

Metallcarbonyle zur magnetfeldinduzierten Kohlenstoffmonoxidfreisetzung

Inaugural Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades

Eingereicht bei der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

Der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Vorgelegt von

Hajo Meyer

aus Lüneburg

Düsseldorf, Oktober 2015

Aus dem Institut für bioanorganische Chemie der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. C. Janiak

Korreferent: Dr. P. C. Kunz

Tag der mündlichen Prüfung: 24.11.2015

Diese Arbeit wurde in der Zeit von März 2011 bis Oktober 2015 am Institut für anorganische Chemie und Strukturchemie, Lehrstuhl I: Bioanorganische Chemie und Katalyse der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf im Arbeitskreis von Prof. Dr. C. Janiak angefertigt.

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation von mir selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ an der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf erstellt worden ist. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt. Es wurden keine früheren erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

.....

Ort, Datum

.....

Unterschrift

Teile dieser Arbeit sowie die Mitarbeit an anderen Projekten wurden bisher veröffentlicht:

Abstracts:

P. C. Kunz, H. Meyer, C. Janiak; Nano-Sized Carriers for Carbon Monoxide Releasing Molecules, EUROBIC 11, 2013, MEDIMOND s.r.l., Pianoro (Italy), ISBN 978-88-7587-658-6

Veröffentlichungen:

H. H. Monfared, H. Meyer, C. Janiak; Dioxygen oxidation of 1-phenylethanol with gold nanoparticles and N-hydroxyphthalimide in ionic liquid, *Journal of Molecular Catalysis A* **2013**, *372*, 72-78.

P. C. Kunz, H. Meyer, J. Barthel, S. Sollazzo, A. M. Schmidt, C. Janiak; Metal carbonyls supported on iron oxide nanoparticles to trigger the CO-gasotransmitter release by magnetic heating, *Chem. Comm.* **2013**, *49*, 4896-4898.

K. Schütte, H. Meyer, C. Gemel, J. Barthel, R. A. Fischer, C. Janiak; Synthesis of Cu, Zn and Cu/Zn brass alloy nanoparticles from metal amidinate precursors in ionic liquids or propylene carbonate with relevance to methanol synthesis, *Nanoscale* **2014**, *6*, 3116-3126.

K. Schütte, A. Doddi, C. Kroll, H. Meyer, C. Wiktor, C. Gemel, G. van Tendeloo, R. A. Fischer, C. Janiak; Colloidal nickel/gallium nanoalloys obtained from organometallic precursors in conventional organic solvents and in ionic liquids: noble-metal-free alkyne semihydrogenation catalysts, *Nanoscale* **2014**, *6*, 5532-5544.

A. A. Lozano-Pérez, A. L. Gil, S. A. Pérez, N. Cutillas, H. Meyer, M. Pedreño, S. D. Aznar-Cervantes, C. Janiak, J. L. Cenisa, J. Ruiz, Antitumor properties of platinum(IV) prodrug-loaded silk fibroin nanoparticles, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 13513-13521.

R. Marcos Esteban, K. Schütte, P. Brandt, D. Marquardt, H. Meyer, F. Beckert, R. Mülhaupt, H. Kölling, C. Janiak, Iridium@graphene composite nanomaterials synthesized in ionic liquid as re-usable *Objects* **2015**, *2*, 11-18.

R. Marcos Esteban, H. Meyer, J. Kim, C. Gemel, R. A. Fischer, C. Janiak, Comparative synthesis of Cu and Cu₂O nanoparticles from different copper precursors in ionic liquid and propylene carbonate, submitted.

H. Meyer, F. Winkler, P. Kunz, A. M. Schmidt, C. Janiak, Stabilizing alginate confinement and polymer-coating of CO-releasing molecules supported on iron oxide nanoparticles to trigger the CO release by magnetic heating; submitted.

Danksagung

Mein herzlichster Dank geht an alle Menschen, die mich auf meinem Weg bis hierhin begleitet und unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Christoph Janiak für die Möglichkeit, die Dissertation in seinem Arbeitskreis anzufertigen und die Bereitstellung von allen benötigten und gewünschten Materialien, sowie die Betreuung während dieser Zeit. Ein weiterer Dank gebührt den mühevollen Anfertigungen und Korrekturen sowie Diskussionen um die entstandenen Publikationen.

Bei Dr. Peter Kunz möchte ich mich für die Erarbeitung und Betreuung eines sehr interessanten und herausfordernden Themas bedanken, welches durch Höhen und Tiefen stets in sehr ergiebige Diskussionen führte.

Für die stets rasche Anfertigung der AAS-, IR-, NMR- und Massenspektren möchte ich Annette Ricken, Birgit Tommes, Dr. Peter Tommes, Ralf Bürgel, Maria Beuer, Peter Behm und Beate Rau herzlich danken. Claudia Schäfer möchte ich an dieser Stelle für das offene Ohr und die Organisation des Arbeitskreises danken. Für eine gründliche Einführung in die Elektronenmikroskopie danke ich Dr. Juri Barthel.

Positive Erinnerungen, gesellige Abende und ein immer experimentierfreudiges Arbeitsklima ließen die Zeit im Büro sowie im Labor sehr schnell und angenehm vergehen. Dafür möchte ich meinen Büro- und Laborkollegen Dietmar Frunzke, Kai Schütte, Karsten Klauke, Susann Wegner und Sandeep Dey danken.

Ein weiterer Dank gebührt dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Christian Ganter und seinem gesamten Arbeitskreis für stets hilfreiche chemische Diskussionen.

Neue Wege erkunden, Cocktails schlürfen und über den Brokeback Mountain reisen, für diese schönen Momente danke ich Martin Wickenheisser.

Ich möchte mich bei Sebastian Glomb für lange Diskussionen zum Thema Vanille und vielen anderen gesellschaftlich brisanten Themen bedanken.

Schnatterkasten und Schokoladenbunker: für viele schöne Momente in und außerhalb der Uni möchte ich Anna Kautz, Raquel Marcos Esteban (Raquelita od. Herr Esteban), Annika Herbst (Wieselchen), Sandra Nießing und Maximilian Klopotoski danken.

Auch allen anderen Mitarbeitern möchte ich für ein stets interessantes und abwechslungsreiches Arbeitsklima in dieser Zeit danken.

Ich möchte meinen Abschlussminions Meryem Tuerkmen, Felix Winkler, Vesko Ilievski, Markus Brenner, Simon Patrick Höfert und Lena Richter herzlich an dieser Stelle für die produktive und amüsante Zeit während und nach der Betreuung danken.

Der Spielgemeinschaft „Mittwochs d.V.“ (digitale Versammlung) danke ich für die regelmäßige Betreuung meiner kleinen Zockerseele.

Die sportliche Seite darf hierbei nicht vergessen werden. Danke an die Flunk-Jungs für viele Aktivitäten außerhalb der Uni, Düsseldorf und den Benimmregeln.

Auch allen Freunden von außerhalb möchte ich danken, dass Düsseldorf nicht nur ein exklusives Sahnebaiser ist, sondern dass auch Entfernungen überwunden werden können.

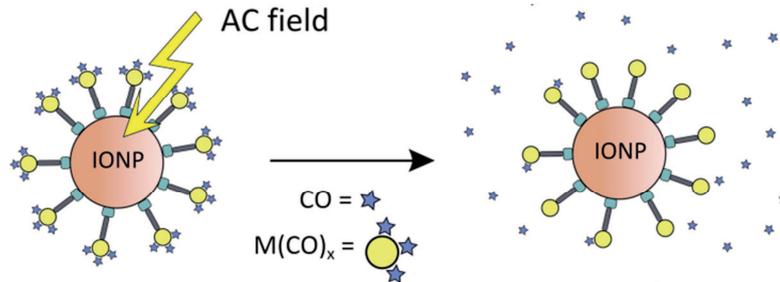
Abschließend geht mein Dank an meine Familie, die mich in allen Entscheidungen stets unterstützt hat. Besonders meiner Freundin Christina Rutz möchte ich für alle Momente, die ich mit ihr erleben durfte und erleben werde, herzlich danken. Es ist schön, eine verrückte, geliebte Stimme zu hören, wenn man zu vernünftig ist und andersherum.

Experience is what you get when you didn't get what you wanted.

Randy Pausch

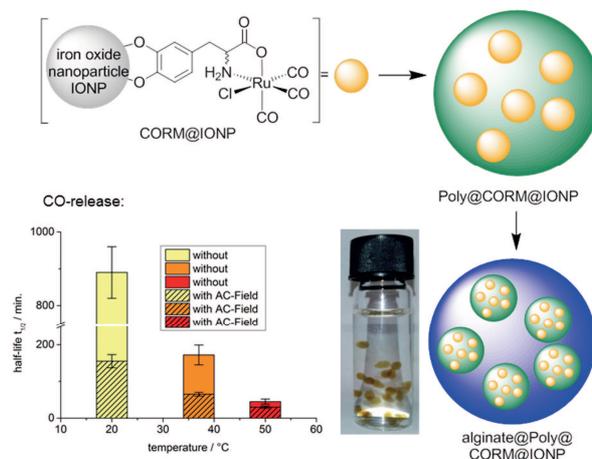
Kurzfassung:

Im Rahmen dieser Dissertation konnten erstmalig Kohlenstoffmonoxid freisetzende Verbindungen auf Maghemit Nanopartikel geträgert werden und deren Freisetzung durch Anlegen eines magnetischen Wechselfeldes beschleunigt werden.



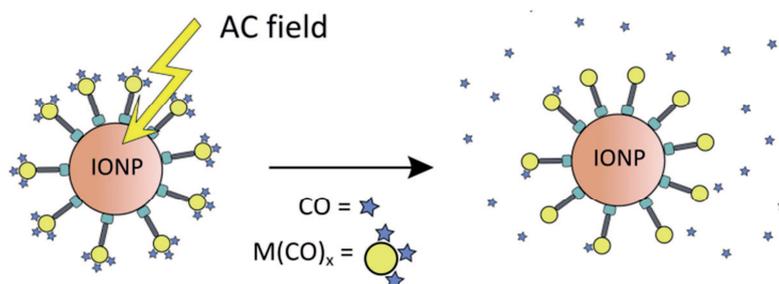
Die Verwendung eines CORM-3 analogen Systems sowie die eines neuartigen Oxim basierten Rutheniumcarbonyls in Verbindung mit einem Dextranpolymer ergab verlängerte Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei verschiedenen Temperaturen. Zudem konnte jeweils eine deutliche Beschleunigung im magnetischen Wechselfeld beobachtet werden.

Es wurde eine neue Methode zur Messung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Myoglobin Assay entwickelt, welche die Vermessung von stark absorbierenden Stoffen ermöglicht. Die Einkapselung der zu vermessenden Stoffe geschieht mit Hilfe von Natriumalginat, welches durch Calcium-Ionen quervernetzt wird. Diese Methode ist günstig und ermöglicht die Messung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Stoffen, die vorher nicht oder nur schwer zugänglich waren.



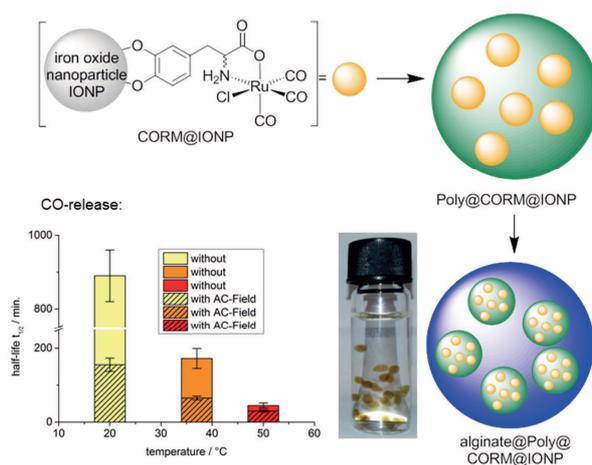
Abstract:

In this thesis, carbon monoxide-releasing compounds were first supported on maghemite nanoparticles and their release will be accelerated by applying an alternating magnetic field.



The use of CORM-3 analog system and a novel oxime based ruthenium carbonyl in conjunction with a dextran polymer showed prolonged half-lives of the CO release at different temperatures and a significant acceleration in the alternating magnetic field for each compound.

A new method for measuring the CO release in the myoglobin assay has been developed, which enables the measurement of highly absorbing materials. The encapsulation of the substances to be measured is done by sodium alginate, which is cross-linked by calcium ions afterwards. This method is cheap and allows the measurement of CO releasing substances that were not previously accessible.



Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Nanomaterialien	1
1.2	Magnetische Nanopartikel.....	5
1.3	CORMS	13
1.4	Detektion von Kohlenstoffmonoxid.....	15
2	Zielsetzung und Motivation	17
3	Ergebnisse.....	18
3.1	CORM-3 Analoga auf IONP	18
3.1.1	Darstellung von CORM@IONP	18
3.1.2	Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP.....	28
3.2	Polymercoating von CORM@IONP	35
3.2.1	Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Dextran500K@CORM@IONP	41
3.2.2	Kohlenstoffmonoxidfreisetzung mit Hilfe der Alginat-Methode.....	45
3.3	Oxim basierte CORMs	57
3.3.1	Synthese und Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Oxim basierten CORMs.....	58
3.3.2	Synthese einer Oxim haltigen Ankergruppe für IONP	63
3.3.3	Synthese von Oxim basierten Rutheniumcarbonylen zur Funktionalisierung von IONP	68
3.3.4	Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von neuartigen Oxim basierten Rutheniumcarbonylen.....	74
3.3.5	IONP mit Oxim basierten CORMs.....	78
3.3.6	Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Oxim basierten IONP.....	81
3.4	Photoreleaser auf IONP	87
3.4.1	Synthese des PhotoCORMs	88
3.4.2	Modifizierter Myoglobin Assay für PhotoCORMs	90

3.4.3	Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von PhotoCORMs	92
3.4.4	IR spektroskopische Untersuchung der Kohlenstoffmonoxid-freisetzung	96
3.4.5	Synthese und Trägerung der PhotoCORMs auf IONP	99
3.4.6	Myoglobin-Assay der PhotoCORM funktionalisierten IONP	103
4	Zusammenfassung und Ausblick	108
5	Experimenteller Teil	114
5.1	Geräte	114
5.2	Chemikalien	116
5.3	Synthesen.....	117
5.3.1	Maghemit-Nanopartikel (1)	117
5.3.2	D/L-Dihydroxy-phenylalanin funktionalisierte Maghemit Nanopartikel (2).....	118
5.3.3	Tricarbonyldichlororuthenium(II) Dimer (3)	119
5.3.4	CORM funktionalisierte Maghemit Nanopartikel, CORM@IONP (4).....	120
5.3.5	Tri(carbonyl)-chlorido-phenylalaninato-ruthenium(II) (5).....	121
5.3.6	CORM-3 (6).....	122
5.3.7	[Ru(CO) ₃ Cl] DOPA-IONPs (7).....	123
5.3.8	Dextran@CORM@IONP (8c-500@7)	124
5.3.9	Synthese von Alginat@Dextran@CORM@IONP (9)	124
5.3.10	Synthese von Alginat@CORM-3 (10)	125
5.3.11	Imidazol-2-Carbaldehyd Oxime (12)	126
5.3.12	Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOMe)(CO) ₂ Cl) (13)	127
5.3.13	Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOEt)(CO) ₂ Cl) (14)	128
5.3.14	2-Chloro-1-(2,2-dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)ethanone (16)	129
5.3.15	1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazole-2-carbaldehyd (17)	130
5.3.16	1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazole-2-carbaldehyd (18).....	131

5.3.17	(E)-1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxime (19)	132
5.3.18	1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazole-2-carbaldehyd-oxim (20)	133
5.3.19	Ru(η^2 - 19)(COOEt)(CO) ₂ Cl (21)	134
5.3.20	Ru(η^2 - 19)(COOMe)(CO) ₂ Cl (22)	135
5.3.21	Ru(η^2 - 20)(COOEt)(CO) ₂ Cl (23)	136
5.3.22	Ru(η^2 - 20)(COOMe)(CO) ₂ Cl (24)	137
5.3.23	Trägerung von Ru(η^2 - 20)(COOEt)(CO) ₂ Cl auf IONP und Einbettung in Dextran (25)	138
5.3.24	Trägerung von (23) auf IONP und Einbettung in Dextran (26).....	139
5.3.25	Einbettung von (26) in Alginatkügelchen (27).....	139
5.3.26	Trägerung von 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (9) auf IONP (28).....	140
5.3.27	Trägerung von 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (13) auf IONP (29)	141
5.3.28	4-(2-(bis((pyridin-2-yl)methyl)amino)ethyl)-benzene-1,2-diol (32).....	142
5.3.29	[Mn(CO) ₃ (4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)-benzen-1,2-diol)]OTf (33)	144
5.3.30	Trägerung von IONP mit 4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)-benzen-1,2-diol (34)	146
5.3.31	Trägerung von IONP mit [Mn(CO) ₃ Bpmd] ⁺ OTf ⁻ (35).....	147
5.3.32	2-(3,4-dimethoxyphenyl)-N,N-bis((pyridin-2-yl)methyl)ethanamin (36).....	147
5.3.33	[Mn(CO) ₃ Br(N,N,N-OMe)]OTf (37)	148
5.4	Durchführung des Myoglobin Assays	150
5.4.1	3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure-Puffer	150
5.4.2	Myoglobin-Assay mit CORM@IONP.....	150

