Triplettzustand erfolgen.



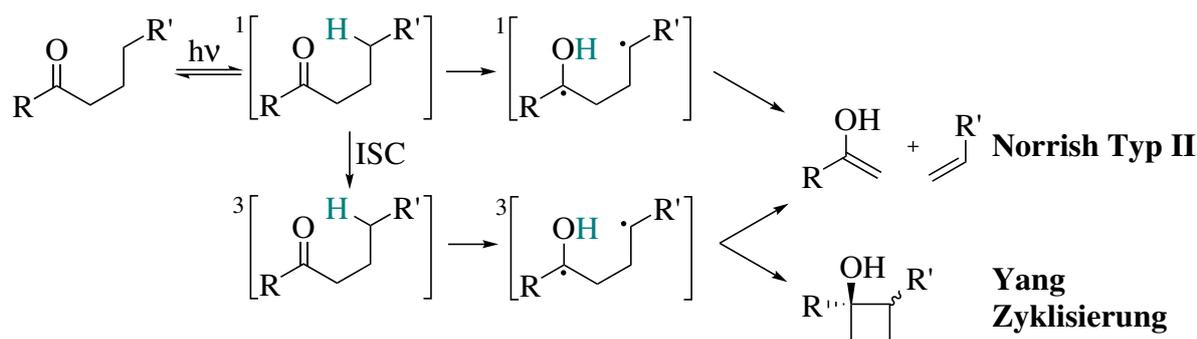
**Abb. 4.11.:** Schematische Darstellung der photoinduzierten Elektronenübergänge mithilfe des JABLONSKI-Diagramms. Die Energieniveaus sind durch dicke Balken gekennzeichnet und bestehen jeweils aus mehreren Schwingungszuständen  $v$ . Die Singulettzustände bestehen aus dem Grundzustand  $S_0$  und den angeregten Niveaus  $S_{>0}$ . Zur Übersichtlichkeit wird nur ein Triplettzustand  $T_1$  dargestellt. Die gestrichelten Pfeile verdeutlichen die Anregung eines Elektrons aus dem energetischen Grundzustand (A) durch die Absorption eines Photons. Die petrofarbenen geschlängelten Linien zeigen die strahlungslose Relaxation in den Schwingungsgrundzustand  $v_0$  eines Energieniveaus. Das IC findet strahlungslos zwischen Niveaus gleicher Multiplizität statt, das ISC hingegen bei unterschiedlicher Multiplizität. Der blaue Pfeil repräsentiert die Fluoreszenz und der violette die spinverbotene Phosphoreszenz. Die grünen Punkte veranschaulichen die Zwischenstufen bei einer photoinduzierten Anregung eines Elektrons sowie der daraus folgenden Relaxation in den Grundzustand (modifiziert nach WÖHRLE *et al.*<sup>[103]</sup>).

Die Photoabsorption erfolgt nach dem FRANCK-CONDON-Prinzip<sup>[104–107]</sup> aus dem Grund- in ein Schwingungsniveau eines angeregten Energiezustands mit größtmöglichem Überlappungsintegral innerhalb von etwa  $10^{-15}$  s (A→B, A→C). Je nach zugeführter Energiemenge, kann die Anregung in ein Schwingungsniveau eines Zustands

$S_{>1}$  ( $\mathbf{A} \rightarrow \mathbf{B}$ ) oder  $S_1$  ( $\mathbf{A} \rightarrow \mathbf{C}$ ) erfolgen. Nach der KASHA-Regel<sup>[108]</sup> erfolgt die Relaxation in den Grundzustand  $S_0$  nahezu ausschließlich aus dem Schwingungsgrundzustand von  $S_1$  ( $\mathbf{D} \rightarrow \mathbf{E}$ ) unabhängig von der zugeführten Anregungsenergie. Von einem angeregten Schwingungszustand  $v_{>0}$  in  $S_1$  wird der Schwingungsgrundzustand  $v_0$  im Bereich von  $10^{-12}$  s erreicht ( $\mathbf{C} \rightarrow \mathbf{D}$ ). Bei einer Anregung in höhere Energieniveaus, erfolgt die Relaxation zunächst auf  $v_0$  des gleichen Energieniveaus, gefolgt von einem isoenergetischen IC in das darunterliegende Energieniveau und der Relaxation auf  $v_0$  ( $\mathbf{B} \rightarrow \mathbf{D}$ ). Die gesamte Relaxation von  $\mathbf{B}$  auf  $\mathbf{D}$  erfolgt strahlungslos im gleichen Zeitbereich wie von  $\mathbf{C}$  auf  $\mathbf{D}$ . Aufgrund der sehr kurzen Zeit ist anzunehmen, dass es nahezu keine konkurrierenden Mechanismen gibt. Ausgehend von Punkt  $\mathbf{D}$  sind drei verschiedene Mechanismen möglich, um den Grundzustand zu erreichen. Zum einen kann ein Übergang in  $S_0$  unter Fluoreszenz-Emission eines Photons mit der Energie  $h\nu$  ( $\mathbf{D} \rightarrow \mathbf{E}$ ) oder strahlungslos durch ein IC ( $\mathbf{D} \rightarrow \mathbf{F}$ ) erfolgen. Zum anderen ist der Übergang vom Singulett- zum Triplettzustand durch ein ISC möglich ( $\mathbf{D} \rightarrow \mathbf{G}$ ). Vom angeregten Schwingungsniveau in  $T_1$  wird der Schwingungsgrundzustand  $v_0$  erreicht ( $\mathbf{G} \rightarrow \mathbf{H}$ ). Ausgehend von  $\mathbf{H}$  kann ein strahlungsloser ISC in  $v_4$  von  $S_0$  ( $\mathbf{H} \rightarrow \mathbf{I}$ ) oder die Emission eines Photons mit  $h\nu'$  ( $\mathbf{H} \rightarrow \mathbf{J}$ ) erfolgen. Der Übergang von  $\mathbf{H}$  zu  $\mathbf{J}$  wird Phosphoreszenz genannt und ist spinverboten.<sup>[103]</sup>

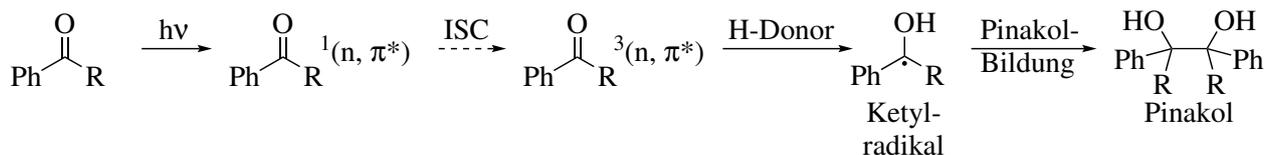
#### 4.3.1. Photoinitiatoren

Der in Abb. 4.11 beschriebene Mechanismus zur Ausbildung angeregter Singulett- und Triplettzustände wird in photoinduzierten Reaktionen ausgenutzt. Zum initiieren einer solchen Reaktion, also der Bildung von Radikalen, werden Carbonylverbindungen eingesetzt. Im Jahr 1900 beobachteten CIAMICIAN und SILBER erstmals das oxidative Vermögen von Benzo- und Acetophenonen unter Einwirkung von Bestrahlung.<sup>[109]</sup> Ausgehend von dieser Entdeckung haben sich über die Zeit eine Vielzahl photochemischer Reaktionen von Carbonylverbindungen entwickelt.<sup>[110]</sup> Dazu zählen auch Photoreaktionen, die auf einer  $\gamma$ -Wasserstoff-Abstraktion beruhen (Schema 4.1).<sup>[111]</sup> Aus dem Singulettzustand des Biradikals werden NORRISH-Typ II Produkte erhalten. Wenn vor der Abstraktion des Wasserstoffs in der  $\gamma$ -Position ein ISC stattfindet, dann können Cyclobutane aus einer YANG-Zyklisierung resultieren.



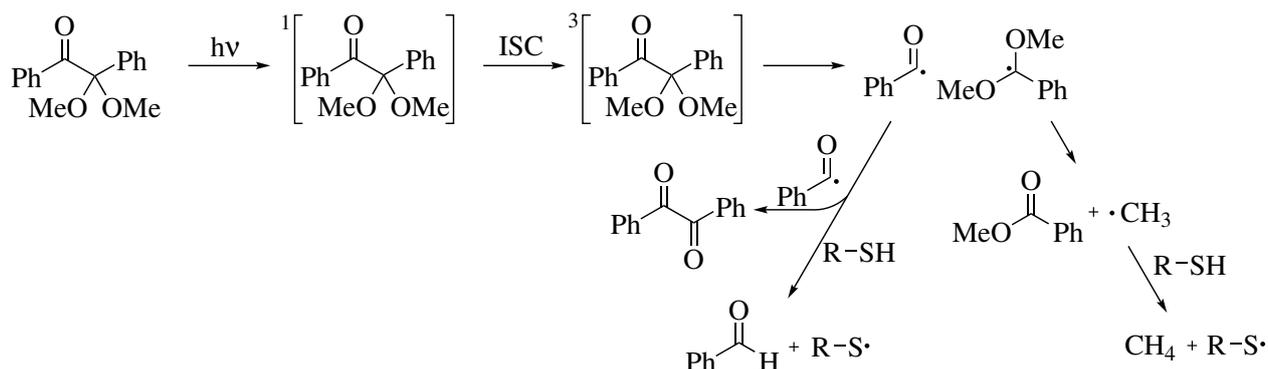
**Schema 4.1.:** NORRISH-YANG Reaktion von photochemisch angeregten Carbonylverbindungen (modifiziert nach HOFFMANN<sup>[112]</sup>). NORRISH Typ II Produkte werden ausgehend vom Biradikal des Singulettzustands erhalten. Erfolgt nach der Anregung aus dem Grundzustand hingegen ein ISC zum Triplettzustand, ist sowohl eine YANG Zyklisierung als auch die Bildung von NORRISH Typ II Produkten möglich.

Bei Alkylphenylketonen kann hingegen eine Pinakol-Bildung beobachtet werden (Schema 4.2). Mit steigender Substitution an der  $\alpha$ -Position der Alkylkette nimmt die Reaktionskonstante der Reduktion des Acetophenons aufgrund sterischer Effekte ab und die  $\alpha$ -Spaltung wird begünstigt.<sup>[113–115]</sup>



**Schema 4.2.:** Photoinduzierte Pinakol-Bildung von Alkylphenonen. Die Anregung in den Singulettzustand, gefolgt durch ein ISC, resultiert in dem Triplettzustand. Durch die Rekombination zweier Ketylradikale, die durch einen Wasserstoffdonor aus dem Triplettzustand erhalten werden können, wird ein Pinakol gebildet.

Der in Schema 4.2 gezeigte Mechanismus über den Triplettzustand ist nicht auf alle Acetophenone übertragbar. Für 2-Alkoxy-2-phenylacetophenone wird angenommen, dass die  $\alpha$ -Spaltung aus dem Singulettzustand erfolgt, da unter Verwendung von Triplettlöschern keine Inhibierung erfolgte.<sup>[116]</sup> Wird in der 2-Position eine weitere Methoxygruppe eingeführt, kann 2,2-Dimethoxy-2-phenylacetophenon (DMPA) erhalten werden. Der photoinduzierte Zerfall von DMPA erfolgt dabei wieder aus dem Triplettzustand. Der Mechanismus sowie die Bildung von Thiyl-Radikalen ist in Abbildung 4.3 gezeigt.<sup>[117,118]</sup>



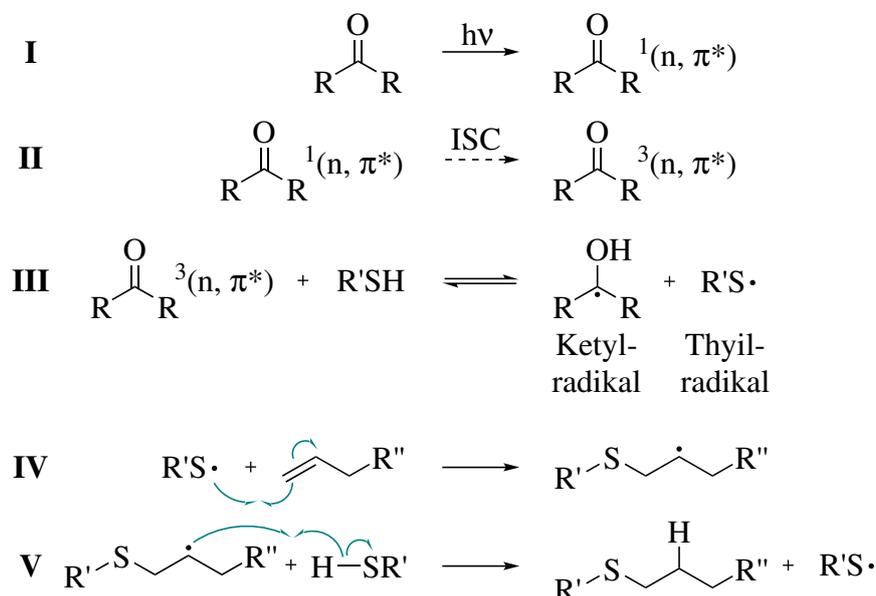
**Schema 4.3.:** Photoinduzierter Zerfall von DMPA, sowie die daraus resultierende Bildung von Thiyl-Radikalen (modifiziert nach SANDNER und OSBORN<sup>[118]</sup>).

Für DMPA findet aufgrund der Trisubstitution in der  $\alpha$ -Position die  $\alpha$ -Spaltung sehr effektiv statt.<sup>[113]</sup> Der Umsatz von DMPA in aprotischen Lösungsmitteln erfolgte schneller als in protischen Lösungsmitteln. In Wasserstoff-donierenden Lösungsmitteln wurde vermehrt Benzaldehyd erhalten. Hingegen erfolgte die Ausbildung von Benzil und Acetophenon vermindert. Für DMPA konnte keine Wasserstoffatom-Abstraktion beobachtet werden, hingegen zeigten Aryl-*tert*-alkylketone eine bevorzugte Bildung von Carbinolen.<sup>[118]</sup>

#### 4.3.2. Thiol-en Reaktion

Die in Schema 4.3 gezeigte Generierung von Thiyl-Radikalen kann als Start einer photoinduzierten Reaktion ausgenutzt werden. Die Addition von Mercaptanen an ungesättigte Kohlenwasserstoffe wurde erstmals im Jahr 1905 von POSNER vorgestellt.<sup>[119]</sup> Die in seinen Untersuchungen getroffene Annahme, dass durch die Additionsreaktion anti-MARKOVNIKOV Produkte erhalten werden, wurde durch weitere Untersuchungen des Mechanismus bestätigt (Schema 4.4).<sup>[120]</sup> Einige Jahre später bemerkten ASHWORTH und BURKHARDT den Einfluss von Tageslicht<sup>[121]</sup> und 1948 wurde die UV-initiierte Addition von Dithiolen an Dialkene untersucht.<sup>[122]</sup> Eine Homopolymerisation vinylierter Monomere als Nebenreaktion fand nicht statt.<sup>[120]</sup> Die Thiol-en Reaktion ist eine frei-radikalische Polymerisation, die sich maßgeblich von radikalischen Reaktionen unterscheidet. Wohingegen bei frei-radikalischen Polymerisationen unter Sauerstoffausschluss gearbeitet werden muss, gibt es bei der Thiol-en Reaktion nahezu keine Umsatzeinbußen unter Sauerstoffatmosphäre.<sup>[117]</sup> Auch wenn bei der photoinduzierten Thiol-en Polymerisation freie Radikale gebildet werden, verläuft sie nach

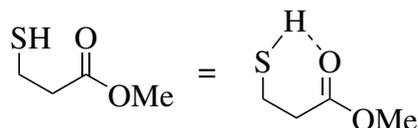
einem Stufenwachstumsmechanismus. Folglich werden bei der Verwendung mono-substituierter Monomere keine Polymere erhalten. Hingegen liefern disubstituierte Monomere lineare und höher substituierte Monomere verzweigte Polymere.<sup>[123]</sup>



**Schema 4.4.:** Benzophenon initiiertes Thiol-En-Mechanismus nach MORGAN<sup>[120]</sup> Im ersten Schritt (I) erfolgt die UV-induzierte Anregung des eingesetzten Benzophenons in den Singulett-Zustand. Durch ein ISC wird der Triplett-Zustand erhalten (II). Aus dem Triplett-Zustand wird ein Wasserstoffatom des Thiols abstrahiert, wodurch die Ketyl- und Thyil-Radikale resultieren (III). Das Ketyl-Radikal rekombiniert in einer Pinacol-Reaktion (nicht gezeigt) und das Thyil-Radikal addiert an das Olefin (IV). Das erhaltene anti-MARKOVNIKOV Radikal-Addukt spaltet die SH-Bindung eines weiteren Thiols homolytisch (V).

Die Verwendung der Thiol-En-Reaktion ist nahezu auf alle Olefine und Thiole anwendbar, auch für Polythiole und Polyolefine.<sup>[117,124]</sup> Mithilfe der Reaktion konnten auch Dendrimere aus 1-Thioglycerol hergestellt werden.<sup>[125]</sup> Ein weiterer Vorteil ist, dass die Reaktion bei Raumtemperatur durchgeführt werden kann und sich somit aufgrund der milden Reaktionsbedingungen für eine Vielzahl von Anwendungsbereichen eignet. Die Reaktivität endständiger Alkene ist für die Thiol-En-Reaktion höher als die der innenständigen Olefine. Dabei sind die *trans*- unreaktiver als die *cis*-Isomere. Die Addition des Thyil-Radikals an die Olefine ist ein reversibler Prozess, woraus eine Isomerisierung von innenständigen Alkenen resultiert. Dies hat zur Folge, dass auch bei der Verwendung von *cis*-Alkenen eine Verringerung der Reaktionskonstanten, aufgrund der Isomerisierung zu *trans*-Olefinen resultiert.<sup>[126]</sup>

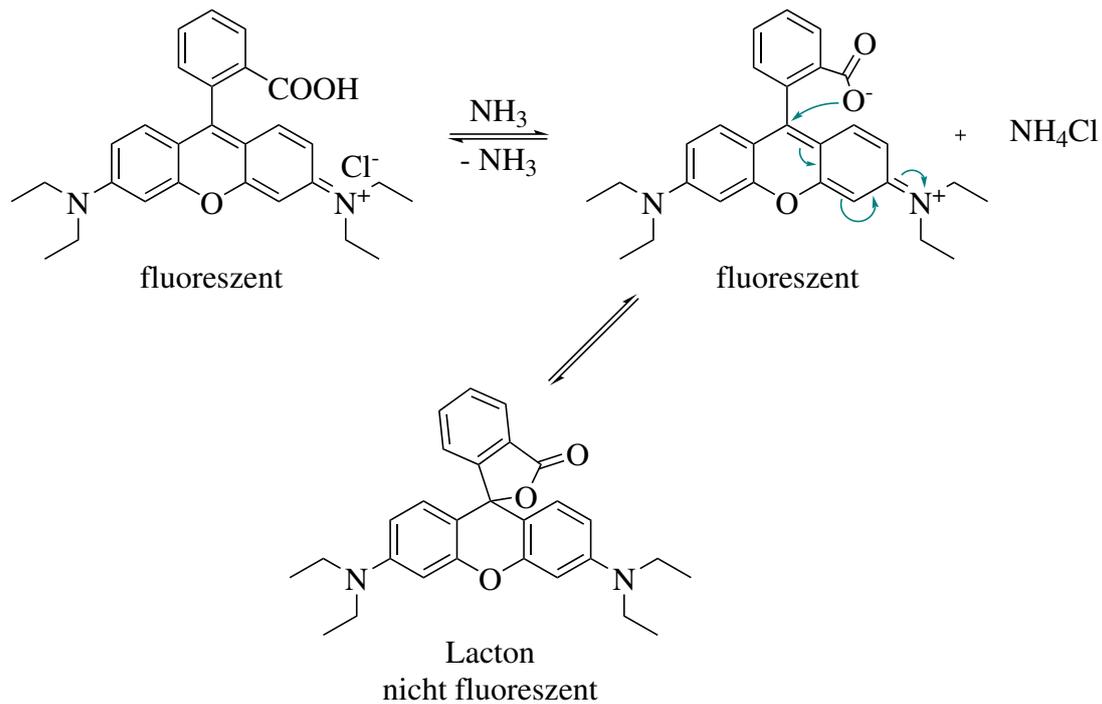
Methyl-3-mercaptopropionat hebt sich aufgrund der Molekülstruktur und der daraus resultierenden erhöhten Aktivität von anderen Thiolen ab. In der photoinduzierten Reaktion von Methyl-3-mercaptopropionat mit 1-Hepten wurde eine 6-fach höhere Reaktionsrate als für die Reaktion von 1-Mercaptopentan mit 1-Hepten erhalten.<sup>[117]</sup> Der Grund ist die Aktivierung der SH-Bindung durch die Ausbildung eines cyclischen Übergangszustandes (Abb. 4.12).



**Abb. 4.12.:** Die Ausbildung eines zyklischen Übergangszustandes von Methyl-3-mercaptopropionat resultiert in der Schwächung der SH-Bindung und folglich einer Erhöhung der Reaktivität.<sup>[120]</sup>

#### 4.4. Quenchingeffekte bei Rhodaminfarbstoffen

Xanthene stellen eine Stoffgruppe dar, aus denen durch ein konjugiertes  $\pi$ -System eine Vielzahl an Fluoreszenzfarbstoffen hervorgehen.<sup>[127]</sup> Ihre Farbe wird hauptsächlich durch die am Xanthengerüst angebrachten Substituenten festgelegt.<sup>[128]</sup> Rhodaminfarbstoffe gehören zu dieser Klasse und zeichnen sich durch hohe Fluoreszenzquantenausbeuten<sup>[129]</sup> und der Möglichkeit mit preiswerten Lichtquellen angeregt zu werden aus. Die protonierte und deprotonierte Form von Rhodamin B zeigen eine starke Fluoreszenz, wobei diese durch die freie Beweglichkeit der Aminogruppe beeinflusst wird.<sup>[130]</sup> Die Lacton-Form der Farbstoffe Rhodamin B,<sup>[131]</sup> Bengalrosa<sup>[132]</sup> sowie Eosin Y<sup>[133]</sup> ist hingegen nicht-fluoreszent. Der Grund dafür ist, dass bei der Ausbildung des Lactons das konjugierte  $\pi$ -System aufgehoben wird (Schema 4.5).<sup>[130]</sup> Die Möglichkeit Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Lösungsmittel auszubilden, stabilisiert die Ausbildung der zwitterionischen Struktur. In apolaren Lösungsmitteln werden diese allerdings in die Lacton-Form überführt. Der Anteil zwitterionischer Strukturen ist in Aceton und Chloroform vernachlässigbar klein, weshalb keine Fluoreszenz vorliegt.<sup>[131]</sup>



**Schema 4.5.:** Fluoreszenz-Quenching von Rhodamin B durch Bildung der Lacton-Form nach PREININGER *et al.*<sup>[131]</sup>

Die Fluoreszenz der Rhodamine resultiert aus der Relaxation aus dem angeregten Singulettzustand. Durch ein ISC wird der Triplettzustand erhalten, aus welchem hingegen mehrere Mechanismen auftreten können. Darunter fallen die strahlungslose Desaktivierung, Quenching durch Verunreinigungen und ionischer Radikale, oder durch einen Elektronentransfer.<sup>[134]</sup> Iodide und Thiocyanate sind in der Lage die Fluoreszenz durch einen Elektronentransfer vom Anion zum angeregten Farbstoff zu quenchchen.<sup>[130]</sup> Bei der Verwendung von CTAB wurden die Chromophore Riboflavin und Flavin-Adenin-Dinukleotid durch ein ISC aufgrund des Bromidions gequenchet.<sup>[135]</sup> CTAB sorgt bei der Verkapselung auch für das Quenching von Eosin Y.<sup>[136]</sup>



## 5. Zielsetzung & Konzeption

Das Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung einer allgemeinen Verkapselungsmethode für hydrophile Substanzen bestehend aus einer inversen Mizelle und einer amphiphilen Polymerhülle. Durch die Verkapselung der Beladung im Inneren der inversen Mizelle würde die Entität gewahrt sowie vor Proteolyse<sup>[9]</sup> und ungewollter Wechselwirkung mit hydrophoben Oberflächen<sup>[10]</sup> geschützt. Darüber hinaus könnten weitere Nachteile,<sup>[137]</sup> wie das Lösen oder die Adsorption der Beladung in der Polymerhülle, verhindert werden. Dabei sollte nicht nur ein *proof of concept* der Verkapselung gezeigt werden, sondern nach erfolgreicher Herstellung beladener Nanokapseln, die Adressierung der LSECs erfolgen. Der Fokus dieser Forschungsarbeit kann in drei Teilaspekte gegliedert werden. Zum einen der Synthese und Selbstassemblierung verschiedener Ammoniumsalze mit anschließender Stabilisierung der beladenen inversen Mizellen. Darauffolgend sollte die Interkalation mit dem amphiphilen Copolymer PMAcOD zum zweiten Phasentransfer untersucht sowie *in vitro* und *in vivo* Studien durchgeführt werden. Im folgenden werden die Zwischenschritte detaillierter dargestellt.

Zunächst sollten *N,N*-Dialkyl-*N,N*-diallylammoniumhalogenide mit unterschiedlich langen aliphatischen Seitenketten synthetisiert werden, welche die Ausbildung inverser Mizellen erlauben. Um möglichst kleine inverse Mizellen zu erhalten, war es wichtig den hydrophoben Volumenanteil im Molekül durch eine zweifache Substitution mit aliphatischen Ketten zu erhöhen.<sup>[91]</sup> Es sollten allylische Gruppen verwendet werden, da endständige Doppelbindungen eine höhere Reaktivität gegenüber innenständigen Alkenen aufweisen<sup>[126]</sup> und weiterhin die Stabilisierung der Konstrukte durch eine Quervernetzung mit Polythiolen in einer photoinduzierten Thiol-en Reaktioner möglich wäre.<sup>[117]</sup> Diese Art der Quervernetzung eignet sich hervorragend, da zum einen die Beladung lediglich milden Reaktionsbedingungen ausgesetzt wäre und zum anderen, je nach verwendetem Thiol, das Einbringen labiler Estergruppen realisiert werden könnte. Um die Nanokapseln bei den späteren *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen spektroskopisch verfolgen zu können, wurden fluoreszente Rhodaminfarb-

stoffe als Beladung ausgewählt. Es sollte weiterhin untersucht werden welchen Einfluss das Gegenion des Ammoniumhalogenids auf die Mizellbildung hat und ob das bei den Ammoniumiodiden zu erwartende Quenching der Farbstoffe<sup>[130]</sup> eintritt. Da aufgrund des Packungsparameters<sup>[77]</sup> mit zunehmender aliphatischer Kettenlänge kleinere Konstrukte sowie geringere kritische Mizellkonzentrationen<sup>[138]</sup> zu erwarten sind, sollten Ammoniumhalogenide mit unterschiedlichen Kettenlängen untersucht werden.

Im nächsten Schritt sollten die stabilisierten inversen Mizellen mit dem alternierenden amphiphilen Copolymer PMAcOD interkaliert werden. Die Interkalation anorganischer Nanopartikel mit Polymeren ist in der Literatur vielfach beschrieben,<sup>[139–142]</sup> allerdings konnte dies für PMAcOD mit rein organischen Mizellen noch nicht gezeigt werden. Durch die Verwendung der amphiphilen Polymerhülle sollte der Phasentransfer der inversen Mizellen in wässrige Lösungen ermöglicht werden. Aufgrund der bereits geöffneten Anhydridgruppen des PMAcOD sollten stabile Nanokapseln ausgebildet werden, die auch ohne eine weitere Quervernetzung der äußeren Hülle<sup>[139,141]</sup> stabil sind.

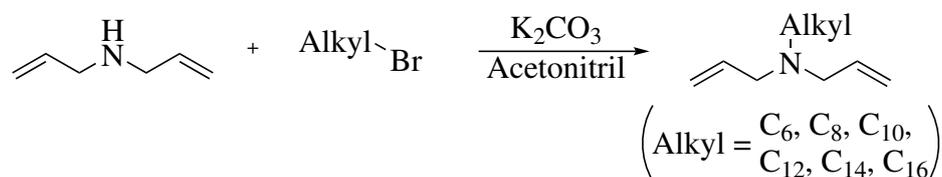
Nachdem die Beladung in den stabilisierten inversen Mizellen verkapselt und der zweite Phasentransfer durch das Polymer realisiert werden konnte, sollte der Verkapselungsprozess bezüglich der Größe der erhaltenen Nanokapseln untersucht werden. Das Poly(Maleinsäureanhydrid-*alt*-1-Octadecen) (PMAOD) zeigte in voran gegangenen Studien in der Größe der ausgebildeten Mizellen eine Abhängigkeit vom Hydrolysegrads,<sup>[143]</sup> weshalb der Einfluss einer basischen Aufarbeitung der Nanokapseln genau betrachtet werden sollte. Die Methode sollte insofern ausgearbeitet werden, als dass sie auf alle in dieser Arbeit verwendeten Mizellbildner angewendet werden kann. Die Adressierung der LSECs durch mit PMAcOD interkalierte Nanopartikel<sup>[30]</sup> konnte bereits gezeigt werden und sollte auf die in dieser Arbeit entwickelten Nanokapseln übertragen werden.

## 6. Ergebnisse und Diskussion

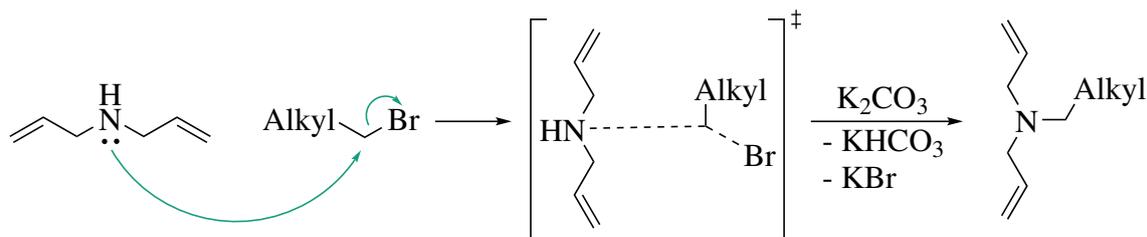
Die in dieser Forschungsarbeit erhaltenen Ergebnisse werden in den nachfolgenden Abschnitten dargestellt und diskutiert. Angefangen mit der Synthese alkylierter Ammoniumsalze als Mizellbildner (Abschnitt 6.1, S. 33), hin zur Ausbildung inverser Mizellen in organischen Lösungsmitteln (Abschnitt 6.2, S. 39). Die anschließende Stabilisierung der beladenen Mizellen durch ein Cross-Linking (Abschnitt 6.3, S. 48) sowie die darauffolgende Interkalation mit einem geeigneten Polymer zur Initiierung des zweiten Phasentransfers ins Wasser (Abschnitt 6.4, S. 56) werden beschrieben. Schlussendlich werden die Eigenschaften (Größe, Stabilität, Toxizität, zelluläre Aufnahme) der erhaltenen Nano-Carrier-Konstrukte aufgezeigt (Abschnitt 6.5, S. 70).

### 6.1. Synthese Mizellbildner

Im folgenden Abschnitt wird die Darstellung der quartären Ammoniumsalze mit unterschiedlichen Gegenionen in einer zweistufigen Synthese beschrieben. Zunächst erfolgte die Bildung tertiärer Amine nach einer Vorschrift von BONGARTZ *et al.*<sup>[144]</sup> (Schema 6.1). Der Mechanismus der Monoalkylierung von Diallylamin verläuft nach einer nukleophilen Substitution des eingesetzten primären Alkylbromids (Schema 6.2).



**Schema 6.1.:** Alkylierung von Diallylamin mit 1-Bromalkanen unter Verwendung von  $\text{K}_2\text{CO}_3$  zur Darstellung tertiärer *N*-Alkyl-*N,N*-diallylamine.



**Schema 6.2.:** Der Mechanismus wurde in dieser Forschungsarbeit nicht im Detail untersucht, daher beruht der dargestellte Mechanismus lediglich auf theoretischen Überlegungen gestützt durch experimentelle  $pK_s$ -Werte.<sup>[145,146]</sup> Es ist der schematische Mechanismus einer nukleophilen Substitution primärer Alkylbromide mit Diallylamin gezeigt. Durch die Wahl des aprotischen Lösungsmittels Acetonitril sowie der Verwendung von 1-Bromalkanen ist eine  $S_N2$ - gegenüber einer  $S_N1$ -Reaktion bevorzugt.

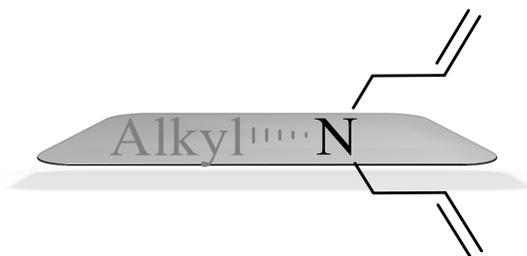
Der Mechanismus einer nukleophilen Substitution hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab. Dabei sind nicht nur das Nukleophil und Elektrophil ausschlaggebend, sondern auch die Eigenschaften des verwendeten Lösungsmittels. In einer  $S_N1$ -Reaktion wird ein reaktives Carbokation als Zwischenprodukt gebildet, bevor der nukleophile Angriff erfolgen kann. Damit die Reaktion nach diesem Mechanismus verläuft, muss die Stabilisierung des Kations u.a. durch +I- (bspw. Alkylgruppen) oder +M-Effekte (bspw. benachbarte freie Elektronenpaare) oder ein protisches, polares Lösungsmittel erfolgen. Dabei gilt, je höher das Kohlenstoffatom des Elektrophils substituiert ist, desto besser wird die positive Ladung stabilisiert. Bei der Verwendung primärer Alkylbromide ist diese Stabilisierung jedoch nicht ausreichend gegeben, sodass die Substitutionsreaktion in einem Übergangszustand nach  $S_N2$  bevorzugt wird. Dabei nähert sich das Nukleophil rückseitig an, wodurch eine Erhöhung der Elektronendichte im antibindenden Orbital der C-Br-Bindung resultiert und diese geschwächt wird. Die Alkylierung des Kohlenstoffatoms und die Substitution des Bromidions am Elektrophil erfolgen zeitgleich ohne ein Zwischenprodukt auszubilden. Die Schwierigkeit bei nukleophilen Substitutionen mit Aminen ist, dass höher substituierte Produkte der Stickstoff-Alkylierung durch den zunehmenden +I-Effekt bessere Nukleophile für Folgereaktionen darstellen. Dadurch werden mono-, di-, tri- und tetrasubstituierte Amine/Ammoniumsalze erhalten.<sup>[101]</sup> Indem das Alkylbromid im Unterschuss eingesetzt wurde, konnte diese Problematik umgangen werden.

Durch die hohe Basizität von  $K_2CO_3$ <sup>[145]</sup> wurde die Bildung von Diallylammmoniumbromid und *N*-Alkyl-*N,N*-diallylammmoniumbromiden<sup>[146]</sup> unterbunden, sodass höhere Ausbeuten realisiert werden konnten. Weiterhin konnte mit der Variation des eingesetzten Bromalkans eine Vielzahl tertiärer Amine mit hoher Reinheit dargestellt werden.

Als Nächstes soll hier eine Diskussion des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums der tertiären Amine inklusive Erklärungen zur Verschiebung der erhaltenen Signale erfolgen. Dazu muss zunächst besprochen werden, warum die Wasserstoffkerne unterschiedliche Anregungsenergien (chemische Verschiebung) benötigen und wieso nicht jeder einzelne Wasserstoffkern durch ein eigenes Signal repräsentiert wird. Durch das Anlegen eines äußeren Magnetfelds  $B_0$  werden die Spinzustände der Wasserstoffkerne aufgespalten. Die Energiedifferenz der Spinaufspaltung wird durch das effektive Magnetfeld  $B_{\text{eff}}$  bestimmt, welches sich aus dem äußeren (angelegten) Magnetfeld  $B_0$  und der Abschirmkonstante  $\sigma$  ergibt (Gl. 6.1). Diese wird durch die vorliegende Elektronendichte sowie Anisotropie- und sterischen Effekten bestimmt. Ein hohes  $B_{\text{eff}}$  sorgt für eine starke Aufspaltung der Spinzustände, was wiederum für eine Tieffeld-Verschiebung und somit hohen ppm-Werten sorgt. Mit abnehmender räumlicher Nähe der Wasserstoffkerne zu elektronegativeren Heteroatomen nehmen die elektronischen Effekte ab und die Protonensignale werden ins Hochfeld verschoben.<sup>[147]</sup>

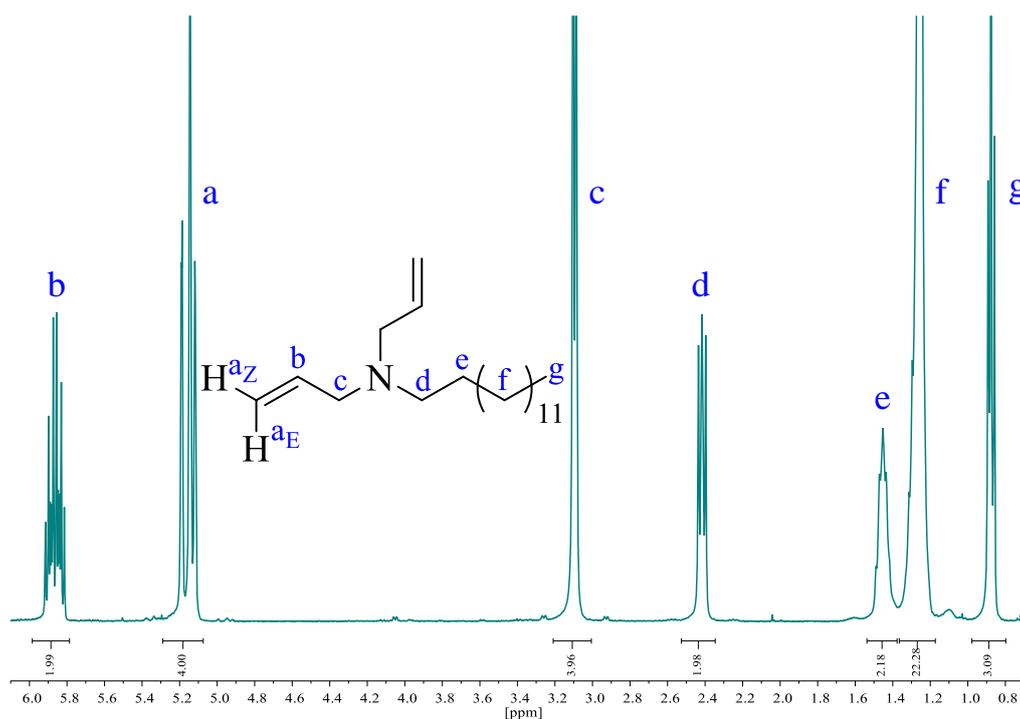
$$B_{\text{eff}} = B_0(1 - \sigma) \quad (6.1)$$

Wenn eine Symmetrieoperation auf eine Molekülstruktur angewendet werden kann, dann sind die gespiegelten Kerne chemisch kongruent. Kerne mit gleicher Aufspaltung und Verschiebung im NMR-Spektrum können allerdings auch ohne Symmetrieoperation erhalten werden, indem diese durch eine innermolekulare Rotation äquivalent werden. Dies gilt beispielsweise für Methylgruppen.<sup>[147]</sup> Tertiäre Alkylamine besitzen eine tetraedrische Struktur aufgrund des  $\text{sp}^3$ -hybridisierten Stickstoffatoms.<sup>[101]</sup> Es ist daher möglich eine Spiegelebene einzubringen (Abb. 6.1), wodurch die Aufspaltung im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von *N*-Alkyl-*N,N*-diallylaminen erklärt werden kann. Eine Spektrendiskussion wird beispielhaft für *N,N*-Diallyl-*N*-tetradecylamin durchgeführt (Abb. 6.2).



**Abb. 6.1.:** Spiegelebene in *N*-Alkyl-*N,N*-diallylaminen.

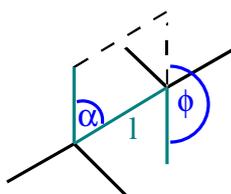
Aufgrund der Symmetrieebene in *N*-Alkyl-*N,N*-diallylaminen sind die allylischen Substituenten chemisch und magnetisch äquivalent und ergeben das in Abbildung 6.2 gezeigte Aufspaltungsmuster.



**Abb. 6.2.:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von *N,N*-Diallyl-*N*-tetradecylamin in CDCl<sub>3</sub>. Mithilfe der gezeigten Molekülstruktur wurde die Zuordnung der Signale für die jeweiligen Wasserstoffkerne veranschaulicht.

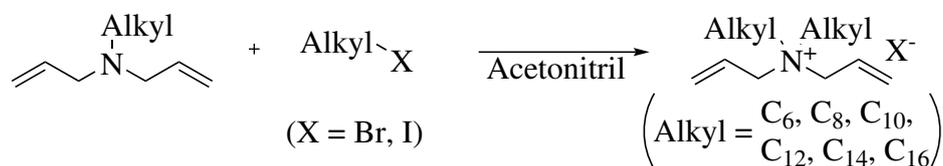
Aufgrund der sp<sup>2</sup>-Hybridisierung der olefinischen Kohlenstoffatome liegt an der Doppelbindung eine planare Struktur vor. Durch Anisotropieeffekte wird ein Anisotropiekegel senkrecht zur planaren Struktur erzeugt, wodurch eine starke Entschirmung der vinyllischen Protonen resultiert.<sup>[147]</sup> Für H<sub>b</sub> wird ein Dublett vom Dublett vom Triplet (ddt) bei 5.86 ppm mit <sup>3</sup>J-Kopplungskonstanten von 16.8, 10.1 und 6.5 Hz erhalten. Die dafür ausschlaggebende vicinale Kopplung ist in Abbildung 6.3 veranschaulicht und nimmt mit Abnahme der Winkel  $\alpha$  und  $\phi$  sowie der Bindungslänge  $l$  ab. Im olefinischen System sind  $l$  und  $\alpha$  für die Kopplungen mit H<sub>a</sub> identisch, lediglich der Torsionswinkel  $\phi$  unterscheidet sich. Für die *E*-ständigen Kerne beträgt  $\phi = 180^\circ$  und für die *Z*-ständigen Kerne  $\phi = 0^\circ$ .<sup>[147]</sup> Die <sup>3</sup>J-Kopplung von 16.8 Hz erfolgt mit H<sub>aE</sub> und von 10.1 Hz mit H<sub>aZ</sub> und sorgt jeweils für eine Dublettaufspaltung. Die benachbarte Methylengruppe besitzt aufgrund der freien Drehbarkeit zwei chemisch und magnetisch äquivalente Protonen H<sub>c</sub>. Diese sorgen für eine Triplettaufspaltung von H<sub>b</sub> mit einer Kopplungskonstanten von 6.5 Hz. Aufgrund der drei unterschiedlichen Kopplungskerne wird für H<sub>b</sub> eine ddt-Aufspaltung erhalten. Für die

Protonen  $H_a$  kann lediglich ein Multiplett bei 5.19–5.12 ppm erhalten werden, da aufgrund von Überlagerungen der Signale keine Multiplizität aus dem Spektrum bestimmt werden kann. Die Methylengruppe  $H_c$  kann bei 3.10 ppm als Dublett mit einer  $^3J$ -Kopplung von 6.5 Hz durch  $H_b$  identifiziert werden. Die aliphatischen Protonen  $H_d$  bei 2.44–2.40 ppm,  $H_e$  bei 1.49–1.41 ppm und  $H_f$  bei 1.33–1.20 ppm zeigen komplexe Multiplett-Aufspaltungen aufgrund von  $^3J$ - und  $^4J$ -Kopplungen. Die endständige Methylgruppe  $H_g$  wird bei 0.88 ppm als Triplett mit einer  $^3J$ -Kopplungskonstante von 6.9 Hz aufgespalten.



**Abb. 6.3.:** Die vicinale Kopplung von Wasserstoffkernen in Abhängigkeit der Winkel  $\alpha$ ,  $\phi$  und der Bindungslänge  $l$  in gesättigten Kohlenstoffverbindungen. Aufgrund der nicht-vorhandenen freien Drehbarkeit von Doppelbindungen erfolgt die  $^3J$ -Kopplung terminaler Alkene in Abhängigkeit von  $\phi$  (modifiziert nach HESSE, MEIER, ZEEH<sup>[147]</sup>).

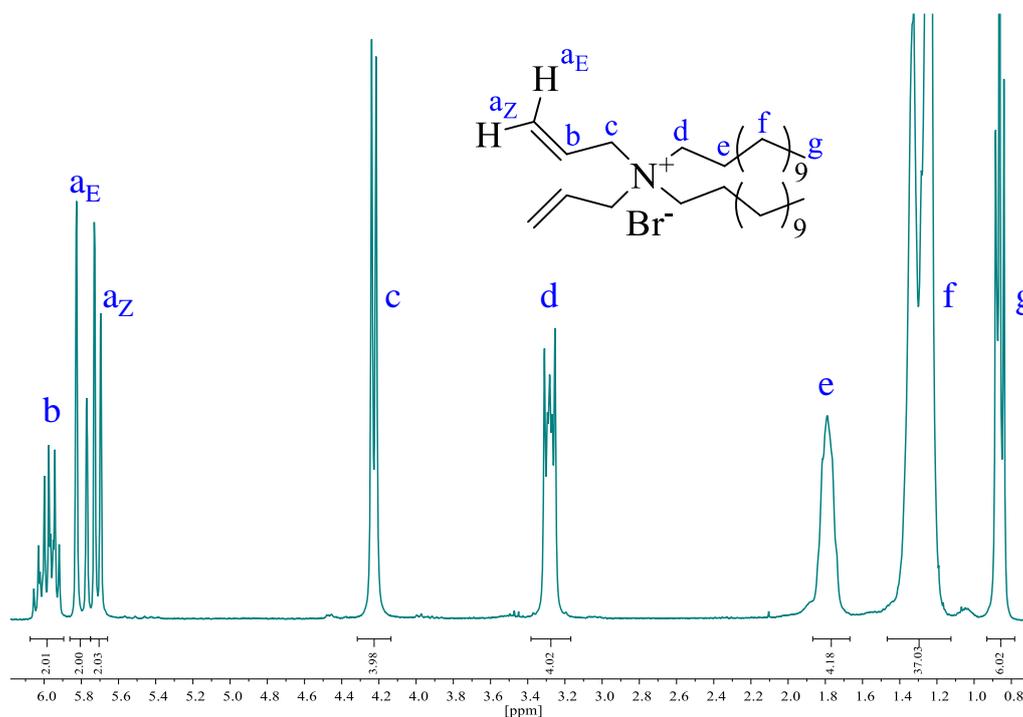
Die Darstellung der quartären Ammoniumsalze als inverse Mizellbildner für hydrophile Substanzen ist in Schema 6.3 schematisch dargestellt. Die Synthese erfolgte in Anlehnung an YANG *et al.*<sup>[148]</sup> und erlaubt es durch den einfachen Austausch des eingesetzten Alkylhalogenids, eine Vielzahl an Mizellbildnern mit sowohl unterschiedlichen aliphatischen Kettenlängen als auch Gegenionen zu erhalten. Dabei wurde das in der ersten Stufe (Schema 6.1, S. 33) isolierte tertiäre Amin unter Rückfluss mit einem Alkylhalogenid umgesetzt und anschließend säulenchromatographisch gereinigt. Es konnten die folgenden Ammoniumsalze in Ausbeuten von 18–86 % und hoher Reinheit isoliert werden: DHexAB, DHexAI, DOAB, DOAI, DDeAB, DDeAI, DDAB, DDAI, DTAB, DHAB und DHAI.



**Schema 6.3.:** Darstellung quartärer *N,N*-Dialkyl-*N,N*-diallylammoniumhalogenide mit Bromid- und Iodid-Gegenionen.

In Abbildung 6.4 ist beispielhaft ein  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von DDAB in  $\text{CDCl}_3$  gezeigt, das in folgendem kurz diskutiert werden soll. Die Erklärungen für die Verschiebung

der Protonensignale sowie die chemische und magnetische Äquivalenz der Wasserstoffkerne wurde bereits für *N,N*-Diallyl-*N*-tetradecylamin (Abb. 6.2) näher gebracht. Diese können auf das in Abbildung 6.4 gezeigte Spektrum übertragen werden.



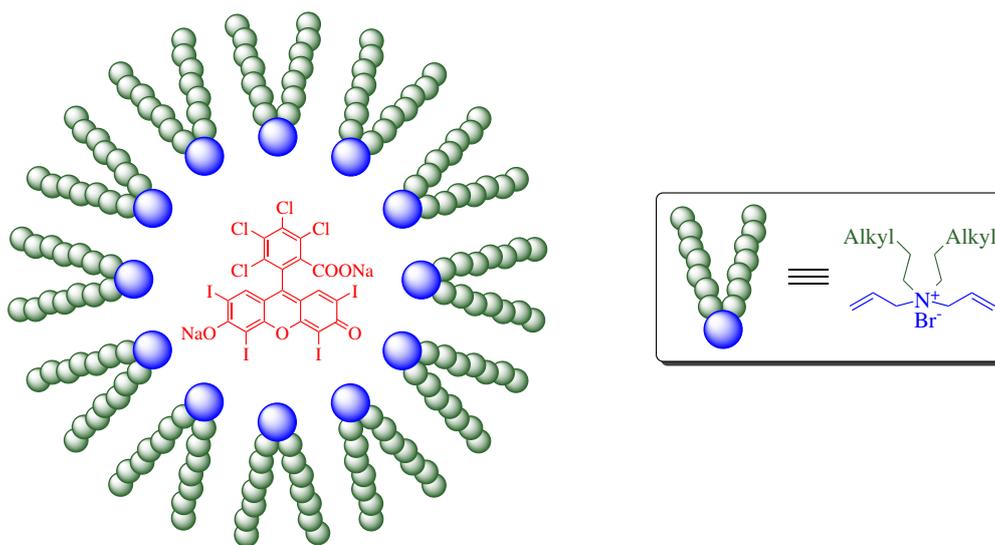
**Abb. 6.4.:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von DDAB in  $\text{CDCl}_3$ . Mithilfe der gezeigten Molekülstruktur wurde die Zuordnung der Signale für die jeweiligen Wasserstoffkerne veranschaulicht.

Für  $\text{H}_b$  wird ein ddt bei 5.98 ppm mit  $^3\text{J}$ -Kopplungskonstanten von 17.1, 10.0 und 7.2 Hz erhalten. Die  $^3\text{J}$ -Kopplungen von 17.1 Hz und 10.0 Hz erfolgen mit  $\text{H}_{a_E}$  sowie  $\text{H}_{a_Z}$  und sorgen jeweils für eine Dublettaufspaltung. Die benachbarte Methylengruppe besitzt aufgrund der freien Drehbarkeit zwei chemisch und magnetisch äquivalente Protonen  $\text{H}_c$ . Diese sorgen für eine Triplettaufspaltung von  $\text{H}_b$  mit einer Kopplungskonstanten von 7.2 Hz. Aufgrund der drei unterschiedlichen Kopplungskerne wird für  $\text{H}_b$  eine ddt-Aufspaltung erhalten. Für die Protonen  $\text{H}_a$  kann jeweils ein Dublett bei 5.80 ppm ( $\text{H}_{a_E}$ ) und 5.72 ppm ( $\text{H}_{a_Z}$ ) erhalten werden. Die Zuordnung ist aufgrund der unterschiedlichen Kopplungskonstanten möglich. Die Methylengruppe  $\text{H}_c$  kann bei 4.24 ppm als Dublett mit einer  $^3\text{J}$ -Kopplung von 7.2 Hz durch  $\text{H}_b$  identifiziert werden. Die aliphatischen Protonen  $\text{H}_d$  bei 3.37–3.19 ppm,  $\text{H}_e$  bei 1.83–1.76 ppm und  $\text{H}_f$  bei 1.39–1.32 ppm zeigen aufgrund multipler J-Kopplungen komplexe Aufspaltungsmuster. Die endständige Methylgruppe  $\text{H}_g$  wird bei 0.87 ppm als Triplet mit einer  $^3\text{J}$ -Kopplungskonstante von 6.9 Hz aufgespalten. Aufgrund der positiven Ladung des Stickstoffatoms sind vor allem die kernnahen Protonen im Vergleich zum tertiären Amin stärker Tieffeld verschoben.

## 6.2. Erster Phasentransfer

Im ersten Phasentransfer wurde die wasserlösliche Beladung durch die Ausbildung einer inversen Mizelle in die organische Phase transferiert. Dazu wurde der Mizellbildner in dem organischen Lösungsmittel gelöst und anschließend eine wässrige Lösung mit der zu beladenden Substanz eingespritzt. Aufgrund der Verkapselung wird die wasserlösliche Substanz in hydrophoben organischen Lösungsmitteln löslich. Die Selbstassemblierung der Mizellbildner hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab (Abschnitt 4.2.4). In den folgenden Abschnitten werden ein Lösungsmittel-Screening (Abschnitt 6.2.1), der Einfluss des Halogenid-Gegenions (Abschnitt 6.2.2) sowie das Fluoreszenzverhalten verkapselter Farbstoffe (Abschnitt 6.2.3) untersucht. Die dynamische Lichtstreuung (DLS) wurde als Methode zur Größenbestimmung der Konstrukte verwendet.

Die Verkapselung hydrophiler Substanzen in inversen Mizellen aus quartären Ammoniumsalzen ist in Abbildung 6.5 schematisch für Bengalrosa gezeigt.



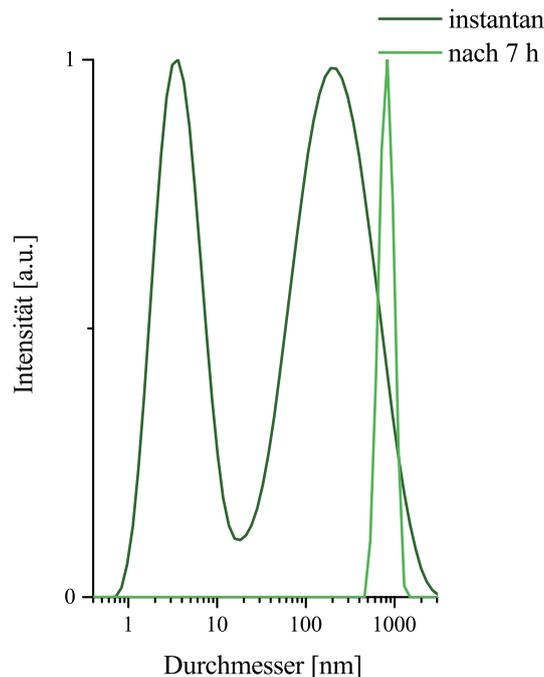
**Abb. 6.5.:** Schematische Darstellung der Verkapselung von Bengalrosa in einer inversen Mizelle durch ein quartäres Ammoniumsalz.

Die Selbstassemblierung zu sphärischen Mizellen wird durch das Verhältnis aus hydrophilem zu hydrophobem Anteil des Mizellbildners bestimmt. Darüber hinaus hat das verwendete Lösungsmittel sowie das Verhältnis aus der zu verkapselnden, wässrigen Lösung zur Mizellbildnerkonzentration  $W_0$  (Gl. 4.1, S. 16) einen signifikanten Einfluss und wurde im Folgenden untersucht.

### 6.2.1. Lösungsmittel-Screening

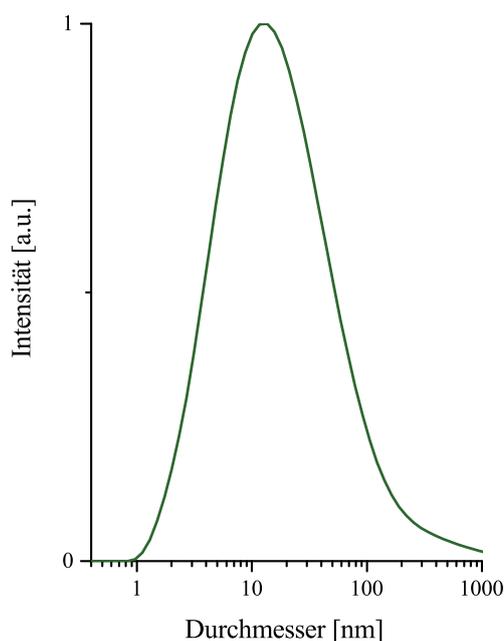
Zur Untersuchung des Einflusses des organischen Lösungsmittels auf die Selbstassemblierung, erfolgte ein Screening mit unterschiedlichen Polaritäten. Um die Ausbildung von Überstrukturen zu erzwingen, wurden die Untersuchungen mit aprotischen Lösungsmitteln mit geringer Polarität begonnen und diese dann stetig erhöht.

Zunächst wurde die Verkapselung in Anlehnung an SHAPIRO *et al.*<sup>[94]</sup> untersucht. Cyclohexan, *n*-Hexan als auch Abmischungen mit 2 vol% Chloroform zeigten allerdings selbst beim Erwärmen auf 40 °C geringe Löslichkeiten (< 5 mmolar) für DDAB und wurden daher für den ersten Phasentransfer ausgeschlossen. Benzol und Toluol zeigten eine vergleichsweise bessere Löslichkeit der Mizellbildner. Allerdings wurde durch die Wechselwirkung mit den organischen Lösungsmitteln die Ausbildung der Lactonform induziert, wodurch eine Fluoreszenzlöschung (*quenching*) resultierte. Aufgrund der unterschiedlichen Löslichkeit der Natriumsalze<sup>[149]</sup> und der Lactonform<sup>[132]</sup> ist eine Verkapselung daher nicht anzunehmen. Hierdurch sind auch Benzol und Toluol keine geeigneten Lösungsmittel, um wasserlösliche Farbstoffe mithilfe von Ammoniumsalzen zu verkapseln. Auch in Chloroform ist ein Quenching der Fluoreszenz von Rhodaminen beschrieben,<sup>[131]</sup> allerdings zeigte eine Lösung aus Rhodamin B (1 mg/mL) Fluoreszenz. Weiterhin konnten ZHANG *et al.*<sup>[91]</sup> mit quartären Ammoniumsalzen inverse Mizellen erhalten. Nach dem Einspritzen der wässrigen Farbstofflösung wurde eine violettfarbene, fluoreszente Chloroformlösung erhalten. Die DLS-Messungen zeigten jedoch, dass sich mit der Zeit ein Gleichgewicht von Überstrukturen mit Größen > 1000 nm ausbildeten (Abb. 6.6). Folglich ist auch Chloroform für den ersten Phasentransfer ungeeignet.



**Abb. 6.6.:** Größenbestimmung der Konstrukte mittels DLS für den Verkapselungsprozess von Rhodamin B in DDAB in Chloroform nach sofortiger Zugabe sowie nach 7 h. Der zeitabhängige Vergleich der Ergebnisse aus der Intensitätsmessung zeigt, dass die gebildeten Strukturen direkt nach der Zugabe der wässrigen Farbstofflösung nicht im thermodynamischen Gleichgewicht stehen.

Aufgrund der in Abbildung 6.6 gezeigten Abhängigkeit des Gleichgewichts auf die Ausbildung der inversen Mizellen, wurden die nachfolgenden DLS-Messungen grundsätzlich erst am Folgetag durchgeführt, damit sich das Gleichgewicht einstellen konnte. Die Verwendung von Chloroform/*N,N*-Dimethylacetamid (DMAc)-Gemischen ist für quartäre Ammoniumsalze zur Bildung inverser Mizellen beschrieben<sup>[150]</sup> und wurde auf dieses System übertragen. Nach der Zugabe der Farbstofflösung wurde eine schwach violettfarbene Lösung erhalten. Die DLS-Messung erfolgte 20 h nach Zugabe der Beladung und es konnte eine monomodale Größenverteilung der inversen Mizellen mit Größen von 1–4000 nm beobachtet werden. Aufgrund der hohen Polydispersität der Konstrukte (Abb. 6.7) sowie der Toxizität waren für DMAc allerdings keine idealen Voraussetzungen gegeben.

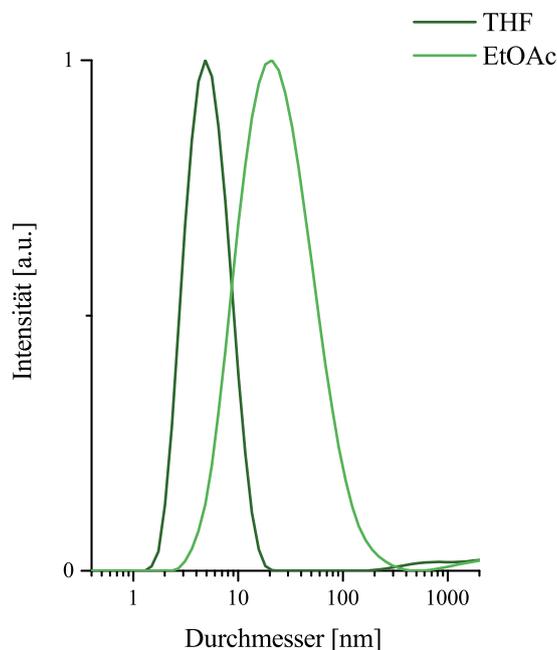


**Abb. 6.7.:** Intensitätsmessung zur Größenbestimmung der inversen Mizellen aus DDAB mit einer Bengalrosa Beladung in einem Gemisch aus Chloroform/DMAc (2:1). Es wurden Konstrukte mit einer monomodalen Größenverteilung und einer großen Polydispersität erhalten.

Untersuchungen zu Ethylacetat (EtOAc) lieferten vergleichbare Ergebnisse wie die in Abbildung 6.7 gezeigten. Allerdings wurde eine schmalere Größenverteilung erhalten (Abb. 6.8) und der Verzicht von Lösungsmittelabmischungen erleichtert die präparative Arbeit. Weiterhin ist das Abtrennen von EtOAc im Verkapselungsprozess aufgrund des geringeren Siedepunkts im Vergleich zu DMAc leichter möglich.

Auf Grundlage der von ZHANG *et al.*<sup>[91]</sup> beschriebenen Ergebnisse für quartäre Ammoniumsalze, wurde im Folgenden THF als Lösungsmittel untersucht. Um die Polarität der Lösung zu verringern und die Ausbildung inverser Mizellen zu unterstützen, wurden Abmischungen mit *n*-Hexan hergestellt. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Löslichkeit der Mizellbildner mit steigendem THF-Anteil zunahm und ein Volumenanteil an THF von mindestens 50 % nötig war, um bei einer Konzentration von 17.8 mmol/L eine homogene Lösung zu erhalten. Weiterhin zeigte sich, dass die Zugabe von *n*-Hexan keinen positiven Einfluss auf die Selbstassemblierung gegenüber reinem THF hatte.

Obwohl es sich bei THF und EtOAc um aprotische Lösungsmittel handelt, konnte nach der Zugabe der wässrigen Farbstofflösung eine Fluoreszenz sowie im Gleichgewicht für THF Konstrukte im Größenbereich von 1.5–21 nm und für EtOAc von 2.7–500 nm erhalten werden (Abb. 6.8).

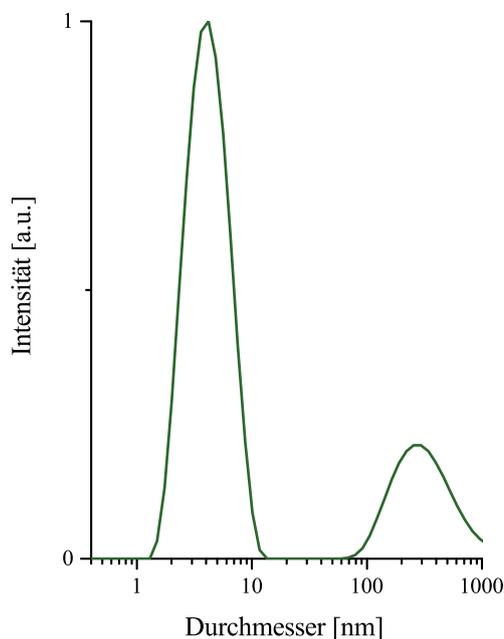


**Abb. 6.8.:** Vergleich der gebildeten Konstruktgrößen aus DDAB mit Bengalrosa in THF und EtOAc. Für beide Lösungsmittel wurden monomodale Größenverteilungen erhalten. THF zeigte im Gegensatz zu EtOAc eine geringere Polydispersität sowie kleinere inverse Mizellen im Bereich von 1.5–21 nm.

Nach dem Lösungsmittel-Screening wurden für DDAB in THF die kleinsten Konstrukte, eine fluoreszente Lösung sowie eine schmale Größenverteilung erhalten. Diese Ergebnisse sollten nun auf die anderen Mizellbildner übertragen werden.

Für *N,N,N*-Triallyldodecylammoniumbromid (TDAB) war aufgrund des veränderten Verhältnisses aus hydrophobem zu hydrophilem Anteil ein abweichendes Verhalten zu erwarten. Aufgrund der einfachen Substitution mit einer aliphatischen Seitenkette wurden erwartungsgemäß keine kleinen sphärischen Mizellen, sondern Konstrukte mit Größen > 1000 nm erhalten. Dieses Ergebnis lässt sich mit den in Abschnitt 4.2.4 beschriebenen theoretischen Grundlagen zum Packungsparameter erklären.

Im Gegensatz dazu wurde für *N,N*-Diallyl-dodecylammonio-*N*-propylsulfonat (DDsulfo) die in Abbildung 6.9 gezeigte Größenverteilung in THF erhalten.



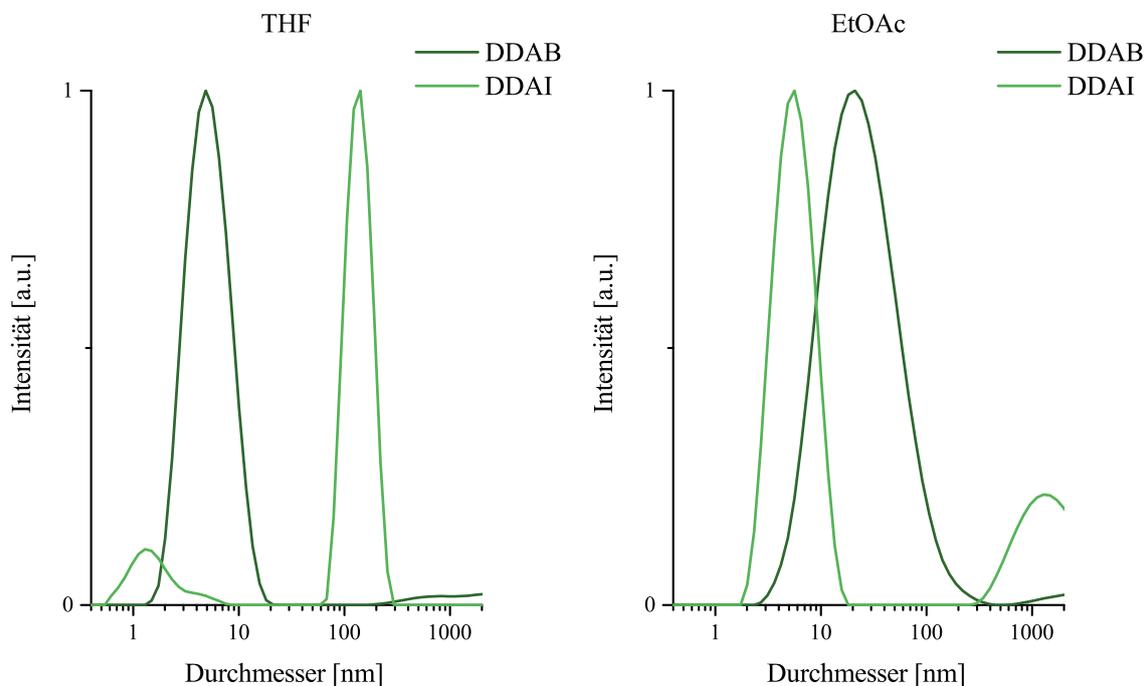
**Abb. 6.9.:** Größenbestimmung der Konstrukte aus der Intensitätsmessung mittels DLS. Aufgrund der Überrepräsentation großer Partikel, kann das Signal ab 100 nm vernachlässigt werden. Es erfolgte eine Verkapselung von Bengalrosa mit DDsulfo in THF unter Ausbildung von Überstrukturen im Größenbereich von 1.5–12 nm.

Obwohl der Mizellbildner nur eine aliphatische Seitenkette besitzt, wurden Konstrukte im Größenbereich von 1.5–12 nm erhalten. In der DLS wird die zeitabhängige Intensität der an nanoskopischen Partikeln, aufgrund der BROWN'SCHEN Molekularbewegung, gestreuten Strahlung gemessen.<sup>[151]</sup> Die Intensität ist dabei proportional zu  $r^6$ ,<sup>[152]</sup> wodurch eine Überrepräsentation großer Partikel in der Intensitätsmessung stattfindet. Aus diesem Grund kann das Signal ab 70 nm vernachlässigt werden. Allerdings unterscheidet sich dieser Mizellbildner aufgrund der Propylsulfonat-Gruppe auch von den anderen in dieser Arbeit untersuchten *N,N*-Dialkyl-*N,N*-diallyl-ammoniumsalzen.

### 6.2.2. Einfluss des Halogenids

Im folgenden Abschnitt werden der Einfluss des Halogenids als Gegenion auf die Selbstassemblierung sowie Fluoreszenzeigenschaften der Farbstoffe diskutiert. Um

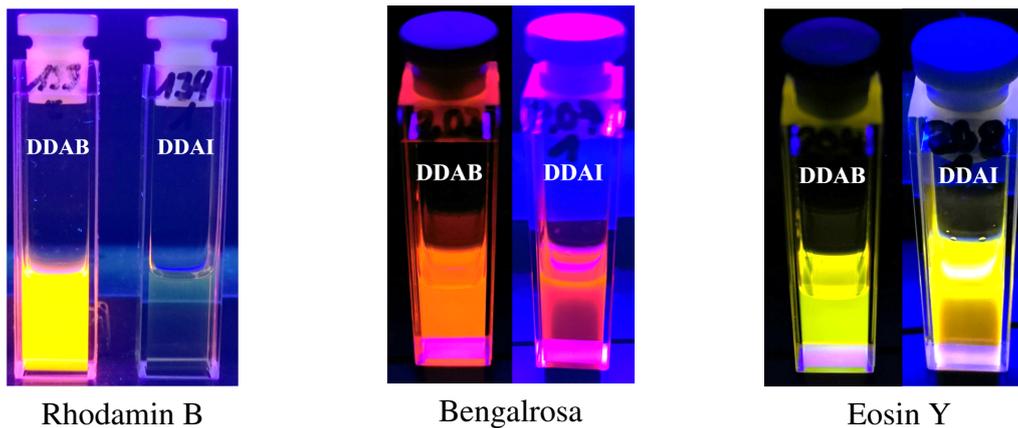
die erhaltenen Ergebnisse mit DDAB vergleichen zu können, erfolgten die Untersuchungen unter Verwendung des Mizellbildners mit gleicher Alkylsubstitution. Beim Austausch des Bromidions gegen Iodid wurden für DDAI vergleichbare Ergebnisse der Selbstassemblierung in THF und EtOAc erhalten (Abb. 6.10).



**Abb. 6.10.:** Einfluss des Gegenions auf die Mizellbildung in THF (links) und EtOAc (rechts). DDAI lieferte für beide Lösungsmittel kleinere Konstrukte. Aufgrund der Überrepräsentation größerer Partikel in der Intensitätsmessung ist das Hauptsignal von DDAB in THF bei 1 nm, obwohl die Intensität im Vergleich zu dem Signal bei 100 nm gering ist.

Bei der Selbstassemblierung mit DDAI wurden im Vergleich zu DDAB sowohl in THF als auch in EtOAc kleinere Konstrukte erhalten. Hierbei ist wichtig zu erwähnen, dass die Streuung an Partikeln proportional zu  $r^6$  erfolgt<sup>[152]</sup> und dadurch in der Intensitätsmessung in der DLS-Auftragung überrepräsentiert werden. Dadurch könnte der Eindruck entstehen, dass in THF mit DDAI hauptsächlich Konstrukte  $> 60$  nm erhalten werden. Allerdings beschreibt das Signal bei 1 nm (Abb. 6.10, THF) für DDAI den Hauptanteil der erhaltenen Konstrukte.

Aufgrund der größenabhängigen Aufnahme in die LSECs ist das Ziel dieser Forschungsarbeit möglichst kleine Gesamtkonstrukte zu erhalten, weshalb die Überlegung bestand, den weiteren Prozess der Methodenentwicklung mit DDAI durchzuführen. Allerdings zeigte die Verwendung der Ammoniumiodide als inverse Mizellbildner ein starkes Quenching der Fluoreszenz der verwendeten Farbstoffe (Abb. 6.11).



**Abb. 6.11.:** Fluoreszenz-Quenching durch DDAI: Rhodamin B (links), Bengalrosa (mittig), Eosin Y (rechts). Die Fluoreszenzlöschung der Farbstoffe durch das Ammoniumiodid erfolgte bei Rhodamin B vollständig, hingegen zeigten Bengalrosa und Eosin Y eine verminderte Fluoreszenz.