5.4.3	Myoglobin-Assay mit Dextran@CORM@IONP	150
5.4.4	Myoglobin-Assay mit Alginat@Dextran@CORM@IONP	151
5.4.5	Myoglobin-Assay mit Oxim basierten CORMs	151
5.4.6	Myoglobin-Assay mit Dextran@OximCORM@IONP.....	151
5.4.7	Myoglobin-Assay mit PhotoCORM.....	152
5.4.8	Myoglobin-Assay mit PhotoCORM@IONP.....	152
6	Anhang	154
7	Literatur.....	160

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
aliph.	aliphatisch
arom.	aromatisch
br.	breit
Cl-CCA	4-Chlor- α -cyanozimtsäure
d.d.	doppelt deionisiert
DMSO	Dimethylsulfoxid
ESI	Elektrospray-Ionisation
ges.	gesättigt
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IONP	iron oxide nanoparticle
Kap.	Kapitel
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption / Ionisation
MS	Massenspektrometrie
Raumtemp.	Raumtemperatur
s.	siehe
Tab.	Tabelle
THF	Tetrahydrofuran
TOF	Time of flight
w.E.	willkürliche Einheiten
wässr.	wässrig

1 Einleitung

1.1 Nanomaterialien

Nanopartikel bilden eine neue Stoffklasse, mit der sich eine Vielfalt an neuen Anwendungen erschließen oder bekannte Systeme verbessern lassen.^[1] Der Wortstamm stammt von dem griechischen Wort „nanos“, welches übersetzt Zwerg heißt. Typischerweise werden Stoffe mit einer Größe unter 100 nm als Nanomaterialien bezeichnet. Alles oberhalb dieser Größe wird als Bulk-Material bezeichnet.

Ab dieser Größe werden die Eigenschaften des Materials über die Oberfläche des Nanopartikels bestimmt. Veranschaulicht entspricht ein Würfel mit einer Kantenlänge von 1 cm einer Oberfläche von 0.0006 m^2 . Wird dieser Würfel in kleinere Würfel mit der Kantenlänge 1 nm unterteilt, steigt die Oberfläche des Materials auf 6000 m^2 bei gleichem Volumen. Die zunehmende Anzahl der schwach gebundenen Oberflächenatome führt zu einer Änderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften. Als einfache Beispiele seien die Abnahme des Schmelzpunktes von Zinn^[2] und Gold^[3] genannt. Auch eine Erhöhung der Reaktivität kann am Beispiel des pyrophoren Eisens beobachtet werden.^[3]

Die Unterschiede zwischen dem größeren Bulk-Material und dem nanoskaligen Material lassen sich in drei Untergruppen einteilen.

- I) Oberflächenabhängige Partikeleigenschaften
- II) Größenabhängige Partikeleigenschaften
- III) Größenabhängige Quanteneigenschaften

Die oberflächenabhängigen Partikeleigenschaften sind sowohl im Bulk- als auch im nanoskaligen Material vorhanden. Relevant werden diese jedoch erst zum Beispiel bei katalytischen Reaktionen, wo der Umsatz durch die größere Oberfläche verbessert werden kann.^[4] Die Größenabhängigkeit spielt bei der optischen Transparenz, Beschichtungen, Magnetismus und medizinischen Anwendungen eine Rolle.^[5] Zuletzt sind größenabhängige Quanteneffekte, also der Einfluss der Partikelgröße auf die elektronische Struktur von Nanopartikeln zu nennen. Diese zeigen den Übergang der Energieniveaus von definierten Lagen (Atome oder Moleküle) zu dem fließenden Bändermodell, wie sie im Festkörper

1 Einleitung

vorliegen. Sie können deutlich bei Halbleiterquantenpunkten^[6] und der Plasmonenresonanz^[7] von Goldnanopartikeln beobachtet werden.

Nanopartikel werden in einem breiten Spektrum verwendet. Sie finden Anwendung als Partikelschichten für die Energieumwandlung in Solarzellen^[8,9], zur Speicherung von Strom in Batterien^[10], als Farbstoffe für Polymere, da sie längere Zeit Temperatur und UV-Stabil sind^[11], in Kosmetischen Produkten^[12], in Sonnencreme als Filter für schädliche UV-Strahlung^[13], als Lumineszenzmarker auf Banknoten oder Ausweispapieren, in der Medizin zur Zellmarkierung oder für Beschichtungen mit unterschiedlichsten Eigenschaften.^[14]

Die Synthese von Nanopartikeln kann auf unterschiedlichen Wegen erfolgen. Als Oberbegriff wurden die „top-down“ und „bottom-up“ Methoden beschrieben. Bei top-down verwendet man Mahlprozesse, um auf die gewünschte Partikelgröße zu gelangen. Bei bottom-up geht man von molekularen Prekursoren aus, um diese in einem Wachstumsprozess auf die gewünschte Größe wachsen zu lassen. Hierbei kann wieder in eine Gasphasenmethode und Flüssigphasenmethode unterschieden werden.

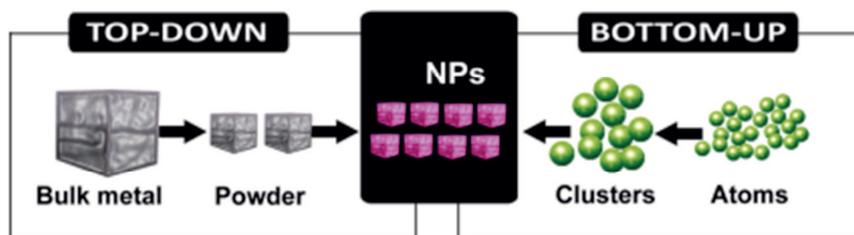


Abb. 1: Beschreibung des Top-Down und Bottom-Up Verfahrens zur Synthese von Nanopartikeln. Die Grafik wurde entnommen aus der Literaturstelle [15].

Die Wahl der Synthesemethode umfasst jedoch mehrere Faktoren. Die Partikelgröße, das Material, die Größenverteilung und die Anwendung spielen bei der Wahl der Methode eine große Rolle. Als Letztes sei noch die Unterdrückung von Agglomerationsprozessen zu nennen, welche ein weiteres wichtiges Feld im Bereich der Nanopartikelsynthese ist.

Ein kostengünstiger Zugang zu nanopartikulären Stoffen stellt das Mahlverfahren dar. Die Synthese von großen Stoffmengen kann hierbei realisiert werden. Jedoch ist diese Methode durch möglichen Mahlkörperabrieb, Energieeintrag und Agglomeration nicht für sehr kleine Partikel geeignet. Kleinere Partikel ($\varnothing < 50 \text{ nm}$) können mit Hilfe des Mahlprozesses hergestellt werden, sind jedoch ökonomisch nicht sinnvoll.^[16] Die Gasphasenmethode wird

1 Einleitung

normalerweise als kontinuierlicher Prozess eingesetzt. Bei Synthesetemperaturen ($>500\text{ °C}$) können Aggregate entstehen, die sich schwer oder gar nicht in Primärpartikel auftrennen lassen. Sie liefert kristalline Nanopartikel mit weitgehend ungeladenen Oberflächen.^[17]

Die Flüssigphasensynthese ist eine effektive Methode zur Steuerung der Partikelgröße und des Agglomerationsverhaltens. Zur Kontrolle werden nach der Keimbildung an den Oberflächen organische Moleküle als Stabilisatoren angebracht. Diese Stabilisatoren sind normalerweise langkettige Alkyle, Tenside oder auch Polymere.^[18] Es können auch andere Stoffe, sogenannte ionische Flüssigkeiten, zur Stabilisierung verwendet werden. Diese Stoffklasse hat sich in den letzten Jahren als wichtiges Stabilisierungsmittel für Metallnanopartikel herausgestellt.^[19]

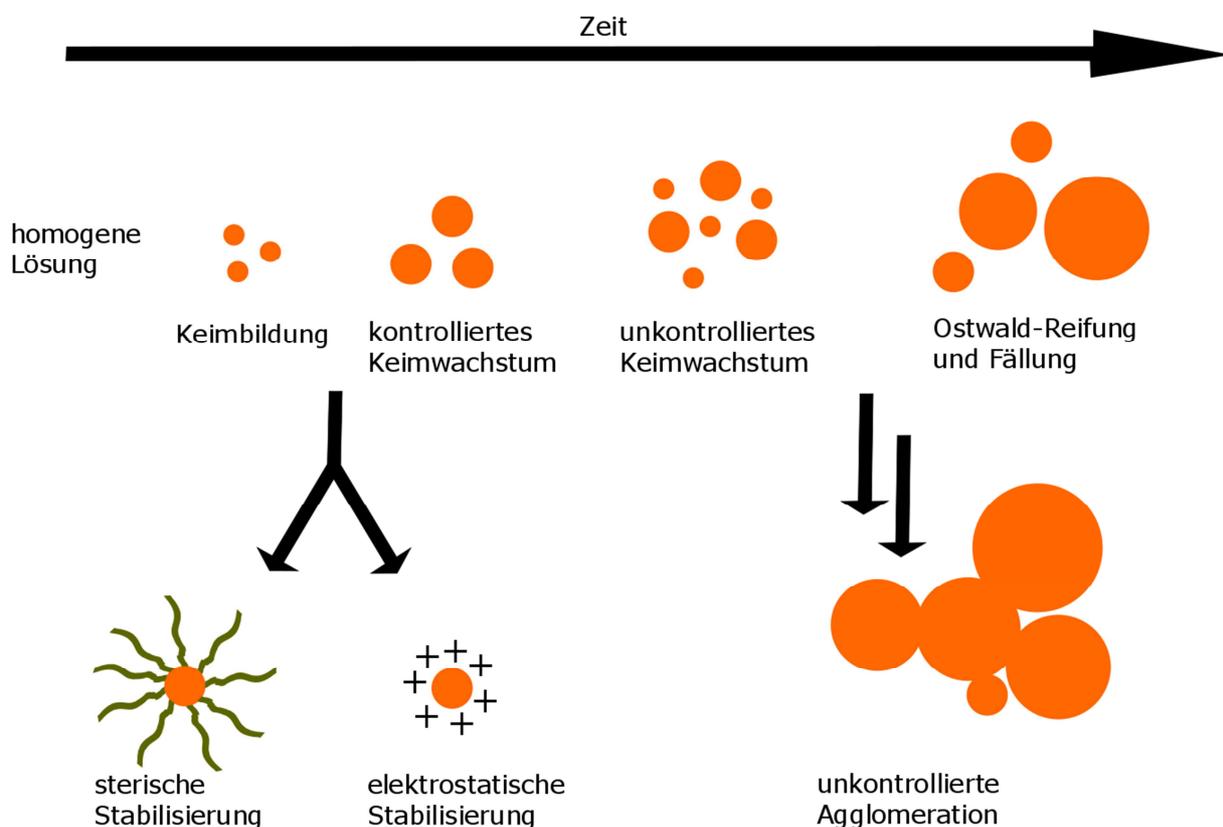


Abb. 2: Darstellung des Wachstumsverhaltens, Stabilisierung und der Bildung von Agglomeraten. Die Abbildung wurde analog der Literaturstelle [1] angefertigt.

Das Wachstum eines Nanopartikel kann in drei Phasen eingeteilt werden. Zuerst kommt es zur Nukleation aus einer homogenen Lösung, die nach dem Modell von LEMER und DINEGAR endotherm verläuft, da das Lösen der Solvathüllen und Überwinden der Oberflächenspannung Energie verbrauchen.^[20] Anschließend erfolgt das Wachstum der

Keime und führt hin bis zum Ostwald-Reifung der Partikel. Diese beiden Prozesse sind exotherm, da sie bei der Bildung des Festkörpers Energie (z.B. Gitterenergie) freisetzen.^[21]

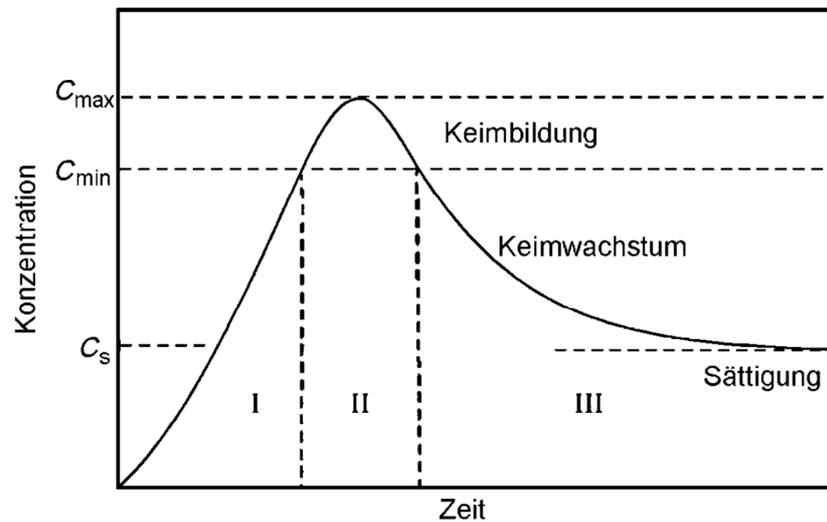


Abb. 3: Modell von LAMER und DINEGAR zur Beschreibung von Keimbildung und Keimwachstum. Die Grafik wurde entnommen aus Literaturstelle [1].

Historisch gesehen ist die Exposition von Nanopartikeln (Ruß aus Feuer und andere Feinstäube) auf den Menschen evolutionär bedingt. Dieser Kontakt wurde im Zuge der industriellen Revolution in den letzten Jahrhunderten stark vermehrt.^[22] Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass die erhöhte Luftverschmutzung der Städte mit zunehmenden Partikelkonzentrationen aus Kraftfahrzeugen und zusätzlichen Industrieemissionen zu einer erhöhten Atemwegs und Herz-Kreislauf Mortalität führen.^[23]

Da die Entwicklung in der Nanopartikeltechnologie sehr schnell voranschreitet, werden Nanopartikel, Nanoröhren, Dendrimere und Fullerene als neue Werkzeuge der Diagnose, Untersuchung und als Therapeutikum eingesetzt. Durch die Anwendung und Entwicklung maßgeschneiderter Nanomaterialien in Bezug zu deren Material (Kohlenstoff, Gold, Silber, etc.), Oberflächenbeschaffenheit, Aggregationsverhalten und die Möglichkeit, diese als Wirkstofftransporter zu benutzen, revolutionierten die Medizin. Auf der anderen Seite sind auch die Studien über die Auswirkungen einer Langzeitexposition von Nanomaterialien signifikant gestiegen.^[24]

Es besteht die Besorgnis, dass sich die schnell wachsende Anzahl an Nanomaterialien negativ auf die Umwelt auswirkt, wenn sie nicht sorgfältig hergestellt und recycelt wird. Es existiert eine große Anzahl an toxikologischen Studien, die überwiegend aus epidemiologischen Tier,

Mensch und Zellkulturstudien bestehen. Nach dem Bekanntwerden eines Zusammenhangs zwischen Partikelgröße und Herz-Kreislaufkrankungen wurde das öffentliche Interesse geweckt. Die Forschung an Mensch und Tier zeigt, dass einige Nanopartikel in den Körper eindringen können und Auswirkungen auf diverse Organe haben können. Das Verständnis über die Wirkweise solcher Partikel ist essentiell für einen verantwortungsvollen Umgang mit Nanomaterialien.^[25]

1.2 Magnetische Nanopartikel

In dieser Arbeit ist der Magnetismus von Nanopartikeln ein wichtiger Bestandteil und daher wird es in dem folgenden Abschnitt eine kleine Einführung zu magnetischen Nanopartikeln und deren Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten dargestellt. Der Magnetismus von Festkörpern ist ein kooperatives Phänomen und setzt sich aus den einzelnen magnetischen Momenten verschiedener Bausteine zusammen. Insgesamt gibt es 5 Arten des Magnetismus, die auftreten können.^[26]

Beim Diamagnetismus besitzt der Stoff keine ungepaarten Elektronen und schwächt ein angelegtes Magnetfeld. Durch das Anlegen eines externen Magnetfeldes wird ein Strom induziert, der nach der Lenzschen Regel ein entgegengesetztes Magnetfeld hervorruft und dieses somit abschwächt.