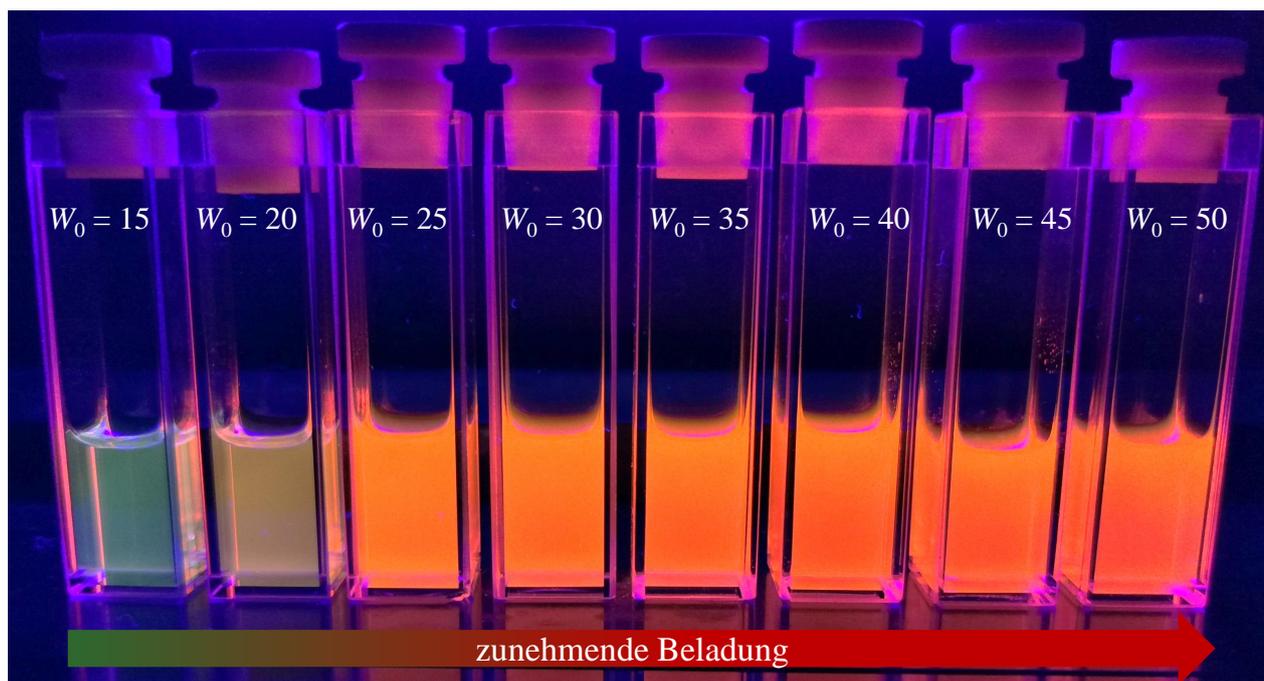
Für Rhodamin B wurde die Fluoreszenz durch die Iodidionen vollständig gequenchet. Die Farbstoffe Bengalrosa und Eosin Y zeigten eine stark verminderte Fluoreszenz, die allerdings nicht vollständig unterdrückt wurde. Den Einfluss von Iodidionen auf die Lumineszenz wurde auch bei konjugierten  $\pi$ -Systemen,<sup>[153]</sup> Carbazol-Polymeren<sup>[154]</sup> und Quantendots<sup>[155]</sup> beschrieben. Weiterhin erfolgten intensive Studien zum Einfluss von Natrium- und Kaliumiodid auf das Fluoreszenzverhalten organischer Farbstoffe wie Rhodamine, aber auch Cyanofarbstoffe.<sup>[130,156–158]</sup> Das zunächst angenommene Verhalten auf Grundlage des Schweratomeffekts wurde von BEER *et al.*<sup>[153]</sup> für konjugierte  $\pi$ -Systeme ausgeschlossen, da das Quenchingverhalten verschiedener Anionen in Korrelation zum Redox-Potenzial steht. Die postulierte Desaktivierung der Fluoreszenz durch einen *charge-transfer*-Komplex wird für Bengalrosa<sup>[156]</sup> und weitere Organofarbstoffe<sup>[157]</sup> angenommen. Der Schweratomeffekt fördert zwar den ISC vom Singulett- zum Triplettzustand, spielt allerdings beim Quenchingverhalten lediglich eine untergeordnete Rolle.<sup>[157]</sup>

Damit die zellulären Prozesse bei den *in vitro* als auch *in vivo* Studien spektroskopisch verfolgt werden können, wurde der weitere Verkapselungsprozess unter Verwendung der bromierten Mizellbildner durchgeführt. Nach der Optimierung wurde die Methode als *proof of concept* auf die Ammoniumiodide übertragen (Abschnitt 6.5).

### 6.2.3. Fluoreszenzeigenschaften verkapselter Farbstoffe

Die Methodenentwicklung zur Verkapselung hydrophiler Substanzen erfolgte mithilfe der wasserlöslichen Xanthenfarbstoffe Rhodamin B, Bengalrosa und Eosin Y, die sich aufgrund hoher Quantenausbeuten und der Anregung mit preiswerten Lichtquellen besonders eignen. Der Einfluss von Lösungsmitteln<sup>[131]</sup> sowie diverser ionischer und nichtionischer Tenside<sup>[159]</sup> auf die Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften ist in der Literatur vielfach beschrieben und wurde in Abschnitt 4.4 erklärt.

Der in der Literatur beschriebene Einfluss kationischer Tenside auf Fluoreszenzfarbstoffe<sup>[159]</sup> konnte auch bei den in Abschnitt 6.1 hergestellten Ammoniumbromiden festgestellt werden (Abb. 6.12). In Abhängigkeit von  $W_0$  (Gl. 4.1, S. 16) veränderte sich die Emissionswellenlänge des Farbstoffs. Da der Fokus dieser Arbeit jedoch nicht auf Untersuchungen zum Quenchingverhalten der Ammoniumsalze liegt, wurden diese nicht genauer untersucht, sollen aber dennoch im Folgenden kurz angeführt werden.



**Abb. 6.12.:** Wechselwirkungen des Farbstoffs Rhodamin B mit dem Mizellbildner DDAB in EtOAc. In Abhängigkeit des zugegebenen wässrigen Rhodamin B Volumens erfolgt eine Verschiebung der Fluoreszenz zu kürzeren Wellenlängen.

Mit abnehmendem Volumen der zugegebenen wässrigen Rhodamin B Lösung mit einer Konzentration von 10 mg/mL zu einer 50 mmolaren Lösung von DDAB, konnte eine Verschiebung der Fluoreszenz des Farbstoffs zu kürzeren Wellenlängen beobachtet werden. Dieses Verhalten konnte auch bei kationischen Tensiden wie CTAB sowie nichtionischen Mizellbildnern gezeigt werden.<sup>[159]</sup> Die Fluoreszenzeigenschaften von Rhodamin B stehen in Abhängigkeit zur freien Beweglichkeit der Aminogruppe.<sup>[130]</sup> Die unterschiedlichen Emissionswellenlängen könnten aus elektrostatischen Wechselwirkungen<sup>[160]</sup> zwischen dem Mizellbildner und dem Farbstoff resultieren, was eine veränderte Geometrie im Rhodamin B hervorrufen könnte.<sup>[159]</sup> Wechselwirkungen mit Mizellbildnern werden auch für Cyanofarbstoffe<sup>[161]</sup> beschrieben, wobei es nach der Verkapselung in inversen Mizellen ebenfalls zu einer verminderten Fluoreszenz kam.<sup>[162]</sup> Die veränderten Fluoreszenzeigenschaften, im Vergleich zum freien Farbstoff, könnten ebenso durch Farbstoffaggregate<sup>[163]</sup> und verstärkte, elektrostatische Wechselwirkungen,<sup>[160]</sup> aufgrund des begrenzten Innenraums der inversen Mizelle, erklärt werden. Um eine ausreichende Fluoreszenz der Probe nach der Verkapselung für die *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen zu erhalten, sollten höchstmögliche  $W_0$ -Werte erreicht werden. Weiterhin könnte durch die Optimierung von  $W_0$  der Anteil der Mizellbildner und folglich des Polymers für den zweiten Phasentransfer möglichst gering gehalten werden, um eine hohe Wirkstoffapplikation ohne Nebenwirkungen durch die Polymerkapsel zu realisieren.

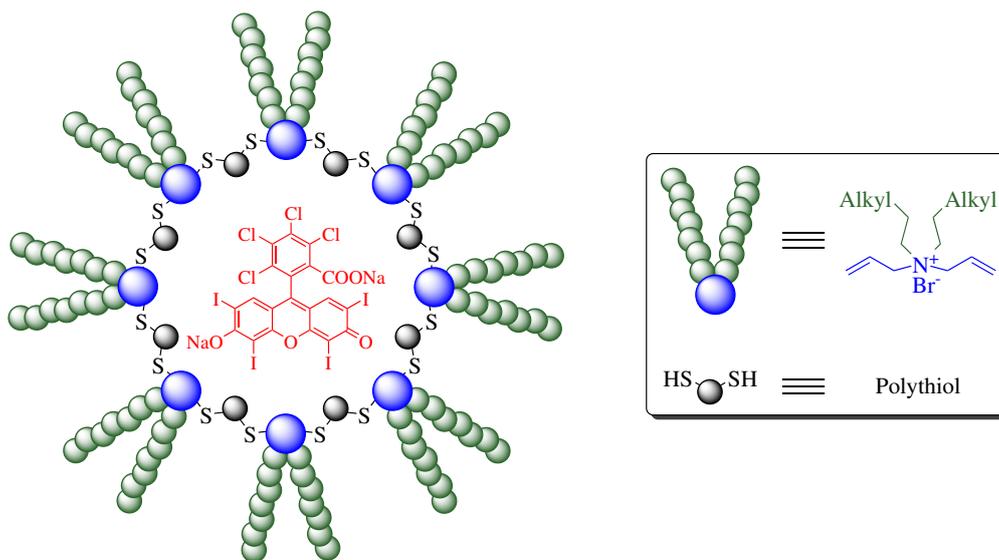
### 6.3. Cross-Linking

Die Mizellbildner wurden so gewählt, dass durch die allylischen Substituenten eine Stabilisierung der inversen Mizellen ermöglicht werden kann. Das Cross-Linking von *N,N*-Dialkyl-*N,N*-diallylammoniumbromiden mithilfe einer Quecksilberdampflampe<sup>[164]</sup> bietet den Vorteil, dass keine zusätzlichen Chemikalien eingesetzt werden müssen. Allerdings gibt es mildere Alternativen, die zum einen kürzere Reaktionszeiten und geringere Strahlungsenergien benötigen und zum anderen das Einbringen von Sollbruchstellen erlauben. Dafür eignen sich vor allem die der *Click*-Chemie zugehörigen Reaktionen, die sich unter anderem durch sehr hohe Ausbeuten in kurzen Reaktionszeiten, einer breiten Anwendbarkeit unter einfachen Bedingungen sowie einer Unempfindlichkeit gegenüber Sauerstoff und Wasser definieren.<sup>[165]</sup> Diese Anforderungen sind in der Thiol-en Reaktion gegeben, weshalb sich diese in besonderem Maße zur Stabilisierung der inversen Mizellen eignet. Es ist folglich möglich

die Beladung einer möglichst milden (UV-A Strahlung) und geringen Bestrahlungszeit auszusetzen.<sup>[117]</sup> Weiterhin kann durch die Verwendung eines Photoinitiators die Reaktionszeit um ein Vielfaches verkürzt werden.<sup>[166]</sup> Dabei muss vor allem darauf geachtet werden, dass dieser eine starke Absorption in dem angeregten Spektralbereich aufweist, um die Reaktion bestmöglich zu initiieren.<sup>[167]</sup> Die in dieser Forschungsarbeit angewandte Thiol-en Reaktion zur Stabilisierung, erfolgte in Anlehnung an HOYLE *et al.*<sup>[117]</sup> mit einer Anregungswellenlänge von 366 nm und DMPA als Photoinitiator.

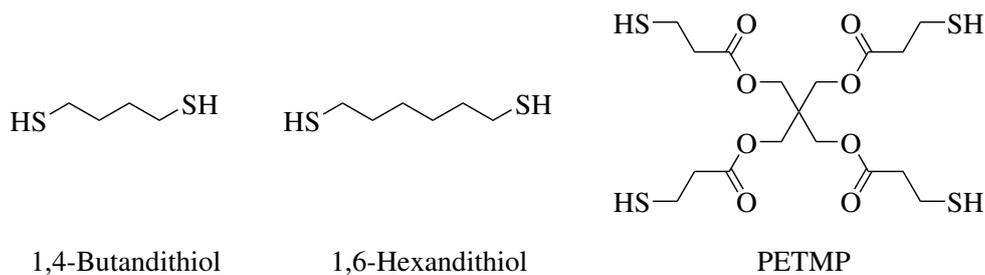
### 6.3.1. Verschiedene Thiole

Der Reaktionsmechanismus der photoinduzierten Thiol-en Reaktion ist in Abschnitt 4.3.2 beschrieben und wurde im Folgenden für die Mizellbildner angewandt. In Abbildung 6.13 ist die Stabilisierung einer inversen Mizelle durch ein Polythiol schematisch dargestellt.



**Abb. 6.13.:** Darstellung einer inversen Mizelle von Bengalrosa in DDAB, die durch ein Polythiol stabilisiert wurde.

Zur Quervernetzung inverser Mizellen aus Ammoniumhalogeniden wurden drei Polythiole (Abb. 6.14) untersucht.



**Abb. 6.14.:** Die zur Stabilisierung der inversen Mizelle verwendeten linearen Dithiole 1,4-Butandithiol und 1,6-Hexandithiol sowie das Tetrathiol Pentaerythritetetrakis(3-mercaptopropionat) (PETMP).

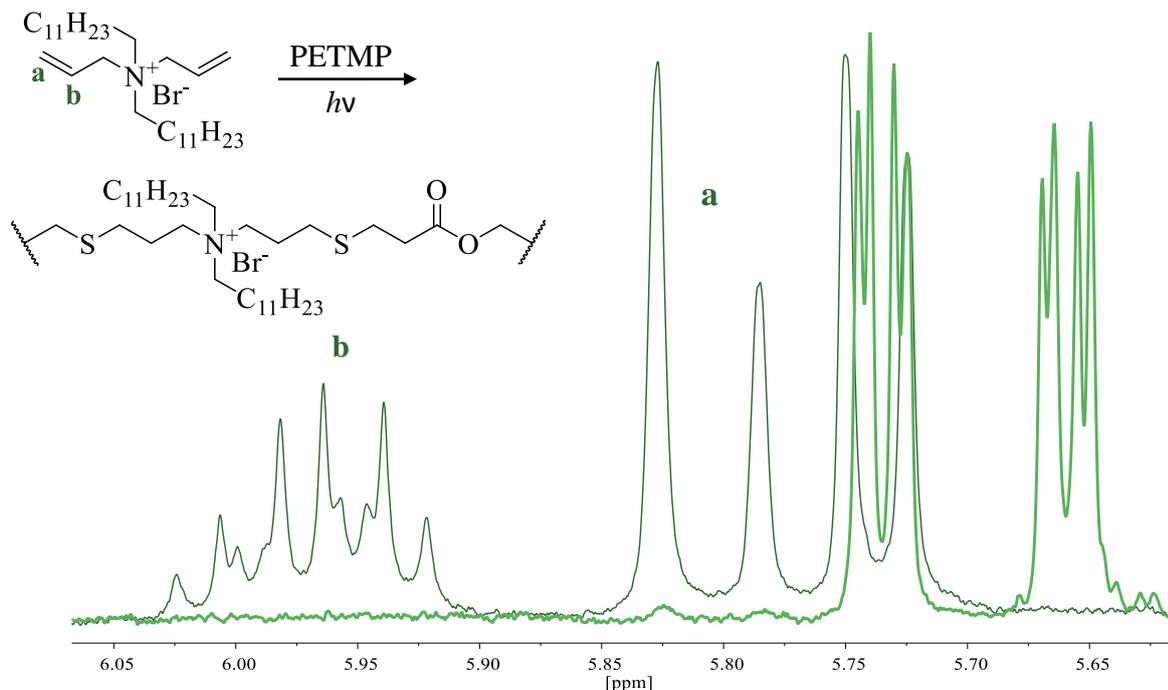
Die aliphatischen Dithiole mit einem Butan- und Hexan-Grundgerüst ermöglichen eine zweidimensionale Vernetzung, wobei darauf geachtet werden muss, dass die Beladung nicht aus der inversen Mizelle diffundieren kann. Auf Grundlage der in der Literatur beschriebenen höheren Reaktivität von Methyl-3-mercaptopropionat gegenüber anderen Thiolen,<sup>[120]</sup> sollte das Tetrathiol PETMP untersucht werden. Weitere Vorteile sind die vierfach Substitution mit Thiolgruppen, wodurch ein höherer Verzweigungsgrad erreicht werden könnte sowie die säurelabilen Estergruppen, die eine Öffnung der Konstrukte erlauben.

Durch die Verkapselung der Farbstoffe im Inneren der inversen Mizellen sollten diese eine veränderte Löslichkeit aufweisen. Dazu wurde eine 17.8 mmolare THF-Lösung der Mizellbildner hergestellt, zu welcher die Rhodaminfarbstoffe zugegeben wurden. Anschließend wurden der Photoinitiator DMPA und ein Polythiol zugegeben und für 30 Minuten mit 366 nm bestrahlt. In Abbildung 6.15 ist die Löslichkeit von freiem Bengalrosa (links) sowie nach der Verkapselung und dem Quervernetzen in inversen Mizellen gezeigt (rechts).



**Abb. 6.15.:** Löslichkeitsverhalten von Bengalrosa ohne Mizellbildner (links) und nach der Verkapselung in quervernetzten inversen Mizellen (rechts). Der freie Farbstoff zeigte ausschließlich eine Löslichkeit in Wasser, wohingegen nach der Verkapselung in Ammoniumsalzen eine fluoreszente Chloroformphase erhalten wurde.

Das freie Bengalrosa Natriumsalz zeigt eine bevorzugte Löslichkeit in der wässrigen Phase auf. Nach der Verkapselung durch ein *N,N*-Dialkyl-*N,N*-diallylammoniumbromid sowie der anschließenden Quervernetzung mit einem Polythiol, wurde eine stabile violettfarbene Chloroformphase erhalten. Um die photoinduzierte Reaktion zwischen den allylischen Gruppen und den eingesetzten Thiolen zur Stabilisierung zu bestätigen, wurde ein  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Probe aufgenommen (Abb. 6.16).

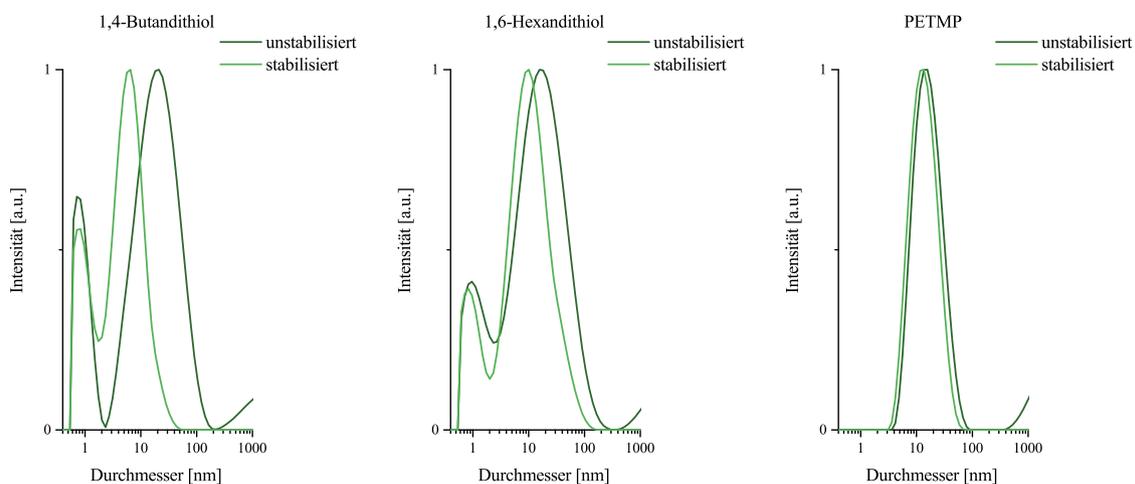


**Abb. 6.16.:**  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum vor (grün) und nach (hellgrün) der Quervernetzung von DDAB mit PETMP in THF. Der vollständige Umsatz in der Thiol-en Reaktion konnte durch die schwindenden Allylsignale des ddt bei 5.98 ppm und der Dubletts bei 5.80 ppm 5.72 ppm gezeigt werden.

Anhand der nicht mehr vorhandenen allylischen Protonensignale konnte der vollständige Umsatz der Mizellbildner nach einer Reaktionszeit von 30 Minuten durch die Bestrahlung mit 366 nm gezeigt werden. Durch die Beladung mit Bengalrosa oder Eosin Y ist allerdings die Bildung von Singulett-Sauerstoff möglich,<sup>[127]</sup> welcher anschließend mit allylischen Wasserstoffen reagieren kann.<sup>[149]</sup> Dies hätte zur Folge, dass anhand des im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums zwar ein vollständiger Umsatz der allylischen Gruppen der Mizellbildner erfolgte, allerdings keine Stabilisierung durch eine Thiol-en Reaktion möglich wäre. Untersuchungen zur Thiol-en Reaktion mit Bengalrosa und Eosin Y zeigten jedoch, dass die Bildung von Thioethern auch im Beisein von Sauerstoff stattfindet.<sup>[168–170]</sup> Im vorgeschlagenen Mechanismus erfolgt zunächst die Reaktion der Doppelbindungen mit den Thiol-Gruppen und anschließend

die Oxidation der Thioether zu Sulfoxiden.<sup>[171,172]</sup> Für ein Gemisch aus THF/H<sub>2</sub>O konnten im Vergleich zu anderen wässrigen Abmischungen die geringsten Ausbeuten an Sulfoxiden erhalten werden.<sup>[172]</sup> Zur selektiven Darstellung von Sulfoxiden wurde Luftsauerstoff durch die Reaktionslösung geleitet.<sup>[171]</sup> Anhand des Spektrums in Abbildung 6.16 konnte folglich ein vollständiger Umsatz in der Thiol-en Reaktion gezeigt werden.

In der Literatur ist die Bildung von Gelen bei der frei-radikalischen Stabilisierung von inversen Mizellen aus Acrylaten in Abhängigkeit der Beladung  $W_0$  beschrieben.<sup>[173]</sup> Daher sollte der Einfluss der Quervernetzung auf die Größe der inversen Mizellen untersucht werden. Hierfür wurden die Lösungen sowohl vor als auch nach dem Cross-Linking im DLS vermessen (Abb.6.17). Die Bestrahlung erfolgte bei Raumtemperatur mit 366 nm für 30 Minuten.



**Abb. 6.17.:** Einfluss der Quervernetzung mit 1,4-Butandithiol (links), 1,6-Hexandithiol (mittig) und PETMP (rechts) auf die Größe der inversen Mizellen.

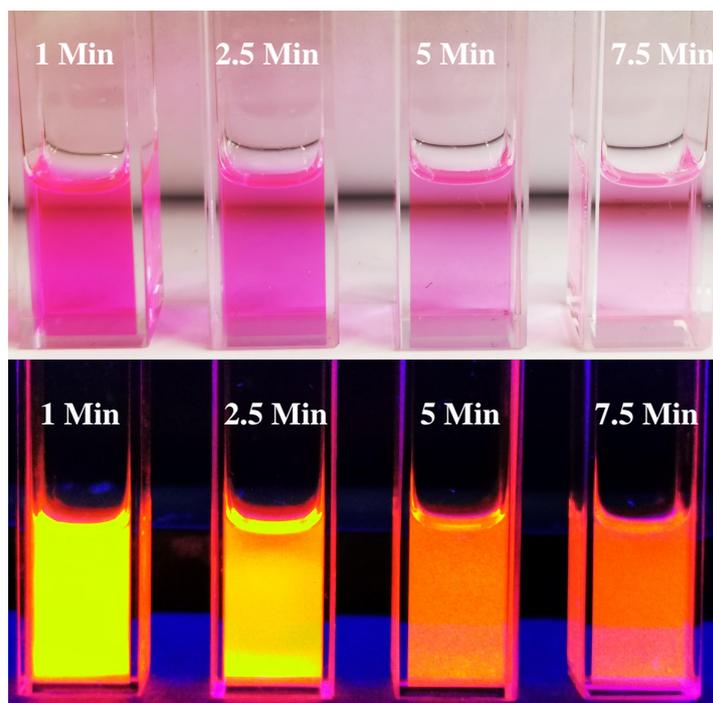
Die Stabilisierung hatte bei den verwendeten Thiolen keinen signifikanten Einfluss auf die Größe der Konstrukte. Nach der Reaktion konnten weder Niederschlag noch Agglomerate in der DLS-Messung beobachtet werden. Dies lässt darauf schließen, dass keine intermizellare Vernetzung stattgefunden hat. Untersuchungen zur Erhöhung der Konzentration der Mizellbildner Lösung auf 50 mmolar lieferten größere Konstrukte, die auf eine Quervernetzung mehrerer Mizellen schließen lässt. Aus diesem Grund wurden die weiteren Untersuchungen anhand der 17.8 mmolaren Lösungen durchgeführt.

Für DDSulfo wurden nach dem Cross-Linking Konstrukte  $\geq 732$  nm erhalten. Dieses Ergebnis könnte mit einer in der Literatur beschriebenen Annahme erklärt werden.<sup>[91]</sup>

Die Stabilisierung inverser Mizellen beruht demnach auf nicht-kovalenten Kräften, die durch eine Quervernetzung nahe an der polaren Kopfgruppe fixiert werden sollen. Bei DDsulfo besteht die Kopfgruppe, im Gegensatz zu den Ammoniumsalzen, allerdings aus einer zwitterionischen Kopfgruppe, in der die Ionen durch eine Propylengruppe voneinander getrennt sind. Es ist daher möglich, dass die Packung der inversen Mizelle bei der Thiol-en Reaktion gestört und so eine intermizellare Quervernetzung ermöglicht wird.

### 6.3.2. Reaktionszeiten

Damit die Beladung der UV-Strahlung während der Thiol-en Reaktion kurzmöglichst ausgesetzt ist, wurde im Folgenden die Reaktionszeit für einen vollständigen Umsatz untersucht. Für die Beladung mit Farbstoffen konnte eine Zersetzung anhand der abnehmenden Fluoreszenz mit steigender Bestrahlungszeit gezeigt werden (Abb. 6.18).



**Abb. 6.18.:** Zersetzung der Fluoreszenzfarbstoffe am Beispiel von Bengalrosa in Abhängigkeit der Bestrahlungszeit mit 366 nm bei Raumtemperatur.

Damit schlussendlich fluoreszente Nano-Carrier-Lösungen erhalten werden können, muss dafür ein höchstmöglicher Erhalt der Fluoreszenz während des Verkapselungsprozesses gewährleistet sein. Dazu wurden die in Abschnitt 6.1 gezeigten Mizellbildner auf den Umsatz in der Thiol-en Reaktion untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass mit steigender Kettenlänge die Reaktionszeit zum vollständigen Quervernetzen

abnimmt. Als Ausnahme sind die Ammoniumiodide zu nennen, bei denen auch die langkettigen Salze nach 10 Minuten keinen vollständigen Umsatz zeigten. Ein Energietransfer zwischen angeregten Fluorophoren und Iodidionen ist in der Literatur mehrfach beschrieben und erklärt das Quenching der Fluoreszenz.<sup>[130,156–158]</sup> Solch ein Energietransfer könnte ein Grund dafür sein, dass die Bildung von Thiylradikalen unterdrückt wird und damit eine erhöhte Reaktionszeit resultiert. Für Mizellbildner mit Bromid-Gegenion und aliphatischen Resten mit mindestens 10 Kohlenstoffatomen ( $\leq C10$ ), wurde nach 10 Minuten kein vollständiges Cross-Linking erhalten. Hingegen zeigten die längerkettigen Ammoniumbromide DDAB und DTAB kurze Reaktionszeiten (Tab. 6.1). Mit DHAB konnte aufgrund der geringeren Löslichkeit des Mizellbildners keine 17.8 mmolare Lösung hergestellt werden, weshalb ein Vergleich mit den anderen Mizellbildner nicht möglich war. Weitere Untersuchungen zu DHAB und DHAI erfolgten aufgrund der verminderten Löslichkeit nicht.

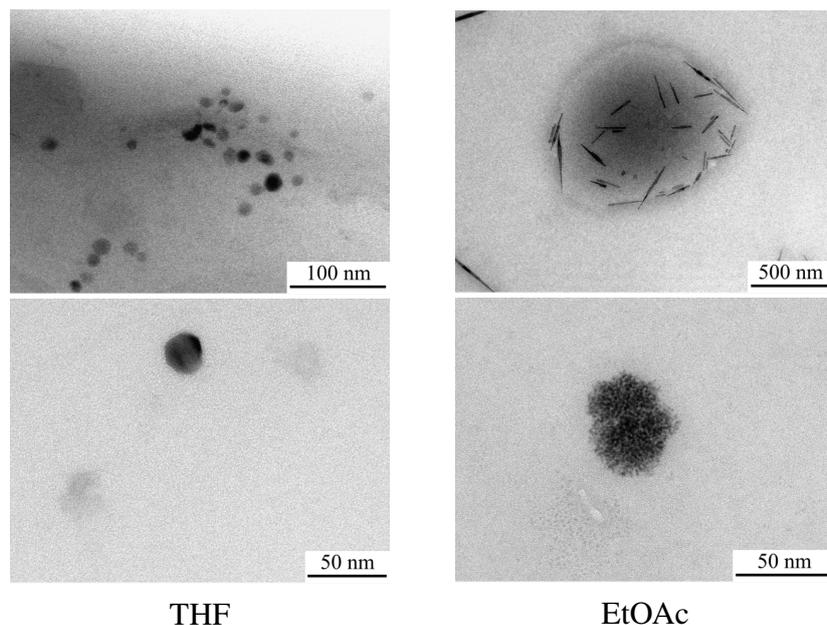
**Tab. 6.1.:** Reaktionszeiten der Mizellbildner in der Thiol-en Reaktion mit PETMP bei 366 nm.

Mizellbildner	Reaktionszeit [Min]
Ammoniumiodide	> 10
C6-C10	> 10
DDAB ohne Beladung	10
DDAB	2
DTAB	1

Es konnte gezeigt werden, dass die Rhodamine die Reaktionszeit verkürzen, da bei inversen Mizellen aus DDAB mit einer Farbstoffbeladung nach 2 Minuten ein vollständiger Umsatz erreicht wurde. Ohne die Farbstoffe war der Umsatz nach 10 Minuten vollständig, hingegen aber nach 2 Minuten nicht. Die Xanthene fungieren in diesem System folglich als Katalysatoren, deren katalytische Eigenschaften in der Thiol-en Reaktion auch in der Literatur mehrfach beschrieben sind.<sup>[168–170]</sup> Weiterhin wurde die Reaktion unter Luftsauerstoffatmosphäre durchgeführt, wodurch eine erhöhte Aktivität der katalytischen Eigenschaften der Farbstoffe erhalten wird.<sup>[169]</sup> Für die kurzkettigeren Mizellbildner sind selbst mit Beladung nach 10 Minuten keine vollständigen Umsätze erreicht. Es ist denkbar, dass die Selbstassemblierung in inversen Mizellen die Reaktionszeit verkürzt, da so eine räumliche Nähe der funktionellen Gruppen vorliegt und eine intramizellare Quervernetzung begünstigt wird. Diese Annahme wurde auch für andere aus Ammoniumbromid bestehenden Mizellbildner beschrieben.<sup>[91]</sup>

### 6.3.3. Inverse Mizellen in TEM Aufnahmen

Nachdem die Beladung in den quervernetzten inversen Mizellen verkapselt und eine Stabilisierung dieser gegeben war, konnte aufgrund der Brom- und Iodatome in dem Mizellbildner sowie verwendeten Farbstoff die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) zur weiteren Untersuchung verwendet werden. Dazu wurden die Lösungen nach dem Cross-Linking auf Kupfergrids aufgetragen. Für die TEM Aufnahmen wurden inverse Mizellen aus DDAB mit einer Beladung aus Bengalrosa in THF und EtOAc hergestellt (Abb. 6.19). In der Literatur ist die Verwendung von Caesiumhydroxid als Beladung beschrieben, um TEM Untersuchungen an inversen Mizellen zu ermöglichen.<sup>[173]</sup> Für Mizellbildner aus Ammoniumbromiden konnten hingegen, auch ohne die Zugabe anorganischer Salze, TEM Aufnahmen erhalten werden. Weiterhin sind Agglomerationen durch die Zugabe von Wolframatophosphorsäure,<sup>[91]</sup> Uranylacetat sowie Molybdatophosphorsäure<sup>[173]</sup> beschrieben, weshalb auf die Verwendung schwermetallhaltiger Additive zum Anfärben der inversen Mizellen verzichtet wurde.

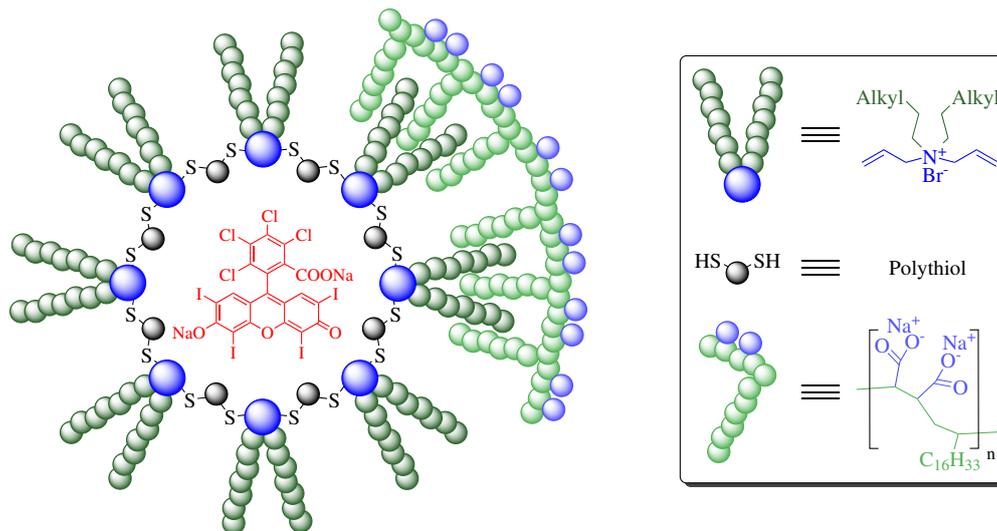


**Abb. 6.19.:** TEM Aufnahmen quervernetzter inverser Mizellen aus DDAB mit Bengalrosa ( $W_0 = 20$ ) in THF und EtOAc. Durch die Aufnahmen mittels TEM wurde der Einfluss des Lösungsmittels auf die Mizellbildung untersucht. Eine Größenbestimmung konnte aufgrund von Agglomerationsprozessen während der Auftragung auf die Kupfergrids nicht erfolgen. Die in EtOAc beobachtete Ausbildung von Stäbchen erfolgte auch bei der Verwendung von DDAI in EtOAc, weshalb eine Agglomeration des Bengalrosa Farbstoffs anzunehmen ist. In THF wurden diese stäbchenförmigen Strukturen nicht erhalten.

Aufgrund der Probenpräparation auf den Grids konnten nur wenige, einzelne sphärische Mizellen beobachtet werden, weshalb eine Größenbestimmung anhand der TEM Aufnahmen nicht erfolgte. Unabhängig der Größe der abgebildeten Mizellen, konnten durch die TEM Aufnahmen stäbchenförmige Agglomerate bei der Verkapselung in EtOAc beobachtet werden. Die Ausbildung dieser Überstrukturen ist für den Verkapselungsprozess abträglich und konnte durch die Verwendung von THF verhindert werden. Sowohl für den Fall, dass die Stäbchen aus der Agglomeration des Mizellbildners als auch durch den Farbstoff resultieren, zeigte dies eine verminderte Ausbildung von Mizellen beziehungsweise einer unvollständigen Beladung. Dieses Verhalten konnte auch unter Verwendung von DDAI mit einer Beladung von Bengalrosa in EtOAc beobachtet werden. Wurde der Mizellbildner hingegen ohne den Farbstoff Bengalrosa in EtOAc quervernetzt und im TEM untersucht, wurden keine stäbchenartigen Strukturen erhalten. Es ist daher anzunehmen, dass diese aus der Agglomeration der iodhaltigen Beladung resultieren. Um eine möglichst hohe Beladung zu gewährleisten, wurden die weiteren Untersuchungen unter Verwendung von THF zur Ausbildung und Quervernetzung der inversen Mizellen durchgeführt.

## 6.4. Zweiter Phasentransfer/Interkalation

Nachdem der erste Phasentransfer der wasserlöslichen Farbstoffe in organische Lösungsmittel erfolgte, wurde die Interkalation mit PMAcOD zum zweiten Phasentransfer untersucht. Die aliphatischen Reste der inversen Mizelle sollten dabei mit den Hexadecylketten des PMAcOD über VAN DER WAALS-Bindungen wechselwirken und so eine hydrophile Oberfläche induzieren.<sup>[142]</sup> Durch die Deprotonierung der Säuregruppen sollte die Wasserlöslichkeit und folglich der zweite Phasentransfer erfolgen (Abb. 6.20).



**Abb. 6.20.:** Schematische Darstellung zur Interkalation der quervernetzten inversen Mizellen aus Ammoniumbromiden mit dem amphiphilen PMAcOD.

Der Prozess der Interkalation erfolgte in Anlehnung an die für anorganische Nanopartikel vielfach beschriebene Vorgehensweise.<sup>[139,141,142,174]</sup> Dabei wird das Polymer in Chloroform gelöst und zu der Partikellösung gegeben. Das Lösungsmittel wird dann unter vermindertem Druck entfernt, sodass die Interkalation durch die stetig zunehmende Konzentration erzwungen wird.

#### 6.4.1. Untersuchungen der Polymerüberschüsse

Im Folgenden wurde der Einfluss des Polymerüberschusses zur erfolgreichen Interkalation mit den inversen Mizellen untersucht. Dabei wurde zunächst mit Überschüssen der Wiederholungseinheit des Polymers, bezogen auf die Oberfläche der inversen Mizellen, gearbeitet. Diese Vorgehensweise ist für anorganische Nanopartikel vielfach beschrieben und wurde auf die organischen Konstrukte in dieser Arbeit übertragen.<sup>[139,141,174]</sup>

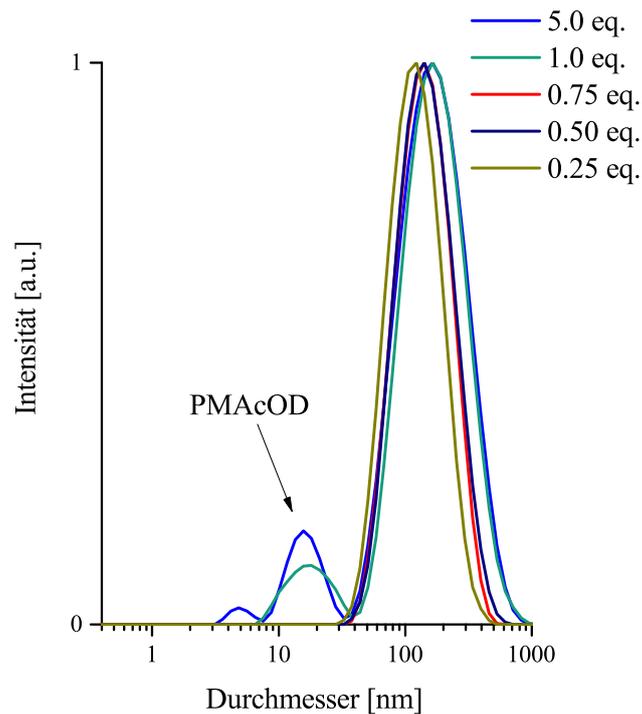
Die Synthese des PMAcOD unterliegt der Geheimhaltung, weshalb keine genauen Informationen über den Hydrolysegrad sowie Salzgehalt durch die Deprotonierung der Carboxylgruppen mit Natriumhydroxid vorliegen. Aufgrund der stark basischen Aufarbeitung des zunächst synthetisierten PMAOD wird für das PMAcOD ein hoher Hydrolysegrad und Salzgehalt angenommen. Folglich ergibt sich die Wiederholungseinheit des PMAcOD aus den Molmassen  $M$  des Bernsteinsäure Dinatriumsalzes (BS-Na)

und Octadecans (OD) (Gl. 6.2). Die Oberfläche der inversen Mizelle ( $O_{\text{IM}}$ ) wurde anhand des aus der DLS-Messung bestimmten Radius ( $r$ ) mit Gleichung 6.3 berechnet.

$$M_{\text{PMAcOD}} = M_{\text{BS-Na}} + M_{\text{OD}} = 162.05 \frac{\text{g}}{\text{mol}} + 254.49 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 416.54 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \quad (6.2)$$

$$O_{\text{IM}} = 4\pi r \quad (6.3)$$

Die in Abbildung 6.21 gezeigten Überschüsse werden als Äquivalente (eq.) der Wiederholungseinheit des Polymers pro  $\text{nm}^2$  der Oberfläche der inversen Mizelle angegeben.

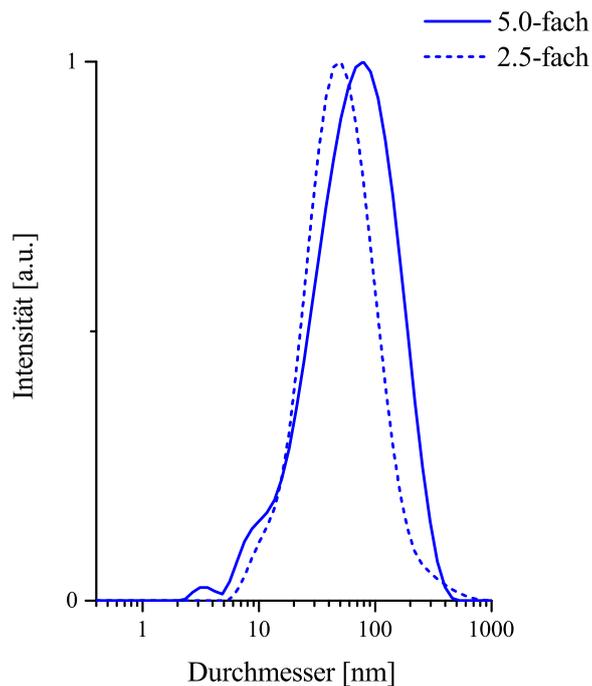


**Abb. 6.21.:** Untersuchungen zum eingesetzten Polymerüberschuss für die Interkalation. Die Äquivalente beschreiben die Anzahl der Wiederholungseinheit des Polymers pro  $\text{nm}^2$  der inversen Mizelloberfläche. Bei Überschüssen von 5.0 und 1.0 eq. konnte in der Intensitätsmessung das Signal von freiem PMAcOD gezeigt werden.

In der Literatur sind für die Verwendung einiger Maleinsäure-Copolymere Überschüsse von 100–3000 Wiederholungseinheiten pro nm<sup>2</sup> der Partikeloberfläche beschrieben.<sup>[139,141,174]</sup> Für die in dieser Arbeit entwickelten organischen inversen Mizellen konnte gezeigt werden, dass bei einem Überschuss von 1.0–5.0 eq. freies Polymer in der Lösung vorlag. Bei weiterer Reduzierung des Polymeranteils für die Interkalation, konnte dies verhindert und weiterhin eine Tendenz zu kleineren Konstrukten beobachtet werden. Auf Grundlage des ersichtlichen Trends in Abbildung 6.21 wurde der Polymeranteil weiter reduziert. Ausschlaggebend für weitere Untersuchungen war zudem die Tatsache, dass bei den enormen Polymerüberschüssen keine fluoreszenten Lösungen erhalten werden konnten. Bereits bei der Zugabe der Polymerlösung waren die organischen Lösungen nicht mehr fluoreszent, noch bevor die Interkalation durch das Abtrennen des organischen Lösungsmittels erfolgte. Eine verminderte Fluoreszenzquantenausbeute wurde auch für Quantendots mit einer PMAcOD-Hülle im Vergleich zu mit Jeffamin modifiziertem PMAcOD in wässriger Lösung erhalten.<sup>[175]</sup>

In Anlehnung an SHTYKOVA *et al.*<sup>[142]</sup> wurde der Polymerüberschuss nicht mehr bezogen auf die Oberfläche berechnet, sondern das Stoffmengenverhältnis der inversen Mizelllösung zum eingesetzten Polymer untersucht. Dazu wurde eine 88.3 mmolare PMAcOD-Stammlösung in Chloroform hergestellt, die im Folgenden für die Interkalationsexperimente eingesetzt wurde. Die Molarität wurde über die Molmasse der Wiederholungseinheit festgelegt (Gl. 6.2).

Nach der Zugabe der Polymerlösung zu den stabilisierten inversen Mizellen wurden bei weiterer Reduzierung des Polymeranteils farbige Lösungen erhalten. Diese wurden anschließend unter vermindertem Druck getrocknet. In Abbildung 6.22 sind die DLS-Messungen der Konstrukte gezeigt, die bei der Interkalation der inversen Mizellen mit 5.0- und 2.5-fachen stoffmengenbezogenen Polymerüberschüssen erhalten wurden.



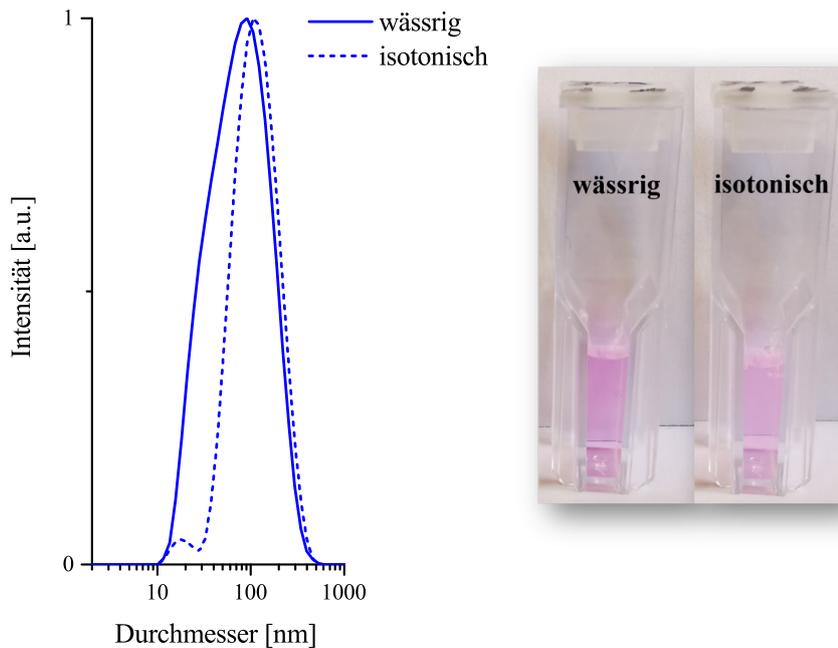
**Abb. 6.22.:** Untersuchungen zum eingesetzten molaren Polymerüberschuss für die Interkalation bezogen auf die Stoffmenge der inversen Mizellen. Durch die weitere Reduzierung des Polymeranteils auf das 2.5-fache konnten stabile Konstrukte mit einer schmalen Polydispersität erhalten werden.

Es konnte gezeigt werden, dass mit 2.5-fachem Überschuss nicht nur kleinere Konstrukte, sondern auch eine schmalere Größenverteilung erhalten wurde. Die Reduzierung des Polymeranteils ist nicht nur für die präperative Arbeit von Interesse, da Waschschritte zum Abtrennen von freiem Polymer sowie ganz allgemein Polymermaterial eingespart werden können. Darüber hinaus wurden bei den in Abbildung 6.22 gezeigten Untersuchungen, im Gegensatz zu den Konstrukten aus Abbildung 6.21, fluoreszente Lösungen erhalten. Nachdem der Polymerüberschuss im Vergleich zu den in der Literatur beschriebenen Methoden für anorganische Nanopartikel um ein Vielfaches reduziert werden konnte, erfolgten anschließend Untersuchungen zur weiteren Optimierung. Weiterhin wurden die Konstrukte auf ihre Stabilität untersucht.

#### 6.4.2. Isotonische Aufarbeitung

Nach der Interkalation durch das Entfernen des organischen Lösungsmittels unter vermindertem Druck, wurde der violettfarbene Feststoff in einer Natriumhydroxidlösung

gelöst. Da die Konstrukte schlussendlich in biologischen Systemen untersucht werden sollten, wurde untersucht ob die Aufarbeitung in physiologischer Kochsalzlösung möglich ist. Hierzu erfolgte der zweite Phasentransfer zum einen mit 25 mmolarer NaOH-Lösung (Abb. 6.23 wässrig) und zum anderen mit einer 25 mmolaren NaOH-Lösung, zu der Natriumchlorid (9 g/L) zugegeben wurden (Abb. 6.23 isotonisch).

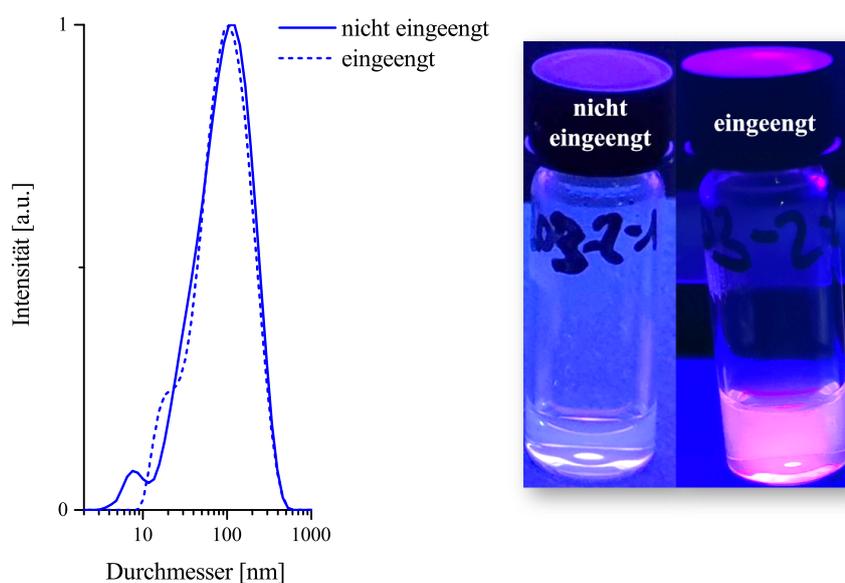


**Abb. 6.23.:** Einfluss des Salzgehalts auf die Aufarbeitung der interkalierten Konstrukte. Bei der Verwendung einer 25 mmolaren NaOH-Lösung, sowohl mit als auch ohne Zusatz von 9 g/L Natriumchlorid, konnte der zweite Phasentransfer gezeigt werden. Allerdings zeigte die Lösung mit einer erhöhten Salzkonzentration eine verminderte Farbigeit, was auf einen schlechteren Phasentransfer schließen lässt.

Aufgrund der bimodalen Größenverteilung bei der isotonischen Aufarbeitung ist anzunehmen, dass das Signal bei 20 nm von freiem PMAcOD stammt. Weiterhin zeigte die isotonische Lösung eine verminderte Farbigeit im Gegensatz zur wässrigen Methode. Daraus folgt, dass der zweite Phasentransfer nicht die gleiche Effizienz besitzt und das Polymer dazu neigt eigene Überstrukturen auszubilden, anstatt mit den inversen Mizellen zu interkalieren. Im weiteren Verlauf der Optimierung wurde daher mit wässrigen NaOH-Lösungen ohne Zusatz von Natriumchlorid gearbeitet.

### 6.4.3. Phasentransfer aus organischem Lösungsmittel

Für anorganische Nanopartikel sind mehrere Methoden zum Phasentransfer aus organischen Lösungsmitteln in Wasser beschrieben. Dabei kann dieser durch einen Ligandenaustausch<sup>[40,176]</sup> oder durch die Interkalation mit einem Polymer<sup>[174]</sup> erfolgen. Bei Ersterem erfolgt der Phasentransfer ohne Entfernung des organischen Lösungsmittels. Für die Interkalation ist auch bei Nanopartikeln das vollständige Abtrennen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck beschrieben.<sup>[139,142]</sup> Dadurch wird die Konzentration stetig erhöht, sodass eine Wechselwirkung der Liganden mit dem zugegebenen Polymer erzwungen wird. Im Folgenden wurde untersucht, welchen Einfluss das Entfernen des Lösungsmittels auf die Interkalation der quervernetzten inversen Mizellen mit dem amphiphilen PMAcOD hat. Das Polymer wurde zu der stabilisierten Mizelllösung gegeben und das Lösungsmittel nicht vollständig (Abb. 6.24 nicht eingeengt) und bis zur Trockne entfernt (Abb. 6.24 eingeengt). Anschließend wurde der Rückstand in einer 25 mmolaren NaOH-Lösung gelöst.



**Abb. 6.24.:** Die Interkalation wird durch vollständiges Eintrocknen der Lösung erzwungen und verbessert den Phasentransfer. Dies wird durch eine höhere Fluoreszenz der Probe deutlich.

Anhand der Fluoreszenzeigenschaften der erhaltenen Lösungen konnte gezeigt werden, dass durch das vollständige Entfernen des Lösungsmittels die beladenen inversen Mizellen in die wässrige Phase überführt werden können. Hingegen wurde ein bimodaler Verlauf in der Größenverteilung sowie eine nicht-fluoreszente Lösung erhalten,

wenn das organische Lösungsmittel nicht vollständig entfernt wurde. Dies deutet darauf hin, dass eine Interkalation nicht oder nur vermindert stattfand.

Es konnte gezeigt werden, dass das vollständige Entfernen des Lösungsmittels zur Interkalation des amphiphilen Polymers mit den inversen Mizellen notwendig ist. Dies steht im Einklang mit der Methode zur Verkapselung anorganischer Nanopartikel mit einem Maleinsäure-Copolymer.<sup>[139,142,174]</sup> Als nächstes sollte der Einfluss der Molarität der verwendeten NaOH-Lösung auf die Größe und Fluoreszenz der Nano-Carrier untersucht werden, welche zum Lösen des Rückstands nach dem Entfernen des organischen Lösungsmittels benötigt wird.

#### 6.4.4. Einfluss des pH-Wertes auf den Phasentransfer

Der zweite Phasentransfer der quervernetzten inversen Mizellen erfolgte durch die Interkalation mit dem amphiphilen Copolymer PMAcOD. Anschließend wurde der Rückstand nach dem Entfernen des organischen Lösungsmittels mithilfe einer NaOH-Lösung gelöst. Durch die Deprotonierung der Carboxylgruppen des Polymers, welche die Oberfläche darstellen, kann eine Wasserlöslichkeit gewährleistet werden. Dazu wurde im Folgenden der Einfluss der Molarität der verwendeten NaOH-Lösung untersucht.

Für die Interkalation wurden 600  $\mu\text{L}$  einer 88.3 mmolaren Polymerlösung verwendet. Die Molarität der Lösung beschreibt die Anzahl der Wiederholungseinheiten des Polymers (Gl. 6.2). Pro Bernsteinsäure-Einheit werden zwei Carboxylgruppen eingeführt. Unter der Annahme, dass das Polymer vollständig hydrolysiert und deprotoniert ist, ergibt sich aus Gleichung 6.4 die maximale Stoffmenge an Carboxylatgruppen.

$$n_{\text{COO}^-} = 2 \cdot c_{\text{PMAcOD}} \cdot V_{\text{PMAcOD}} = 2 \cdot 88.3 \frac{\text{mmol}}{\text{L}} \cdot 600 \mu\text{L} = 106 \mu\text{mol} \quad (6.4)$$

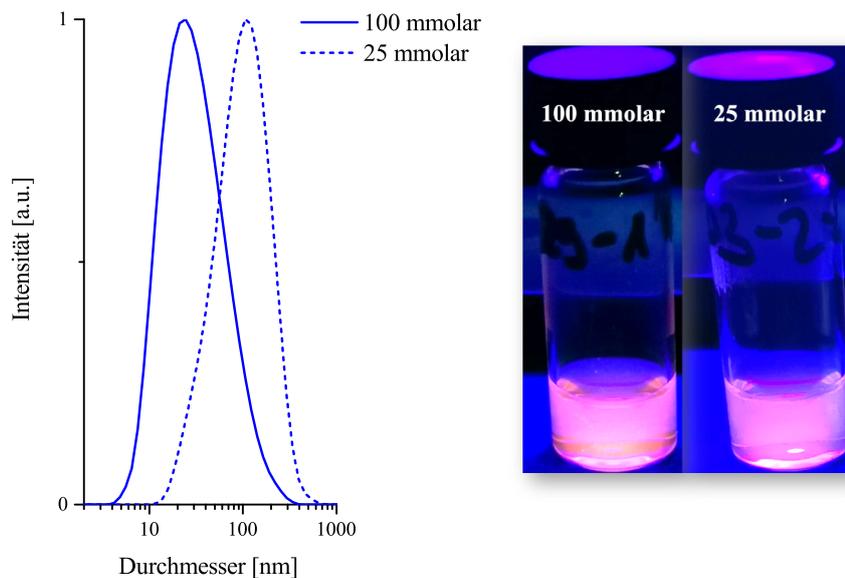
Die untersuchten NaOH-Lösungen sowie die daraus berechneten pH-Werte und Stoffmengen der Hydroxidionen sind in Tabelle 6.2 aufgeführt.

**Tab. 6.2.:** Berechnete pH-Werte und Stoffmengen der Hydroxidionen in 1.96 mL einer NaOH-Lösung mit der angegebenen Molarität.

Molarität [mmolar]	pH-Wert	$n_{\text{OH}^-}$ [ $\mu\text{mol}$ ]
1.00	11.0	1.96
25.0	12.4	49.0
100	13.0	196
1000	14.0	1960

Bei der Verwendung von 1.96 mL einer 1.00 mmolaren NaOH-Lösung konnte kein Phasentransfer der interkalierten Konstrukte in die wässrige Phase erhalten werden. Bei der Erhöhung auf 25 mmolar konnte hingegen ein Phasentransfer erreicht werden (Abb. 6.25). Zudem zeigte die Lösung nach dem Phasentransfer mit 25 mmolarer NaOH-Lösung einen niedrigeren pH-Wert als die reine NaOH-Lösung. Dass der zweite Phasentransfer erst durch die Zunahme der Basizität realisiert werden konnte und dieser eine Veränderung des pH-Wertes zur Folge hatte, kann durch zwei mögliche Annahmen erklärt werden. Entweder liegt keine vollständige Hydrolyse der Anhydridgruppen des Polymers vor oder es existieren nicht deprotonierte Säuregruppen. Unter Verwendung einer 100 mmolaren Lösung resultierte ein guter Phasentransfer (Abb. 6.25). Bei weiterer Erhöhung der Molarität auf 1000 mmolar konnte hingegen kein Phasentransfer erreicht werden, da sich ein violettfarbener Feststoff bildete. Durch die Zugabe von Salzsäure konnte der pH-Wert gesenkt und der Rückstand in Lösung gebracht werden. Die Abhängigkeit der Löslichkeit vom pH-Wert wurde auch bei reinem PMAcOD in Wasser beobachtet. Das Polymer ist lediglich im basischen Milieu löslich und agglomeriert bei pH-Werten  $< 7$ .

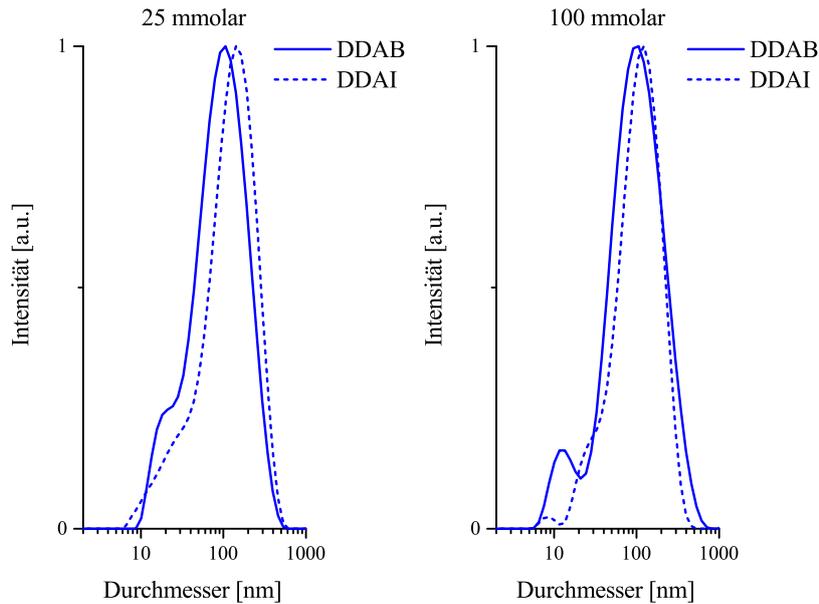
Die Molarität der verwendeten NaOH-Lösung entscheidet nicht nur ob der zweite Phasentransfer ins Wasser erfolgt, sondern darüber hinaus auch über die Fluoreszenzeigenschaften sowie Größe der erhaltenen Konstrukte (Abb. 6.25).



**Abb. 6.25.:** Durch die basischere Aufarbeitung werden nicht nur kleinere Konstrukte erhalten, sondern auch der Phasentransfer dahingehend gefördert, dass die Probe eine intensivere Fluoreszenz besitzt.

Es konnte gezeigt werden, dass sowohl mit einer 1.00 mmolaren als auch 1000 mmolaren NaOH-Lösung kein Phasentransfer möglich ist, da entweder die Basizität nicht ausreicht um die Oberfläche ausreichend zu deprotonieren oder zu hoch ist und die Konstrukte agglomerieren. Mit einer 25 mmolaren NaOH-Lösung konnten die Konstrukte mit einer monomodalen Größenverteilung in die wässrige Phase überführt und eine Fluoreszenz der Probe erhalten werden. Durch die Erhöhung der Molarität konnte nicht nur die Fluoreszenz erhöht, sondern auch die Größe der Konstrukte verkleinert werden (Abb. 6.25). Untersuchungen zum Hydrolysegrad von PMAcOD zeigten, dass mit zunehmender Ionisierung (= Deprotonierung der Säuregruppen) die Wechselwirkungen der Polymerstränge reduziert und kleinere Mizellen erhalten werden.<sup>[143]</sup>

Als nächstes wurde untersucht, ob der in Abbildung 6.25 gezeigte Einfluss der NaOH-Lösung auf die Mizellgröße unabhängig vom Gegenion des Mizellbildners ist. Dazu wurde im Folgenden der Vergleich von DDAB und DDAI in der Aufarbeitung mit 25 mmolaren und 100 mmolaren NaOH-Lösung gezeigt (Abb. 6.26). Aufgrund der vollständigen Quervernetzung der inversen Mizellen, ist ein Einfluss des Gegenions nicht anzunehmen.



**Abb. 6.26.:** Vergleich der erhaltenen Konstrukte aus DDAB und DDAI mit PETMP als Quervernetzer in Abhängigkeit der verwendeten basischen Aufarbeitung. Das Gegenion des Mizellbildners hatte bei gleicher Aufarbeitungsmethode keine Auswirkungen auf die erhaltenen Größen der Konstrukte.

Zunächst soll erneut erwähnt werden, dass in der Intensitätsmessung im DLS größere Partikel überrepräsentiert werden, da die Streuung stark vom Radius abhängt. Um die DLS-Auftragungen der gesamten Forschungsarbeit besser vergleichen zu können, wurden alle Ergebnisse einheitlich als Intensitätsmessungen angegeben.

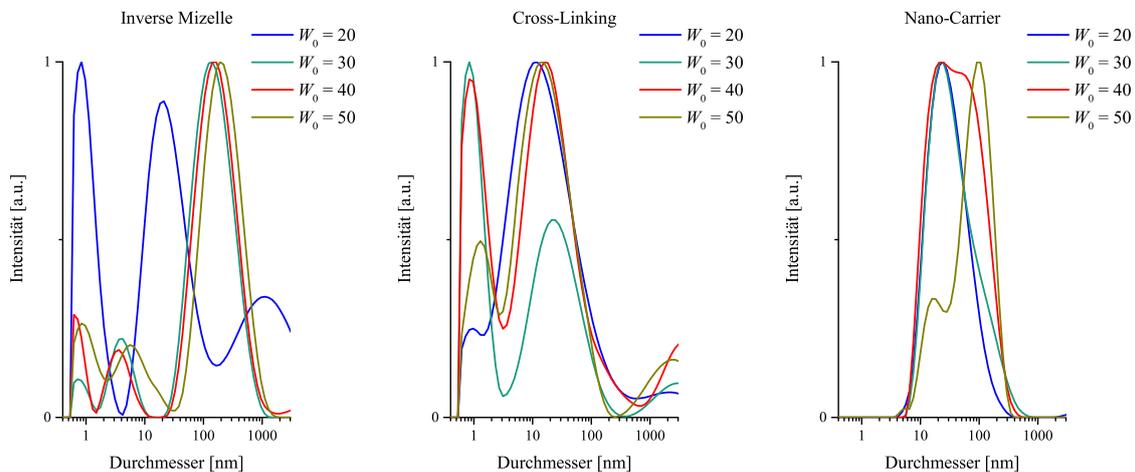
Unter Verwendung einer 25 mmolaren NaOH-Lösung zum Lösen des Rückstands nach der Interkalation der inversen Mizellen, lieferte unabhängig vom Gegenion des Mizellbildners vergleichbare Ergebnisse. Sowohl DDAB als auch DDAI zeigten eine Schulter in der Größenverteilung im Bereich von 6–40 nm (Abb. 6.26 25 mmolar). Das gleiche Verhalten zeigten die Konstrukte aus DDAB und DDAI in der Aufarbeitung mit einer 100 mmolaren NaOH-Lösung (Abb. 6.26 100 mmolar). Die Proben mit den unterschiedlichen Gegenionen unterscheiden sich lediglich in den Fluoreszenzeigenschaften und der Vollständigkeit der Quervernetzung aufgrund des Iodions.

#### 6.4.5. Beladungskapazität

In Abschnitt 6.2.3 wurden die Wechselwirkungen der Mizellbildner mit den Fluoreszenzfarbstoffen in Abhängigkeit von  $W_0$  gezeigt. Allerdings sind aus den DLS-Auftragungen der inversen Mizellen und deren quervernetzten Äquivalenten keine

Auswirkungen auf die Größe der Nanokapseln ersichtlich. Aus diesem Grund wird der Einfluss von  $W_0$  von der Ausbildung der inversen Mizelle auf die fertigen Nano-Carrier in diesem Kapitel diskutiert.

In Abbildung 6.27 sind die DLS-Auftragungen von der inversen Mizelle, über die Quervernetzung bis zur interkalierten Kapsel für verschiedene  $W_0$ -Werte gezeigt. Das Ziel ist es eine höchstmögliche Beladung zu erreichen, um die nötige Konzentration des Mizellbildners und Polymers für die späteren *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen möglichst gering zu halten. Nachdem die Optimierung des zweiten Phasentransfers bezüglich des Polymerüberschusses (Abschnitt 6.4.1) sowie der Aufarbeitung (Abschnitte 6.4.2 bis 6.4.4) erfolgte, wurde diese Methode für die in Abbildung 6.27 gezeigten DLS-Auftragungen angewandt. Es wurden für alle  $W_0$  Werte von 20–50 fluoreszente Lösungen erhalten.



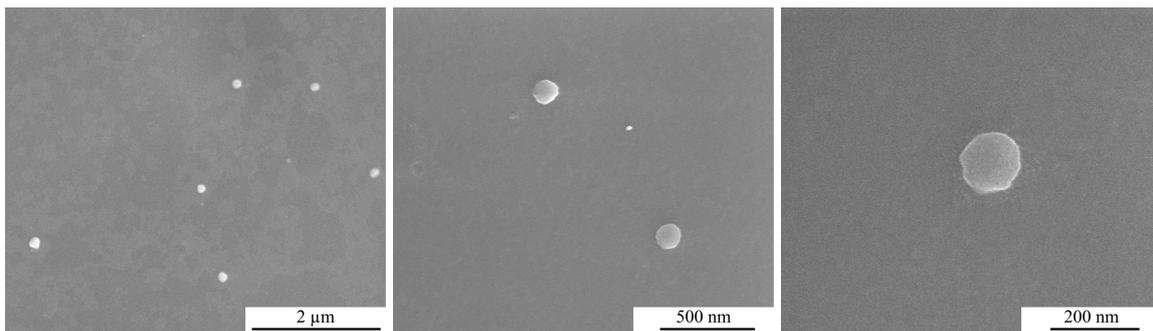
**Abb. 6.27.:** Untersuchungen zur Beladungskapazität.

Es konnte gezeigt werden, dass beim ersten Phasentransfer der wasserlöslichen Farbstoffe sowohl in den inversen Mizellen als auch nach der Quervernetzung unabhängig von  $W_0$  kleine Konstrukte erhalten wurden (Abb. 6.27 Inverse Mizelle und Cross-Linking). Mit steigendem Durchmesser nimmt die Streuung der Partikel in Lösung zu, wodurch die größeren Konstrukte in der Intensitätsmessung überrepräsentiert werden. In den Abschnitten 6.2.1 und 6.3.2 wurde bereits das Lösungsmittel untersucht sowie die Reaktionszeiten für ein vollständiges Quervernetzen ermittelt. Aufgrund der Absorption der Farbstoffe im sichtbaren Spektralbereich ist der Phasentransfer mit dem bloßen Auge verfolgbar. Die erfolgreiche Verkapselung konnte anhand der veränderten Löslichkeit des Fluoreszenzfarbstoffs gezeigt werden (Abb. 6.15, S. 50). Die Auswirkungen der unterschiedlichen  $W_0$  Werte wurde erst durch die DLS-Messungen

nach dem zweiten Phasentransfer ersichtlich (Abb. 6.27). Mit einer Beladung von  $W_0 = 20$  wurden die kleinsten Konstrukte mit der schmalsten Größenverteilung erhalten. Eine Erhöhung von  $W_0$  resultierte in einer Zunahme der Polydispersität. Da für die zellspezifische Aufnahme eine Größenselektivität angenommen wird, wurden die nachfolgenden *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen mit einer Beladung von  $W_0 = 20$  durchgeführt.

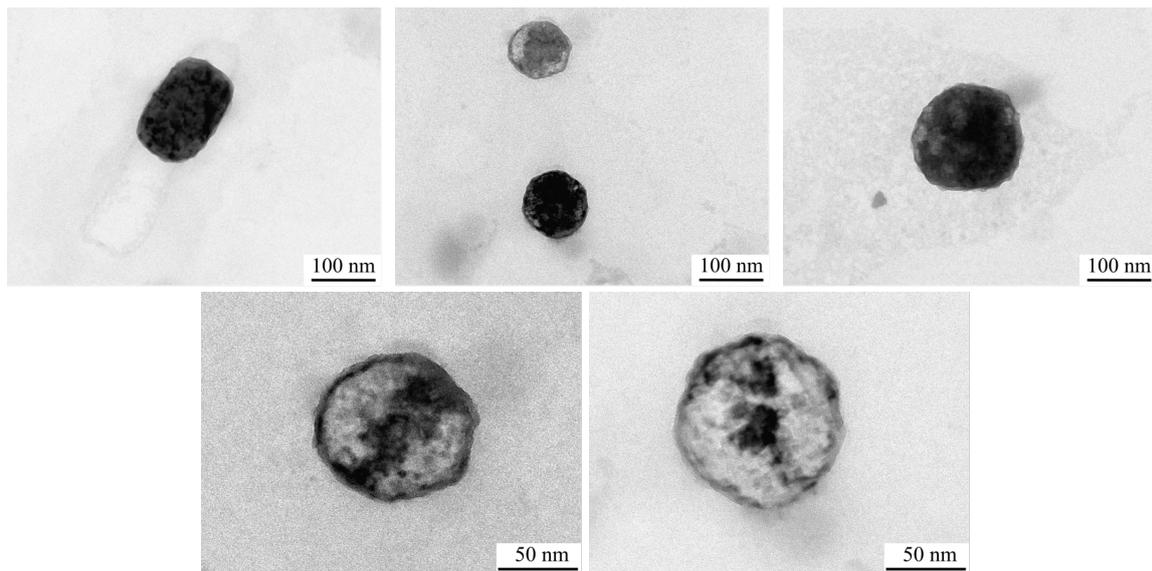
#### 6.4.6. REM und TEM Aufnahmen von Nanokapseln

Zur Untersuchung der Nanokapseln wurden die Rasterelektronenmikroskopie (REM) sowie Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) verwendet. Es wurden Nanokapseln nach der in dieser Forschungsarbeit entwickelten Methode aus DDAB, PETMP, Bengalrosa sowie 2.5-fachem molaren Überschuss an PMAcOD hergestellt und die wässrige Lösung auf ein Kupfergrid aufgetragen. In REM Aufnahmen konnte die Darstellung sphärischer Nanokapseln gezeigt werden (Abb. 6.28).



**Abb. 6.28.:** REM Aufnahme von Nanokapseln aus DDAB, PETMP, Bengalrosa sowie 2.5-fachem molaren Überschuss an PMAcOD.

Obwohl im REM die Existenz von Nanokapseln gezeigt werden konnte, könnten dies auch PMAcOD basierte Partikel sein, die keine inversen Mizellen darstellen und folglich keine Beladung tragen. Da die Beschleunigungsspannung im REM nicht ausreicht, um ins Innere zu schauen, wurde diese Fragestellung mithilfe der TEM untersucht (Abb. 6.29). Anhand von TEM Aufnahmen inverser Mizellen (Abschnitt 6.3.3) konnte bereits die Verkapselung einer iodhaltigen Beladung gezeigt werden. Aus diesem Grund wurden die wasserlöslichen Nanokapseln im TEM untersucht, um die Beladung im Inneren der Konstrukte und die erfolgreiche Herstellung beladener polymerbasierter Nanokapseln zu zeigen (Abb. 6.29).