Der Paramagnetismus zeichnet sich durch Ausrichten der magnetischen Momente in einem Stoff an ein angelegtes Magnetfeld aus, welches dieses verstärkt. Nach dem Entfernen des angelegten Magnetfeldes bricht das innere zusammen und es besteht keine Restmagnetisierung.

Die Ausrichtung der magnetischen Momente sind beim Ferromagnetismus nicht unabhängig voneinander. Diese Kopplung erstreckt sich jedoch nicht über das gesamte Material, sondern beschränkt sich auf sogenannte Weissche Bezirke. Diese Bezirke haben je nach Material eine Größenordnung von wenigen Nanometern bis Mikrometern. Da die Ausrichtung der magnetischen Momente statistisch verteilt ist, erscheint ein Ferromagnet nicht magnetisch. Erst durch Anlegen eines externen Feldes kann eine Magnetisierung im Stoff erzeugt werden. Diese verbleibt auch nach dem Entfernen des externen Feldes und wird Remanenz genannt. Durch Umpolen des externen Feldes kann dieser Stoff wieder entmagnetisiert

werden. Die Stärke des Feldes zur Entmagnetisierung wird Koerzitivfeldstärke genannt. Ein Kreislauf aus Magnetisierung, Remanenz und Koerzitivfeldstärke über den gesamten Feldbereich wird, wie in **Abb. 4** gezeigt, durch eine Hysteresekurve beschrieben.

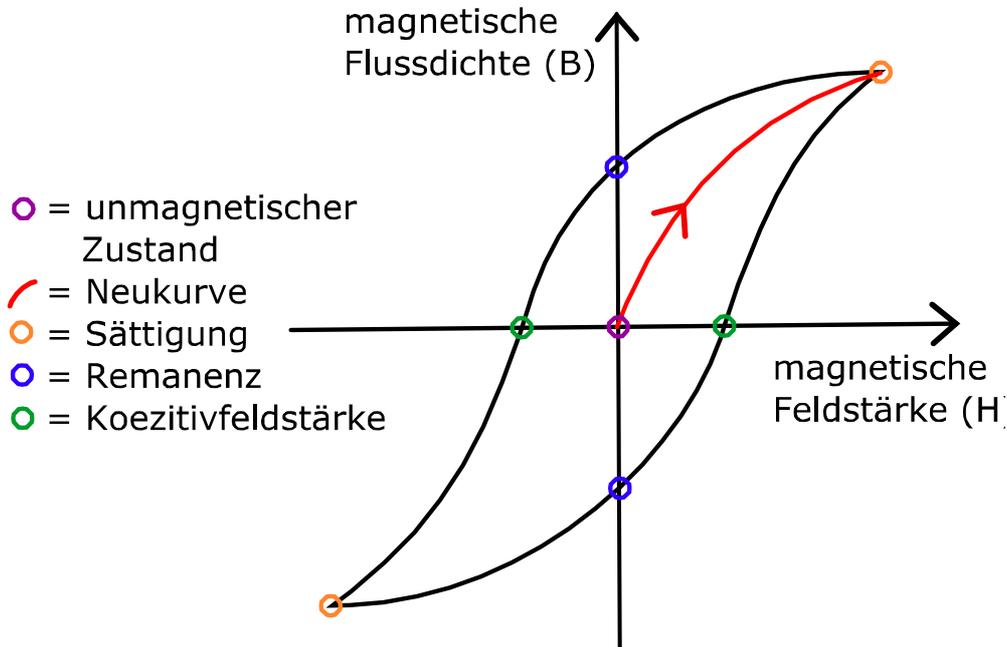


Abb. 4: Darstellung einer Hysteresekurve eines unmagnetisierten ferromagnetischen Stoffes in einem angelegten H-Feld.

Der Ferrimagnetismus ist im Verhalten analog zum Ferromagnetismus, jedoch sind die Spinnmomente in gleichartigen Zentren sowohl parallel, als auch antiparallel ausgerichtet. Hierbei kommt es zur partiellen Auslöschung der magnetischen Momente.

Abschließend sei der Antiferromagnetismus genannt. Hierbei sind die magnetischen Momente der einzelnen Zentren abhängig voneinander und richten sich spontan antiparallel aus. Nach außen zeigt dieser Stoff daher kein magnetisches Verhalten. Eine steigende Temperatur führt zu einem ähnlichen Verhalten wie ein Ferrimagnet. Überschreitet man die Neel-Temperatur, so wird nur noch paramagnetisches Verhalten beobachtet.

Unterhalb der Curie-Temperatur können kristalline ferro- und ferrimagnetische Stoffe ihre magnetischen Momente zu einem größeren Gesamtmoment koppeln. Durch die Domänenstruktur (Weissche Bezirke) wird ein Hystereseverhalten beobachtet und es kann eine Sättigungsmagnetisierung durch das Anlegen eines externen Feldes (s. **Abb. 4**) erzeugt werden. Mit abnehmender Teilchengröße bestehen diese Partikel nur noch aus einer Domäne und verhalten sich wie ein Paramagnet, jedoch mit einem wesentlich größeren

1 Einleitung

magnetischen Moment. Solche Domänen werden als superparamagnetisch bezeichnet und weisen keine Hysterese auf.

Die thermische Energie reicht für diese Partikel aus, um das magnetische Moment in jedem Partikel neu zu orientieren. Somit gilt, dass bei Abwesenheit eines externen magnetischen Feldes die Summe der magnetischen Momente der superparamagnetischen Nanopartikel Null ist, wenn die Temperatur hoch genug ist. Wenn jedoch ein magnetisches Feld angelegt wird, so orientieren sich die Partikel entlang des magnetischen Feldes (**Abb. 5**). Diese Eigenschaften, sowie die Abwesenheit einer Remanenz Magnetisierung nach Entfernen des externen Feldes, ermöglicht den Partikeln eine kolloidale Stabilität und verhindert gleichzeitig eine Agglomeration.^[27]

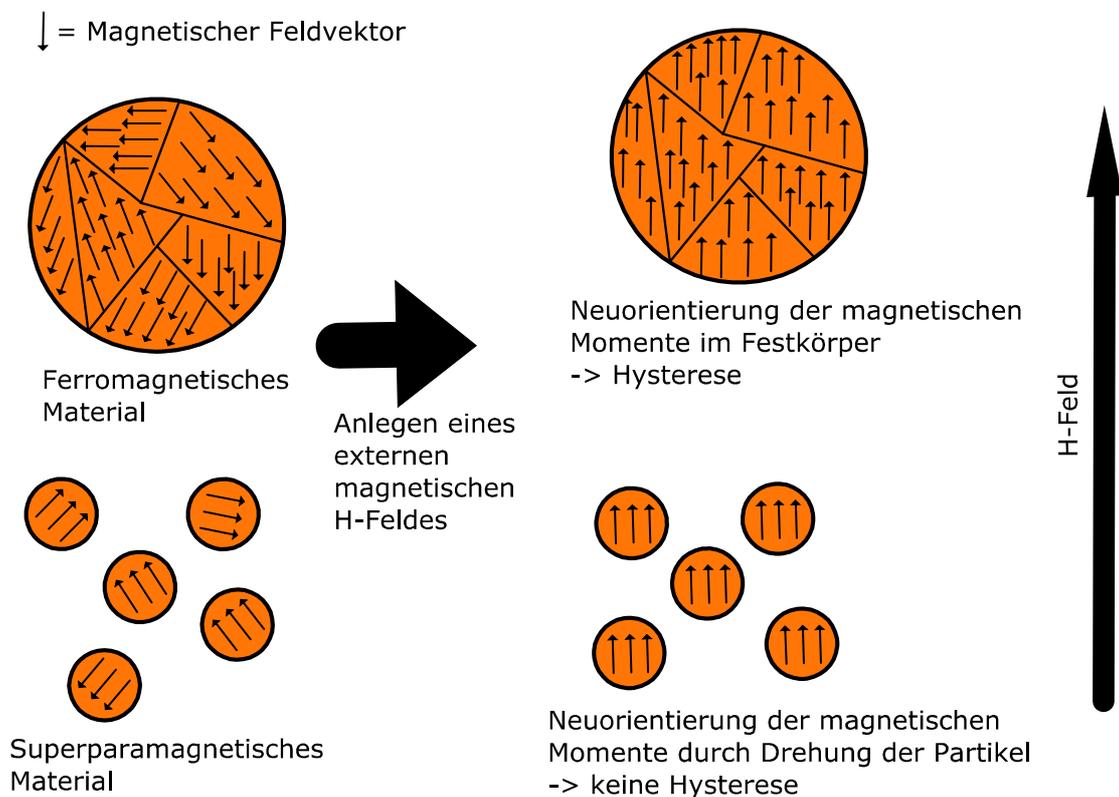


Abb. 5: Darstellung der Ausrichtung der magnetischen Momente innerhalb eines Ferromagneten und eines Superparamagneten. Die Abbildung wurde analog Literaturstelle [28] angefertigt.

In einem solchen Eindomänenkristall ist die Energie der Kopplung der magnetischen Momente abhängig von dem Volumen des Teilchens. Bei kleiner werdenden Partikeln nimmt die Stärke der magnetischen Kopplung ab und diese wird zunehmend von der thermischen Energie gestört. Es folgt daraus ein starke Temperaturabhängigkeit der Magnetisierung von

1 Einleitung

superparamagnetischen Stoffen im Magnetfeld.^[29] Doch nicht nur das Volumen, sondern auch die Veränderung der Oberfläche kann zu veränderten magnetischen Eigenschaften führen. So kann sich die Sättigungsmagnetisierung von γ -Fe₂O₃ Partikel auf die Hälfte des theoretischen Wertes verringern, wenn die Größe der Partikel von 12 auf 5 nm abnimmt.^[30]

Man würde vermuten, dass generell größere Partikel für die meisten Anwendungen bevorzugt würden, da größere magnetische Momente und eine geringere Konzentration notwendig wären. In biologischen und biomedizinischen Anwendungen spielt die Konzentration und Biokompatibilität (Toxikologie) eine große Rolle und die Reduzierung von Agglomerationseffekten ist entscheidend. Daher ist die Entscheidung zwischen Größe und Magnetisierbarkeit oftmals ein Balanceakt. Eisenbasierte magnetische Nanopartikel werden oftmals gegenüber ihren toxischeren Varianten bevorzugt. Die optimale Größe für Eisen(III)-Komponenten liegt zwischen 10 nm (superparamagnetische Grenze) und 70 nm (Übergang zu Mehrdomänen).^[31]

Die Veränderung der Magnetisierung gegenüber freien Partikeln kann auch bei modifizierten Partikeln beobachtet werden. Ein Coating, welches Agglomeration verhindern soll, führt zu einer Veränderung der Oberfläche des Partikels oder kann diese durch chemische Bindungen zwischen dem Partikel und dem Stoff verändern. Dies kann zur Erniedrigung des effektiven magnetischen Momentes führen^[32] oder zur Bildung einer unmagnetischen Schicht um den Partikel.^[33] Der Einfluss eines oberflächenaktiven Liganden auf das magnetische Moment muss daher berücksichtigt werden.

Wenn magnetische Nanopartikel in ein alternierendes magnetisches Feld gebracht werden, führt dies zur Produktion von Wärme. Dies geschieht unter der Voraussetzung, dass die Nanopartikel die Möglichkeit haben, ihre magnetischen Momente neu zu orientieren. Dieser Effekt wird bei der Anwendung von magnetischer Hyperthermie verwendet.^[34] In größeren Partikeln mit mehreren magnetischen Domänen erfolgt die Neuorientierung durch Bewegen der Domänenwände. In kleineren Partikeln mit nur einer Domäne kann diese Umkehr durch zwei Prozesse, der Neel- und der Brown-Relaxation geschehen. Die Néel-Relaxation beschreibt eine Umkehr der magnetischen Momente innerhalb des Partikels über die eigene Anisotropiebarriere, während die Brown-Relaxation von einer Rotation des Partikels ausgeht. Bei beiden Relaxationsarten wird die entstehende Energie über die Oberfläche

abgegeben. Welcher Relaxationseffekt vorliegt, hängt von der Geschwindigkeit der Relaxationsart ab. Generell wird der schnellere Prozess bevorzugt.^[27]

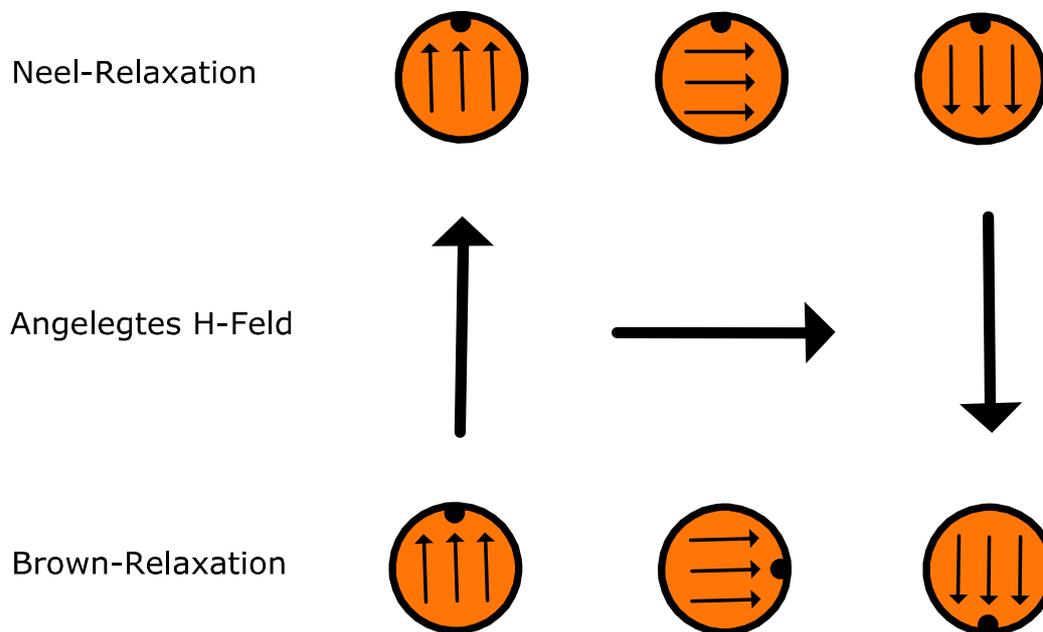


Abb. 6: Schematische Darstellung der Neel- und Brown-Relaxation von superparamagnetischen Nanopartikeln.

Magnetische Nanopartikel erzeugen ebenfalls ein kleines, räumlich begrenzte Magnetfeld um sich herum. Mit Hilfe dessen können sie die Relaxationszeiten von umgebenden Protonen deutlich verkürzen. Dieser Effekt wird „proton relaxation enhancement“ (Protonen Relaxations Verbesserung) genannt und bei der Kernspintomographie zur Signalverstärkung eingesetzt. Die Partikel agieren somit als Kontrastmittel in der Medizin.^[35]

Das maßgeschneiderte Design von magnetischen Nanopartikeln spielt je nach Anwendung eine wichtige Rolle. Hierbei entscheidet das Material, die Magnetisierbarkeit, Größe, Oberflächenbeschaffenheit, Stabilität gegenüber Lösungsmitteln und Toxikologie über die Wahl der Nanopartikel. Während in der heutigen Zeit eine vielzählige Auswahl der Größe, Form und des Coatings zur Verfügung steht, beschränkt sich die Wahl der Materialien jedoch auf Eisen basierte Systeme. Sie zeigen bislang den besten Kompromiss aus magnetischen Eigenschaften, Stabilität und begrenzter Toxizität. Die amerikanische FDA (US Food and Drug Administration) sowie die europäische EMA (European Medicines Agency) haben der Verwendung von Eisenoxid Nanopartikeln bereits zugestimmt. Dies beinhaltet die Verwendung von Magnetit und Maghemit Nanopartikeln. Magnetit besitzt eine höhere

1 Einleitung

Magnetisierbarkeit, jedoch zeigt Maghemit eine bessere Stabilität in wässrigen Lösungen, weshalb es meistens in medizinischen Anwendungen bevorzugt wird.^[36]

Nasschemische Syntheserouten für die Herstellung von magnetischen Nanopartikeln können grundsätzlich in hydrolytische und nicht-hydrolytische Ansätze unterteilt werden. Jede dieser Routen hat ihre Vor- und Nachteile. Sie liefern verschiedene Größen, Größenverteilungen, Morphologien und Materialien.

Die nicht hydrolytische Syntheseroute zeigt eine enge Größenverteilung bei guter Größenkontrolle, hoher Kristallinität, die Option zur großtechnischen Herstellung sowie veränderbaren magnetischen Eigenschaften. Größen von wenigen bis zu mehreren hundert Nanometern können erreicht werden. Die Formen variieren und können kubisch, rund, triangulär oder stäbchenförmig sein.^[27,37,38,39] Oftmals werden bei diesen Synthesen jedoch toxische organische Lösungsmittel, hohe Temperaturen und auch Phasentransferreaktionen benötigt.

Die hydrolytischen Verfahren können in Kopräzipitation, hydrothermale Kopräzipitation und inverse Micellen-Kopräzipitation unterteilt werden. Jede dieser Methoden ermöglicht die Herstellung von Magnetit, Maghemit und anderen magnetischen Ferriten (MFe_2O_4).

Bei der inversen Micellen-Kopräzipitation besteht eine sehr gute Möglichkeit zur Größenregulierung bei einer sehr engen Größenverteilung und einheitlichen magnetischen Eigenschaften. Als Nachteile sind geringe Ausbeuten, schlechte Kristallinität, sowie schwer zu entfernenden Liganden an der Oberfläche zu nennen. Die Form der Nanopartikel reicht von kubisch zu sphärisch und nadelförmig.^[40,41,42,43]

Die hydrothermale Kopräzipitation bietet ebenfalls eine gute Größenkontrolle bei guten Größenverteilungen. Die Synthesen erfolgen in Wasser und die magnetischen Eigenschaften der Materialien sind veränderbar. Als Nachteile sind hohe Temperaturen zu nennen. Die Formen sind sowohl diskusartig als auch sphärisch zu beschreiben.^[44,45]

Als gängigste und kostengünstigste Methode der Herstellung von magnetischen Nanopartikeln gilt die Kopräzipitation. Die Ausgangsverbindungen sind günstig, es werden milde Reaktionsbedingungen verwendet und die Synthesen werden wässrig durchgeführt. Sie ermöglicht einen einfachen Zugang zu Ferriten (MFe_2O_4), oder durch einfache Oxidation zu γ - Fe_2O_3 Nanopartikeln. Des Weiteren ist ein die Modifikation der Oberflächen und ein

1 Einleitung

scale-up (Übertragung auf großtechnische Produktionen) sehr einfach. Hierbei muss jedoch eine breite Größenverteilung, geringere Reproduzierbarkeit und mögliche Oxidationen in Kauf genommen werden. Die Partikelformen sind oftmals sphärisch und können von 10-100 nm variieren.^[46,47,48]

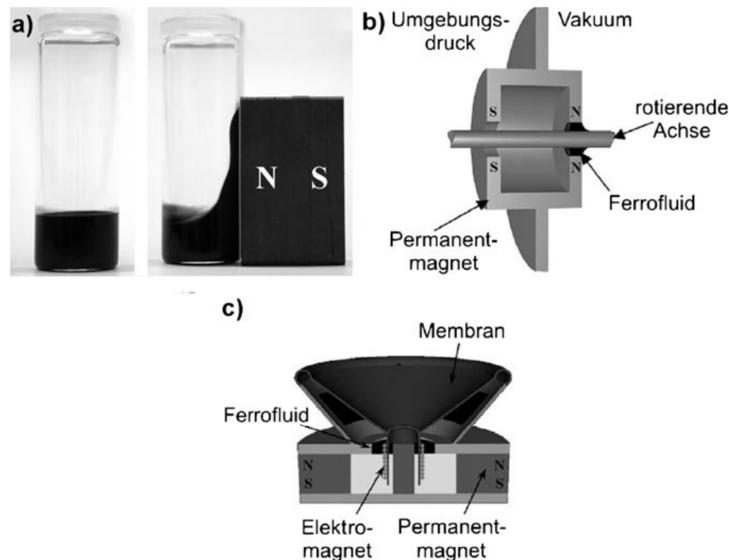


Abb. 7: Verwendung von magnetischen Flüssigkeiten. a) Ferrofluid, b) Ferrofluid als Abdichtung um eine rotierende Welle, c) Ferrofluid als Kühlmittel in einem Lautsprecher. Die Grafik wurde aus Literaturstelle [1] entnommen.

Magnetische Nanopartikel finden seit langer Zeit Anwendung in der Industrie, da die Speicherdichte für Festplatten in direktem Zusammenhang mit der Größe der Elementarmagnete steht.^[49] Durch die Entwicklung modernerer Speichermethoden auf optischer Basis wurde die Verwendung jedoch geringer. Heutzutage werden magnetische Nanopartikel als magnetische Flüssigkeiten (**Abb. 7**), als Katalysator, Wirkstoffträger und vieles mehr eingesetzt.^[50]

Einen wichtigen Beitrag liefern magnetische Nanopartikel in der medizinischen Anwendung. Sie weisen eine geringe Toxizität auf und modifizierte Eisenoxid basierte Nanopartikel wurden in der Medizin verwendet. Toxikologische Untersuchungen auf die Wirkung von magnetischen Nanopartikeln oder Abbauprodukte im Körper weisen auf verschiedene Zersetzungsprozesse hin.^[51,52] In der Kernspintomographie werden verschiedene magnetische Nanopartikelpräparate bereits als Kontrastmittel (Feridex, Resovist, Endorem, Lumirem, etc..) verwendet.^[53] Einige Produkte wurden jedoch schon aufgrund von Nebenwirkungen vom Markt genommen.^[54] All diese Präparate basieren auf Magnetit

1 Einleitung

Nanopartikeln die mit Dextran oder Carboxydextran umhüllt sind. In vivo Studien zur Toxizität der Nanopartikel sind begrenzt, aber aufgrund von steigender Präparateanzahl werden diese kontinuierlich mehr.^[55,56]

Magnetische Nanopartikel werden zur molekularen Erkennung von Stoffen unter Verwendung von DNA oder Enzymen eingesetzt. Hierbei können verschiedene Sequenzen von DNA oder Proteinen abgetrennt werden. Die magnetische Abtrennung stellt eine attraktive Methode zum sequenziellen Aufbau von Proteinen dar.^[57,58]

Die meisten pharmakologischen Erfolge in der Krebstherapie basieren auf chemotherapeutischen Substanzen. Diese weisen meist eine hohe Zytotoxizität und geringe Selektivität auf. Funktionalisierte Nanopartikel können durch Erkennungsdomänen einen gerichteten Transport zum Zielgewebe als Wirkstoffträger ermöglichen.^[59,60]

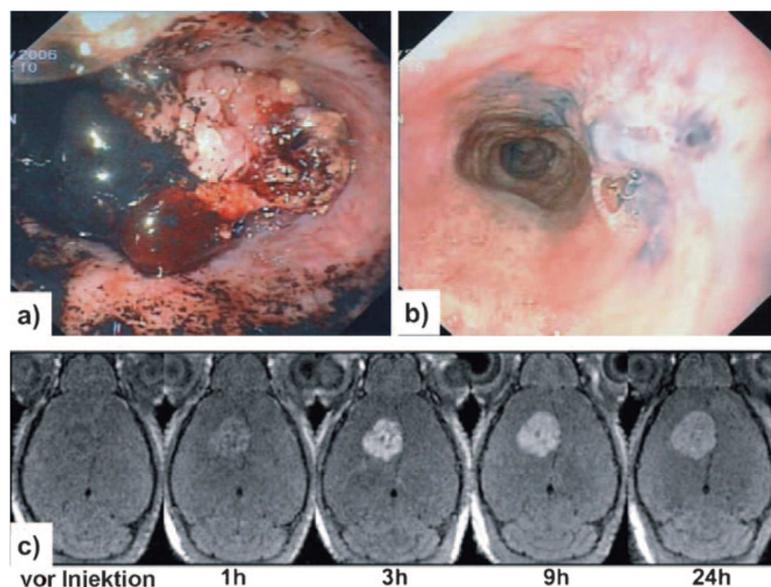


Abb. 8: Darstellung der magnetothermischen Therapie eines Speiseröhrenkrebs unter Verwendung von $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ Nanopartikeln vor (a) und nach (b) der Behandlung. c) Darstellung eines Brusttumors mit Hilfe von MRI-Aufnahmen durch funktionalisierte MnO Nanopartikel als Kontrastmittel. Die Grafik wurde aus Literaturstelle [1] entnommen.

Die Verwendung von magnetischen Nanopartikeln zur Übertragung von Wärme in der Thermotherapie sieht in Verbindung mit klassischen Behandlungsmethoden (Chemo- und Radiotherapie) vielversprechend aus.^[61,62] Erste Arbeiten auf diesem Gebiet wurden 1979 von GORDON mit Hilfe von Dextran ummantelten magnetischen Nanopartikeln beschrieben.^[63] In Abhängigkeit von der produzierten Wärmemenge können zwei

verschiedene Wirkprozesse beschrieben werden. Der Erste ist der hyperthermische Effekt, bei dem die Zellen die Apoptose einleiten, während sie bei 41-46 °C behandelt werden. Der Zweite ist die „cell ablation“, welcher bei einer Behandlung der Zellen bei 46-58 °C auftritt.^[64] Diese Form der Behandlung wurde bereits an verschiedenen Krebsvarianten (Brustkrebs, Speiseröhrenkrebs, etc.) erfolgreich getestet.^[65,66] Die Effizienz dieser Methode hängt jedoch von der Größe und der magnetischen Suszeptibilität der Partikel ab.^[67]

1.3 CORMS

Seit der Entdeckung der physiologischen Wirkung von Kohlenstoffmonoxid auf den menschlichen Körper von HALDANE 1927 wurde das Molekül als „silent killer“ beschrieben.^[68] Kohlenstoffmonoxid verhindert den Sauerstofftransport im Blutkreislauf durch eine starke Bindung an das Häm-Zentrum des Hämoglobins. Das Gas ist farblos und geruchslos. Die Bindung ist ca. 200-mal stärker als die des vergleichbaren Sauerstoffadduktes. Selbst kleine Mengen von Kohlenstoffmonoxid in der Umgebungsluft können gefährlich für den menschlichen Körper sein.^[69,70]

Dennoch enthält jede Zelle im menschlichen Organismus Hämoxygenase Enzyme,^[71] welche durch Ausschüttung von Kohlenstoffmonoxid in der Lage sind circadiane Rhythmen (z.B. Schlafrhythmus), das Gedächtnis und die Hämodynamik (Blutfluss in den Gefäßen) zu steuern.^[72,73,74]

Das Gas wird Signalmolekül klassifiziert und besitzt ähnlich regulierende Eigenschaften wie Schwefelwasserstoff (H₂S) und Stickstoffmonoxid (NO) welche verschiedene Prozesse bei der Kaskadenleitung übernehmen.^[73,75,76,77]

Aufgrund der regulierenden und zellschützenden Eigenschaften von Kohlenstoffmonoxid wurde dieses Gas bereits sehr stark für medizinische Anwendungen untersucht. Die Verabreichung von gasförmigen Kohlenstoffmonoxid wurde bereits erfolgreich am menschlichen Körper getestet. Es zeigte eine Halbwertszeit von 3 bis 7 Stunden und wurde in einer Konzentration von 3 mg/kg für eine Stunde toleriert. Das Gas wurde reversibel an Zellen gebunden und die Ausatmung wurde als einziger Weg für den Austritt aus dem menschlichen Körper bei dieser therapeutischen Anwendung bestimmt.^[78]

1 Einleitung

Positive Effekte bei verschiedenen Krankheiten wie, Tumorwachstum, Malaria, bakterielle Infektionen, pulmonale Fibrose, rheumatische Arthritis, akutem Leberversagen, thermische Verletzungen, Asthma oder Sichelzellenanämie wurden bereits beschrieben.^[79] Wenn Kohlenstoffmonoxid jedoch als Gas verabreicht wird, ist die Anreicherung in einer bestimmten Bereich (z.B. Tumor oder verbranntes Gewebe) schwierig. Das Gas unterscheidet nicht zwischen gesundem und erkranktem Gewebe, muss in relativ hohen Dosen appliziert werden und kann zu Nebenreaktionen führen.

Für die kontrollierte Verabreichung von Kohlenstoffmonoxid in erkranktem Gewebe wurde „festes Kohlenstoffmonoxid“ in Form von kleinen CO freisetzenden Molekülen entwickelt. Die ersten sogenannten CORMs (CO releasing molecules) waren $\text{Fe}(\text{CO})_5$, $\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}$ (CORM-1) und $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2]_2$ (CORM-2) (Abb. 9).^[80,81]

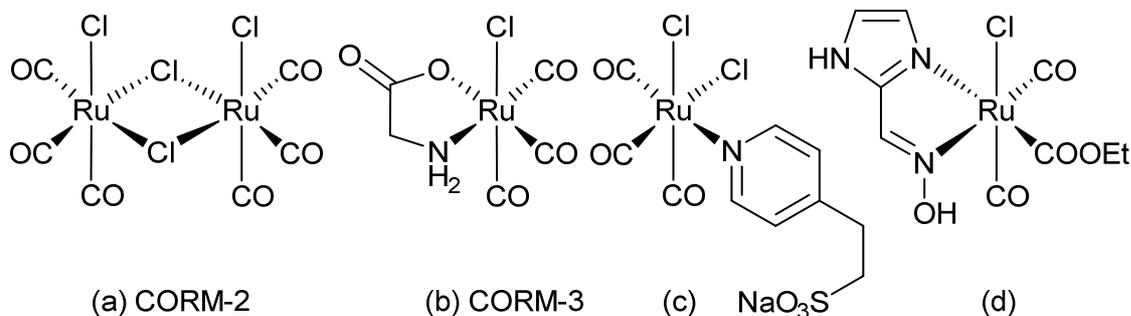


Abb. 9: Beispiele von Ruthenium basierten Kohlenstoffmonoxid freisetzenden Molekülen (CORMs) für biologische Anwendungen. (a) CORM-2,^[80] (b) CORM-3^[80] (c) $\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2(4\text{-NC}_5\text{H}_4(\text{CH}_2)_2\text{SO}_3\text{N})$,^[82] (d) $\text{Ru}(\text{imidazole-2-carbaldehyd oxime})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$.^[83]

Die ersten Vertreter der CORMs waren schwer wasserlöslich und setzten ihr Kohlenstoffmonoxid zu schnell für eine präzise Anwendung frei.^[83] Die Entwicklung des wasserlöslichen Komplexes $[\text{Ru}(\text{CO})_3(\text{glycinato})]$ (CORM-3) (Abb. 9) welcher Kohlenstoffmonoxid unter physiologischen Bedingungen freisetzt gelang 2003 MOTTERLINI. Dieser Komplex zeigte zudem entzündungshemmende, gefäß-erweiternde und –schützende Effekte in vorklinischen Studien.^[84]

In den letzten zehn Jahren wurden Ruthenium basierte CORMs ein sehr wichtiger Bestandteil der aktuellen Forschung. Hervorzuheben sind hierbei verschiedene Studien zu CORM-2 und dem wasserlöslichen CORM-3.^[73,82,83] Verschiedene CORMs mit Rutheniumcarbonylen sind bekannt (Abb. 9) und ihre Nummer steigt stetig.^[83,85] Dennoch ist die Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung für CORM-3 in einer pseudo erster

1 Einleitung

Ordnungsreaktion sehr schnell (1 min bei 37 °C in PBS-Puffer^[86] und 2.3 min bei 30 °C in PBS-Puffer,^[87] 3.6 min in menschlichem Plasma^[88]), durch Kohlenstoffmonoxidabstraktion von Hämproteinen.^[89]

Aktuelle Studien zeigen CORMs welche durch pH-Wertveränderung,^[90,91] erhöhte Temperatur, UV-Anregung,^[92,93] Oxidation oder enzymatische Mechanismen,^[94] Kohlenstoffmonoxid freisetzen können. Die Funktionalisierung von verschiedenen Materialien in^[95] und auf^[96] deren Oberfläche ermöglichen neue Wege in der medizinischen Chemie.^[97,98]

1.4 Detektion von Kohlenstoffmonoxid

Zur Detektion von Kohlenstoffmonoxid können verschiedene Techniken angewandt werden. Die am weitesten verbreitete Methode für in vitro Tests ist der Myoglobin Assay. Bei dieser Methode wird die Aufnahme einer Lösung von reduziertem Desoxymyoglobin zu Carboxymyoglobin mit Hilfe der Absorptionsspektroskopie untersucht. Die optische Veränderung der α -, β -Region oder der Soret-Bande werden detektiert.^[99] Bei dieser Methode kam es jedoch zu Diskrepanzen bei der Bestimmung der Halbwertszeiten von $[\text{RuCl}_2(\text{CO})_3]$ (CORM-2) und $[\text{RuCl}(\text{CO})_3\text{glycinato}]$ (CORM-3).^[100] Es konnte gezeigt werden, dass das Reduktionsmittel Natriumdithionit verantwortlich für eine schnelle Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei Ruthenium basierten CORMs im Myoglobin Assay ist. Diese Beschleunigung der Freisetzung kann jedoch auch auf andere CORMs übertragen werden.^[101] Um diese Problematik zu umgehen wurden neue Methoden wie der Hämoglobin Assay^[101] oder modifizierte Myoglobin Assays^[102] verwendet.