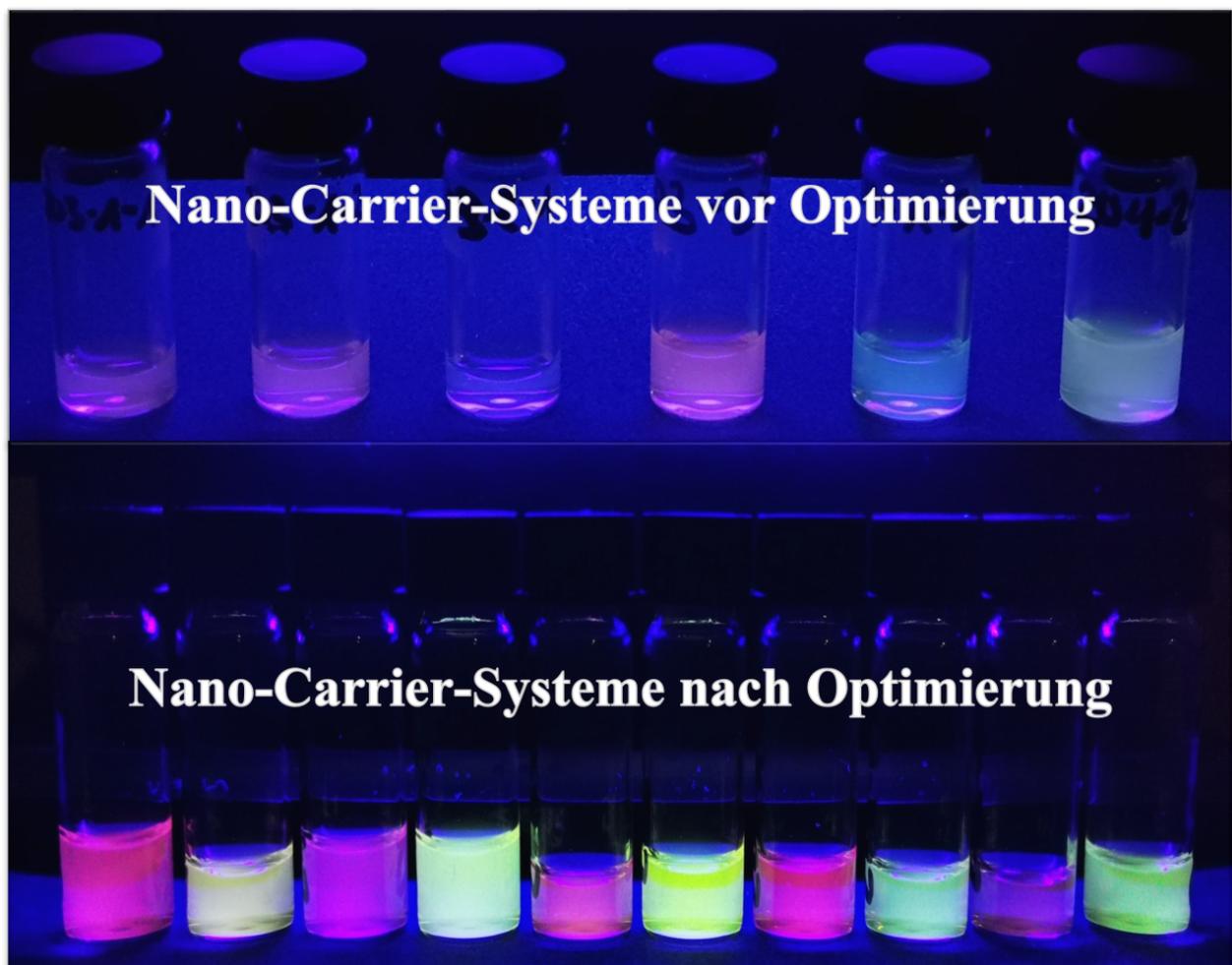
**Abb. 6.29.:** TEM-Aufnahme von Nanokapseln aus DDAB, PETMP, Bengalrosa und 2.5-fachem Überschuss an PMAcOD.

Durch die in dieser Forschungsarbeit entwickelte Methode konnten nicht nur die Darstellung von Nanokapseln aus DDAB, PETMP und einer Polymerhülle aus PMAcOD, sondern darüber hinaus auch die erfolgreiche Verkapselung eines wasserlöslichen Farbstoffs gezeigt werden. Anhand der Abbildung 6.29 konnte sowohl die Polymerhülle als auch die Beladung durch die höhere Elektronendichte durch die Iodatome im Inneren gezeigt werden. Ein weiteres Indiz für die erfolgreiche Verkapselung der Farbstoffe konnte mithilfe von Zentrifugenfiltern gezeigt werden. Nach einer Vorschrift von HÜHN *et al.*<sup>[177]</sup> konnte durch die Verwendung einer 100 kDa Membran das wässrige Medium bei 2000 g ausgetauscht werden. Das Zentrifugat war farblos und der Rückstand zeigte eine Färbung sowie eine unveränderte Größenverteilung im DLS.

In den REM und TEM Aufnahmen konnte auch bei starker Verdünnung die Agglomeration auf den Grids nicht verhindert und lediglich vereinzelte Nanokapseln gezeigt werden, weshalb eine durchschnittliche Größenverteilung über diese spektroskopischen Methoden nicht erfolgen konnte.

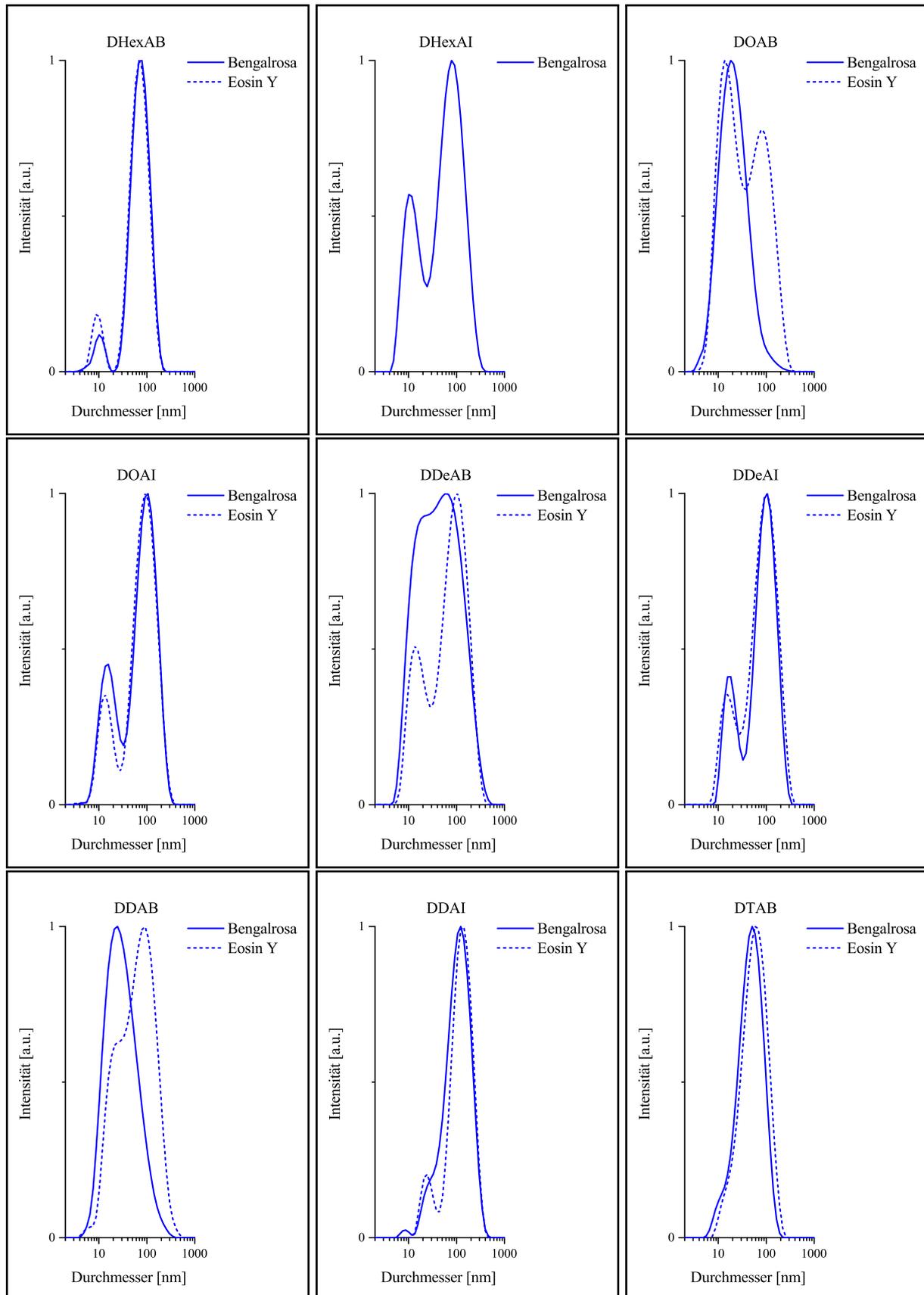
## 6.5. Optimierte Nano-Carrier-Systeme

Die in den Abschnitten 6.2–6.4 entwickelte und optimierte Verkapselungsmethode wurde für alle in dieser Arbeit synthetisierten Mizellbildner angewandt, unabhängig davon, ob das Cross-Linking vollständig war. Einige der fluoreszenten Lösungen mit einer Bengalrosa oder Eosin Y Beladung sind in Abbildung 6.30 gezeigt. Durch den Optimierungsprozess konnte die Fluoreszenz der Proben stark erhöht werden. Die Ergebnisse der DLS-Messungen der Verkapselung mit DHexAB, DHexAI, DOAB, DOAI, DDeAB, DDeAI, DDAB, DDAI und DTAB sind in Abbildung 6.31 gezeigt.



**Abb. 6.30.:** Fluoreszente Nano-Carrier nach der Optimierung des Verkapselungsprozesses. Durch die erhöhte Fluoreszenz ist eine verbesserte Sichtbarkeit in den *in vivo* Studien anzunehmen.

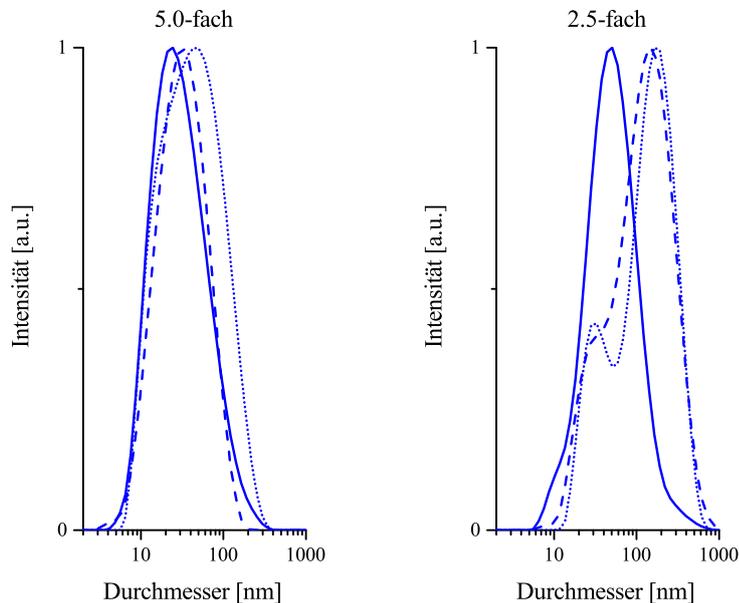
## 6. Ergebnisse und Diskussion



**Abb. 6.31.:** DLS-Auftragungen der Nano-Carrier aus den Mizellbildnern DHexAB, DHexAI, DOAB, DOAI, DDeAB, DDeAI, DDAB, DDAI und DTAB. Die Verkapselung erfolgte mit Ausnahme von DHexAI für Bengalrosa und Eosin Y.

### 6.5.1. Reproduzierbarkeit

Nachdem der Verkapselungsprozesses hydrophiler Substanzen vom ersten Phasentransfer, über die Stabilisierung mit Polythiolen sowie der Interkalation mit einem amphiphilen Polymer, bis zur Aufarbeitung der wasserlöslichen Konstrukte etabliert und optimiert wurde, sollte dieser nun auf die Reproduzierbarkeit untersucht werden. Dazu wurde Bengalrosa als Beladung, DDAB als Mizellbildner und PETMP zur Quervernetzung eingesetzt. Die Interkalation erfolgte mit PMAcOD in den in Abbildung 6.32 gezeigten molaren Überschüssen. Die Methode wurde vom ersten bis zum letzten Schritt jeweils drei Mal identisch durchgeführt und lieferte die folgenden Konstrukte.



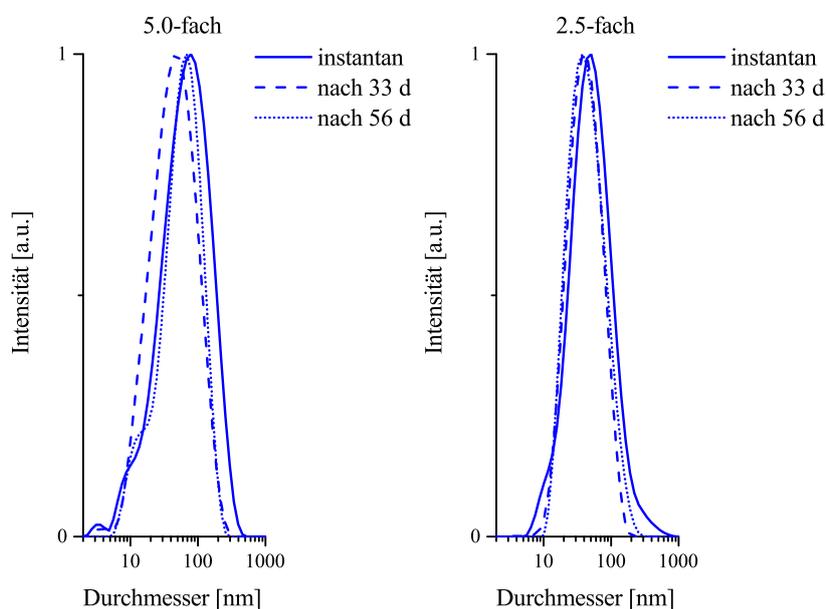
**Abb. 6.32.:** Reproduzierbarkeit der Nano-Carrier zur Verkapselung von Bengalrosa in inversen Mizellen aus DDAB, die mit PETMP stabilisiert und mit unterschiedlichen Polymerüberschüssen in die wässrige Phase transferiert wurden. Zum Vergleich der Ergebnisse wurde der Verkapselungsprozess jeweils drei Mal identisch durchgeführt.

Für die in Abbildung 6.32 gezeigten Auftragungen der Intensitätsmessungen für einen 5.0-fachen Polymerüberschuss konnte eine Reproduzierbarkeit gezeigt werden, für den 2.5-fachen Polymerüberschuss waren die Resultate lediglich bedingt reproduzierbar. Die erhaltenen Konstrukte zeigten zwar keine vergleichbaren Größenverteilungen, dennoch konnten für den Hauptanteil der Partikel reproduzierbare Größenbereiche erzielt werden. Zum Verständnis muss hier angeführt werden, dass die Streuung an den Partikeln proportional zu  $r^6$  erfolgt,<sup>[152]</sup> weshalb die erkennbaren Schultern

im Größenbereich von 11–50 nm den Hauptanteil der Konstrukte darstellen. Es konnte daher gezeigt werden, dass mit der in dieser Forschungsarbeit etablierten Methode eine bedingt reproduzierbare Verkapselung hydrophiler Substanzen realisierbar ist.

### 6.5.2. Stabilität

Nach der in Kapitel 6.4 beschriebenen Optimierung des zweiten Phasentransfers, sollte anschließend die Stabilität der Konstrukte untersucht werden. Dazu wurden DLS-Messungen direkt nach der Aufarbeitung der Konstrukte sowie nach einigen Wochen aufgenommen. Die Proben wurden lichtgeschützt bei Raumtemperatur gelagert. Es sollte untersucht werden, ob die starke Reduzierung des Polymeranteils für den zweiten Phasentransfer mit einer Instabilität der Konstrukte einhergeht. Eine Stabilität der Nano-Carrier konnte sowohl mit einem 5.0- als auch 2.5-fachen molaren Überschuss an Polymer gezeigt werden. Dabei waren die Proben über 56 Tage in wässriger Lösung stabil und zeigten keine Agglomeration. Die Proben wurden für die Messungen nicht erneut spritzenfiltriert und zeigten eine monomodale Größenverteilung über den gesamten Zeitraum (Abb. 6.33). Eine Stabilisierung der Konstrukte mithilfe von Polyaminen<sup>[139,141]</sup> war nicht notwendig.

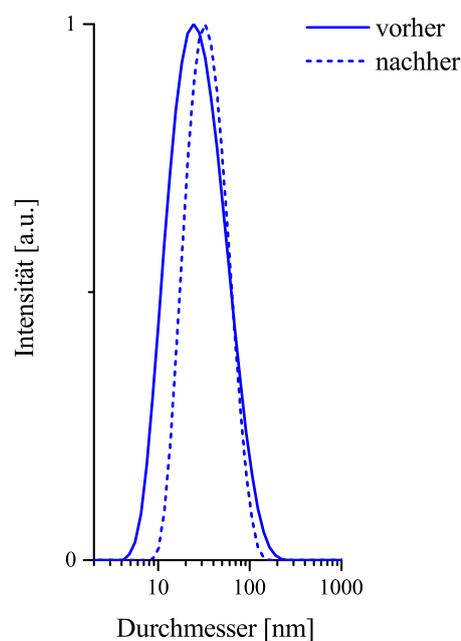


**Abb. 6.33.:** Stabilität der Nano-Carrier mit unterschiedlichen molaren Polymerüberschüssen.

Die Reduzierung des Polymeranteils hatte keine Auswirkungen auf die Stabilität, lediglich auf die Polydispersität der Konstrukte. Mit einem 2.5-fachen molaren Überschuss des amphiphilen PMAcOD zur Interkalation der inversen Mizellen, wurde schlussendlich eine schmalere Größenverteilung im Vergleich zum 5.0-fachen Überschuss erhalten. Eine genauere Betrachtung der Größen und Größenverteilung erfolgte in Abschnitt 6.4.1.

### 6.5.3. Lyophilisation

In Abschnitt 6.5.2 konnte bereits die Stabilität der Konstrukte über mehrere Wochen in Lösung gezeigt werden. Aufgrund der Verwendung dieser Verkapselungsmethode für bioaktive Moleküle, sollte nachstehend die Möglichkeit zur Lyophilisation untersucht werden. Dies würde die Vorbereitung der Nano-Carrier-Lösung sowie die anschließende Lagerung bei tiefen Temperaturen zum Schutz der Beladung ermöglichen. Weiterhin könnten exakte Konzentrationen eingestellt und das Lösungsmittel je nach Bedarf ausgetauscht werden. Zur Untersuchung wurde eine Konstruktlösung nach der optimierten Verkapselungsmethode hergestellt und eine DLS-Messung durchgeführt. Anschließend wurde diese lyophilisiert, der erhaltene Feststoff erneut in Wasser gelöst und die Größe ohne Verwendung eines Spritzenfilters mittels DLS bestimmt (Abb. 6.34).



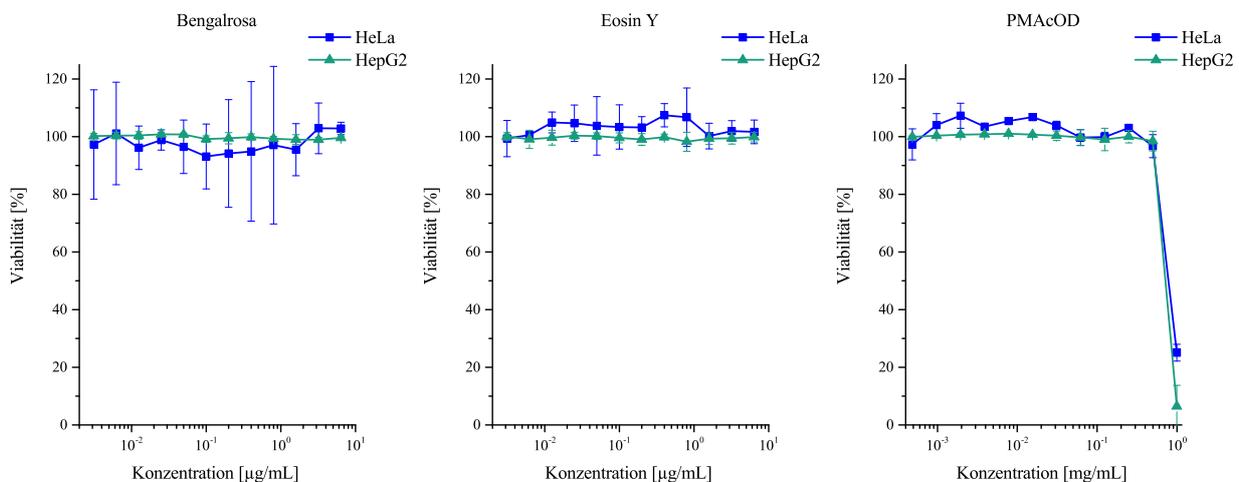
**Abb. 6.34.:** Vor und nach Lyophilisation. Es wurde keine Agglomeration der Nano-Carrier beobachtet.

Der Feststoff wurde in dem gleichen Volumen gelöst aus der dieser erhalten wurde, um einen Vergleich vor und nach der Lyophilisation zu ermöglichen. Es wurde bewusst auf die Verwendung eines Spritzenfilters verzichtet, um mögliche Agglomerate in der DLS-Auftragung zu erkennen. Allerdings konnte kein Agglomerationsprozess beobachtet und weiterhin eine schmalere Größenverteilung als vorher erhalten werden.

#### 6.5.4. Toxizitätstests

Die in dem folgenden Abschnitt gezeigten Toxizitätstests wurden an der HeLa-Zelllinie (HeLa) und HepG2-Zelllinie (HepG2) durchgeführt und die Toxizität nach 24 h durch eine Mehrfachbestimmung ermittelt. Die höchste Konzentration in den Abbildungen entspricht einer 10-fachen Verdünnung der Ausgangslösung. Ausgehend davon wurde die Konzentration bei jeder weiteren Verdünnung halbiert. Diese Herangehensweise wurde für alle Proben angewandt, um einen Vergleich der Toxizitäten zu ermöglichen. Der Fehler der Mehrfachbestimmung ist durch die in den Abbildungen dargestellten Fehlerbalken gezeigt.

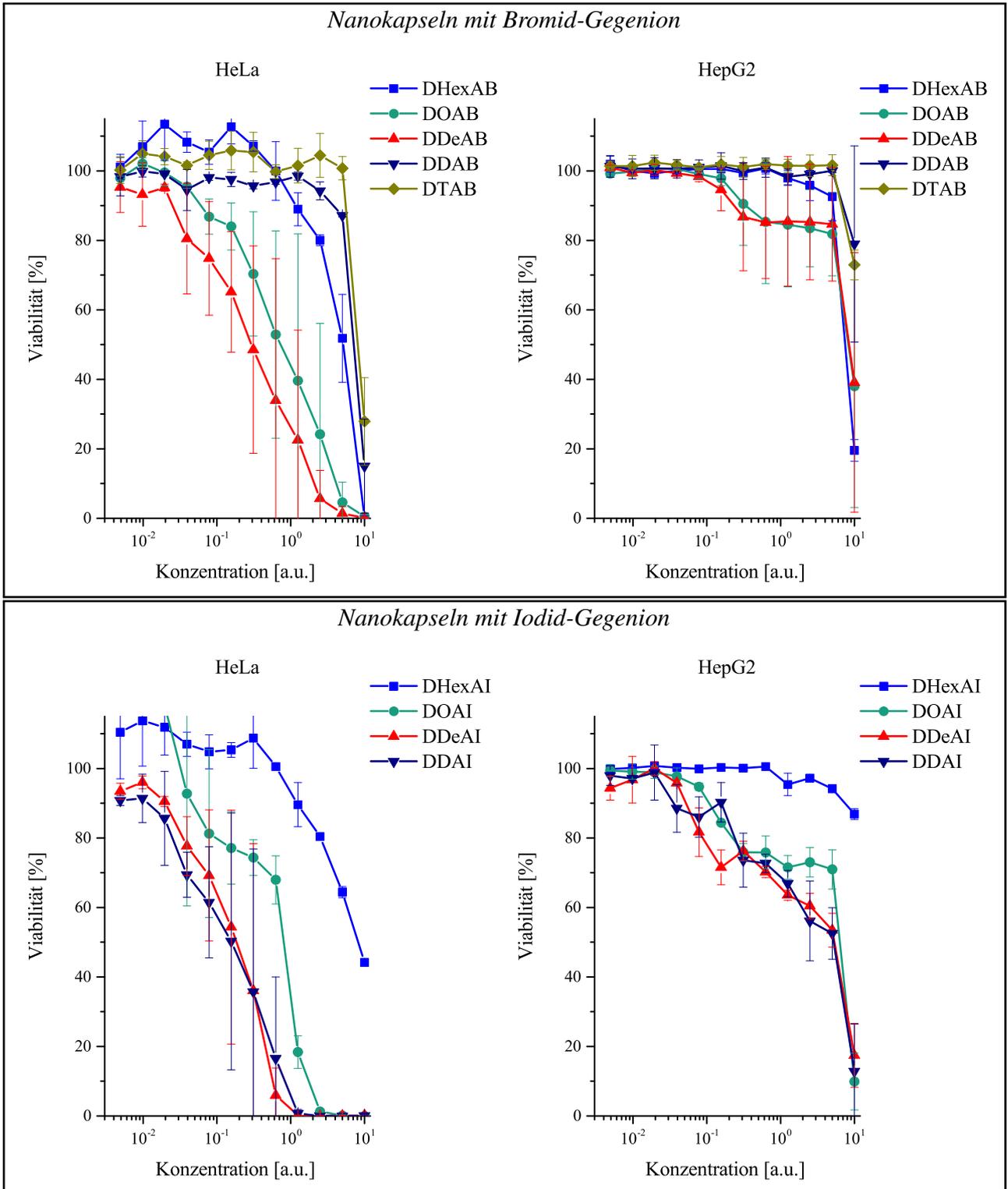
Zunächst wurde die Toxizität der eingesetzten Beladung sowie des Polymers PMAcOD an HeLa und HepG2 untersucht (Abb. 6.35). Die angegebenen Konzentrationen für die Farbstoffe und das Polymer wurden entsprechend der verwendeten Einwaagen für die Verkapselung ausgewählt. Die höchste Konzentration entspricht dabei der maximal möglichen Konzentration nach dem zweiten Phasentransfer. Aufgrund der geringen Löslichkeit der Ammoniumsalze in Wasser, konnten keine Toxizitätstest mit vergleichbaren Konzentrationen wie im Verkapselungsprozess durchgeführt werden.



**Abb. 6.35.:** Toxizitätstests von Bengalrosa, Eosin Y sowie des amphiphilen Polymers PMAcOD in HeLa und HepG2 Zellen nach 24 h.

Für die Farbstoffe Bengalrosa und Eosin Y konnte weder in HeLa noch in HepG2 Zellen eine Toxizität für Konzentrationen bis 6.4 µg/mL festgestellt werden. Das amphiphile PMAcOD zeigte lediglich für 0.995 mg/mL eine Viabilität von 25 % (HeLa) bzw. 6 % (HepG2). Ab einer Verdünnung der Konzentration von 0.498 mg/mL konnte für beide Zelllinien keine Toxizität festgestellt werden.

Die in dieser Arbeit entwickelte Verkapselungsmethode wurde so entwickelt, dass die erhaltenen Lösungen nach dem zweiten Phasentransfer direkt *in vitro* und *in vivo* eingesetzt werden können. Aus diesem Grund wurden die Toxizitätstests mit den nach dem zweiten Phasentransfer erhaltenen Lösungen durchgeführt. Zur besseren Übersicht werden im Folgenden lediglich die Toxizitätstests mit Bengalrosa als Beladung gezeigt, da in Abbildung 6.35 bereits dargestellt werden konnte, dass die Farbstoffe ein vergleichbares toxikologisches Profil besitzen. Weiterhin zeigte sich in den Untersuchungen, dass bei gleicher Zusammensetzung der Kapsel identische Ergebnisse für Bengalrosa und Eosin Y erhalten wurden. Die Verkapselungsmethode mit einer Beladung von  $W_0 = 20$  und der Quervernetzung mit PETMP bei einer Bestrahlungszeit von 2 Minuten wurde auf die in dieser Arbeit hergestellten Mizellbildner angewandt. In Abschnitt 6.3.2 wurden die Reaktionszeiten sowie das vollständige Cross-Linking der verschiedenen Mizellbildner diskutiert. Obwohl nach einer Reaktionszeit von 2 Minuten eine vollständige Quervernetzung lediglich mit DDAB und DTAB erfolgte, wurde der Verkapselungsprozess der anderen Ammoniumsalze dennoch durchgeführt. Anschließend erfolgte die Interkalation mit einem 5.0-fachen molaren Überschuss an PMAcOD sowie der Aufarbeitung mit einer 100 mmolaren NaOH-Lösung. Die Viabilitäten der HeLa und HepG2 Zellen nach 24 h sind für die Ammoniumsalze in Abbildung 6.36 gezeigt.



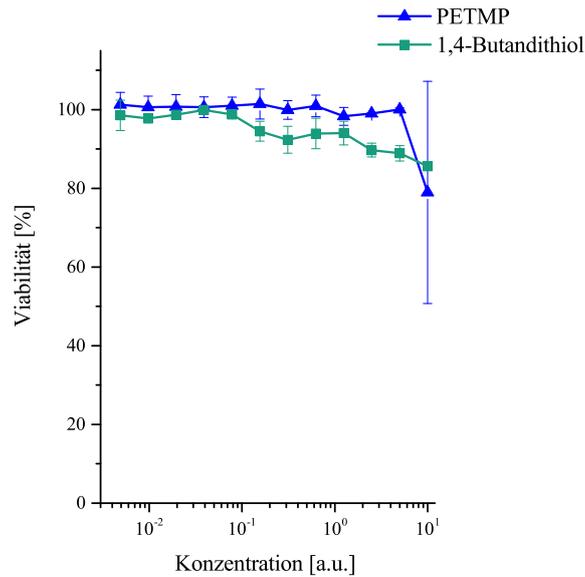
**Abb. 6.36.:** Übersicht über die Toxizität der erhaltenen Nano-Carrier-Lösungen nach 24 h an HeLa und HepG2 Zellen. Die Kapseln besitzen eine Bengalrosa Beladung und sind mit PETMP stabilisiert. Die Interkalation mit PMAcOD erfolgte mit einem 5.0-fachen molaren Überschuss und der anschließenden Aufarbeitung mit 100 mmolärer NaOH-Lösung.

Für die Ammoniumsalze mit Bromid-Gegenion wurde sowohl bei den HeLa als auch bei den HepG2 Zellen eine höhere Viabilität im Vergleich zu den Ammoniumiodiden erhalten. Aus Abbildung 6.35 ist ersichtlich, dass die Toxizität der höchsten Konzentration aus der des PMAcOD resultiert. Die Viabilität jeder darauffolgenden Verdünnung ist allerdings nicht mehr auf das Polymer zurückzuführen und resultiert folglich vom Mizellbildner. Die geringsten Toxizitäten wurden für beide Zelllinien für DTAB und DDAB erhalten. Die zweite Verdünnung von DTAB zeigte bereits keine Toxizität mehr, sodass der gleiche Verlauf wie bei dem reinen PMAcOD erhalten wurde. Für DDAB wurde bei der zweiten Verdünnung eine Viabilität von 87 % und bei der vierten Verdünnung von nahezu 100 % gezeigt. Mit DHexAB konnte nach einer Bestrahlungszeit von 2 Minuten kein vollständiges Cross-Linking erreicht werden, dennoch zeigte dieser Mizellbildner eine vergleichsweise geringe Toxizität im Vergleich zu DOAB und DDeAB. Die relativen Resultate der Ammoniumbromide aus der Untersuchung an HeLa Zellen spiegeln sich in der Viabilität der HepG2 wieder. Im Vergleich sind die Toxizitäten für alle Mizellbildner geringer als an HeLa Zellen. Für DTAB und DDAB wurden bereits mit der zweiten Verdünnung keine toxischen Auswirkungen auf die Zellen beobachtet. Mit DHexAB wurde eine Viabilität von nahezu 100 % bereits mit der vierten Verdünnung erreicht.

Wie bereits in Abschnitt 6.3.2 gezeigt, konnte nach 2 Minuten für keinen der iodhaltigen Mizellbildner eine vollständige Quervernetzung erreicht werden. In den Untersuchungen zur Toxikologie konnte ein eindeutiger Trend für beide Zelllinien gezeigt werden. Mit zunehmender aliphatischen Kettenlänge nimmt die Toxizität der Mizellbildner mit Iodid-Gegenion zu. In HeLa Zellen zeigte DHexAI im Vergleich zu DOAI, DDeAI und DDAI selbst bei der höchsten Konzentration eine Viabilität von 44 %. Für die anderen Mizellbildner wurde erst bei der vierten oder fünften Verdünnung eine nennenswerte Viabilität beobachtet. Für die höchste Konzentration wurden für alle Ammoniumiodide Viabilitäten in HepG2 Zellen erzielt. Dennoch sticht DHexAI mit einer um 77 % höheren Viabilität im Vergleich zu den übrigen Mizellbildnern hervor.

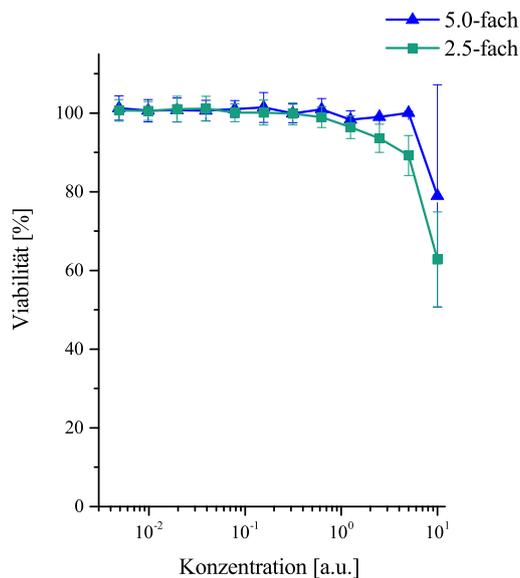
Nachdem die Toxizitäten der unterschiedlichen Nanokapseln an HeLa als auch HepG2 Zellen untersucht wurden, sollte anschließend der Einfluss des Cross-Linkers auf die Viabilität der Zellen bestimmt werden. Dazu erfolgte eine Verkapselung von Bengalrosa in DDAB sowie einer anschließenden Stabilisierung mit PETMP und 1,4-Butandithiol. Die Interkalation wurde mit einem 5.0-fachen Überschuss PMAcOD sowie der Aufarbeitung mit einer 100 mmolaren NaOH-Lösung durchgeführt. Aufgrund der geringeren Toxizität der Konstrukte an HepG2 Zellen werden die toxikologischen Untersuchungen nach 24 h gezeigt (Abb. 6.37).

## 6. Ergebnisse und Diskussion



**Abb. 6.37.:** Vergleich der Toxizität nach 24 h an HepG2 Zellen in Abhängigkeit des verwendeten Cross-Linkers zur Stabilisierung der inversen Mizellen.

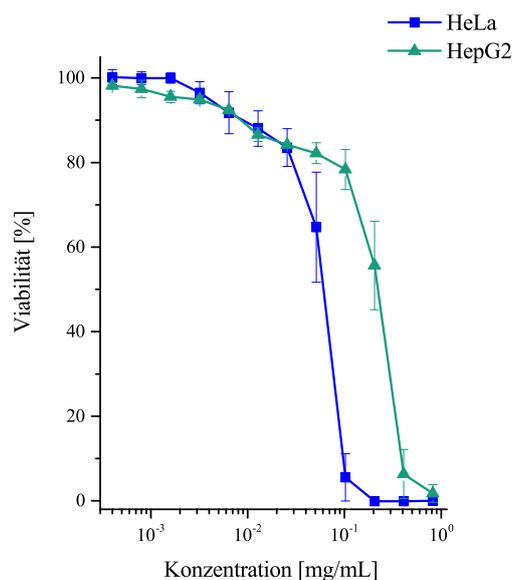
Die Quervernetzung der inversen Mizellen mit unterschiedlichen Polythiolen hatte keine nennenswerten Auswirkungen auf die Toxizität des Nano-Carriers. Sowohl mit PETMP als auch 1,4-Butandithiol wurden mit der höchsten Konzentration Viabilitäten von mindestens 80 % erreicht. Daher wurde im Folgenden der molare Überschuss an Polymer zur Interkalation der inversen Mizellen untersucht (Abb. 6.38).



**Abb. 6.38.:** Vergleich der Toxizität nach 24 h an HepG2 Zellen in Abhängigkeit des verwendeten Polymerüberschusses zur Interkalation der inversen Mizellen.

Trotz der Änderung des Polymeranteils zum zweiten Phasentransfer wurden vergleichbare Ergebnisse in der Toxizität erhalten.

Die bisher gezeigten Untersuchungen zur Toxizität der Nanokapseln beruhten auf der Verwendung der erhaltenen Lösung nach dem zweiten Phasentransfer, ohne exakte Bestimmung der Konzentration. Um trotzdem eine konzentrationsabhängige Einschätzung zur Toxikologie der Nanokapseln zu bekommen, wurden zudem Untersuchungen mit einer exakten Einwaage des Nano-Carriers durchgeführt. Dies ist möglich, da in Abschnitt 6.5.3 die Stabilität der Konstrukte auch nach dem Entfernen des Lösungsmittels gezeigt werden konnte. Die Nanokapsel bestand aus einer durch PETMP stabilisierten inversen Mizelle aus DDAB, in der Bengalrosa eingeschlossen wurde. Der zweite Phasentransfer erfolgte mit einem 2.5-fachen Überschuss an PMAcOD und der Aufarbeitung mit 100 mmolarer NaOH-Lösung (Abb. 6.39). Es wurde eine Lösung mit einer Konzentration von 8.2 mg/mL hergestellt, die auf dieselbe Weise verdünnt und auf ihre Toxizität untersucht wurde, wie die in den Abbildungen 6.36–6.38 gezeigten Lösungen.



**Abb. 6.39.:** Exakte Einwaagen zur Toxizität eines Nano-Carriers aus DDAB, PETMP, Bengalrosa und einem 2.5-fachen Überschuss an PMAcOD in HeLa und HepG2 Zellen nach 24 h.

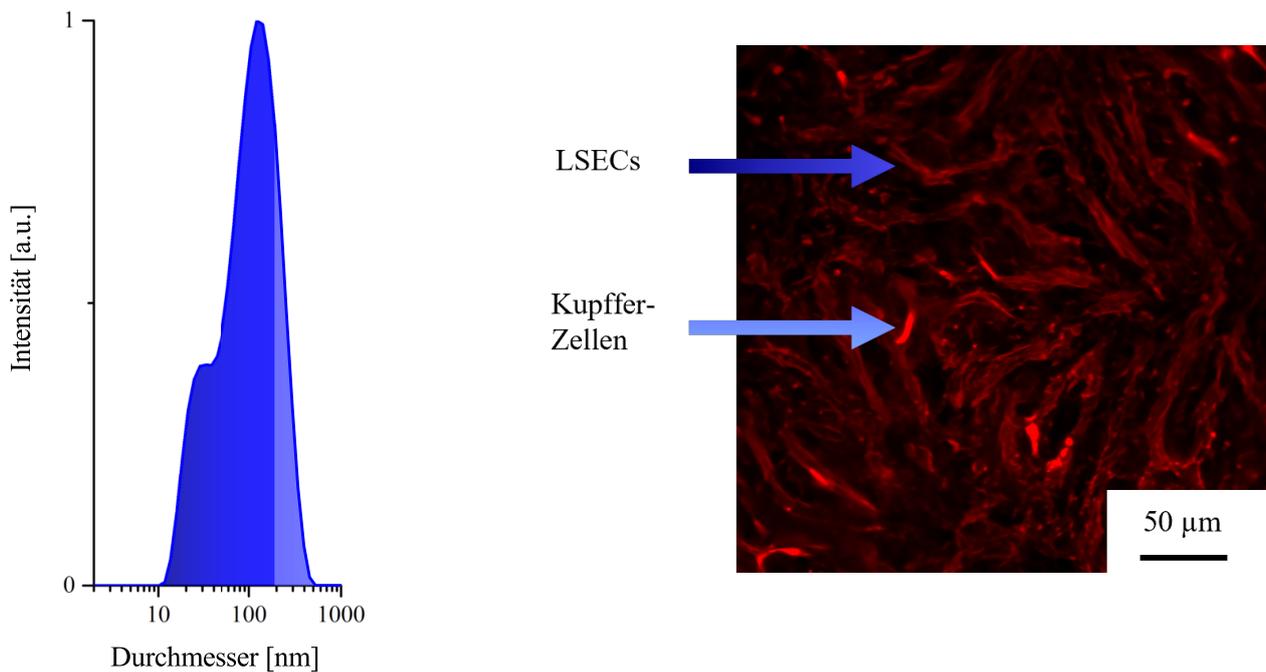
Wie bereits aus den vorherigen toxikologischen Untersuchungen ersichtlich, wurde eine höhere Toxizität in HeLa Zellen erhalten. Erst ab einer Konzentration von 0.10 mg/mL wurde eine nennenswerte Viabilität erhalten. Im Vergleich dazu wurde bereits ab 0.41 mg/mL eine Viabilität der HepG2 Zellen von 6 % erzielt. Ab einer Konzentration

von 0.026 mg/mL wurden gleiche Viabilitäten erhalten. Die Resultate der HepG2 Viabilität sollten aufgrund derselben Verkapselungsmethode mit den Ergebnissen aus Abbildung 6.38 2.5-fach vergleichbar sein. In Abhängigkeit der Toxizität von der Anzahl der Verdünnungsschritte können somit näherungsweise Rückschlüsse auf die Konzentration der Lösung in Abbildung 6.38 getroffen werden. Aus Abbildung 6.39 konnte eine 56%-ige Viabilität bei einer Konzentration von 0.21 mg/mL erhalten werden. Eine vergleichbare Viabilität konnte in Abbildung 6.38 für einen 2.5-fachen Überschuss für die höchste Konzentration erhalten werden. Da die höchste Konzentration in den toxiologischen Untersuchungen durch eine 10-fache Verdünnung der zu untersuchenden Probe erfolgt, ergibt sich die Konzentration näherungsweise zu 2.1 mg/mL.

#### 6.5.5. Zelluläre Aufnahme der Konstrukte

Die Verkapselung von Bengalrosa mit DDAB wurde mit PETMP quervernetzt und anschließend mit PMAcOD interkaliert. Der Phasentransfer erfolgte mit unterschiedlichen Aufarbeitungsmethoden (Kapitel 6.4) und wurde bezogen auf die Fluoreszenz sowie Partikelgröße optimiert. Die erhaltenen Konstrukte wurde anschließend im Wildtyp-Mausmodell auf ihre zellspezifische Adressierung der LSECs untersucht. Dazu wurde die fluoreszente Probe in die Schwanzvene einer Wildtyp Maus injiziert und die Leber mithilfe eines Intravitalmikroskops beobachtet. Durch die Anregung des verkapselten Fluoreszenzfarbstoffs können die Konstrukte im Mausmodell beobachtet und deren Anreicherung untersucht werden. Die Ergebnisse aus den *in vivo* Studien resultieren aus der Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jörg Heeren vom Fachbereich für Biochemie und molekulare Zellbiologie am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf und wurden von Dr. Markus Heine durchgeführt.

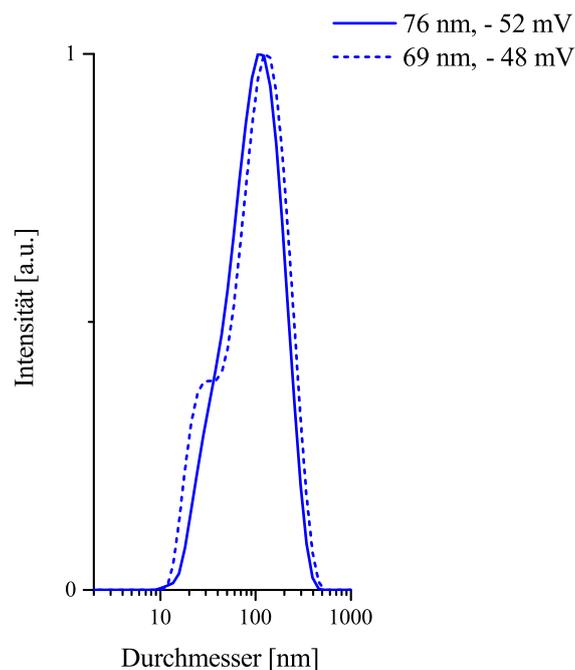
Aufgrund des Aufbaus des Lebersinusoids (Abschnitt 4.1.1) könnte die zellspezifische Adressierung der Konstrukte in die LSECs anhand der Fluoreszenz der Zellwände visualisiert werden. Die Aufnahme in Kupffer-Zellen würde sich durch die Fluoreszenz klumpenartiger Bereiche innerhalb des Sinusoids zeigen. Anhand der in Abbildung 6.40 gezeigten Größenverteilung wäre eine Aufnahme in die LSECs auf Basis der in der Literatur beschriebenen Größenselektivität<sup>[1-3]</sup> für Konstrukte mit einem Durchmesser < 200 nm zu erwarten (Abb. 6.40).



**Abb. 6.40.:** Zelluläre Aufnahme einer beladenen Polymerkapsel mit einem Zetapotenzial von  $-48$  mV im Mausmodell. Die in der Literatur angegebene größenspezifische Aufnahme für LSECs mit Größen  $< 200$  nm konnte nicht gezeigt werden. Anhand der Größenbestimmung von  $69$  nm aus der Intensitätsmessung mittels DLS wäre eine nahezu vollständige Aufnahme in die LSECs zu erwarten (dunkelblauer Bereich). Allerdings erfolgte fast ausschließlich eine Adressierung der Kupfer-Zellen, die anhand der klumpenartigen Fluoreszenzpunkte gezeigt werden können. Die Gefäßwände des Lebersinusoids zeigten lediglich eine schwache Fluoreszenz.

Für die in Abbildung 6.40 gezeigte Größenverteilung sind die durch die Literatur beschriebenen Größenbereiche für die Aufnahme in LSECs (dunkelblau) und Kupfer-Zellen (hellblau) eingezeichnet. Die zu erwartende selektive Adressierung der LSECs konnte trotz eines durchschnittlichen Durchmessers von  $69$  nm nicht gezeigt werden. Es ist daher anzunehmen, dass die Selektivität nicht ausschließlich durch die Größe der Nanokapseln bedingt wird. Die Wechselwirkung zwischen Partikeln und Zellen kann durch das Zetapotenzial, dessen Abhängigkeit aus der Oberflächenladung und folglich dem Ionisierungsgrad<sup>[143]</sup> der Konstrukte besteht, beeinflusst werden.<sup>[51]</sup> Das Zetapotenzial der Konstrukte in Abbildung 6.40 betrug  $-48$  mV. Für die Adressierung von LSECs sind Zetapotenziale von  $-58$  mV<sup>[30]</sup> für eine PMAcOD- und  $-35$  mV<sup>[178]</sup> für eine zwitterionische Oberfläche beschrieben. Inwiefern das Zetapotenzial einen Einfluss auf zelluläre Aufnahme hat, sollte daher im Folgenden untersucht werden. Dazu sollte das Zetapotenzial der Nanokapseln dem in der Literatur beschriebenen Wert von  $-58$  mV<sup>[30]</sup> bestmöglich angenähert werden.

In Abschnitt 6.5.3 konnte gezeigt werden, dass auch nach der Lyophilisation stabile Partikel mit nahezu unveränderter Größe erhalten werden können. Diese Tatsache ermöglicht es, über die Einwaage Lösungen mit einer exakten Konzentration herzustellen. Die im Folgenden gezeigten Ergebnisse beruhen auf der Herstellung von Nanokapseln aus DDAB, die mit PETMP quervernetzt wurden und Bengalrosa als Beladung tragen. Anschließend erfolgte der zweite Phasentransfer mit einem 2.5-fachen molaren Überschuss und der Aufarbeitung mit einer 100 mmolaren NaOH-Lösung. Das Lösungsmittel der violett-farbenen Lösung wurde vollständig entfernt, sodass ein violett-farbener Feststoff erhalten wurde. Dieser wurde nach HÜHN *et al.*<sup>[177]</sup> bei 2000 g über einen 100 kDa Zentrifugenfilter gereinigt und anschließend eine Konzentration von 8.2 mg/mL eingestellt. Die Nanokapseln besaßen ein Zetapotenzial von -52 mV und einen durchschnittlichen Durchmesser von 76 nm. Die Größenverteilung der erhaltenen Konstrukte aus der Intensitätsmessung mittels DLS ist in Abbildung 6.41 gezeigt und wurde mit den Kapseln aus Abbildung 6.40 verglichen.

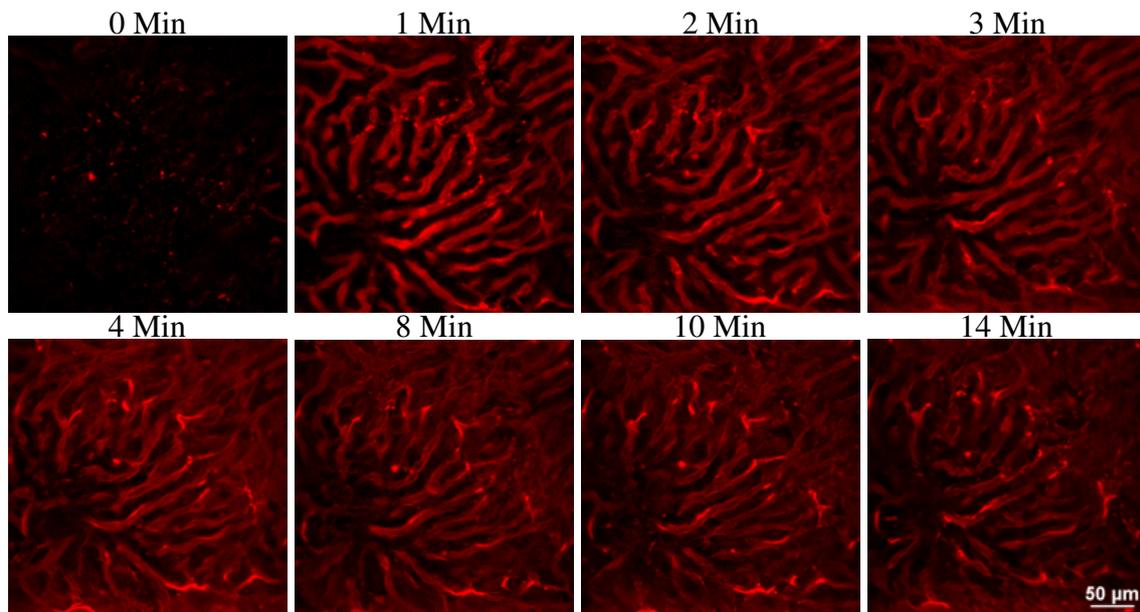


**Abb. 6.41.:** Größenbestimmung der Nanokapseln aus der Intensitätsmessung mittels DLS. Die gezeigten Konstrukte wurden mit einem 2.5-fachen Überschuss des PMAcODs sowie einer 100 mmolaren NaOH-Lösung erhalten und über einen 100 kDa Zentrifugenfilter gereinigt. Die Nanokapseln mit einem Zetapotenzial von -48 mV und einem durchschnittlichen Durchmesser von 69 nm zeigten keine selektive Zellaufnahme in die LSECs (Abb. 6.40). Die Konstrukte in der Lösung mit einer Konzentration von 8.2 mg/mL hatten eine durchschnittliche Größe von 76 nm und ein Zetapotenzial von -52 mV. Sie lieferten die in Abbildung 6.42 gezeigte Adressierung der LSECs.

Die Konstrukte zeigten keine signifikante Abweichung mit durchschnittlichen Größen von 69 & 76 nm, sodass bezogen auf die Größenverteilung eine vergleichbare Adressierung der Zellen wie in Abbildung 6.40 anzunehmen ist. Allerdings wurde das Zetapotenzial von -48 mV auf -52 mV verringert, sodass eine Annäherung an den Literaturwert<sup>[30]</sup> von -58 mV für mit PMAcOD verkapselte Nanopartikel erfolgte.

Um den Einfluss des Zetapotenzials zu untersuchen, wurde die fluoreszente Lösung aus Abbildung 6.41 mit einem Zetapotenzial von -52 mV in die Schwanzvene einer Wildtyp Maus injiziert. Aufgrund der geringen Unterschiede in der Partikelgröße, sollte ein Vergleich zwischen der selektiven Adressierung der Zellen in Abhängigkeit des Zetapotenzials mit Abbildung 6.40 ermöglicht werden.

In Abbildung 6.42 ist die zeitabhängige Darstellung der Leber nach der Injektion der Lösung mittels Intravitalmikroskopie dargestellt.



**Abb. 6.42.:** Intravitalmikroskopie der Leber einer Wildtyp Maus in Abhängigkeit der Zeit nach der Injektion der fluoreszenten Lösung der Nanokapseln. Es wurden Konstrukte mit einer durchschnittlichen Größe von 76 nm sowie einem Zetapotenzial von -52 mV verwendet. Eine Minute nach der Injektion der Lösung konnte bereits eine selektive Adressierung der LSECs gezeigt werden. Mit zunehmender Zeit nimmt die Fluoreszenz ab, was auf eine zelluläre Aufnahme der Partikel schließen lassen könnte. Die zusätzliche Aufnahme in die Kupffer-Zellen kann erst ab 3 Minuten nach der Injektion beobachtet werden. Es ist denkbar, dass durch die hohe Fluoreszenz an den LSECs die Aufnahme in die Kupffer-Zellen zunächst überdeckt wird.

Die fluoreszierenden Bereiche bei 0 Minuten resultieren aus der Autofluoreszenz der Leber. Bereits 1 Minute nach der Injektion der fluoreszenten Nanokapseln konnte die selektive Adressierung der LSECs gezeigt werden. Eine Aufnahme der Konstrukte in Kupffer-Zellen ist im Vergleich zu Abbildung 6.40 stark reduziert und erst mit dem Abklingen der Fluoreszenz der LSECs nach 3 Minuten sichtbar. Durch die Verwendung einer Partikellösung, die eine vergleichbare durchschnittlichen Größe im Vergleich zu den Ergebnissen aus Abbildung 6.40 besaß, ist eine Abhängigkeit des Zetapotenzials auf die selektive Adressierung der Zellen anzunehmen. Die mit der Zeit abnehmende Fluoreszenz an den LSECs könnte auf eine zelluläre Aufnahme sowie einen lysosomalen Abbau des Farbstoffs schließen lassen. Diese Annahme müsste allerdings durch weitere Studien noch intensiver untersucht werden.



## 7. Ausblick

Die in dieser Forschungsarbeit entwickelte, neuartige Verkapselungsmethode für hydrophile Substanzen zeichnet sich im ersten Schritt besonders durch kurze Reaktionszeiten für das photochemische Fixieren der beladenen, inversen Mizellen mittels Thiol-En Reaktion aus. Die Oberflächenmodifikation für den physiologischen Einsatz gelingt im zweiten Schritt durch die Interkalation mit dem amphiphilen PMAcOD und beruht auf VAN DER WAALS-Wechselwirkungen der aliphatischen Seitenketten. Es liefert final eine Partikeloberfläche bestehend aus Natriumcarboxylat-Gruppen.

Basierend auf der gezeigten, erfolgreichen Verkapselung hydrophiler Rhodaminfarbstoffe, ist die Verwendung wasserlöslicher, bioaktiver Substanzen als Beladung eine naheliegende Anwendung. Besonders vielversprechend scheint hier die von CARAMBIA *et al.*<sup>[30]</sup> gezeigte Unterdrückung im EAE-Modell mithilfe der beladenen Nanokapseln zu untersuchen. Dazu muss zunächst die selektive Aufnahme der Nano-Carrier sowie der lysosomale Abbau gezeigt werden. Dieses System könnte sich ebenfalls zum Transport empfindlicher Verbindungen wie beispielsweise mRNA eignen, da die milden Reaktionsbedingungen im Verkapselungsprozess ein breites Spektrum an Beladungen erlauben.

Zudem erscheint eine Modifikation des eingesetzten PMAcOD möglich, um die erhaltenen Konstrukte mit spezifischen Oberflächenmotiven zu versehen. Weiterhin denkbar sind geeignete Protein-Konjugationen, die eine selektive Adressierung einer Vielzahl unterschiedlicher Zelltypen ermöglichen. Abseits des PMAcOD könnten auch andere amphiphile Copolymere, bestehend aus Poly(2-oxazolin) oder Poly(ethylenimin), zum Einsatz kommen, die über eine vergleichbare aliphatische Seitenkette verfügen und eine erweiterte Modifikation der Stabilität, Gesamtkonstruktgröße und des Zeta-potenzials erlauben könnten.



## 8. Experimenteller Teil

### 8.1. Allgemeine Methoden

#### 8.1.1. Lösungsmittel und Reagenzien

Alle verwendeten Chemikalien, mit Ausnahme des PMAcOD, wurden kommerziell erworben und ohne weitere Reinigungsschritte eingesetzt. Das PMAcOD (3000–7000 Da) wurde vom Projektpartner TOPAS THERAPEUTICS bereitgestellt und ohne weitere Aufarbeitung eingesetzt. Die Synthese des PMAcOD unterliegt der Geheimhaltung, beinhaltet allerdings die Darstellung von PMAOD und der anschließenden Hydrolyse der Anhydridgruppen mit Natriumhydroxid. Es liegen keine genauen Informationen bezüglich des Hydrolysegrads und der Deprotonierung der Carboxylgruppen vor, aufgrund der basischen Aufarbeitung wird aber ein nahezu vollständiger Hydrolysegrad sowie Salzanteil angenommen.

Tab. 8.1.: Liste der kommerziell erworbenen Chemikalien.

Bezeichnung	Lieferant	Reinheit
Acetonitril	Acros Organics	99.9 %, extra trocken über Molekularsieb
Acetonitril	Roth	$\geq 99.5$ %
Allylbromid	Sigma Aldrich	97 %, $\leq 1000$ ppm Propylen
Allyliodid	Sigma Aldrich	98 %
Bengalrosa Natriumsalz	Sigma Aldrich	95 %
1-Bromdodecan	Sigma Aldrich	97 %
1-Bromhexan	Alfa Aesar	99 %
1-Bromoctan	Sigma Aldrich	99 %
Diallylamin	Sigma Aldrich	99 %

Tab. 8.1.: Liste der kommerziell erworbenen Chemikalien. (Fortsetzung).

<b>Bezeichnung</b>	<b>Lieferant</b>	<b>Reinheit</b>
Dichlormethan	Acros Organics	99.8 %, extra trocken über Molekularsieb
Didodecylamin	Tci	> 97.0 %
DMPA	Sigma Aldrich	99 %
Chloroform	ChemSolute	≥ 99.5 %, Amylen- stabilisiert
Chloroform-d1	Deutero	99.8 %
Eosin Y Dinatriumsalz	Merck	≥ 85 %
Ethylacetat	Roth	≥ 99.5 %
<i>n</i> -Hexan	ChemSolute	≥ 99.0 %
1-Ioddecan	Alfa Aesar	98 %
1-Ioddodecan	Alfa Aesar	98 %
1-Iodhexan	Alfa Aesar	98 %
1-Iodoctan	Alfa Aesar	98+ %
Kaliumcarbonat	Honeywell	≥ 99.0 %
PETMP	Sigma Aldrich	> 95 %
1,3-Propansulton Sigma Aldrich	Sigma Aldrich ≥ 95 %	98 % Rhodamin B
THF	Acros Organics	99.5 %, extra tro- cken über Moleku- larsieb, stabilisiert
THF	Roth	≥ 99.9 %, unstabilisiert
Toluol	Acros Organics	99.85 %, extra trocken über Molekularsieb

### 8.1.2. Chromatographische Methoden

#### Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminium-Fertigfolien mit Fluoreszenzindikator verwendet. Der Reaktionsverlauf wurde durch die Verwendung einer ethanolschen Kaliumpermanganat-Lösung als Anfärbereagenz verfolgt. Zur säulenchromatographischen Reinigung wurde Silica-Gel von Supelco mit einer Porengröße von 60 Å verwendet und einer Partikelgröße von 40-63 µm verwendet.

### Säulenchromatographie (SC)

Zur Reinigung wurden die Säulen mit Kieselgel, das in einem geeigneten Lösungsmittelsystem suspendiert war, gefüllt und die chromatographische Trennung durchgeführt.

### **8.1.3. Instrumentelle Methoden**

#### DLS

Die Größenbestimmung der Konstrukte erfolgte mittels dynamischer Lichtstreuung unter Verwendung eines MALVERN ZETASIZERS ZS mit der Zetasizer Software 7.03 von MALVERN INSTRUMENTS LTD. Für die Messungen wurden Quartz- und PMMA-Küvetten mit einer Schichtdicke von 10 mm verwendet. Zum besseren Vergleich der Resultate erfolgt die Darstellung der Größenverteilungen für die gesamte Arbeit auf Basis der Intensitätsmessungen. Für die Bestimmung des Zeta-Potenzials wurde eine DIP-CELL Zelle in PMMA-Küvetten mit einer Schichtdicke von 10 mm und ebenfalls die Zetasizer Software 7.03 verwendet.

#### Infrarotspektren (IR)

IR-Spektren wurden am FTIR-Gerät INVENIO R der Firma BRUKER aufgenommen.

#### Massenspektren (MS)

Die Aufnahmen der Elektronenspray-Ionisation (ESI)-Massenspektren erfolgte unter Verwendung eines AGILENT 6224 ESI-TOF Spektrometers (Baujahr 2009) gekoppelt an eine AGILENT HPLC 1200 SERIES. Mithilfe der Flugzeit (*time of flight*) (TOF) wird die Ionenmasse bestimmt. Die Angabe der detektierten Ionenmassen erfolgt in Masse zu Ladung ( $m/z$ ).

#### NMR-Spektren

Das Aufnehmen der NMR-Spektren erfolgte durch die spektroskopische Abteilung im Institut für organische Chemie der Universität Hamburg. Dabei wurden folgende Geräte der Firma BRUKER verwendet:

- AVANCE I 400 ( $^1\text{H}$ -Resonanz: 400 MHz,  $^{13}\text{C}$ -Resonanz: 100 MHz)
- AVANCE I 500 ( $^1\text{H}$ -Resonanz: 500 MHz,  $^{13}\text{C}$ -Resonanz: 125 MHz)
- AVANCE III 600 ( $^1\text{H}$ -Resonanz: 600 MHz,  $^{13}\text{C}$ -Resonanz: 150 MHz)

Auf den oben genannten Geräten erfolgte ebenfalls die Aufnahme von HH-COSY-, HSQC-, und HMBC-Korrelationsspektren.

Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der  $\delta$ -Skala (ppm – parts per million) angegeben. Sofern nicht anders angegeben, wurden die Signale auf die Lösungsmittelrestpeaks ( $^1\text{H-NMR}$ :  $\text{CHCl}_3$ : 7.26 ppm und  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\text{CHCl}_3$ : 77.16 ppm)<sup>[179]</sup> referenziert. Zur Kennzeichnung der Multiplizität der Signale wurden folgende Abkürzungen verwendet: Singulett (s), Dublett (d), Triplett (t), Quartett (q), Quintett (p) und Septett (sept). Die Einheit der Kopplungskonstante ( $J$ ) ist in Hertz (Hz) angegeben.<sup>[147]</sup>

### REM

Für die REM Aufnahmen wurde ein FEI QUANTE 3D mit einer Beschleunigungsspannung von 20 kV verwendet. Es wurden 20  $\mu\text{L}$  der zu untersuchenden Probenlösung auf ein Kupfergrid aufgetragen und das Lösungsmittel nach 30 Sekunden mithilfe eines Filterpapiers entfernt.

### Schmelzpunkt (Smp.)

Schmelzpunkte wurden mithilfe des Melting Point Meter MPM-H2 durchgeführt.

### TEM

Die TEM Aufnahmen wurden durch die Abteilung für Elektronenmikroskopie an einem CM 300 UT der Firma PHILIPS mit Beschleunigungsspannungen von 200–300 kV und einem JEM 1011 der Firma JEOL mit Beschleunigungsspannungen von 60–100 kV durchgeführt. Es wurden 20  $\mu\text{L}$  der zu untersuchenden Probenlösung auf ein Kupfergrid aufgetragen und das Lösungsmittel nach 30 Sekunden mithilfe eines Filterpapiers entfernt.

## **8.2. Allgemeine Synthesevorschrift tertiärer Amine**

Es wurden 2.78 mL (2.19 g, 22.5 mmol, 1.5 eq.) Diallylamin, 15 mmol (1.0 eq.) Alkylbromid und 2.07 g (15 mmol, 1.0 eq.)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in 225 mL Acetonitril suspendiert und anschließend für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die farblose Suspension filtriert. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der viskose Rückstand wurde in wenig EtOAc

aufgenommen, säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, 5 % EtOAc/n-Hexan) und unter vermindertem Druck getrocknet. Es wurde ein klares, schwachgelbes Öl erhalten.<sup>[144]</sup>

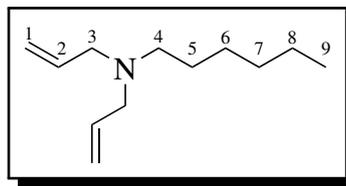
### 8.2.1. *N,N*-Diallyl-*N*-hexylamin

**Ausbeute** = 52 % (1.41 g, 7.78 mmol).

**Aussehen** = schwachgelbe Flüssigkeit.

**Summenformel** = C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>N.

**Molekulare Masse** = 181.32  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5.86 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 16.8, 10.2, 6.5 Hz, 2H, H-2), 5.20-5.10 (m, 4H, H-1), 3.10 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.5 Hz, 4H, H-3), 2.43-2.40 (m, 2H, H-4), 1.50-1.40 (m, 2H, H-5), 1.32-1.22 (m, 6H, H-6 bis H-8), 0.88 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 3H, H-9).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[180]</sup>

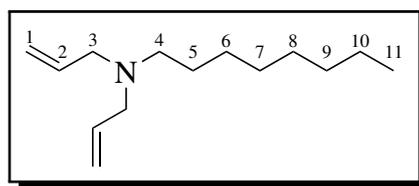
### 8.2.2. *N,N*-Diallyl-*N*-octylamin

**Ausbeute** = 87 % (2.74 g, 13.1 mmol).

**Aussehen** = schwachgelbe Flüssigkeit.

**Summenformel** = C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>N.

**Molekulare Masse** = 209.38  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5.85 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 16.8, 10.2, 6.5 Hz, 2H, H-2), 5.18-5.10 (m, 4H, H-1), 3.08 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.5 Hz, 4H, H-3), 2.42-2.39 (m, 2H, H-4), 1.47-1.42 (m, 2H, H-5), 1.32-1.21 (m, 10H, H-6 bis H-10), 0.87 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 3H, H-11).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 135.9 (C-1), 117.4 (C-2), 57.0 (C-3), 53.5 (C-4), 32.0, 29.7, 29.4, 27.7, 27.0 (C-5), 22.8, 14.2 (C-11).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3080, 3011, 2961, 2930, 2859, 2797, 1645, 1461, 1419, 1380, 1356, 1260, 1154, 1095, 995, 918.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 210.222, gef. 210.228.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[181]</sup>

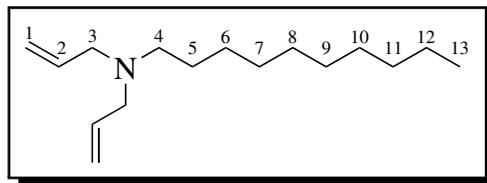
8.2.3. *N,N*-Diallyl-*N*-decylamin

**Ausbeute** = 85 % (3.01 g, 12.7 mmol).

**Aussehen** = schwachgelbe Flüssigkeit.

**Summenformel** = C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>N.

**Molekulare Masse** = 237.43  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5.85 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 16.8, 10.1, 6.5 Hz, 2H, H-2), 5.18-5.10 (m, 4H, H-1), 3.08 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.5 Hz, 4H, H-3), 2.42-2.38 (m, 2H, H-4), 1.48-1.40 (m, 2H, H-5), 1.32-1.18 (m, 14H, H-6 bis H-12), 0.87 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.8 Hz, 3H, H-13).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 135.7 (C-1), 117.5 (C-2), 57.0 (C-3), 53.5 (C-4), 32.1, 29.8, 29.7, 29.5, 27.6, 27.0 (C-5), 22.8, 14.2 (C-13).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3081, 2929, 2854, 2800, 1646, 1465, 1420, 1354, 1261, 1154, 1107, 996, 920.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 238.253, gef. 238.267.

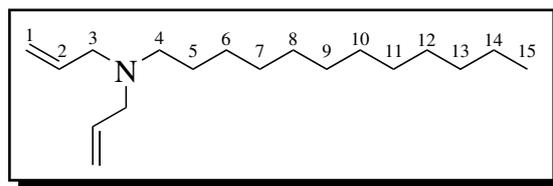
8.2.4. *N,N*-Diallyl-*N*-dodecylamin

**Ausbeute** = 68 % (2.70 g, 10.2 mmol).

**Aussehen** = schwachgelbe Flüssigkeit.

**Summenformel** = C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>N.

**Molekulare Masse** = 265.49  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5.86 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 16.8, 10.2, 6.5 Hz, 2H, H-2), 5.18-5.12 (m, 4H, H-1), 3.09 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.5 Hz, 4H, H-3), 2.43-2.40 (m, 2H, H-4), 1.48-1.40 (m, 2H, H-5), 1.32-1.20 (m, 18H, H-6 bis H-14), 0.88 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 3H, H-15).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 135.8 (C-1), 117.6 (C-2), 57.0 (C-3), 53.5 (C-4), 32.1, 29.8\*, 29.7, 29.6, 29.5, 27.6, 27.0 (C-5), 22.8, 14.3 (C-15).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3078, 3014, 2925, 2857, 2798, 1643, 1465, 1418, 1380, 1354, 1261, 1153, 1108, 996, 917.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 266.285, gef. 266.287.

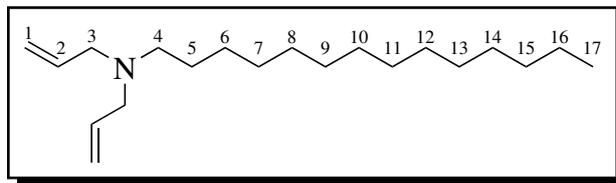
8.2.5. *N,N*-Diallyl-*N*-tetradecylamin

**Ausbeute** = 44 % (2.46 g, 6.59 mmol).

**Aussehen** = farblose Flüssigkeit.

**Summenformel** =  $C_{20}H_{39}N$ .

**Molekulare Masse** =  $293.54 \frac{g}{mol}$ .



**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 5.86 (ddt,  $^3J$  = 16.8, 10.1, 6.5 Hz, 2H, H-2), 5.19-5.12 (m, 4H, H-1), 3.10 (d,  $^3J$  = 6.5 Hz, 4H, H-3), 2.44-2.40 (m, 2H, H-4), 1.49-1.41 (m, 2H, H-5), 1.33-1.20 (m, 22H, H-6 bis H-16), 0.88 (d,  $^3J$  = 6.9 Hz, 3H, H-17).

**$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 135.7 (C-1), 117.7 (C-2), 56.9 (C-3), 53.5 (C-4), 32.1, 29.8\*, 29.7, 29.5, 27.6, 26.9 (C-5), 22.8, 14.3 (C-17).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  ( $cm^{-1}$ ) = 3078, 2922, 2856, 2798, 1643, 1467, 997, 917.

**ESI-TOF**:  $m/z$  für  $[C_{20}H_{40}N^+]$  = ber. 294.316, gef. 294.321.

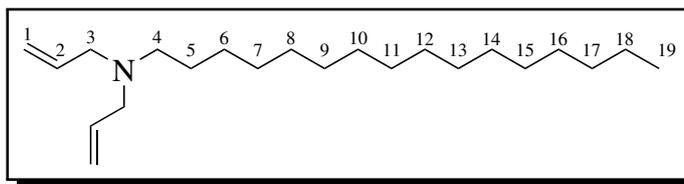
8.2.6. *N,N*-Diallyl-*N*-hexadecylamin

**Ausbeute** = 32 % (1.92 g, 4.78 mmol).

**Aussehen** = farblose Flüssigkeit.

**Summenformel** =  $C_{22}H_{43}N$ .

**Molekulare Masse** =  $321.59 \frac{g}{mol}$ .



**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 5.86 (ddt,  $^3J$  = 16.8, 10.2, 6.6 Hz, 2H, H-2), 5.19-5.11 (m, 4H, H-1), 3.09 (d,  $^3J$  = 6.6 Hz, 4H, H-3), 2.43-2.39 (m, 2H, H-4), 1.49-1.39 (m, 2H, H-5), 1.33-1.19 (m, 26H, H-6 bis H-18), 0.88 (d,  $^3J$  = 6.8 Hz, 3H, H-19).

**$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 135.8 (C-1), 117.6 (C-2), 57.0 (C-3), 53.5 (C-4), 32.1, 29.9, 29.8\*, 29.7\*, 29.5, 27.7, 27.0 (C-5), 22.8, 14.3 (C-19).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  ( $cm^{-1}$ ) = 3081, 2923, 2855, 2800, 1644, 1466, 1420, 1352, 1262, 1153, 1115, 995, 916.