Weitere analytische Methoden sind unter anderem Elektrochemische Sensoren. Sie benötigen keine anaerobe Umgebung und können die Konzentration direkt in der Lösung messen. Sie ermöglichen jedoch nur einen begrenzten Einblick in die Kinetik und Einflüsse von elektrochemische Reaktionen auf die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung wurden noch nicht untersucht.^[103]

1 Einleitung

Fluoreszenzmittel zum Nachweis und zur Untersuchung von Kohlenstoffmonoxid in geringen Konzentrationen sind in der Literatur bekannt.^[104] Sie besitzen jedoch eine sehr langsame Reaktion und sind daher zur Untersuchung von schnellen Kinetiken nicht geeignet.

Gasphasen IR-Spektroskopie stellt eine sehr sensitive und hoch aufgelöste Methode in der Analyse von Kohlenstoffmonoxid dar. Die Untersuchung erfolgt ohne weitere Additive wie zum Beispiel Natriumdithionit und betrachtet daher die reine Freisetzung des Materials.^[103]

Gaschromatographie mit unterschiedlichen Detektoren wie GC-RGD,^[105] GC-TCD^[103] oder GC-MS^[106] sind nicht in der Lage kontinuierliche Messungen in zeitlich kurzen Abständen durchzuführen, da Auszüge aus den Proben oder der überstehenden Luft entnommen werden müssen. Auch hier ist die Analyse von schnellen Kinetiken sehr problematisch.

2 Zielsetzung und Motivation

Im Rahmen der Dissertation sollte untersucht werden ob eine Funktionalisierung von IONPs (iron oxide nanoparticle) mit Kohlenstoffmonoxidfreisetzenden Verbindungen (CORMs, CO-releasing-materials) möglich ist. Hierbei sollte für die ersten Versuche ein CORM-3 System verwendet werden, welches thermosensitiv und in der Literatur gut untersucht ist. Die mögliche Verwendung von photolytisch aktiven CORMs sollte untersucht werden um diese auf IONPs zu immobilisieren und deren Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zu untersuchen.

Des Weiteren sollten stabile Dispersionen der Nanopartikel hergestellt werden und auf deren Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei verschiedenen Temperaturen und im magnetischen Wechselfeld untersucht werden.

Die Untersuchung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung sollte mit dem bekannten Myoglobin Assay erfolgen um die Geschwindigkeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zu verfolgen.

Die Analyse der funktionalisierten Nanopartikel sollte durch Verwendung von gängigen Methoden wie IR (Infrarotspektroskopie), UV (UV/VIS-Spektroskopie), XRD (Röntgenbeugung), DLS (Dynamische Lichtstreuung), TEM (Transmissionselektronenmikroskopie) und AAS (Atomabsorptionsspektroskopie) durchgeführt werden.

3 Ergebnisse

3.1 CORM-3 Analoga auf IONP

3.1.1 Darstellung von CORM@IONP

Die kontrollierte Freisetzung von Kohlenstoffmonoxid an einem definierten Ort ist eine grundlegende Voraussetzung für eine sinnvolle therapeutische Anwendung. Die Verwendung von Kohlenstoffmonoxid-freisetzenden Molekülen stellt eine vielversprechende Möglichkeit zur gezielten Wirkstofffreisetzung dar.^[107] Der Wasserlösliche Komplex CORM-3 (**Abb. 10**) setzt unter physiologischen Bedingungen Kohlenstoffmonoxid frei, zeigt Entzündung hemmende, Nieren schützende, Durchblutung fördernde und anti-apoptotische Effekte in vorklinischen Studien.^[108] Die Kohlenstoffmonoxid-Freisetzung wird durch einen hydrolytischen Mechanismus induziert, der einer Kinetik erster Ordnung unterliegt und eine Halbwertszeit von $t_{1/2} \approx 1$ min aufweist.^[109]

Die physiologisch noch undefinierten und schnellen Freisetzungseigenschaften limitieren jedoch das Anwendungsgebiet von CORM-3. Ein wichtiger Schritt ist die Entwicklung eines CORMs, das durch einen äußeren Stimulus aktiviert oder angeregt werden kann, um gezielt Kohlenstoffmonoxid freisetzen zu können. Als Beispiel eines stimulierbaren CORMs kann das CORM-A1, ein Boranarbonat, genannt werden, welches durch Veränderung des pH-Wertes Kohlenstoffmonoxid freisetzen kann.^[110] Des Weiteren gibt es bereits Metallcarbonylverbindungen, die sowohl photoinduziert^[111] als auch enzymatisch^[112] aktiviert werden können, um Kohlenstoffmonoxid freizusetzen.

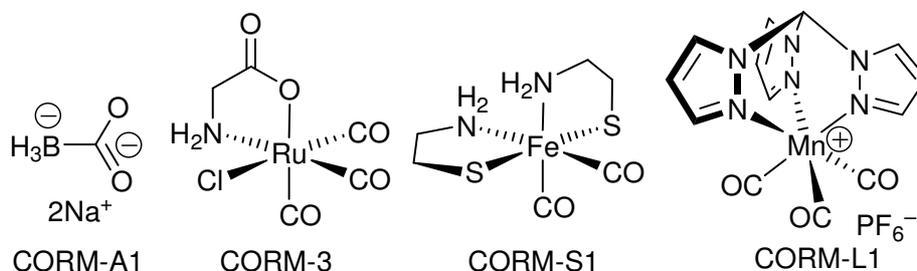


Abb. 10: Beispiele von Kohlenstoffmonoxid freisetzenden Molekülen zur Untersuchung von biologischen Anwendungen.

3 Ergebnisse

Zur Zeit stellt eine der größten Herausforderungen die räumlich begrenzte Kohlenstoffmonoxid-Freisetzung im Zielgewebe dar. Eine mögliche Lösung bieten modifizierte Nanopartikel als Trägermaterialien für CORMs. Sie könnten eine kontrollierte Applikation zum Zielgewebe, sowie eine zeitlich- und räumlich kontrollierte Kohlenstoffmonoxidfreisetzung durch lokale Magnetfelder ermöglichen.

Eine Verwendung von Kohlenstoffmonoxid freisetzenden Materialien auf magnetischen Nanopartikeln zur magnetfeldinduzierten Freisetzung wurde bis 2013 nicht versucht. In einer Möglichkeitsstudie konnte gezeigt werden, dass dieses theoretische System (**Abb. 11**) auch in der Praxis zu funktionieren scheint.

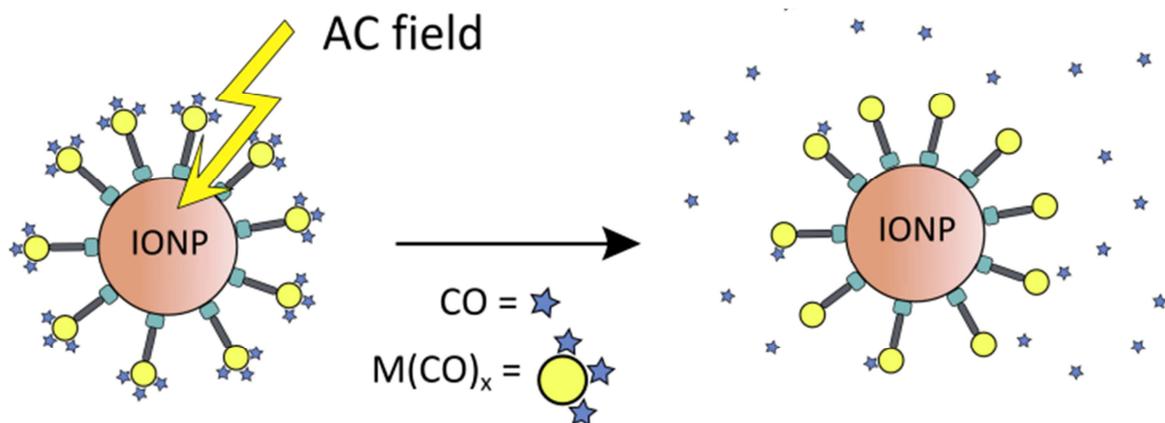


Abb. 11: Schematische Darstellung einer induzierten Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Metallcarbonyl geträgerten Eisenoxid Nanopartikeln (IONP) durch ein magnetisches Wechselfeld (AC field).

Das Aufheizen von magnetischen Nanopartikeln in einem Magnetwechselfeld durch einen Verlustmechanismus (Hyperthermie) wurde vor einigen Jahren bekannt und wird nun in der thermischen Ablation von befallenem Gewebe in der Krebstherapie verwendet.^[113] Eine makroskopische Temperaturerhöhung im Gewebe ist durch eine entsprechend hohe Konzentration von Partikeln zu erreichen. Des Weiteren kann die Konzentration von magnetischen Nanopartikeln in der physiologischen Umgebung durch Magnetfelder kontrolliert werden^[114] und diese auch als Transporter für mögliche Therapeutika dienen.^[115] Theoretische Berechnungen zeigen, dass ein thermisches Gleichgewicht schnell durch elektromagnetische Anregung von nanoskopischen (metallischen oder magnetischen) Partikeln aufgrund der hohen Oberflächen zu Volumen Rate erreicht werden kann. Es ist dabei zu vernachlässigen, dass es zu einer Temperaturdifferenz zwischen Bulkmaterial und

3 Ergebnisse

der direkten Umgebung des Partikels kommt. In Abhängigkeit der Größe des Partikels und des umschließenden Mediums kann ein Einsetzen der Erwärmung mit einer Verzögerung von 100 ps angenommen werden.^[116] Experimente zeigten, dass der Energiefluss zwischen Partikel und der umgebenden Phase höher ist, je mehr Freiheitsgrade den Oberflächenmolekülen zur Verfügung stehen. Diese Erkenntnisse können für die Aktivierung eines Freisetzungsprozesses^[115a,d], für lokalen Phasenübergang,^[115a,b] gezielte Proteindenaturierung oder Aktivierung^[115c] und Oligonukleotide Dehybridisierung.^[117]

Der Test des Konzeptes der Magnetwechselfeld induzierten Kohlenstoffmonoxid Freisetzung von magnetischen Nanopartikeln wurde mit einer geeigneten CORM-Verbindung durchgeführt, welche an der Oberfläche der Maghemit Nanopartikel immobilisiert wurde.

Maghemit Nanopartikel (**1**) wurden nasschemisch nach einer Vorschrift von EwjiK^[118] aus Eisen(II)- und Eisen(III)chlorid mit anschließender Oxidation hergestellt. Das Material wurde auf Phasenreinheit mit Hilfe des PXRD (Abb. 12) untersucht.

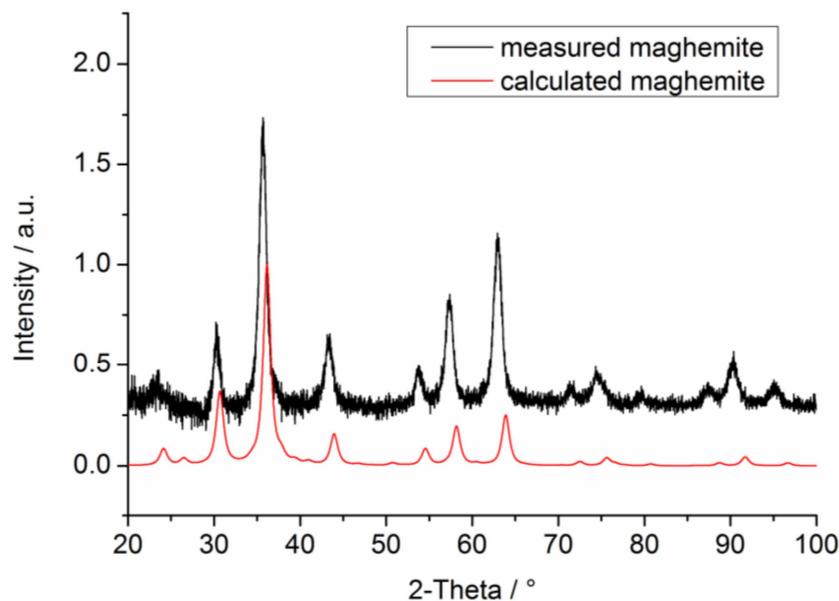


Abb. 13: Gemessenes und berechnetes Röntgen Pulver Diffraktogramm von Maghemit Nanopartikel (**1**).

In einem weiteren Schritt wurde D/L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)alanin (D/L-DOPA) auf der Oberfläche durch Ausbildung von Etherbrücken am Aromaten zum Nanopartikel immobilisiert. Dies dient als Ankergruppe für die anschließende Einführung des CORM-Fragmentes an der Aminosäure.

Die D/L-3-(3,4-dihydroxyphenyl)alanin funktionalisierten Nanopartikel (**2**) konnten mit einem Permanentmagneten sedimentiert, gewaschen und in Methanol mit $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{CO})_6]$ (**3**) zum entsprechenden funktionalisierten Nanopartikel CORM@IONP (**4**) umgesetzt werden (**Abb. 14**).

CORM@IONP (**4**) beinhaltet ein Derivat von CORM-3, bei dem das Rutheniumfragment ein Dioxophenylalaninato- anstatt eines Glycinato-Liganden besitzt. Diese Variation ist notwendig, um das CORM auf der Oberfläche durch die Dioxophenyl/Catechol-Einheit zu binden. Es wurde bewusst ein System verwendet, welches einen Vergleich zum gut untersuchten CORM-3 ermöglicht. Dieser schnelle Freisetzer soll zu kurzen kinetischen Messungen führen, um dieses neuartige Freisetzungskonzept zu untersuchen. Für zusätzliche Kontrollversuche wurde der molekulare Komplex Tri(carbonyl)-chlorido-phenylalaninato-ruthenium(II) (**5**) analog der Vorschrift für CORM-3 hergestellt.

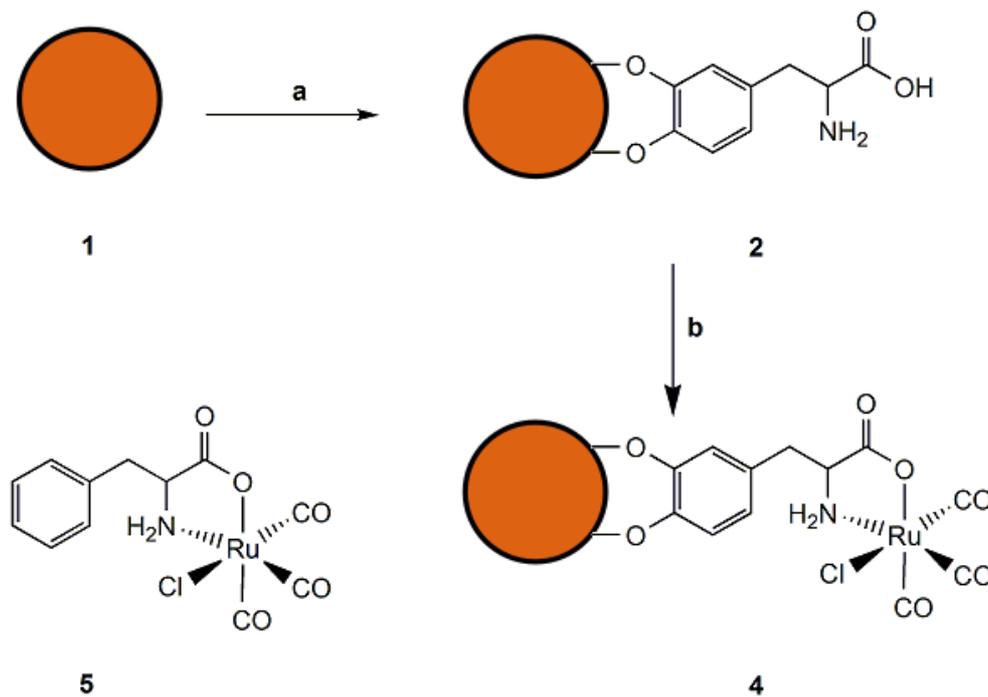


Abb. 14: Schematische Darstellung der Synthese von CORM@IONP (**4**) sowie der molekularen Verbindung Tri(carbonyl)-chlorido-phenylalaninato-ruthenium(II) (**5**) ausgehend von Maghemit Nanopartikel (**1**). a) D/L-Dihydroxyphenylalanin, Wasser, b) $[\text{Ru}(\text{Cl})_2(\text{CO})_3]_2$ (**3**), Methanol.