**ESI-TOF**:  $m/z$  für  $[C_{22}H_{44}N^+]$  = ber. 322.347, gef. 322.358.

### 8.3. Allgemeine Synthesevorschrift quartärer Ammoniumsalze

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an YANG *et al.*<sup>[148]</sup>

Die Reaktion wurde unter Schutzgasatmosphäre durchgeführt.

Die Ansatzgröße und Molarität ist für jedes Ammoniumsalz individuell angegeben.

Es wurde eine Emulsion aus 1.0 eq. eines tertiären Amins (Abschnitt 8.2) und 1.2 eq. eines Alkylhalogenids in wasserfreiem Acetonitril vorgelegt und diese für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der viskose Rückstand wurde in wenig EtOAc aufgenommen, säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, 10 % → 20 % EtOH/EtOAc) und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Für Ammoniumsalze mit aliphatischen Seitenketten > 12 C-Atomen wurde der ölige Rückstand in 10 mL kaltem Diethylether (-18 °C) suspendiert, filtriert und unter vermindertem Druck getrocknet. Für die Ammoniumsalze mit Bromid-Gegenion wurden farblose und mit Iodid-Gegenion gelb-braune Öle/Feststoffe erhalten.

#### 8.3.1. *N,N*-Diallyl-*N,N*-dihexylammoniumbromid (DHexAB)

**Ansatzgröße** = 2.93 mmol C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>N.

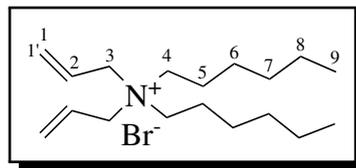
**Molarität** = 268 mmolar.

**Ausbeute** = 18 % (182 mg, 0.525 mmol).

**Aussehen** = schwachgelbes Öl.

**Summenformel** = C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>BrN.

**Molekulare Masse** = 346.40  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .

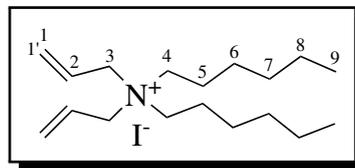


**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5.98 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 17.2, 10.0, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.78 (d, <sup>3</sup>*J* = 16.8 Hz, 2H, H-1), 5.70 (d, <sup>3</sup>*J* = 10.2 Hz, 2H, H-1'), 4.18 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.3 Hz, 4H, H-3), 3.29-3.25 (m, 4H, H-4), 1.81-1.74 (m, 4H, H-5), 1.39-1.24 (m, 12H, H-6 bis H-8), 0.86 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 6H, H-9).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 129.3 (C-1), 124.3 (C-2), 61.8 (C-3), 59.2 (C-4), 31.2 (C-7), 26.2 (C-6), 22.5, 22.4, 13.9 (C-9).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3086, 2959, 2919, 2862, 1740, 1643, 1467, 1431, 1379, 1262, 1165, 1059, 1002, 951.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 266.285, gef. 266.286.

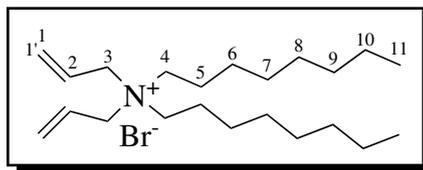
8.3.2. *N,N*-Diallyl-*N,N*-dihexylammoniumiodid (DHexAI)**Ansatzgröße** = 2.81 mmol C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>N.**Molarität** = 268 mmolar.**Ausbeute** = 58 % (636 mg, 1.62 mmol).**Aussehen** = braunes Öl.**Summenformel** = C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>IN.**Molekulare Masse** = 393.40  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.00 (ddt, <sup>3</sup>J = 17.2, 10.1, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.82 (d, <sup>3</sup>J = 16.9 Hz, 2H, H-1), 5.73 (d, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 2H, H-1'), 4.15 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.31-3.27 (m, 4H, H-4), 1.84-1.76 (m, 4H, H-5), 1.40-1.26 (m, 12H, H-6 bis H-8), 0.88 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 6H, H-9).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 129.6 (C-1), 124.1 (C-2), 61.9 (C-3), 59.4 (C-4), 31.3 (C-7), 26.2 (C-6), 22.6, 22.5, 14.0 (C-9).

IR (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3088, 2956, 2925, 2863, 1740, 1645, 1467, 1430, 1377, 1263, 1168, 1058, 1001, 952.

ESI-TOF: m/z für [C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 266.285, gef. 266.284.

8.3.3. *N,N*-Diallyl-*N,N*-dioctylammoniumbromid (DOAB)**Ansatzgröße** = 8.39 mmol C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>N.**Molarität** = 1.07 molar.**Ausbeute** = 28 % (945 mg, 2.35 mmol).**Aussehen** = farbloses hochviskoses Öl.**Summenformel** = C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>BrN.**Molekulare Masse** = 402.50  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 5.98 (ddt, <sup>3</sup>J = 17.2, 10.0, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.80 (d, <sup>3</sup>J = 17.0 Hz, 2H, H-1), 5.71 (d, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 2H, H-1'), 4.22 (d, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 4H, H-3), 3.29-3.26 (m, 4H, H-4), 1.84-1.72 (m, 4H, H-5), 1.40-1.30 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.29-1.18 (m, 12H, H-8 bis H-10), 0.86 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 6H, H-11).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 129.3 (C-1), 124.4 (C-2), 61.9 (C-3), 59.3 (C-4), 31.9, 29.5\*, 29.3, 29.2, 26.6 (C-6), 22.7, 22.5 (C-5), 14.2 (C-11).

IR (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3084, 2959, 2923, 2857, 1642, 1620, 1466, 1433, 1377, 1263, 996, 947.

ESI-TOF: m/z für [C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 322.347, gef. 322.349.

8.3.4. *N,N*-Diallyl-*N,N*-dioctylammoniumiodid (DOAI)

**Ansatzgröße** = 2.39 mmol C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>N.

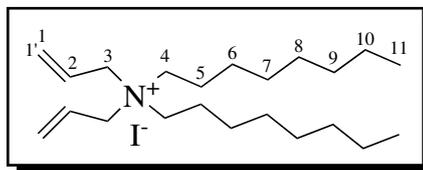
**Molarität** = 268 mmolar.

**Ausbeute** = 85 % (912 mg, 2.03 mmol).

**Aussehen** = braunes Öl.

**Summenformel** = C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>IN.

**Molekulare Masse** = 449.50  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.00 (ddt, <sup>3</sup>J = 17.1, 10.0, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.81 (d, <sup>3</sup>J = 17.1 Hz, 2H, H-1), 5.73 (d, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 2H, H-1'), 4.14 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.30-3.26 (m, 4H, H-4), 1.85-1.75 (m, 4H, H-5), 1.43-1.31 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.31-1.18 (m, 12H, H-8 bis H-10), 0.86 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 6H, H-11).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 129.5 (C-1), 124.2 (C-2), 61.9 (C-3), 59.4 (C-4), 31.7, 29.1\*, 26.5 (C-6), 22.7, 22.6, 14.2 (C-11).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3085, 2958, 2927, 2857, 1741, 1643, 1467, 1428, 1375, 1262, 1244, 1093, 1020, 949.

**ESI-TOF**: m/z für [C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 322.347, gef. 322.347.

8.3.5. *N,N*-Diallyl-*N,N*-didecylammoniumbromid (DDeAB)

**Ansatzgröße** = 10.6 mmol C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>N.

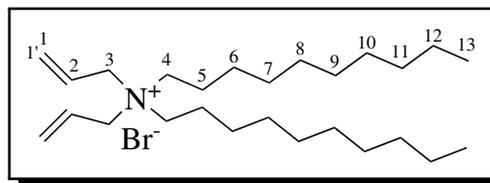
**Molarität** = 536 mmolar.

**Ausbeute** = 59 % (2.87 g, 6.26 mmol).

**Aussehen** = farbloses hochviskoses Öl.

**Summenformel** = C<sub>26</sub>H<sub>52</sub>BrN.

**Molekulare Masse** = 458.61  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .



<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 5.98 (ddt, <sup>3</sup>J = 17.2, 10.1, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.80 (d, <sup>3</sup>J = 17.2 Hz, 2H, H-1), 5.72 (d, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 2H, H-1'), 4.23 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.34-3.22 (m, 4H, H-4), 1.84-1.76 (m, 4H, H-5), 1.39-1.31 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.30-1.19 (m, 20H, H-8 bis H-12), 0.87 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 6H, H-13).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 129.4 (C-1), 124.3 (C-2), 62.0 (C-3), 59.3 (C-4), 32.0, 29.5\*, 29.3, 29.2, 26.6 (C-6), 22.8, 22.6 (C-5), 14.2 (C-13).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3085, 2955, 2923, 2856, 1741, 1642, 1620, 1467, 1431, 1375, 1261, 1093, 1022, 948.

**ESI-TOF**: m/z für [C<sub>26</sub>H<sub>52</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 378.410, gef. 378.413.

8.3.6. *N,N*-Diallyl-*N,N*-didecylammoniumiodid (DDeAI)

**Ansatzgröße** = 1.60 mmol C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>N.

**Molarität** = 268 mmolar.

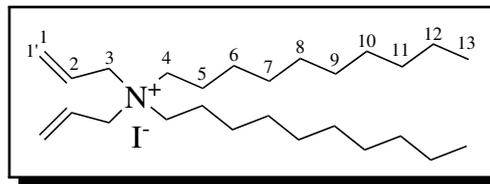
**Ausbeute** = 86 % (697 mg, 1.38 mmol).

**Aussehen** = brauner Feststoff.

**Summenformel** = C<sub>26</sub>H<sub>52</sub>IN.

**Molekulare Masse** = 505.61  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .

**Smp.** = 35.1 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5.99 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 17.1, 10.0, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.82 (d, <sup>3</sup>*J* = 16.8 Hz, 2H, H-1), 5.75 (d, <sup>3</sup>*J* = 10.1 Hz, 2H, H-1'), 4.17 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.32-3.25 (m, 4H, H-4), 1.85-1.75 (m, 4H, H-5), 1.43-1.33 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.30-1.21 (m, 20H, H-8 bis H-12), 0.87 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 6H, H-13).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 129.7 (C-1), 124.1 (C-2), 62.0 (C-3), 59.4 (C-4), 32.0, 29.5\*, 29.4, 29.2, 26.6 (C-6), 22.8, 22.6 (C-5), 14.2 (C-13).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3085, 2962, 2927, 2862, 1742, 1643, 1466, 1429, 1379, 1263, 1167, 1059, 1000, 952.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>26</sub>H<sub>52</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 378.410, gef. 378.409.

8.3.7. *N,N*-Diallyl-*N,N*-didodecylammoniumbromid (DDAB)

**Ansatzgröße** = 7.65 mmol C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>N.

**Molarität** = 1.07 molar.

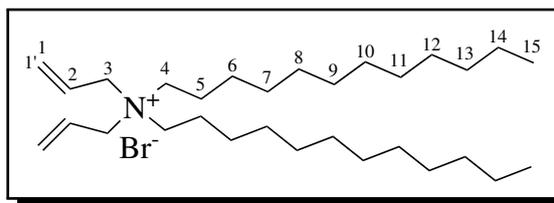
**Ausbeute** = 44 % (1.72 g, 3.33 mmol).

**Aussehen** = farbloser Feststoff.

**Summenformel** = C<sub>30</sub>H<sub>60</sub>BrN.

**Molekulare Masse** = 514.72  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .

**Smp.** = 48.7 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5.98 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 17.1, 10.0, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.80 (d, <sup>3</sup>*J* = 16.8 Hz, 2H, H-1), 5.72 (d, <sup>3</sup>*J* = 10.0 Hz, 2H, H-1'), 4.24 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.37-3.19 (m, 4H, H-4), 1.83-1.76 (m, 4H, H-5), 1.39-1.32 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.30-1.20 (m, 28H, H-8 bis H-14), 0.87 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 6H, H-15).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 129.4 (C-1), 124.4 (C-2), 62.0 (C-3), 59.3 (C-4), 32.0, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2 (C-7), 26.6 (C-6), 22.8, 22.6 (C-5), 14.2 (C-15).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3083, 2956, 2922, 2852, 1621, 1466, 1377, 1261, 1093, 1021, 945, 861, 803, 722.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>30</sub>H<sub>60</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 434.473, gef. 434.483.

8.3.8. *N,N*-Diallyl-*N,N*-didodecylammoniumiodid (DDAI)

**Ansatzgröße** = 3.23 mmol C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>N.

**Molarität** = 923 mmolar.

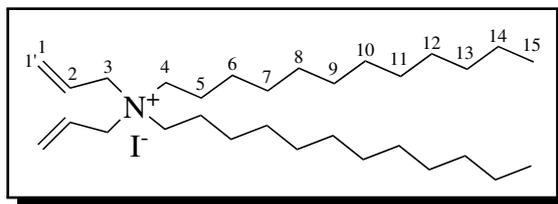
**Ausbeute** = 42 % (764 mg, 1.36 mmol).

**Aussehen** = farbloser Feststoff.

**Summenformel** = C<sub>30</sub>H<sub>60</sub>IN.

**Molekulare Masse** = 561.72  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .

**Smp.** = 52.8 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5.99 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 17.1, 10.0, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.82 (d, <sup>3</sup>*J* = 16.8 Hz, 2H, H-1), 5.75 (d, <sup>3</sup>*J* = 10.1 Hz, 2H, H-1'), 4.17 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.36-3.23 (m, 4H, H-4), 1.84-1.76 (m, 4H, H-5), 1.40-1.32 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.31-1.20 (m, 28H, H-8 bis H-14), 0.87 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 6H, H-15).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 129.7 (C-1), 124.1 (C-2), 62.0 (C-3), 59.4 (C-4), 32.0, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2 (C-7), 26.6 (C-6), 22.8, 22.7, 14.2 (C-15).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3084, 2956, 2921, 2852, 1640, 1466, 1376, 1261, 1093, 1021, 947, 861, 803, 722.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>30</sub>H<sub>60</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 434.473, gef. 434.475.

8.3.9. *N,N*-Diallyl-*N,N*-ditetradecylammoniumbromid (DTAB)

**Ansatzgröße** = 6.81 mmol C<sub>20</sub>H<sub>39</sub>N.

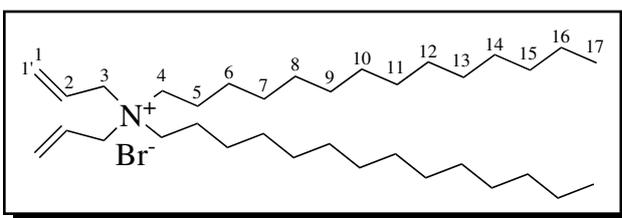
**Molarität** = 536 mmolar.

**Ausbeute** = 23 % (895 mg, 1.57 mmol).

**Aussehen** = farbloser Feststoff.

**Summenformel** = C<sub>34</sub>H<sub>68</sub>BrN.

**Molekulare Masse** = 570.83  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 6.02-5.94 (m, 2H, H-2), 5.81 (d, <sup>3</sup>*J* = 16.8 Hz, 2H, H-1), 5.72 (d, <sup>3</sup>*J* = 10.2 Hz, 2H, H-1'), 4.24 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.36-3.23 (m, 4H, H-4), 1.81-1.76 (m, 4H, H-5), 1.40-1.32 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.30-1.20 (m, 36H, H-8 bis H-16), 0.87 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 6H, H-17).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 129.4 (C-1), 124.3 (C-2), 62.0 (C-3), 59.3 (C-4), 32.1, 29.8\*, 29.7, 29.6, 29.5\*, 29.2, 26.6 (C-6), 22.8, 22.6 (C-5), 14.2 (C-17).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3085, 2956, 2925, 2854, 1740, 1642, 1620, 1466, 1437, 1377, 1264, 1013, 950.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>34</sub>H<sub>68</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 490.535, gef. 490.540.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[164]</sup>

8.3.10. *N,N*-Diallyl-*N,N*-dihexadecylammoniumbromid (DHAB)**Ansatzgröße** = 3.44 mmol C<sub>22</sub>H<sub>43</sub>N.**Molarität** = 1.07 molar.**Ausbeute** = 19 % (408 mg, 0.651 mmol).**Aussehen** = schwachbrauner Feststoff.**Summenformel** = C<sub>38</sub>H<sub>76</sub>BrN.**Molekulare Masse** = 626.94  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .**Smp.** = 90.6 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 5.98 (ddt, <sup>3</sup>J = 17.3, 10.0, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.81 (d, <sup>3</sup>J = 16.8 Hz, 2H, H-1), 5.72 (d, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 2H, H-1'), 4.25 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.32-3.25 (m, 4H, H-4), 1.85-1.76 (m, 4H, H-5), 1.39-1.32 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.30-1.19 (m, 44H, H-8 bis H-18), 0.87 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 6H, H-19).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 129.4 (C-1), 124.3 (C-2), 62.0 (C-3), 59.3 (C-4), 32.1, 29.8\*, 29.7, 29.6, 29.5\*, 29.2 26.6 (C-6), 22.8, 22.6 (C-5), 14.2 (C-19).

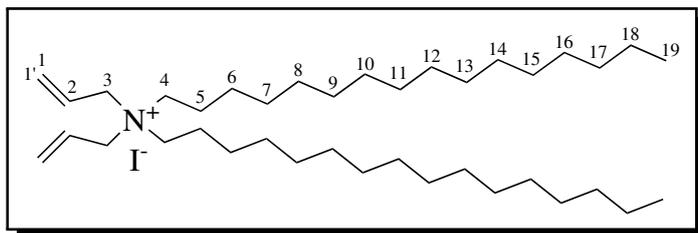
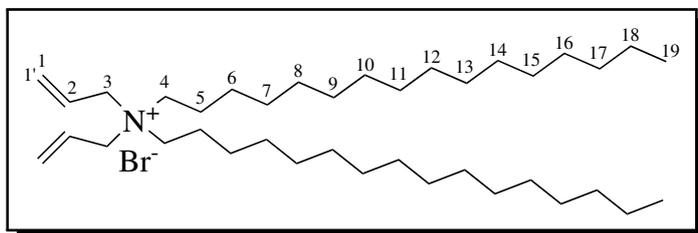
IR (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3083, 2960, 2926, 2860, 2733, 1644, 1616, 1467, 1429, 1377, 994, 950.

ESI-TOF: m/z für [C<sub>38</sub>H<sub>76</sub>N<sup>+</sup>] = ber. 546.598, gef. 546.598.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[164]</sup>

8.3.11. *N,N*-Diallyl-*N,N*-dihexadecylammoniumiodid (DHAI)**Ansatzgröße** = 3.11 mmol C<sub>22</sub>H<sub>43</sub>N.**Molarität** = 536 mmolar.**Ausbeute** = 70 % (1.46 g, 2.17 mmol).**Aussehen** = brauner Feststoff.**Summenformel** = C<sub>38</sub>H<sub>76</sub>IN.**Molekulare Masse** = 673.94  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .**Smp.** = 82.4 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.00 (ddt, <sup>3</sup>J = 17.2, 10.0, 7.2 Hz, 2H, H-2), 5.82 (d, <sup>3</sup>J = 16.8 Hz, 2H, H-1), 5.75 (d, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 2H, H-1'), 4.17 (d, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 4H, H-3), 3.32-3.25 (m, 4H, H-4), 1.83-1.72 (m, 4H, H-5), 1.41-1.32 (m, 8H, H-6 & H-7), 1.30-1.21 (m, 44H, H-8 bis H-18), 0.87 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 6H, H-19).



**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 129.7$  (C-1), 124.1 (C-2), 62.0 (C-3), 59.4 (C-4), 32.1, 29.8\*, 29.7, 29.6, 29.5\*, 29.3, 29.2 26.6 (C-6), 22.8, 22.7 (C-5), 14.2 (C-19).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2919, 2851, 1641, 1467, 1376, 1261, 1021, 948, 804, 724.

**ESI-TOF**:  $m/z$  für  $[\text{C}_{38}\text{H}_{76}\text{N}^+]$  = ber. 546.598, gef. 546.598.

## 8.4. *N,N,N*-Triallyldodecylammoniumbromid (TDAB)

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an YANG *et al.*<sup>[148]</sup>

Die Reaktion wurde unter Schutzgasatmosphäre durchgeführt.

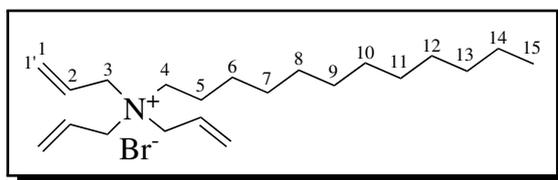
Es wurden 999 mg (3.76 mmol, 1.0 eq.) *N,N*-Diallyl-*N*-dodecylamin (Abschnitt 8.2.4) in 3.5 mL wasserfreiem Acetonitril gelöst und 390  $\mu\text{L}$  (546 mg, 4.52 mmol, 1.2 eq.) Allylbromid zugegeben. Die klare farblose Reaktionslösung wurde unter Rühren für 16 h auf 60 °C erwärmt. Zu Beginn des Erwärmens trübte sich die Lösung, zum Ende der Reaktion war die Lösung klar und schwachrot gefärbt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde das Lösungsmittel sowie überschüssiges Allylbromid unter vermindertem Druck entfernt und der farblose Rückstand in 10 mL kaltem Diethylether suspendiert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und es wurde ein farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute** = 29 % (418 mg, 1.08 mmol).

**Aussehen** = farbloses Öl.

**Summenformel** =  $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{BrN}$ .

**Molekulare Masse** = 386.46  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .



**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 6.10$ -5.99 (m, 3H, H-2), 5.79 (d,  $^3J = 16.8$  Hz, 3H, H-1), 5.72 (d,  $^3J = 10.2$  Hz, 3H, H-1'), 4.19 (d,  $^3J = 7.4$  Hz, 6H, H-3), 3.26-3.23 (m, 2H, H-4), 1.89-1.80 (m, 2H, H-5), 1.37-1.30 (m, 4H, H-6 & H-7), 1.29-1.19 (m, 14H, H-8 bis H-14), 0.86 (t,  $^3J = 7.0$  Hz, 3H, H-15).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 129.4$  (C-1), 124.1 (C-2), 62.0 (C-3), 59.2 (C-4), 32.0, 29.7, 29.5, 29.4, 29.2 (C-7), 26.6 (C-6), 22.8, 22.6 (C-5), 14.2 (C-15).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3082, 2958, 2922, 2853, 1640, 1621, 1466, 1425, 1366, 1261, 1093, 1018, 946, 848, 802.

**ESI-TOF**:  $m/z$  für  $[\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{N}^+]$  = ber. 306.316, gef. 306.317.

## 8.5. *N,N*-Diallyl-dodecylammonio-*N*-propylsulfonat (DDsulfo)

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an YANG *et al.*<sup>[182]</sup>

Die Reaktion wurde unter Schutzgasatmosphäre durchgeführt.

Es wurden 177 mg (0.667 mmol, 1.0 eq.) *N,N*-Diallyl-*N*-dodecylamin (Abschnitt 8.2.4) und 81.2 mg (0.665 mmol, 1.0 eq.) 1,3-Propansulton in 1.00 mL wasserfreiem Chloroform gelöst und unter Rühren für 96 h auf 60 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand zwei Mal in 1 mL Diethylether suspendiert und der farblose Feststoff mehrfach mit Diethylether gewaschen. Der farblose Feststoff wurde unter vermindertem Druck getrocknet.

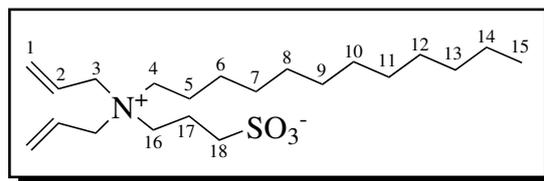
**Ausbeute** = 79 % (205 mg, 0.529 mmol).

**Aussehen** = farbloser Feststoff.

**Summenformel** = C<sub>21</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>3</sub>S.

**Molekulare Masse** = 387.62  $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ .

**Smp.** = 118 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 6.02 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 17.3, 10.1, 7.3 Hz, 2H, H-2), 5.76-5.68 (m, 4H, H-1), 3.97 (qd, <sup>3</sup>*J* = 14.0, 7.2 Hz, 4H, H-3), 3.66-3.62 (m, 2H, H-16), 3.14-3.10 (m, 2H, H-4), 2.92 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.5 Hz, 2H, H-18), 2.34-2.22 (m, 2H, H-17), 1.84-1.70 (m, 2H, H-5), 1.35-1.29 (m, 4H, H-6 & H-7), 1.28-1.20 (m, 14H, H-8 bis H-14), 0.87 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 3H, H-15).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 129.4 (C-1), 124.2 (C-2), 61.3 (C-3), 58.9 (C-4), 58.1 (C-16), 47.4 (C-18), 32.0, 29.7, 29.6, 29.4, 29.2, 26.6, 22.8, 22.0 (C-5), 19.0 (C-17), 14.2 (C-15).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2956, 2923, 2853, 1643, 1467, 1259, 1208, 1196, 1171, 1034, 726.

**ESI-TOF**: *m/z* für [C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>NO<sub>3</sub>S] = ber. 388.289, gef. 388.291.

## 8.6. Verkapselung und Phasentransfer

### 8.6.1. Bildung inverser Mizellen

Es wurde eine 17.8 mmolare Lösung des Mizellbildners in einem organischen Lösungsmittel hergestellt. Anschließend wurde das Gemisch für 10 Min auf 50 °C erwärmt um eine vollständige Löslichkeit des Mizellbildners zu erzwingen. Zur klaren Lösung wurde eine wässrige Fluoreszenzfarbstoff-Lösung eingespritzt, das Gemisch 1 Min kräftig geschüttelt und über Nacht stehen gelassen. Am Folgetag wurde die Lösung mithilfe eines 0.2 µm PTFE-Spritzenfilters in eine Quartzküvette (10x10 mm) überführt und im DLS vermessen.

### 8.6.2. Photochemische Bestrahlung

Zu der Lösung aus quartärem Ammoniumsalz und Fluoreszenzfarbstoff (Abschnitt 8.6.1) in einer Quartzküvette (10x10 mm) wurden der Photoinitiator DMPA (2 wt%) und ein Polythiol zugegeben und für unterschiedliche Reaktionszeiten unter Rühren im UV-Reaktor bestrahlt. Im Reaktor wurden vier Leuchtmittel der Firma Philips (PL-S 9W BLB/2P) mit je 1.23 mW UV-A Leistung (14%) verwendet. Anschließend wurden mithilfe eines 0.2 µm PTFE-Spritzenfilters größere Überstrukturen abgetrennt und die gecross-linkte Lösung im DLS-Spektrometer vermessen.

### 8.6.3. Interkalation und zweiter Phasentransfer

Es wurden 600 µL der gecross-linkten THF-Lösung aus Mizellbildner, Farbstoff und PETMP sowie 600 µL einer 88.3 mmolaren PMAcOD-Lösung in Chloroform zusammengegeben und das Lösungsmittel des Gemischs unter vermindertem Druck bis zur Trockne entfernt. Zum farbigen Rückstand wurden 1.96 mL einer 100 mmolaren NaOH-Lösung gegeben und das Gemisch für 10 Min im Trockenschrank auf 50 °C erwärmt. Der Rückstand löste sich nahezu vollständig und wurde bis zum vollständigen Lösen kräftig geschüttelt. Durch die Zugabe von 1000 µL einer 100 mmolaren HCl-Lösung wurde ein nahezu neutraler pH-Wert eingestellt. Während der Zugabe der Säure bildete sich ein farbloser Niederschlag, der sich beim Durchmischen vollständig löste. Zum Abtrennen von nicht interkalierten inversen Mizellen und PMAcOD wurde

die wässrige Lösung vier Mal mit jeweils 1000 µL Chloroform gewaschen. Die wässrige Phase wurde abgenommen und für 30 Minuten bei 40 °C und 100 mbar gerührt um restliches Chloroform abzutrennen. Abschließend wurde die klare gefärbte Lösung für 5 Min bei 5000 g zentrifugiert und spritzenfiltriert.

#### **8.6.4. Toxizitätstests**

Die Bestimmung der Zytotoxizität der wasserlöslichen Konstrukte erfolgte mithilfe des Resazurin Assays an HeLa- und HepG2-Zelllinien in 96-Well Platten. Die Zellviabilität wurde durch die Fluoreszenzmessung mit einem TECAN INFINITE M200 bestimmt. Die Anregung erfolgte mit 560 nm und die Emission wurde bei 590 nm gemessen.

#### **8.6.5. Zelluläre Aufnahme in LSECs**

Die Untersuchungen zur selektiven Aufnahme der Konstrukte in LSECs wurden von Dr. Markus Heine (Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf) durchgeführt.

Dazu wurden Wildtyp-Mäuse narkotisiert, die Bauchdecke geöffnet und die Maus auf einem Glasträger fixiert. Der Glasträger wurde auf einem NIKON ECLIPSE TI Intravitalmikroskop platziert und anschließend 100 µL der Nano-Carrier Lösung in die Schwanzvene der Maus injiziert. Auf Grundlage des verwendeten Fluoreszenzfarbstoffs erfolgte die Anregung mit 561 nm.



## 9. Literaturverzeichnis

- [1] R. W. Jansen, G. Molema, G. Harms, J. K. Kruijt, T. J. van Berkel, M. J. Hardonk, D. K. Meijer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *180*, 23–32.
- [2] R. Li, A. Oteiza, K. K. Sørensen, P. McCourt, R. Olsen, B. Smedsrød, D. Svistounov, *Am. J. Physiol. Gastro-intest. Liver Physiol.* **2011**, *300*, G71–G81.
- [3] T. Seternes, K. Sørensen, B. Smedsrød, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99*, 7594–7597.
- [4] B. Beutler, *Mol. Immunol.* **2004**, *40*, 845–859.
- [5] F. A. Bonilla, H. C. Oettgen, *J. Allergy Clin. Immunol.* **2010**, *125*, 33–40.
- [6] S. E. Turvey, D. H. Broide, *J. Allergy Clin. Immunol.* **2010**, *125*, 24–32.
- [7] D. L. Jacobson, S. J. Gange, N. R. Rose, N. M. Graham, *Clinical immunology and immunopathology* **1997**, *84*, 223–243.
- [8] P. Marrack, J. Kappler, B. L. Kotzin, *Nat. Med.* **2001**, *7*, 899–905.
- [9] G. Tiwari, R. Tiwari, B. Sriwastawa, L. Bhati, S. Pandey, P. Pandey, S. K. Banerjee, *Int. J. Pharm. Inv.* **2012**, *2*, 2.
- [10] C. Pitt, *Int. J. Pharm.* **1990**, *59*, 173–196.
- [11] T. Efferth, *Molekulare Pharmakologie und Toxikologie: Biologische Grundlagen von Arzneimitteln und Giften*, Springer-Verlag, **2007**.
- [12] C. Demetzos, *Pharmaceutical Nanotechnology*, Springer, **2016**.
- [13] Z. Chen, *Trends Mol. Med.* **2010**, *16*, 594–602.
- [14] M. L. Flenniken, D. A. Willits, A. L. Harmsen, L. O. Liepold, A. G. Harmsen, M. J. Young, T. Douglas, *Chemistry & Biology* **2006**, *13*, 161–170.

- [15] D. H. Adams, B. Eksteen, S. M. Curbishley, *Gut* **2008**, *57*, 838–848.
- [16] T. Lalor, D. Adams, *Expert Rev. Mol. Med.* **2002**, *4*, 1–15.
- [17] A. M. Bilate, J. J. Lafaille, *Annu. Rev. Immunol.* **2012**, *30*, 733–758.
- [18] K. Wing, S. Sakaguchi, *Nat. Immunol.* **2010**, *11*, 7–13.
- [19] A. Carambia, B. Freund, D. Schwinge, M. Heine, A. Laschtowitz, S. Huber, D. C. Wraith, T. Korn, C. Schramm, A. W. Lohse, *et al.*, *J. Hepatol.* **2014**, *61*, 594–599.
- [20] E. Wisse, R. De Zanger, R. Jacobs, R. McCuskey, *Scan. Electron Microsc.* **1983**, 1441–1452.
- [21] I. Arias, *Prog. Liver Dis.* **1990**, *9*, 11–26.
- [22] V. C. Cogger, N. J. Hunt, D. G. Le Couteur, *The Liver: Biology and Pathobiology* **2020**, 435–443.
- [23] A. W. Thomson, P. A. Knolle, *Nat. Rev. Immunol.* **2010**, *10*, 753–766.
- [24] D. Knook, E. Wisse, *Sinusoidal liver cells: proceedings of the Second International Kupffer Cell Symposium held in Noordwijkerhout, the Netherlands, 29 August-2 September, 1982*, Elsevier Biomedical Press, **1982**.
- [25] S. M. Moghimi, C. Porter, I. Muir, L. Illum, S. Davis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *177*, 861–866.
- [26] I. N. Crispe, *Annu. Rev. Immunol.* **2009**, *27*, 147–163.
- [27] N. Von Oppen, A. Schurich, S. Hegenbarth, D. Stabenow, R. Tolba, R. Weiskirchen, A. Geerts, W. Kolanus, P. Knolle, L. Diehl, *Hepatology* **2009**, *49*, 1664–1672.
- [28] A. Limmer, J. Ohl, C. Kurts, H.-G. Ljunggren, Y. Reiss, M. Groettrup, F. Momberg, B. Arnold, P. A. Knolle, *Nat. Med.* **2000**, *6*, 1348–1354.
- [29] L. Diehl, A. Schurich, R. Grochtmann, S. Hegenbarth, L. Chen, P. A. Knolle, *Hepatology* **2008**, *47*, 296–305.
- [30] A. Carambia, B. Freund, D. Schwinge, O. T. Bruns, S. C. Salmen, H. Ittrich, R. Reimer, M. Heine, S. Huber, C. Waurisch, *et al.*, *J. Hepatol.* **2015**, *62*, 1349–1356.

- [31] S. Murthy, M. Satheesh, *Indian Drugs* **1997**, *34*, 224–226.
- [32] N. Lee, T. Hyeon, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2575–2589.
- [33] A. Feld, J.-P. Merkl, H. Kloust, S. Flessau, C. Schmidtke, C. Wolter, J. Ostermann, M. Kampferbeck, R. Eggers, A. Mews, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 12468–12471; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 12645–12648.
- [34] C.-H. Su, H.-S. Sheu, C.-Y. Lin, C.-C. Huang, Y.-W. Lo, Y.-C. Pu, J.-C. Weng, D.-B. Shieh, J.-H. Chen, C.-S. Yeh, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2139–2146.
- [35] U. I. Tromsdorf, N. C. Bigall, M. G. Kaul, O. T. Bruns, M. S. Nikolic, B. Mollwitz, R. A. Sperling, R. Reimer, H. Hohenberg, W. J. Parak, *et al.*, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 2422–2427.
- [36] L. Scarabelli, M. Schumacher, D. Jimenez de Aberasturi, J.-P. Merkl, M. Henriksen-Lacey, T. Milagres de Oliveira, M. Janschel, C. Schmidtke, S. Bals, H. Weller, *et al.*, *Adv. Funct. Mater.* **2019**, *29*, 1809071.
- [37] F. Papastefanaki, I. Jakovcevski, N. Poulia, N. Djogo, F. Schulz, T. Martinovic, D. Ciric, G. Loers, T. Vossmeier, H. Weller, *et al.*, *Mol. Ther.* **2015**, *23*, 993–1002.
- [38] Z. Qin, J. C. Bischof, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1191–1217.
- [39] M. J. Sailor, J.-H. Park, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 3779–3802.
- [40] W. Liu, H. S. Choi, J. P. Zimmer, E. Tanaka, J. V. Frangioni, M. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14530–14531.
- [41] T. Jamieson, R. Bakhshi, D. Petrova, R. Pocock, M. Imani, A. M. Seifalian, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4717–4732.
- [42] N. Chen, Y. He, Y. Su, X. Li, Q. Huang, H. Wang, X. Zhang, R. Tai, C. Fan, *Biomaterials* **2012**, *33*, 1238–1244.
- [43] O. T. Bruns, H. Ittrich, K. Peldschus, M. G. Kaul, U. I. Tromsdorf, J. Lauterwasser, M. S. Nikolic, B. Mollwitz, M. Merkel, N. C. Bigall, *et al.*, *Nature Nanotech.* **2009**, *4*, 193–201.
- [44] U. I. Tromsdorf, O. T. Bruns, S. C. Salmen, U. Beisiegel, H. Weller, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 4434–4440.