3 Ergebnisse

Die Funktionalisierung der Maghemit Nanopartikel wurde durch IR Spektroskopie verfolgt (**Abb. 15**). Die starken CO-Streckschwingungen des Rutheniumcarbonylfragmentes können bei 2075 und 2022 cm^{-1} beobachtet werden. Diese Werte stimmen mit den Schwingungsfrequenzen des analogen CORM-3 unter basischen Bedingungen überein.^[119]

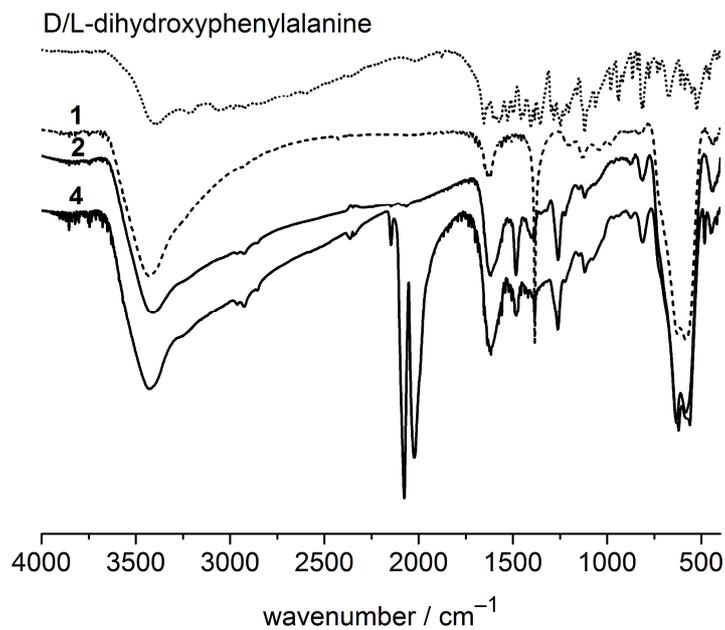


Abb. 15: IR-Spektren (in KBr) von D/L-Dihydroxyphenylalanin, den nicht funktionalisierten (**1**) und funktionalisierten Nanopartikeln (**2**) und CORM@IONP (**4**).

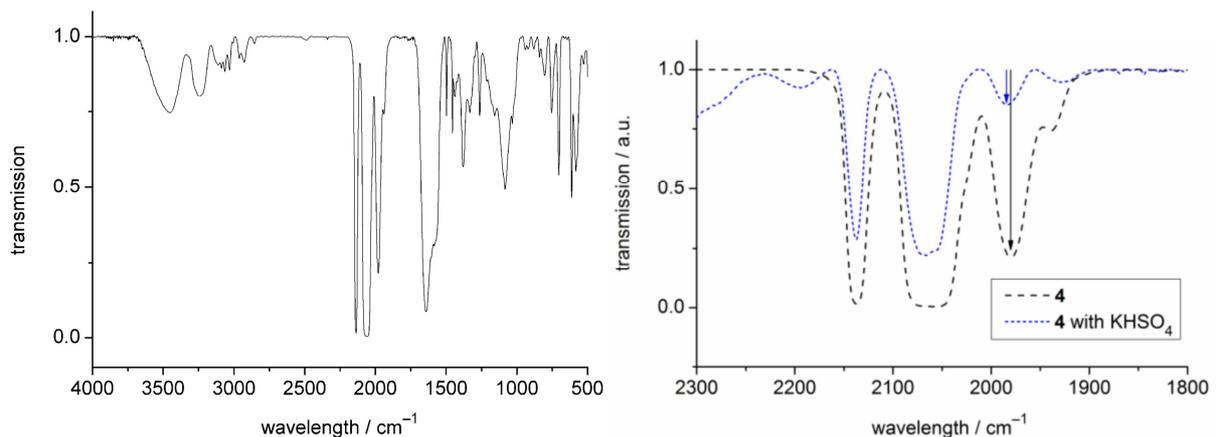


Abb. 16: (a) IR Spektrum in KBr von dem Tri(carbonyl)-chlorido-phenylalaninato-ruthenium(II) Komplex **5** und (b) nach der Zugabe von 1.5 äquivalenten Säure (KHSO_4). Das Spektrum in (b) stimmt mit dem IR-Spektrum von CORM-3 nach der Zugabe von 1.5 äquivalenten Säure HCl überein (Absorptionen bei 2137, 2072 und 2058 cm^{-1}).

Das IR-Spektrum in Abb. 7 zeigt eine Abnahme der Absorption bei 1984 cm^{-1} nach der Zugabe von Säure zu Verbindung (**5**). Diese Veränderung ist in der Literatur von bekannt und

3 Ergebnisse

wurde von MOTTERLINI beschrieben, der auf eine Veränderung des Tricarbonylfragmentes mit verschiedenen trans-Liganden verweist.^[119] Die hohe Konzentration in den IR Spektren wurde gewählt, um die Effekte durch die Zugabe der Säure genau zu beobachten. Die Aufspaltung der zweiten Absorption in zwei Banden bei 2071 und 2058 cm^{-1} für einen symmetrischen $[\text{M}(\text{CO})_3\text{L}_3]$ Komplex ist der Fehlsymmetrie des $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{phenylalaninato})]$ Komplexes (**5**) geschuldet.

Die IR Spektren der Komplexe können leider wie in der Literatur beschrieben, komplizierter werden als ihre symmetrischen Analoga. Eine Auswertung der IR-Spektren ist daher nicht trivial. : „*The IR spectra of the $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{amino acetate})]$ complexes are more complicated than for simple symmetric tricarbonyl $[\text{M}(\text{CO})_3\text{L}_3]$ fragments.*“^[119]

Es wurden verschiedene Äquivalente Base (NaOH) zu Verbindung (**5**) in wässr. KBr gegeben und dieses anschließend getrocknet. Die IR-Spektren der Carbonylregion von $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{phenylalaninato})]$ (**5**) sind in **Abb. 17** gezeigt. Die Reaktion von (**5**) mit 0.5, 1.0 und 1.5 molaren Äquivalenten NaOH führte zu zwei Banden bei 2033 und 1952 cm^{-1} . Diese stimmen gut mit den Absorptionen bei 2058 und 1985 cm^{-1} oder 2044 und 1968 cm^{-1} der Reaktion von 1 bzw. 2 äquivalenten NaOH mit CORM-3 überein.^[119] Die Reaktion von (**5**) mit 0.5 äquivalenten NaOH zeigt sowohl die original Absorptionen, als auch verschobene bei 2133, 2050 und 1971 cm^{-1} . Die letzten beiden Absorptionen überlappen mit den neu entstehenden.

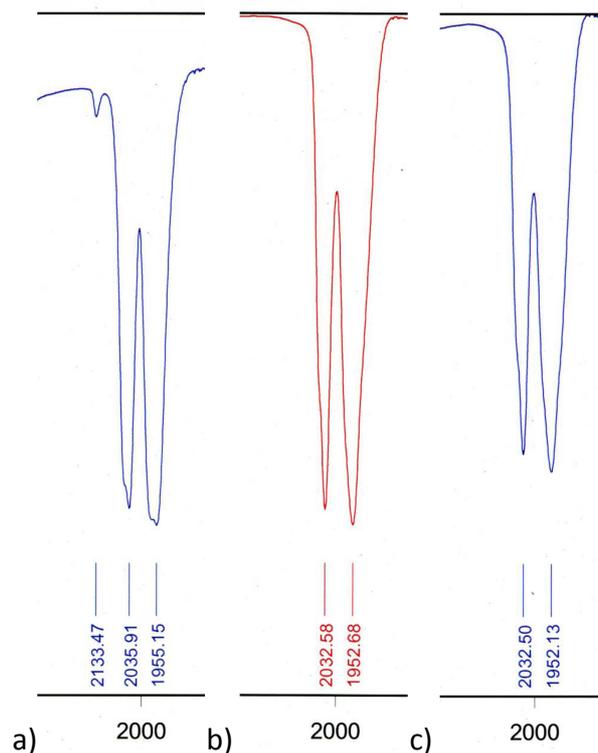


Abb. 17: Darstellung der Carbonylregion des IR-Spektrum von $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{phenylalaninato})]$ (**5**) mit unterschiedlichen Äquivalenten Natriumhydroxid: (a) **5**+0.5 äq. (b) **5**+1.0 äq. und (c) **5**+1.5 äq.

Die Maghemit Nanopartikel (**1**) haben einen hydrodynamischen Durchmesser (**Abb. 18**) von (8 ± 2) nm, der sich durch die Funktionalisierung mit D/L-Dihydroxyphenylalanin (**2**) auf (11 ± 3) nm erhöht. Dieser Wert verändert sich durch Reaktion mit $[\text{RuCl}_2(\text{CO})_3]_2$ zu (**3**) nicht.

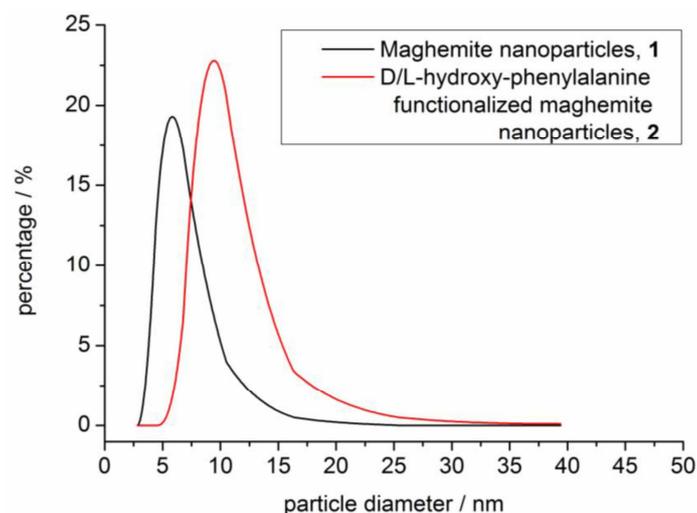


Abb. 18: Verteilung des hydrodynamischen Durchmessers von Maghemit Nanopartikel (**1**) und den D/L-Dihydroxyphenylalanin funktionalisierten Nanopartikeln (**2**).

3 Ergebnisse

Die Liganden/CORM-Hülle von CORM@IONP (**3**) kann im hoch aufgelösten Transmission-Elektronen-Mikroskop (HR-TEM) beobachtet werden. In Abb. 19 ist ein repräsentativer Nanopartikel (**3**) entlang seiner [222] kristallographischen Ebene mitsamt seiner Ligandenhülle zu sehen. Der Partikeldurchmesser von (**3**) beträgt (9 ± 2) nm und besitzt eine Ligandenhülle mit einer Dicke von 2 nm, wie in den TEM Aufnahmen zu sehen ist. Diese Abstände stimmen mit den Messungen der dynamischen Lichtstreuung sehr gut überein.

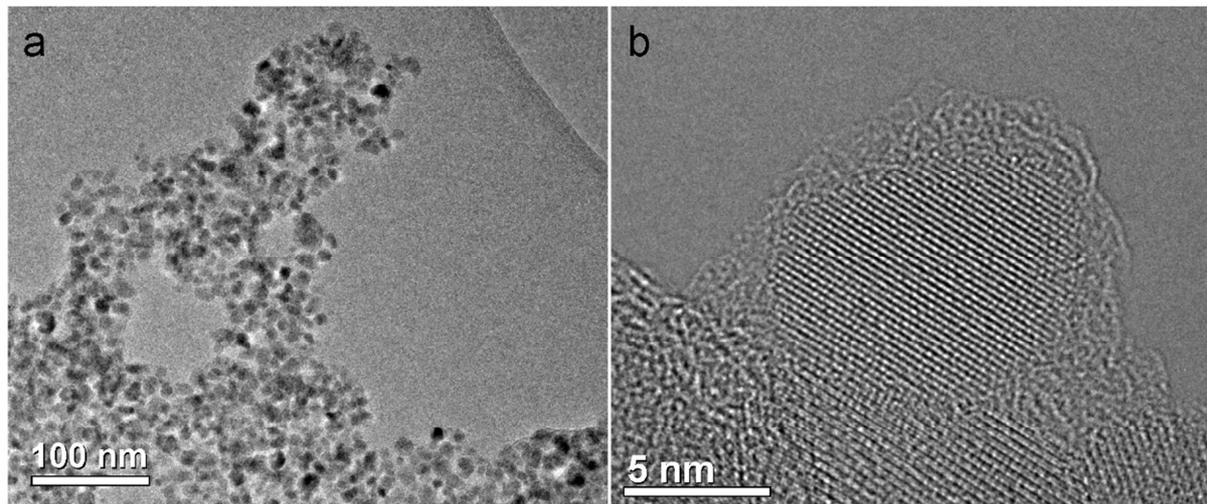


Abb. 19: TEM Aufnahmen von CORM@IONP (**3**); (a) Übersichtsaufnahme von agglomerierten Nanopartikeln, (b) HR-TEM Aufnahme eines Partikels entlang der [222] Ebene mitsamt organischer Ligandenhülle.

Das Ru:Fe Verhältnis von 1:25 wurde mit Hilfe einer ICP-MS Messung bestimmt. Dies bedeutet, dass ca. 400 Rutheniumkomplexe auf der Oberfläche eines Partikels gebunden sind und somit eine maximale Beladung von ca. 60% erreicht wurde.

Die Berechnung der maximalen Beladung ergibt sich aus folgenden Annahmen: Ein sphärischer Partikel von 8 nm Durchmesser besitzt eine Oberfläche von $(4\pi r^2 =)$ 201 nm² und ein durchschnittliches Volumen von $(4/3 \pi r^3 =)$ 268 nm³. Bei einer Dichte von 5.25 g/cm³ für Fe₂O₃ ergibt sich ein Gewicht von $1.4 \cdot 10^{-18}$ g pro Partikel. Die molekulare Masse von Fe₂O₃ beträgt 159.69 g/mol und ergibt somit bei einem durchschnittlichen Partikeldurchmesser von 8 nm $8.77 \cdot 10^{-21}$ mol Moleküle. Multipliziert mit der Avogadrokonstante $N_A = 6.022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ führt zu 5300 Formaleinheiten oder 10600 Eisenatomen pro Partikel.

Der notwendige Platzbedarf eines Catecholats, in diesem Fall der Dioxyphenylalaninat-Ligand, wurde unter der Annahme der Fläche eines Benzolringes (0.28 nm²) berechnet. Ausgehend von der Oberfläche geteilt durch den Platzbedarf eines Benzolringes ergibt sich

3 Ergebnisse

eine Anzahl von $(201 \text{ nm}^2 / 0.28 \text{ nm}^2 = 717)$ oder ca. 700 Dioxyphenylalaninat-Liganden, welche theoretisch auf der Oberfläche eines 8 nm großen Fe_2O_3 -Partikels koordiniert sein könnten.

ICP-MS Messungen ergaben ein Ruthenium zu Eisen Verhältnis von 1:25, welches zu einer ungefähren Anzahl von rund 400 Rutheniumatomen pro Partikel umgerechnet werden kann. Basierend auf einem 8 nm Fe_2O_3 -Partikel würde dies bei ca. 700 Dioxyphenylalaninat-Liganden eine Sättigung von 57 % bedeuten. Es stehen mehr Dioxyphenylalaninat-Liganden zu Verfügung, als $\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}$ -Fragmente koordiniert sind.

Die magnetischen Eigenschaften der D/L-DOPA-funktionalisierten Maghemit Nanopartikel (**2**) wurden durch "vibrating sample magnetometry (VSM)" untersucht. Das Fehlen einer Hystereseurve zeigt das superparamagnetische Verhalten der Partikel sowohl in Lösung als auch im Feststoff. Die Sättigungsmagnetisierung zeigt einen hohen Massenanteil von 67 % von der ein durchschnittlicher Kerndurchmesser von 12 nm bestimmt werden kann (**Tab. 1**).