- [45] M. G. Kaul, J. Salamon, T. Knopp, H. Ittrich, G. Adam, H. Weller, C. Jung, *Phys. Med. Biol.* **2018**, *63*, 064001.
- [46] C. Schmidtke, R. Eggers, R. Zierold, A. Feld, H. Kloust, C. Wolter, J. Ostermann, J.-P. Merkl, T. Schotten, K. Nielsch, *et al.*, *Langmuir* **2014**, *30*, 11190–11196.
- [47] B. Freund, U. I. Tromsdorf, O. T. Bruns, M. Heine, A. Giemsa, A. Bartelt, S. C. Salmen, N. Raabe, J. Heeren, H. Ittrich, *et al.*, *ACS Nano* **2012**, *6*, 7318–7325.
- [48] M.-E. Aubin-Tam, K. Hamad-Schifferli, *Biomed. Mater.* **2008**, *3*, 034001.
- [49] D. Bargheer, J. Nielsen, G. Gébel, M. Heine, S. C. Salmen, R. Stauber, H. Weller, J. Heeren, P. Nielsen, *Beilstein J. Nanotechnol.* **2015**, *6*, 36–46.
- [50] Z. Zhou, X. Ma, E. Jin, J. Tang, M. Sui, Y. Shen, E. A. Van Kirk, W. J. Murdoch, M. Radosz, *Biomaterials* **2013**, *34*, 5722–5735.
- [51] T. L. Doane, C.-H. Chuang, R. J. Hill, C. Burda, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 317–326.
- [52] C. K. Poon, O. Tang, X.-M. Chen, B. T. Pham, G. Gody, C. A. Pollock, B. S. Hawkett, S. Perrier, *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 965–973.
- [53] F. Caruso, H. Möhwald, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6039–6046.
- [54] H. Lee, H. Mok, S. Lee, Y.-K. Oh, T. G. Park, *J. Control. Release* **2007**, *119*, 245–252.
- [55] Z. Cao, X. Zhou, G. Wang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 28888–28896.
- [56] S. Z. Mohammady, M. Pouzot, R. Mezzenga, *Biophys. J.* **2009**, *96*, 1537–1546.
- [57] F. Lauterbach, V. Abetz, *Soft Matter* **2020**, *16*, 2321–2331.
- [58] K. A. Kosakowska, B. K. Casey, J. N. Albert, Y. Wang, H. S. Ashbaugh, S. M. Grayson, *Biomacromolecules* **2018**, *19*, 3177–3189.
- [59] G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, *Science* **1991**, *254*, 1312–1319.
- [60] N. Malik, R. Wiwattanapatapee, R. Klopsch, K. Lorenz, H. Frey, J. Weener, E. Meijer, W. Paulus, R. Duncan, *J. Control. Release* **2000**, *65*, 133–148.
- [61] C. S. Peyratout, L. Daehne, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3762–3783.

- [62] L. Zhao, J. Liu, L. Zhang, Y. Gao, Z. Zhang, Y. Luan, *Int. J. Pharm.* **2013**, *452*, 108–115.
- [63] M. C. Woodle, D. D. Lasic, *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1113*, 171–199.
- [64] J. Senior, C. Delgado, D. Fisher, C. Tilcock, G. Gregoriadis, *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, *1062*, 77–82.
- [65] M. Yokoyama, *J. Artif. Organs* **2005**, *8*, 77–84.
- [66] H. Yamamoto, T. Takada, Y. Yamanashi, M. Ogura, Y. Masuo, M. Harada-Shiba, H. Suzuki, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–12.
- [67] J. A. Kulkarni, S. B. Thomson, J. Zaifman, J. Leung, P. K. Wagner, A. Hill, Y. Y. C. Tam, P. R. Cullis, T. L. Petkau, B. R. Leavitt, *Nanoscale* **2020**, *12*, 23959–23966.
- [68] J. A. Kulkarni, D. Witzigmann, S. Chen, P. R. Cullis, R. van der Meel, *Acc. Chem. Res.* **2019**, *52*, 2435–2444.
- [69] J. A. Kulkarni, M. M. Darjuan, J. E. Mercer, S. Chen, R. Van Der Meel, J. L. Thewalt, Y. Y. C. Tam, P. R. Cullis, *ACS Nano* **2018**, *12*, 4787–4795.
- [70] G. Decher, J.-D. Hong, in *Makromol. Chem. Macromol. Symp.*, , *Bd. 46Bd. 46*, Wiley Online Library, **1991** S. 321–327.
- [71] G. Decher, *Science* **1997**, *277*, 1232–1237.
- [72] F. Caruso, R. A. Caruso, H. Möhwald, *Science* **1998**, *282*, 1111–1114.
- [73] F. Caruso, R. A. Caruso, H. Möhwald, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3309–3314.
- [74] Y. Ciro, J. Rojas, J. Oñate-Garzon, C. H. Salamanca, *Polymers* **2019**, *11*, 1758.
- [75] C. Tan, M. Arshadi, M. C. Lee, M. Godec, M. Azizi, B. Yan, H. Eskandarloo, T. W. Deisenroth, R. H. Darji, T. V. Pho, *et al.*, *ACS Nano* **2019**, *13*, 9016–9027.
- [76] C. Tanford, *J. Phys. Chem.* **1972**, *76*, 3020–3024.
- [77] J. N. Israelachvili, D. J. Mitchell, B. W. Ninham, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2* **1976**, *72*, 1525–1568.
- [78] H. Tartar, *J. Phys. Chem.* **1955**, *59*, 1195–1199.
- [79] W. Song, Z. Tang, M. Li, S. Lv, H. Yu, L. Ma, X. Zhuang, Y. Huang, X. Chen, *Macromol. Biosci.* **2012**, *12*, 1375–1383.

- [80] O. C. Andrén, Y. Zhang, P. Lundberg, C. J. Hawker, A. M. Nystrom, M. Malkoch, *Chem. Mater.* **2017**, *29*, 3891–3898.
- [81] B. Wang, W. Jiang, H. Yan, X. Zhang, L. Yang, L. Deng, G. K. Singh, J. Pan, *Int. J. Nanomedicine* **2011**, *6*, 1443.
- [82] N. M. Correa, J. J. Silber, R. E. Riter, N. E. Levinger, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4569–4602.
- [83] U. Paiphansiri, J. Dausend, A. Musyanovych, V. Mailänder, K. Landfester, *Macromol. Biosci.* **2009**, *9*, 575–584.
- [84] S. Jana, A. Saha, T. K. Paira, T. K. Mandal, *J. Phys. Chem. B* **2016**, *120*, 813–824.
- [85] S. Basu, D. R. Vutukuri, S. Shyamroy, B. S. Sandanaraj, S. Thayumanavan, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9890–9891.
- [86] S. Basu, D. R. Vutukuri, S. Thayumanavan, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16794–16795.
- [87] M. Pileni, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 6961–6973.
- [88] H. R. Rabie, T. Suyyagh, J. H. Vera, *Sep. Sci. Technol.* **1998**, *33*, 241–257.
- [89] Y.-O. Shin, J. H. Vera, *Biotechnol. Bioeng.* **2002**, *80*, 537–543.
- [90] W. Wang, M. Weber, J. Vera, *Biotechnol. Bioeng.* **1995**, *46*, 343–350.
- [91] S. Zhang, Y. Zhao, *ACS Nano* **2011**, *5*, 2637–2646.
- [92] A. Rösler, G. W. Vandermeulen, H.-A. Klok, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, 270–279.
- [93] Y. E. Shapiro, E. G. Pykhiteeva, G. V. Fedorova, *Russian J. Bioorganic. Chem.* **1997**, *23*, 174–182.
- [94] Y. E. Shapiro, E. G. Pykhiteeva, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1998**, *74*, 67–84.
- [95] S. Bryan, V. Nathaniel, W. Kristina, A. Evangelia, A. Joshua, *et al.*, *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 2020–2031.
- [96] J. Zhang, B. Farias-Mancilla, I. Kulai, S. Hoepfener, B. Lonetti, S. Prévost, J. Ulbrich, M. Destarac, O. Colombani, U. S. Schubert, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 4925–4930; *Angew. Chem.* **2021**, *133*, 4975–4981.

- [97] L. D. Blackman, K. E. Doncom, M. I. Gibson, R. K. O'Reilly, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 2860–2871.
- [98] K. Song, X. Zhao, Y. Xu, H. Liu, *J. Mater. Sci.* **2013**, *48*, 5750–5755.
- [99] J. Dou, Q. Zhang, L. Jian, J. Gu, *Colloid Polym. Sci.* **2010**, *288*, 1751–1756.
- [100] F. Lauterbach, M. Rubens, V. Abetz, T. Junkers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 14260–14264; *Angew. Chem.* **2008**, *130*, 14456–14460.
- [101] J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers, *Organic Chemistry*, 2. Aufl., Oxford University Press Inc., **2012**.
- [102] T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55–75.
- [103] D. Wöhrle, M. W. Tausch, W.-D. Stohrer, *Photochemie: Konzepte, Methoden, Experimente*, Wiley-VCH, **1998**.
- [104] J. Franck, E. Dymond, *Trans Faraday Society* **1926**, *21*, 536–542.
- [105] E. Condon, *Phys. Rev.* **1926**, *28*, 1182.
- [106] E. U. Condon, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1927**, *13*, 462.
- [107] E. U. Condon, *Phys. Rev.* **1928**, *32*, 858.
- [108] M. Kasha, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 14–19.
- [109] G. Ciamician, P. Silber, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1900**, *33*, 2911–2913.
- [110] A. Albini, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2021**, *20*, 161–181.
- [111] N. Yang, D.-D. H. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2913–2914.
- [112] N. Hoffmann, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1052–1103.
- [113] F. D. Lewis, J. G. Magyar, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2102–2107.
- [114] H.-G. Heine, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3411–3414.
- [115] H.-G. Heine, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 4755–4758.
- [116] H.-G. Heine, H.-J. Rosenkranz, H. Rudolph, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1972**, *11*, 974–978; *Angew. Chem.* **1972**, *84*, 1032–1036.

- [117] C. E. Hoyle, T. Y. Lee, T. Roper, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 5301–5338.
- [118] M. Sandner, C. Osborn, *Tetrahedron Lett.* **1974**, *15*, 415–418.
- [119] T. Posner, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1905**, *38*, 646–657.
- [120] C. Morgan, F. Magnotta, A. Ketley, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1977**, *15*, 627–645.
- [121] F. Ashworth, G. N. Burkhardt, *J. Chem. Soc.* **1928**, 1791–1802.
- [122] C. Marvel, R. Chambers, *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 993.
- [123] N. B. Cramer, T. Davies, A. K. O'Brien, C. N. Bowman, *Macromolecules* **2003**, *36*, 4631–4636.
- [124] M. Uygun, M. A. Tasdelen, Y. Yagci, *Macromol. Chem. Phys.* **2010**, *211*, 103–110.
- [125] K. L. Killops, L. M. Campos, C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5062–5064.
- [126] T. M. Roper, C. Guymon, E. Jönsson, C. E. Hoyle, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 6283–6298.
- [127] J. J. Lamberts, D. R. Schumacher, D. Neckers, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5879–5883.
- [128] D. Xu, D. Neckers, *J. Photochem. Photobiol. A* **1987**, *40*, 361–370.
- [129] R. F. Kubin, A. N. Fletcher, *J. Lumin.* **1982**, *27*, 455–462.
- [130] K. Drexhage, *J. Res. Natl. Bur. Stand. Sec. A, Phys. Chem.* **1976**, *80*, 421.
- [131] C. Preininger, G. J. Mohr, I. Klimant, O. S. Wolfbeis, *Anal. Chim. Acta* **1996**, *334*, 113–123.
- [132] J. J. Lamberts, D. Neckers, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7465–7467.
- [133] F. Amat-Guerri, M. López-González, R. Martínez-Utrilla, R. Sastre, *J. Photochem. Photobiol. A* **1990**, *53*, 199–210.
- [134] V. Korobov, A. Chibisov, *J. Photochem.* **1978**, *9*, 411–424.
- [135] Y. Liu, J. Luo, M. Wang, *J. Lumin.* **2021**, 118567.

- [136] L. A. A. Hussein, N. V. Fares, A. M. El-Kosasy, *J. AOAC Int.* **2014**, *97*, 1175–1182.
- [137] S. Vrignaud, J.-P. Benoit, P. Saulnier, *Biomaterials* **2011**, *32*, 8593–8604.
- [138] X. Wang, J. Zhu, J. Wang, G. Zeng, *J. Dispers. Sci. Technol.* **2008**, *29*, 83–88.
- [139] T. Pellegrino, L. Manna, S. Kudera, T. Liedl, D. Koktysh, A. L. Rogach, S. Keller, J. Rädler, G. Natile, W. J. Parak, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 703–707.
- [140] J. Mosafer, K. Abnous, M. Tafaghodi, H. Jafarzadeh, M. Ramezani, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, *514*, 146–154.
- [141] R. Di Corato, A. Quarta, P. Piacenza, A. Ragusa, A. Figuerola, R. Buonsanti, R. Cingolani, L. Manna, T. Pellegrino, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1991–1996.
- [142] E. V. Shtykova, X. Huang, X. Gao, J. C. Dyke, A. L. Schmucker, B. Dragnea, N. Remmes, D. V. Baxter, B. Stein, P. V. Konarev, *et al.*, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 16809–16817.
- [143] I. Reyes, M. M. Palacio, C. J. Yarce, J. Oñate-Garzón, C. H. Salamanca, *Polymers* **2020**, *12*, 1036.
- [144] N. A. Bongartz, J. W. Goodby, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6452–6454.
- [145] E. Riedel, *Allgemeine und anorganische Chemie*, Walter de Gruyter, **2010**.
- [146] I. Juranić, *Croat. Chem. Acta* **2014**, *87*, 343–347.
- [147] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 7. Aufl., Georg Thieme Verlag, **2005**.
- [148] G.-W. Yang, Y.-Y. Zhang, R. Xie, G.-P. Wu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 16910–16917; *Angew. Chem.* **2020**, *132*, 17058–17065.
- [149] K. Gollnick, G. Schenck, *Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 507–526.
- [150] Y. Yao, X. Dai, Y. Tan, Y. Chen, C. Liao, T. Yang, Y. Chen, Y. Yu, S. Zhang, *Adv. Healthcare Mater.* **2021**, *10*, 2001430.
- [151] M. Kaszuba, D. McKnight, M. T. Connah, F. K. McNeil-Watson, U. Nobbmann, *J. Nanopart. Res.* **2008**, *10*, 823–829.
- [152] S. Bhattacharjee, *J. Control. Release* **2016**, *235*, 337–351.
- [153] R. Beer, K. Davis, R. Hodgson, *Chem. Commun.* **1970**, 840–841.

- [154] L. Wang, G. Fang, D. Ye, D. Cao, *Sens. Actuators, B* **2014**, *195*, 572–580.
- [155] M. Masteri-Farahani, K. Khademabbasi, *J. Lumin.* **2018**, *204*, 130–134.
- [156] M. Szabelski, R. Luchowski, Z. Gryczynski, P. Kapusta, U. Ortmann, I. Gryczynski, *Chem. Phys. Lett.* **2009**, *471*, 153–159.
- [157] A. Chmyrov, T. Sandén, J. Widengren, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 11282–11291.
- [158] A. Watkins, *J. Phys. Chem.* **1974**, *78*, 2555–2558.
- [159] R. Kapoor, M. Jain, V. Mishra, *J. Lumin.* **1981**, *22*, 429–439.
- [160] G. Dutt, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 7220–7226.
- [161] P. Mukerjee, K. J. Mysels, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 2937–2943.
- [162] N. Anton, H. Mojzisoava, E. Porcher, J.-P. Benoit, P. Saulnier, *Int. J. Pharm.* **2010**, *398*, 204–209.
- [163] T. Bayraktutan, K. Meral, Y. Onganer, *J. Lumin.* **2014**, *145*, 925–929.
- [164] Y. Iino, Y. Ogata, K. Shigehara, E. Tsuchida, *Makromol. Chem.* **1985**, *186*, 923–931.
- [165] H. C. Kolb, M. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056–2075.
- [166] N. B. Cramer, J. P. Scott, C. N. Bowman, *Macromolecules* **2002**, *35*, 5361–5365.
- [167] C. Decker, *Prog. Polym. Sci.* **1996**, *21*, 593–650.
- [168] G. Zhao, S. Kaur, T. Wang, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 3291–3294.
- [169] C. M. Q. Le, G. Schrodj, I. Ndao, B. Bessif, B. Heck, T. Pfohl, G. Reiter, J. Elgoyhen, R. Tomovska, A. Chemtob, *Macromol. Rapid Commun.* **2021**, 2100740.
- [170] S. Kaur, G. Zhao, E. Busch, T. Wang, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 1955–1961.
- [171] A. Guerrero-Corella, A. M. Martinez-Gualda, F. Ahmadi, E. Ming, A. Fraile, J. Alemán, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 10463–10466.
- [172] H. Cui, W. Wei, D. Yang, Y. Zhang, H. Zhao, L. Wang, H. Wang, *Green Chem.* **2017**, *19*, 3520–3524.
- [173] H. M. Jung, K. E. Price, D. T. McQuade, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5351–5355.

- [174] M. G. Soliman, B. Pelaz, W. J. Parak, P. Del Pino, *Chem. Mater.* **2015**, *27*, 990–997.
- [175] E. S. Speranskaya, N. V. Beloglazova, P. Lenain, S. De Saeger, Z. Wang, S. Zhang, Z. Hens, D. Knopp, R. Niessner, D. V. Potapkin, *et al.*, *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *53*, 225–231.
- [176] A. Swami, A. Kumar, M. Sastry, *Langmuir* **2003**, *19*, 1168–1172.
- [177] J. Hühn, C. Carrillo-Carrion, M. G. Soliman, C. Pfeiffer, D. Valdeperez, A. Masood, I. Chakraborty, L. Zhu, M. Gallego, Z. Yue, *et al.*, *Chem. Mater.* **2017**, *29*, 399–461.
- [178] M. Steuter, Dissertation, Universität Hamburg, **2015**.
- [179] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512–7515.
- [180] F. Rullens, M. Devillers, A. Laschewsky, *Macromol. Chem. Phys.* **2004**, *205*, 1155–1166.
- [181] Moray, *et al.*, Patentschrift WO2000006610.
- [182] L. Yang, G. Sundaresan, M. Sun, P. Jose, D. Hoffman, P. R. McDonagh, N. Lamichhane, C. S. Cutler, J. M. Perez, J. Zweit, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 1421–1431.



# A. Anhang

## Auflistung der verwendeten Gefahrstoffe inklusive H- und P-Sätzen

Tab. A.1.: Liste der verwendeten Chemikalien.

Substanz	GHS - Symbole	H-Sätze	P-Sätze
Acetonitril	02, 07	225, 302, 312, 319, 332	280, 301+312, 302+352, 304+340, 305+351+338
Allylbromid	02, 05, 06, 08, 09	225, 314, 340, 350, 400, 301+331	210, 273, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Allyliodid	02, 05	225, 314	210, 280, 301+330+331, 303+361+353, 305+351+338
Bengalrosa Natriumsalz	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäss der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
1-Bromdecan	07	315, 319	302+352, 305+351+338
1-Bromdodecan	07	315, 319, 335	261, 280, 302+352, 305+351+338

Tab. A.1.: Liste der verwendeten Chemikalien (Fortsetzung).

<b>Substanz</b>	<b>GHS - Symbole</b>	<b>H-Sätze</b>	<b>P-Sätze</b>
1-Bromhexadecan	07	315	302+352
1-Bromhexan	02, 07	226, 315, 319, 335	210, 233, 240, 241, 303+361+353, 305+351+338
1-Bromoctan	09	410	273, 501
1-Bromtetradecan	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäss der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
1,4-Butandithiol	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäss der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
Chloroform	06, 08	302, 315, 319, 331, 336, 351, 361d, 372	260, 280, 311, 302+352, 304+340, 305+351+338, 403+233
Chloroform-d1	06, 08	302, 315, 319, 331, 351, 361d, 372	260, 280, 301+312+330, 304+340+311, 305+351+338, 403+233
Diallylamin	02, 05, 06	225, 311, 314, 302+332	210, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Dichlormethan	07, 08	315, 319, 336, 351	280, 302+352, 305+351+338, 308+313

Tab. A.1.: Liste der verwendeten Chemikalien (Fortsetzung).

<b>Substanz</b>	<b>GHS - Symbole</b>	<b>H-Sätze</b>	<b>P-Sätze</b>
Didodecylamin	07	315, 319	264, 280, 302+352, 305+351+338, 332+313, 337+313
2,2-Dimethoxy-2-phenylacetophenon	07, 08	302, 373, 412	260, 264, 270, 273, 314, 301+312
Eosin Y Dinatriumsalz	07	317, 319	261, 264, 272, 280, 302+352, 305+351+338
Ethylacetat	02, 07	225, 319, 336, EUH066	210, 243, 305+351+338
<i>n</i> -Hexan	02, 07, 08, 09	225, 304, 315, 336, 361f, 373, 411	202, 280, 303+361+353, 304+340, 308+313
1,6-Hexandithiol	Kein gefährlicher Stoff oder gefährliches Gemisch gemäss der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.		
1-Ioddecan	07	315, 319, 335	302+352, 305+351+338
1-Ioddodecan	07	315, 319	302+352, 305+351+338
1-Iodhexadecan	07, 09	315, 319, 335, 400	261, 273, 305+351+338
1-Iodhexan	05, 07	302, 315, 318, 335	261, 280, 305+351+338
1-Iodoctan	07	315, 319	302+352, 305+351+338
Kaliumcarbonat	07	315, 319, 335	302+352, 305+351+338

Tab. A.1.: Liste der verwendeten Chemikalien (Fortsetzung).

<b>Substanz</b>	<b>GHS - Symbole</b>	<b>H-Sätze</b>	<b>P-Sätze</b>
Pentaerythrittetrakis- (3-mercaptopropionat)	07, 09	302, 317, 410	261, 264, 273, 280, 301+312, 302+352
1,3-Propansulton	05, 06, 08	301, 312, 315, 318, 350	201, 202, 280, 301+310, 302+352+312, 305+351+338
Rhodamin B	05, 07	302, 318, 412	264, 270, 273, 280, 301+312, 305+351+338
Tetrahydrofuran	02, 07, 08	225, 302, 319, 335, 351, EUH019	210, 280, 305+351+338, 308+313
Toluol	02, 07, 08	225, 304, 315, 336, 361d, 373, 412	264, 280, 301+310, 304+340
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -didodecyl- ammoniumbromid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -di- decylammoniumbromid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -di- dodecylammoniumiodid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -di- decylammoniumiodid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dihexa- decylammoniumbromid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -di- hexylammoniumbromid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dioctyl- ammoniumbromid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	

Tab. A.1.: Liste der verwendeten Chemikalien (Fortsetzung).

<b>Substanz</b>	<b>GHS - Symbole</b>	<b>H-Sätze</b>	<b>P-Sätze</b>
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> -dioctyl- ammoniumiodid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N,N</i> - ditetradecyl- ammoniumbromid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -decylamin		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> - dodecylamin		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl-dodecyl- ammonio- <i>N</i> -- propylsulfonat		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> - hexadecylamin		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -hexylamin		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> -octylamin		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N</i> -Diallyl- <i>N</i> - tetradecylamin		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
PMaOD		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	
<i>N,N,N</i> -Triallyldodecyl- ammoniumbromid		Nicht vollständig geprüfter Stoff.	

## Wortlaut der H- und P-Sätze

<b>Bezeichnung</b>	<b>Gefahrenhinweis</b>
<b>H 200-Reihe</b>	<b>Physikalische Gefahren</b>
H200	Instabil, explosiv.
H201	Explosiv, Gefahr.
H202	Explosiv; große 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.
H206	Gefahr durch Feuer, Druckstoß oder Sprengstücke; erhöhte Explosionsgefahr, wenn das Desensibilisierungsmittel reduziert wird.
H207	Gefahr durch Feuer oder Sprengstücke; erhöhte Explosionsgefahr, wenn das Desensibilisierungsmittel reduziert wird.
H208	Gefahr durch Feuer; erhöhte Explosionsgefahr, wenn das Desensibilisierungsmittel reduziert wird.
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.
H232	Kann sich bei Kontakt mit Luft spontan entzünden.
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; Oxidationsmittel.
H272	Kann Brand verstärken; Oxidationsmittel.
H280	Enthält Gas unter Druck; kann bei Erwärmung explodieren.
H281	Enthält tiefkaltes Gas; kann Kälteverbrennungen oder -Verletzungen verursachen.
H290	Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

---

**H 300-Reihe**

**Gesundheitsgefahren**

H300	Lebensgefährlich bei Verschlucken.
H301	Giftig bei Verschlucken.
H302	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H304	Kann bei Verschlucken und 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 Augenschäden.
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 Atembeschwerden 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 beim Einatmen Krebs erzeugen.
H351	Kann vermutlich Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).

H360	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen (sofern bekannt, konkrete Wirkung angeben) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass die Gefährdung bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H360D	Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
H360Df	Kann das Kind im Mutterleib schädigen. Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H360F	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H360FD	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H360Fd	Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
H361	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen (sofern bekannt, konkrete Wirkung angeben) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass die Gefährdung bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H361d	Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
H361f	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H361fd	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
	Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
H362	Kann Säuglinge über die Muttermilch schädigen.
	Schädigt die Organe (oder alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H370	Kann die Organe schädigen (oder alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H371	Schädigt die Organe (alle betroffenen Organe nennen) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg angeben, wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H372	

H373	Kann die Organe schädigen (alle betroffenen Organe nennen) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg angeben, wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
H300 + H310	Lebensgefahr bei Verschlucken oder Hautkontakt.
H300 + H330	Lebensgefahr bei Verschlucken oder Einatmen.
H310 + H330	Lebensgefahr bei Hautkontakt oder Einatmen.
H300 + H310 + H330	Lebensgefahr bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen.
H301 + H311	Giftig bei Verschlucken oder Hautkontakt.
H301 + H331	Giftig bei Verschlucken oder Einatmen.
H311 + H331	Giftig bei Hautkontakt oder Einatmen.
H301 + H311 + H331	Giftig bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen.
H302 + H312	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Hautkontakt.
H302 + H332	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen.
H312 + H332	Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt oder Einatmen.
H302 + H312+ H332	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen.
<hr/>	
<b>H 400-Reihe</b>	<b>Umweltgefahren</b>
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 Wirkung.
H420	Schädigt die öffentliche Gesundheit und die Umwelt durch Ozonabbau in der äußeren Atmosphäre.
<b>EUH-Sätze</b>	<b>Ergänzende Gefahrenhinweise</b>
<hr/>	
EUH014	Reagiert heftig mit Wasser.
EUH018	Kann bei Verwendung explosionsfähige/-entzündbare Dampf/Luft-Gemische bilden.
EUH019	Kann explosionsfähige Peroxide bilden.
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.

EUH044	Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluss.
EUH066	Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen.
EUH070	Giftig bei Berührung mit den Augen.
EUH071	Wirkt ätzend auf die Atemwege.
EUH201	Enthält Blei. Nicht für den Anstrich von Gegenständen verwenden, die von Kindern gekaut oder gelutscht werden könnten.
EUH201A	Achtung! Enthält Blei.
EUH202	Cyanacrylat. Gefahr. Klebt innerhalb von Sekunden Haut und Augenlider zusammen. Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
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 gefährliche Dämpfe. Hinweise des Herstellers beachten. Sicherheitsanweisungen einhalten.
EUH208	Enthält (Name des sensibilisierenden Stoffes). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH209	Kann bei Verwendung leicht entzündbar werden.
EUH209A	Kann bei Verwendung entzündbar werden.
EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.
EUH401	Zur Vermeidung von Risiken für Mensch und Umwelt die Gebrauchsanleitung einhalten.

---

**P 100-Reihe**

**Allgemeines**

P101	Ist ärztlicher Rat erforderlich, Verpackung oder Kennzeichnungsetikett bereithalten.
P102	Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
P103	Lesen Sie sämtliche Anweisungen aufmerksam und befolgen Sie diese.

---

---

**P 200-Reihe**

**Prävention**

P201	Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202	Vor Gebrauch alle Sicherheitsratschläge lesen und verstehen.
P210	Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.
P211	Nicht gegen offene Flamme oder andere Zündquelle sprühen.
P212	Erhitzen unter Einschluss und Reduzierung des Desensibilisierungsmittels vermeiden.
P220	Von Kleidung und anderen brennbaren Materialien fernhalten.
P222	Keinen Kontakt mit Luft zulassen.
P223	Keinen Kontakt mit Wasser zulassen.
P230	Feucht halten mit ...
P231	Inhalt unter inertem Gas/... handhaben und aufbewahren.
P232	Vor Feuchtigkeit schützen.
P233	Behälter dicht verschlossen halten.
P234	Nur in Originalverpackung aufbewahren.
P235	Kühl halten.
P240	Behälter und zu befüllende Anlage erden.
P241	Explosionssgeschützte [elektrische/Lüftungs-/Beleuchtungs-/. . . ] Geräte verwenden.
P242	Funkenarmes Werkzeug verwenden
P243	Maßnahmen gegen elektrostatische Entladungen treffen.
P244	Ventile und Ausrüstungsteile öl- und fettfrei halten.
P250	Nicht schleifen/stoßen/reiben/...
P251	Nicht durchstechen oder verbrennen, auch nicht nach Gebrauch.
P260	Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P261	Einatmen von Staub/Rauch/Gas/-Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
P262	Nicht in die Augen, auf die Haut oder auf die Kleidung gelangen lassen.
P263	Berührung während Schwangerschaft und Stillzeit vermeiden.

P264	Nach Handhabung ... 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/ Gehörschutz/... tragen.
P282	Schutzhandschuhe mit Kälteisolierung/ Gesichtsschild/Augenschutz tragen.
P283	Schwer entflammbare oder flamm- hemmende Kleidung tragen.
P284	[Bei unzureichender Lüftung] Atemschutz tragen.
P231+P232	Inhalt unter inertem Gas/... handhaben und aufbewahren. Vor Feuchtigkeit schützen.

---

**P 300-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 KONTAKT MIT DER KLEIDUNG:
P308	BEI Exposition oder falls betroffen:
P310	Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/... anrufen.
P311	GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/... anrufen.
P312	Bei Unwohlsein GIFTINFORMATI- ONSZENTRUM/Arzt/... anrufen.
P313	Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P314	Bei Unwohlsein ärztlichen Rat ein- holen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P315	Sofort ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P320	Besondere Behandlung dringend erforderlich (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P321	Besondere Behandlung (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P330	Mund ausspülen.

- P331 KEIN Erbrechen herbeiführen.
- P332 Bei Hautreizung:
- P333 Bei Hautreizung oder -ausschlag:
- P334 In kaltes Wasser tauchen [oder 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 betroffene Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.
- P342 Bei Symptomen der Atemwege:
- P351 Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen.
- P352 Mit viel Wasser/... waschen.
- P353 Haut mit Wasser abwaschen [oder 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.
- P363 Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
- P364 Und vor erneutem Tragen waschen.
- P370 Bei Brand:
- P371 Bei Großbrand und großen Mengen:
- P372 Explosionsgefahr.
- P373 KEINE Brandbekämpfung, wenn das Feuer explosive Stoffe/Gemische/ bzw. Erzeugnisse erreicht.
- P375 Wegen Explosionsgefahr Brand aus der 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 Bei Undichtigkeit alle Zündquellen entfernen.

P390	Ausgetretene Mengen zur Vermeidung von Materialschäden aufnehmen.
P391	Ausgetretene Mengen auffangen.
P301+P310	BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/... anrufen.
P301+P312	BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/... anrufen.
P301+P330+P331	BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.
P302+P334	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: In kaltes Wasser tauchen oder nassen Verband anlegen.
P302+P335+P334	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Lose Partikel von der Haut abbürsten. In kaltes Wasser tauchen [oder nassen Verband anlegen].
P302+P352	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser/... waschen.
P303+P361+P353	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen [oder duschen].
P304+P340	BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.
P305+P351+P338	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
P306+P360	BEI KONTAKT MIT DER KLEIDUNG: Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abwaschen und danach Kleidung ausziehen.
P308+P311	BEI Exposition oder falls betroffen: GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/... anrufen.
P308+P313	BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P332+P313	Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P333+P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P336+P315	Vereiste Bereiche mit lauwarmem Wasser auftauen. Betroffenen Bereich nicht reiben. Sofort ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P337+P313	Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P342+P311	Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/... anrufen.
P361+P364	Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
P362+P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
P370+P376	Bei Brand: Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.
P370+P378	Bei Brand: ... zum Löschen verwenden.
P370+P372+P380+P373	Bei Brand: Explosionsgefahr. Umgebung räumen. KEINE Brandbekämpfung, wenn das Feuer explosive Stoffe/Gemische/Erzeugnisse erreicht.
P370+P380+P375	Bei Brand: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brandbekämpfung aus der Entfernung.
P370+P380+P375 [+P378]	Bei Brand: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen. [... zum Löschen verwenden.]
P371+P380+P375	Bei Großbrand und großen Mengen: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.

---

**P 400-Reihe**

**Aufbewahrung**

P401

Aufbewahren gemäß ...

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 Innenauskleidung aufbewahren.

P407

Luftspalt zwischen Stapeln oder Paletten lassen.

P410

Vor Sonnenbestrahlung schützen.

P411

Bei Temperaturen nicht über ... °C/... °F aufbewahren.

P412

Nicht Temperaturen über 50 °C/122 °F aussetzen.

P413	Schüttgut in Mengen von mehr als ... kg/... lbs bei Temperaturen nicht über ... °C/... °F aufbewahren.
P420	Getrennt aufbewahren.
P402+P404	An einem trockenen Ort aufbewahren. In einem geschlossenen Behälter aufbewahren.
P403+P233	An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Behälter dicht verschlossen halten.
P403+P235	An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Kühl halten.
P410+P403	Vor Sonnenbestrahlung schützen. An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P410+P412	Vor Sonnenbestrahlung schützen. Nicht Temperaturen über 50 °C/122 °F aussetzen.

---

**P 500-Reihe**

**Entsorgung**

P501	Inhalt/Behälter ... zuführen.
P502	Informationen zur Wiederverwendung oder Wiederverwertung beim Hersteller oder Lieferanten erfragen.
P503	Informationen zur Entsorgung/Wiederverwendung/Wiederverwertung beim Hersteller/Lieferanten/... erfragen

## Gefahrenpiktogramme

<b>Bezeichnung</b>	<b>Gefahrensymbol</b>	<b>Beschreibung</b>
GHS02		Entzündlich
GHS03		Brandfördernd
GHS04		Gase unter Druck
GHS05		Korrosive Stoffe
GHS06		Giftige Stoffe
GHS07		Reizende oder sensibilisierende Stoffe (Haut, Augen)
GHS08		Reizende oder sensibilisierende Stoffe (Einatmung), krebserregende, mutagene oder teratogene Stoffe
GHS09		Umweltgefährdende Stoffe



## Danksagung

Zuerst möchte ich Prof. Horst Weller für die Möglichkeit danken, mein interessantes Forschungsthema im Fraunhofer IAP-CAN durchführen zu können. Durch die Mitarbeit in gruppenübergreifenden Projekten konnte ich interdisziplinäre Kompetenzen erlernen und Verantwortung übernehmen. Ich möchte mich herzlichst für die gute Betreuung, ausgiebigen Diskussionen und das entgegengebrachte Vertrauen bedanken.

Als Nächsten möchte ich meinen Betreuer Dr. Theo Schotten nennen, der leider viel zu früh von uns gegangen ist. Sein enormes Wissen, seine Art und die witzigen Sprüche werde ich niemals vergessen. Ich möchte Ihnen aus tiefstem Herzen danken.

Weiterhin möchte ich meinen Dank Prof. Alf Mews für die kurzfristige Übernahme des Zweitgutachtens aussprechen.

Ein riesiges Dankeschön geht an das Sonnenscheinbüro mit Christian, Marieke und Oli, die mich von Anfang an super im CAN aufgenommen haben und mir bei Rat und Tat zur Seite standen. Maria, Elena und Marieke möchte ich für die Hilfe bei den Synthesen, sowie den zahlreichen Tox-Tests danken. Öznur danke ich für die Hilfe bei der Vorbereitung der TEM Proben sowie dem TEM und NMR Service für die zahlreichen Messungen. Dr. Charlotte Ruhmlieb danke ich für die REM Messungen und Dr. Markus Heine für die *in vivo* Studien.

Für ausreichend Kaffee und die vielen fachlichen sowie privaten Diskussionen habe ich Cem und Marcus zu danken. Ohne euch wäre die Zeit höchstens halb so schön geworden.

Ohne Roman, Marina, Malte und vor allem Marcus und Melanie hätte ich so einige Formulierungen und Rechtschreibfehler wohl nie gefunden, vielen Dank für euren Einsatz die Arbeit so rund wie möglich zu gestalten.

Meinen ehemaligen WG-Mitbewohnern Michael und Roman danke ich für die gemeinsame Zeit im Studium, aus der wir das Allerbeste herausgeholt haben.

Meiner Familie, Gunnar, Birgit und Vanessa danke ich für die Unterstützung in all den Jahren. Danke, dass ihr immer für mich da wart.

Ich möchte mich vom tiefsten Herzen bei meiner Melanie bedanken, die immer für mich da war, egal wie viel sie um die Ohren hatte, mich stets ermutigt hat weiterzumachen und mir den nötigen Rückenwind gab. Danke für alles.



## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsverfahren eingereicht wurde.

Hamburg, 01. April 2022

Ort, Datum

Sebastian Demmler