Das EV7 System von ADE Magnetics Co. enthält einen 3472-70 Elektromagneten von GMW Magnet Systems Co. mit einer maximalen Feldstärke von $2.8 \cdot 10^8 \text{ A m}^{-1}$ und einen Vibrationsarm mit einer Frequenz von 75 Hz. Von jeder Probe wurde eine Hystereseurve von $-1.59 \cdot 10^6 \text{ A m}^{-1}$ bis $1.59 \cdot 10^6 \text{ A m}^{-1}$ gemessen (**Abb. 20**). Die Sättigungsmagnetisierung M_s und die Anfangssuszeptibilität χ_{ini} wurden aus der Hystereseurve bestimmt. Von diesen Werten und der volumenbasierten Sättigungsmagnetisierung M_0 der Maghemit Nanopartikel ($3.9 \cdot 10^5 \text{ A} \cdot \text{m}^{-1}$) konnte der durchschnittliche Partikeldurchmesser ($d_{v/a}$) bestimmt werden. Zusätzlich können die Massenprozent der Maghemit Nanopartikel über die Sättigungsmagnetisierung μ_{mag} sowohl im Feststoff als auch in Lösung gemessen werden (**Tab. 1**).

3 Ergebnisse

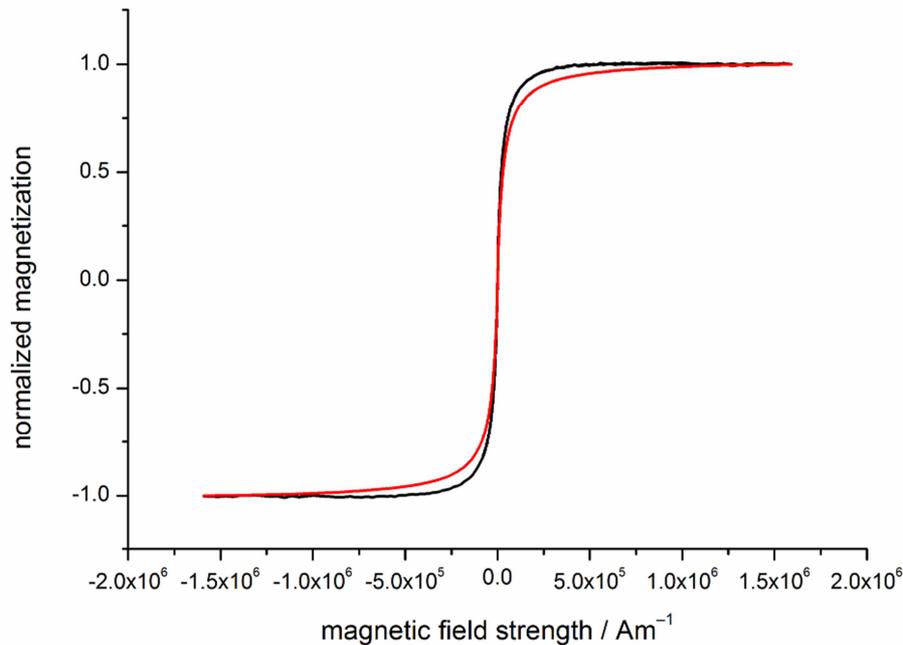


Abb. 20: Aufgenommene Hysteresekurven von Maghemit Nanopartikeln (1) (normalisiert auf die Sättigungsmagnetisierung): Partikeldispersion in Wasser (schwarz), als getrockneter Feststoff (rot).

Tab. 1: Magnetische Eigenschaften der D/L-DOPA-funktionalisierten Maghemit Nanopartikel (2).

Sample	M_s^a	χ_{ini}^a	μ_{mag}^a	$d_{v/a}^a$
Dispersion in Wasser, pH 8 _b	50.8 A/m ⁻¹	0.002	0.07 % ^c	13.0 nm
Feststoff ^d	53.8 Am ² /kg	0.002 m ³ /kg	67.31 %	11.6 nm

^a M_s = Sättigungsmagnetisierung, χ_{ini} = Startsuszeptibilität, μ_{mag} = Massenprozent Fe₂O₃, $d_{v/a}$ = durchschnittlicher Partikeldurchmesser. ^b Flüssige Probe als Dispersion in Wasser gemessen, daher sind die Einheiten von M_s und χ_{ini} volumenbasiert. ^c Die flüssige Probe wurde als Partikeldispersion in Wasser gemessen inclusive der Flüssigkeit. Die Werte von μ_{mag} korrelieren daher mit dem Massenprozent von Fe₂O₃ in der Lösung und sind unterschiedlich und wesentlich geringer als die Werte für die feste (reine) Probe von 2. ^d Die Probe wurde als pulveriger Feststoff vermessen und die Werte von M_s und χ_{ini} sind daher massenbasiert.

3.1.2 Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP

Die CO Freisetzung wurde mit Hilfe des Myoglobin Assay unter Verwendung eines UV/VIS-Spektrometers wie von MOTTERLINI beschrieben untersucht.^[120,121] Für das CORM@IONP (**4**), kann eine Freisetzungskinetik pseudo erster Ordnung ohne angelegtes magnetisches Wechselfeld angenommen werden. Der kinetische Verlauf der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung kann durch die Zu- und Abnahme der Absorptionen bei 541, 556 und 578 nm beobachtet werden.

Die Verwendung eines Puffers ist bei der Durchführung des Myoglobin Assays ebenfalls entscheidend. In der Literatur wird auf die Verwendung eines Phosphat-Puffers verwiesen.^[119] Untersuchungen zeigten jedoch Grenzen für diese Puffer auf. So agglomerierten Maghemit Nanopartikel (**1**) im wässrigen Medium unter Verwendung von Phosphat-Puffer, jedoch nicht in *N*-Morpholinpropansulfonsäure-Puffer (MOPS-Puffer). Um spätere Probleme mit der Löslichkeit auszuschließen, wurden weitere Messungen jeweils in MOPS-Puffer durchgeführt.^[122]

Der Myoglobin Assay wurde unter Verwendung von Natriumdithionit als Reduktionsmittel durchgeführt. Um einen Einfluss des Dithionits auf die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zu untersuchen, wurde in Zusammenarbeit mit der Assay in verschiedenen Konzentrationen (44 mmol/L, 88 mmol/L und 176 mmol/L) durchgeführt.^[122] Es konnte in den durchgeführten Untersuchungen keine signifikante Veränderung (**Abb. 21**) der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung über die Menge an verwendetem Natriumdithionit an Verbindung **5** feststellen.

In der Literatur ist eine solche Abhängigkeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung beschrieben und wurde an CORM-3 getestet. In den Versuchen wurde die Abhängigkeit bei hohen Konzentrationen von Natriumdithionit untersucht. Die Verhältnisse variierten von (Myoglobin : Natriumdithionit) 500 : 1 bis 2500 : 1, während die bereits publizierten Verhältnisse von 3 : 1 bis 90 : 1 untersucht worden waren.

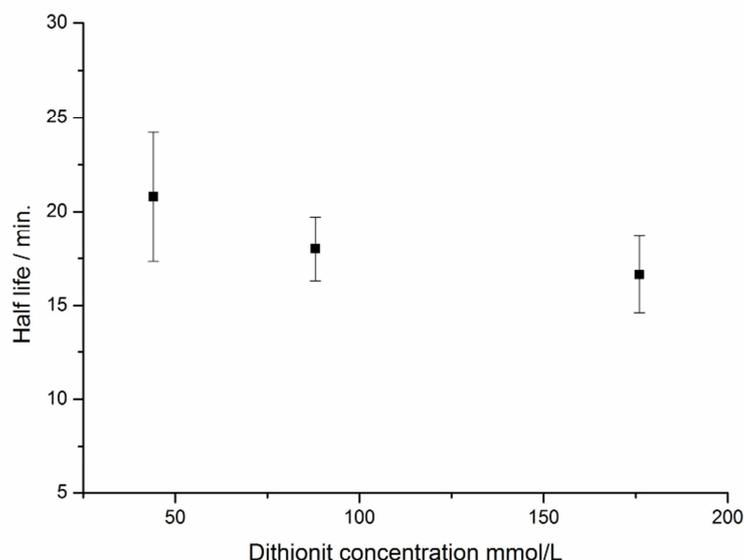


Abb. 21: Graphische Darstellung der Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP (**4**) bei 20 °C und verschiedenen Natriumdithionit Konzentrationen ohne magnetisches Wechselfeld.

Die Untersuchung zeigte, dass CORM-2 und CORM-3 kein Kohlenstoffmonoxid in Pufferlösungen freisetzen, wenn diese durch Kohlenstoffmonoxidsonden untersucht wurden.^[123] Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass CORM-3 bei Anwesenheit von Proteinen alleine auch kein Kohlenstoffmonoxid freisetzt, welches auf das Fehlen von Dithionit zurückzuführen ist.^[124] Es ist davon auszugehen, dass eine Freisetzung in komplexen intrazellulären Räumen unter Anwesenheit von Sulfitgruppen abläuft.^[125]

Es konnte beobachtet werden, dass die Halbwertszeiten analog zu Verbindung (**5**) und CORM-3 sind. Die gemessenen Halbwertszeiten von (**4**) ($t_{1/2} = (13 \pm 2)$ min bei 25 °C) sind größer als von der Modellverbindung **5** ($t_{1/2} = (2.7 \pm 0.2)$ min bei 20 °C) und CORM-3 ($t_{1/2} = 2.3$ min bei 30 °C).^[121] Diese Oberflächenstabilisierung des CORMs hinsichtlich der solvolytischen Kohlenstoffmonoxidfreisetzung kann durch eine Diffusionsbarriere erklärt werden. Eine mögliche sterische Hinderung durch Oberflächenschichten und angrenzende CORM oder freie D/L-DOPA Liganden kann eine Erklärung sein. Ein ähnlicher Effekt wurde bei der Verwendung von CORMs in micell-ähnlichen Strukturen beschrieben.^[126]

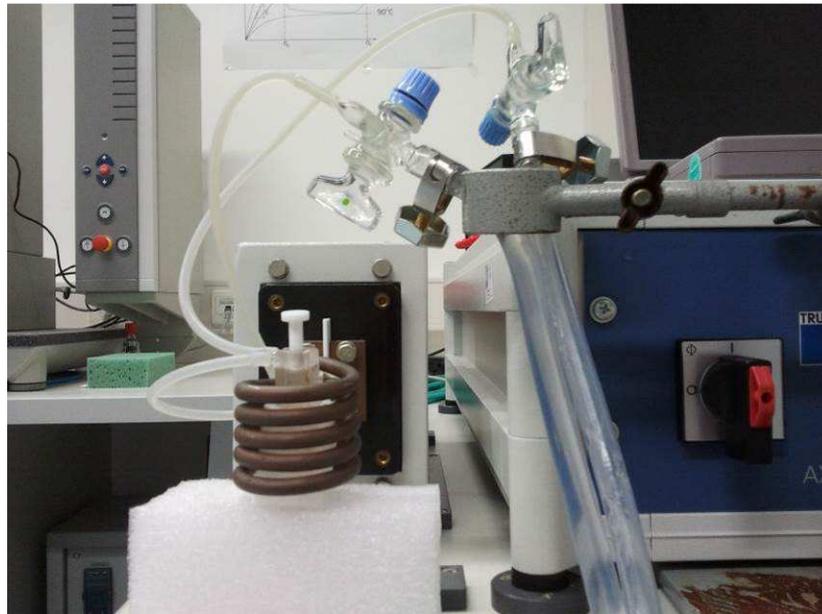


Abb. 22: Messaufbau des Myoglobin Assay mit temperierbarer Küvette in Kupferspule des Wechselfeldgenerators. UV-Vis-Spektrometer nicht im Bild.

Das Anlegen eines magnetischen Wechselfelds (31.7 kAm^{-1} , 247 kHz , $25 \text{ }^\circ\text{C}$, 1.7 mTesla) bei der Messung von CORM@IONP (**4**) führt zu einer zweifachen Beschleunigung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung, wodurch eine Halbwertszeit von $t_{1/2} = (7 \pm 2) \text{ min}$ erreicht werden konnte (**Tab. 2**).

Tab. 2: Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP (**4**) mit und ohne magnetischem Wechselfeld bei $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

λ / nm	Ohne Wechselfeld	Mit Wechselfeld
541	12(1)	6(1)
556	13(1)	6.7(7)
578	13(1)	8(1)

Die Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP (**4**) verringert sich mit erhöhter Temperatur des Assays bei $30 \text{ }^\circ\text{C}$ auf $11 (1) \text{ min}$. und bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$ auf $5 (1) \text{ min}$. jeweils ohne magnetisches Wechselfeld.

3 Ergebnisse

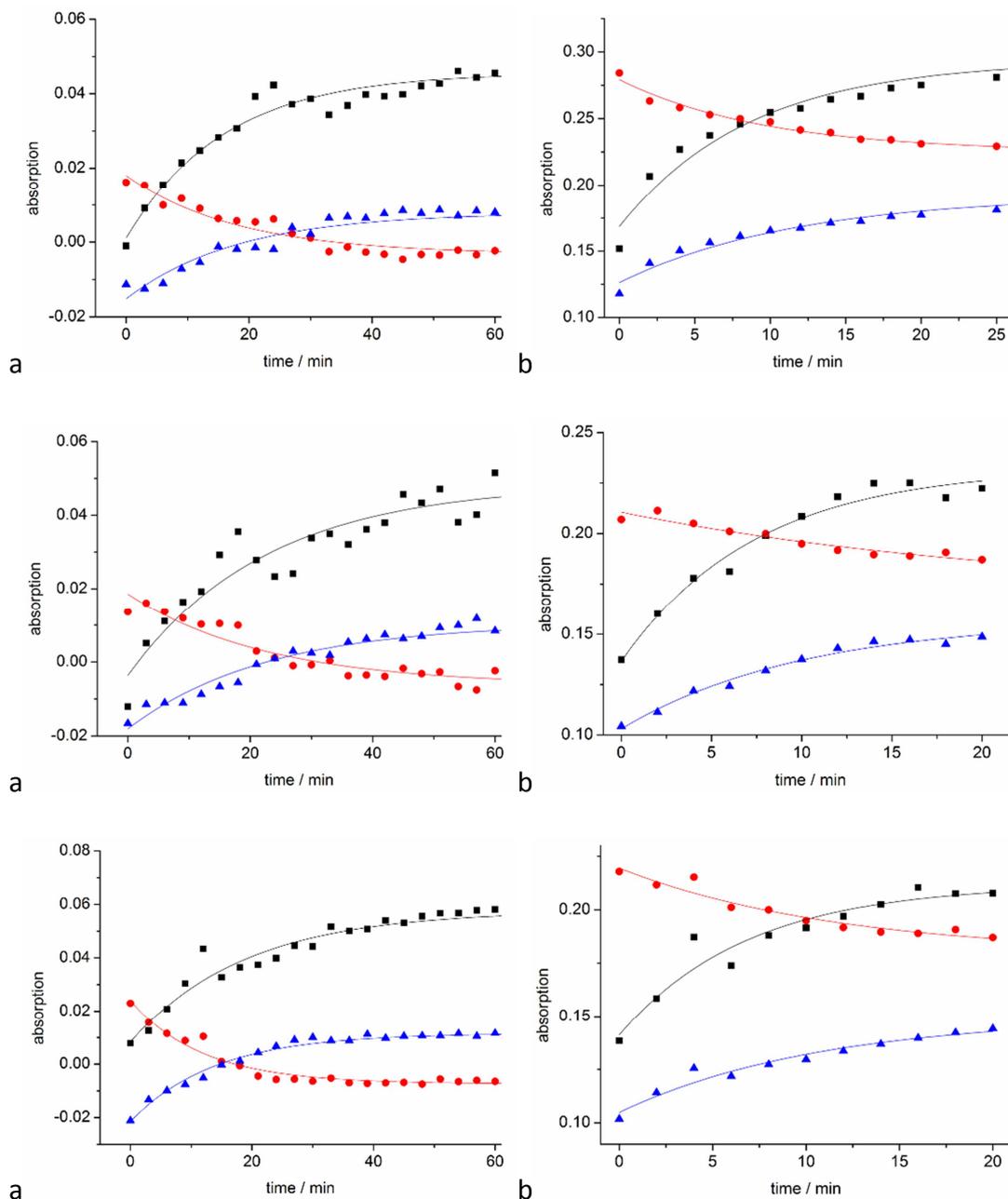


Abb. 23: Darstellung der Absorptionsänderung bei 541 (schwarz), 556 (rot) und 578 nm (blau) der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP (**4**) bei 25 °C ohne (a) und mit (b) magnetischem Wechselfeld von verschiedenen Messungen im Myoglobin-Assay.

Eine Erwärmung der Dispersion während des aktiven magnetischen Wechselfeldes in der temperierten Küvette konnte nicht beobachtet werden. Es können einige Abweichungen von der simplen pseudo erster Ordnung Kinetik beobachtet werden. Dieses Phänomen ist möglicherweise ein Resultat der Freisetzung von mehr als einem Molekül Kohlenstoffmonoxid pro $\text{Ru}(\text{CO})_3$ -Fragment oder der nicht triviale Einfluss des Magnetfeldes in den Freisetzungprozess, oder beides.

3 Ergebnisse

Zukünftige Studien könnten dieses Verhalten aufklären, jedoch kann eine Anregung des $\text{Ru}(\text{CO})_3$ -Fragmentes durch ein alternierendes Magnetfeld ausgeschlossen werden. Die Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxid Freisetzung der Phenylalaninatoverbindung (**5**) ist von den Halbwertszeiten innerhalb des Experimentalfehlers ohne $2.7 (\pm 0.2)$ min und mit $3.0 (\pm 0.4)$ min magnetischem Wechselfeld ohne die Anwesenheit von magnetischen Nanopartikeln gleich.

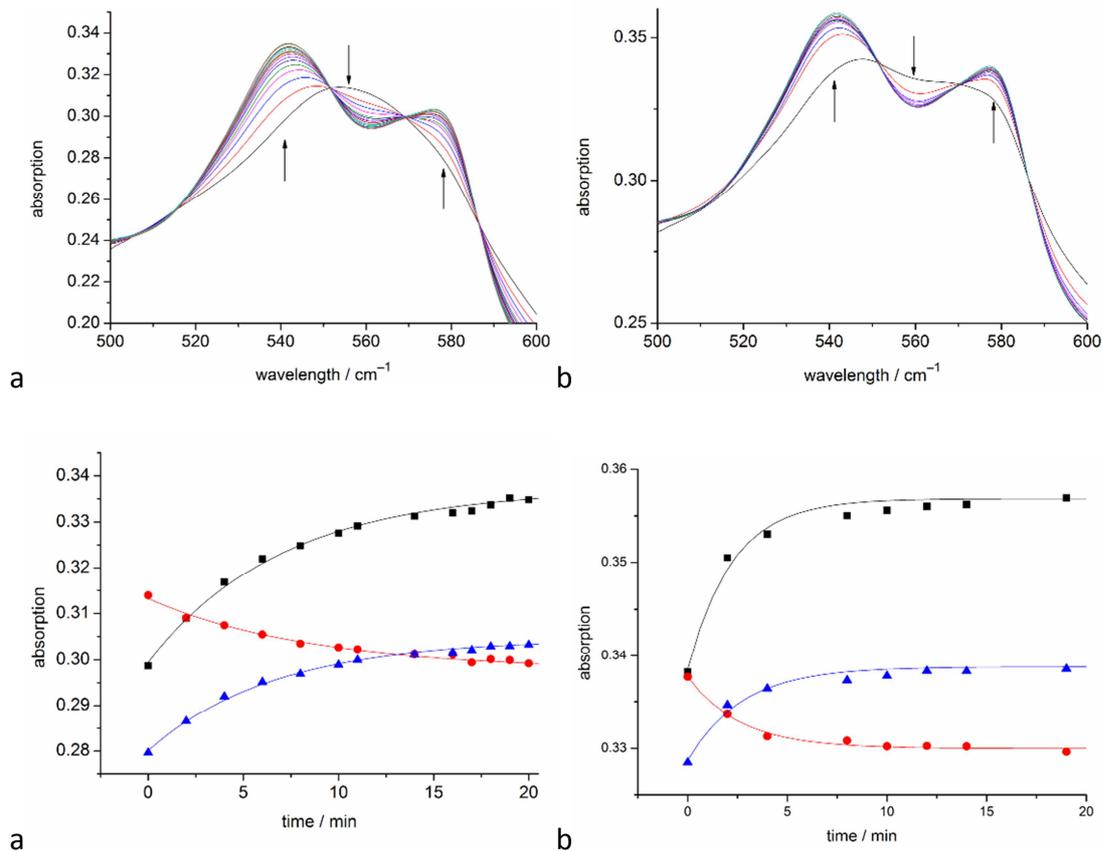


Abb. 24: Darstellung einer typischen Absorption der Myoglobinbanden zwischen 500-600 nm während der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von **4**. a) Messung ohne Wechselfeld und a) mit Wechselfeld. Die Kinetik wurde anhand der Intensitätsveränderungen bei 20 °C an den Positionen 541, 556 und 578 nm verfolgt. Wechselfeldstärke: (247 kHz, 31.7 kAm⁻¹, 39.9 mTesla).

Die beobachtete Erniedrigung der Halbwertszeit zeigt die prinzipiellen Möglichkeiten einer ausgelösten (angeregten) Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Zielgebiet unter Verwendung von magnetischen Nanopartikeln als lokale Empfänger. Die beschleunigte Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zeigt sehr gut den feldinduzierten Oberflächeneffekt der Erwärmung. Diese führt auf Grund der geringen Konzentration jedoch nicht zu einer makroskopischen Erwärmung der Nanopartikeldispersion.

3 Ergebnisse

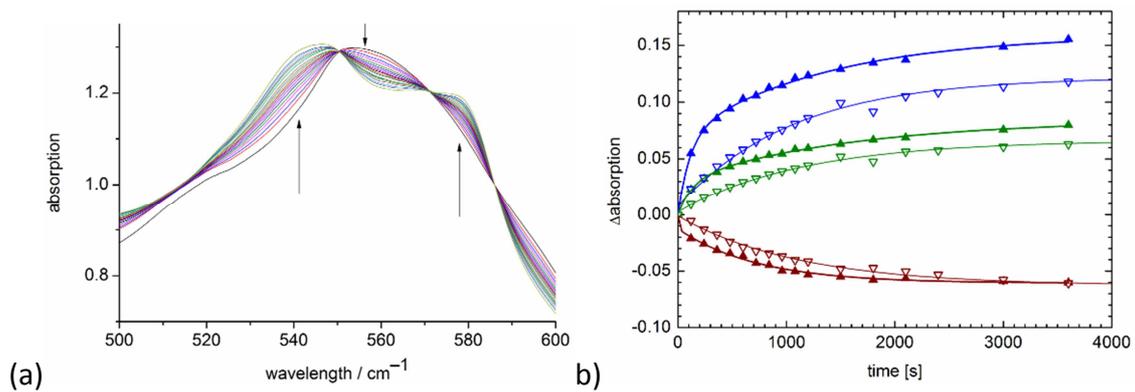


Abb. 25: (a) Typische Veränderung der Absorptionsbanden von reduziertem Skelettmuskel Pferdemyoglobin zwischen 500-640 nm während der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP (**3**), bei angelegtem magnetischen Wechselfeld (247 kHz, 31.7 kAm^{-1} , 1.7 mTesla) bei 25 °C. Die Veränderung der Intensitäten bei 541, 556 und 578 nm wurden verfolgt und ergeben die typischen Kohlenstoffmonoxidfreisetzungskurven, die in (b) eine Beschleunigung der Freisetzung durch das Wechselfeld zeigen. Die leeren Symbole (∇) zeigen die Messung ohne Feld; gefüllte Symbole (\blacktriangle) mit Wechselfeld; blaue Symbole (∇, \blacktriangle) zeigen die Veränderung bei 541 nm; rote Symbole (∇, \blacktriangle) zeigen die Veränderung bei 556 nm; grüne Symbole (∇, \blacktriangle) zeigen die Veränderung bei 578 nm.

Aus **Abb. 25** ist es ersichtlich, dass die Abnahme der Intensität der mittleren Bande bei 556 nm (rot-braune Symbole) teilweise durch die Erhöhung der Intensität der benachbarten äußeren Banden bei 541 und 578 nm kompensiert werden. Alle drei Absorptionsbanden sind nicht voneinander getrennt und beeinflussen sich gegenseitig durch Zu- und Abnahme der Intensitäten voneinander. Daher kann mit der Zeit die Ableitung der mittleren Bande nur bedingt zur Auswertung der Kurven verwendet werden. Umgekehrt gilt dies auch für die beiden äußeren Absorptionen, deren Intensitätserhöhung durch die Abnahme der mittleren Bande ausgeglichen wird. Die Interpretation der kinetischen Daten erfolgt daher von der Ausgangsfrequenz innerhalb der ersten 1000s (**Abb. 25**).

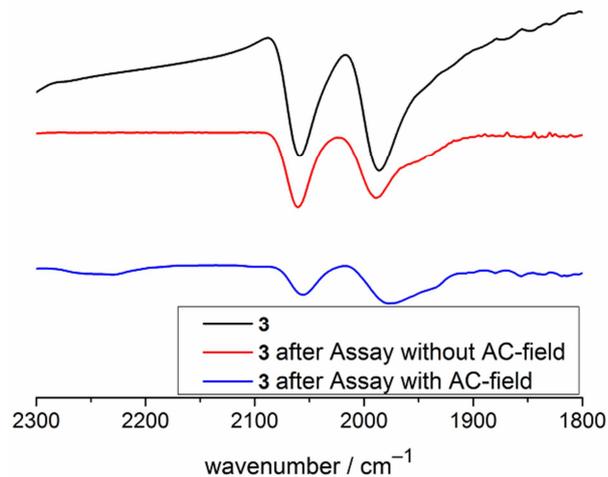


Abb. 26: Darstellung von IR Spektren (in KBr) der Carbonylregion von CORM@IONP (**4**), vor und nach der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung mit und ohne magnetischem Wechselfeld.

Die modifizierten Nanopartikel CORM@IONP (**4**) wurden vor und nach der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung mit und ohne magnetisches Wechselfeld mit Hilfe der IR-Spektroskopie untersucht. Wie in **Abb. 26** gesehen werden kann, verbleiben für die Carbonylregion zwei Streckschwingungen auch nach der Freisetzung bei 2060 und 1986 cm⁻¹. Diese können entweder verbleibendes CORM auf der Oberfläche des Partikels sein, oder ein *cis*-Ru(II)(CO)₂-Fragment, welches an das Protein koordiniert ist. Es ist in der Literatur^[124] bekannt, dass das Zwischenspiel von CORM-3 mit Proteinen zum Verlust der Chlorido-, Glycinato- oder auch eines CO-Liganden führen kann. Die schnelle Bildung von stabilen Addukten zwischen dem Protein und des verbleibenden *cis*-Ru(II)(CO)₂-Fragmentes wurde mit Hilfe verschiedener Methoden, inklusive der IR-Spektroskopie untersucht.^[124]

Durch die Verwendung von CORM funktionalisierten Eisenoxid Nanopartikeln konnte eine Beschleunigung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung durch ein externes magnetisches Wechselfeld gezeigt werden. Die Beschleunigung lag hierbei um das Doppelte bis Dreifache der normalen Freisetzungsrates.

3.2 Polymercoating von CORM@IONP

Im vorherigen Kapitel wurde die Verwendung eines neuen Konzeptes zur kontrollierten Kohlenstoffmonoxidfreisetzung vorgestellt. Das CORM wurde auf der Oberfläche eines Eisenoxidnanopartikels immobilisiert und mit Hilfe eines magnetischem Wechselfeldes erwärmt, wodurch eine Beschleunigung der Freisetzung beobachtet werden konnte.^[127]

Die Anregung oder Beschleunigung einer Kohlenstoffmonoxidfreisetzung eines stabilen CORMs ist das Ziel dieser Arbeit. Es konnte bisher gezeigt werden, dass das Konzept der magnetfeldinduzierten Kohlenstoffmonoxidfreisetzung funktioniert hat. Eine Verlängerung der Halbwertszeiten sowie eine verbesserte Löslichkeit der Nanopartikel bei Raumtemperatur sollte erreicht werden.

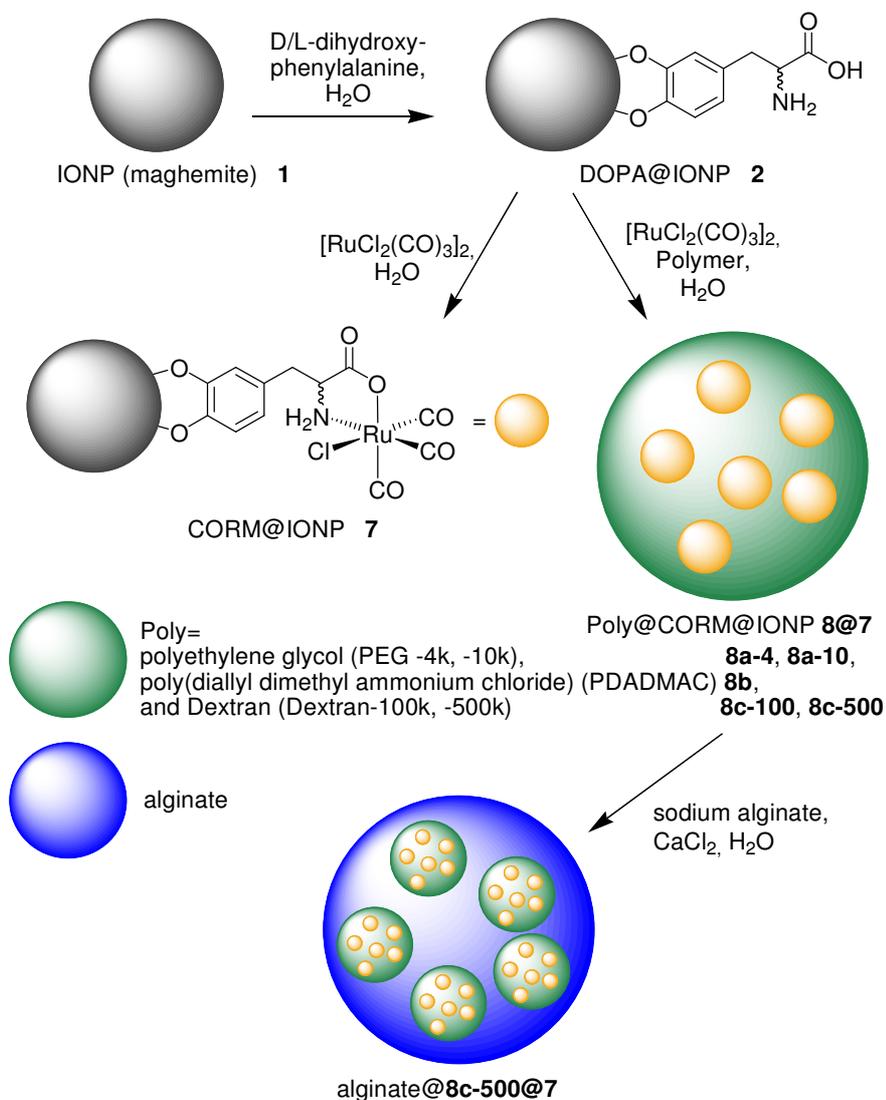


Abb. 27: Darstellung der Synthese von Polymer ummantelten Nanopartikeln.

3 Ergebnisse

Das CORM@IONP (**7**) System besitzt eine geringe Wasserlöslichkeit sowie eine relativ schnelle Kohlenstoffmonoxidfreisetzung in Anwesenheit des Häm-Proteins Myoglobin. Diese Eigenschaften limitieren jedoch die Anwendung des Systems für medizinische Zwecke. Eine Erhöhung der Löslichkeit und wässrigen Medium sowie der Stabilität soll durch Verwendung eines Polymercoatings der CORM@IONP Dispersion erreicht werden und wurde in Zusammenarbeit mit WINKLER untersucht.^[128]

Die Maghemit Nanopartikel und deren Dopamin funktionalisierte Variante wurden nach der bekannten Prozedur synthetisiert. Die Darstellung des CORM-3 analogen Rutheniumcarbonyls und Polymercoatings wurde in einer simplen Synthese durch Mixen aller Komponenten in wässriger Lösung durchgeführt. Nach der Sedimentation des Komposits mit Aceton und Waschen mit Aceton wurde das getrocknete Material mit Hilfe von IR-Spektroskopie untersucht. Es zeigte sich, dass eine Umsetzung im wässrigen zu dem gleichen CORM@IONP **7** führte. Die Umsetzung mit den verschiedenen Polymeren war jedoch in wässriger Lösung notwendig, da nicht alle Polymere in Methanol löslich waren.

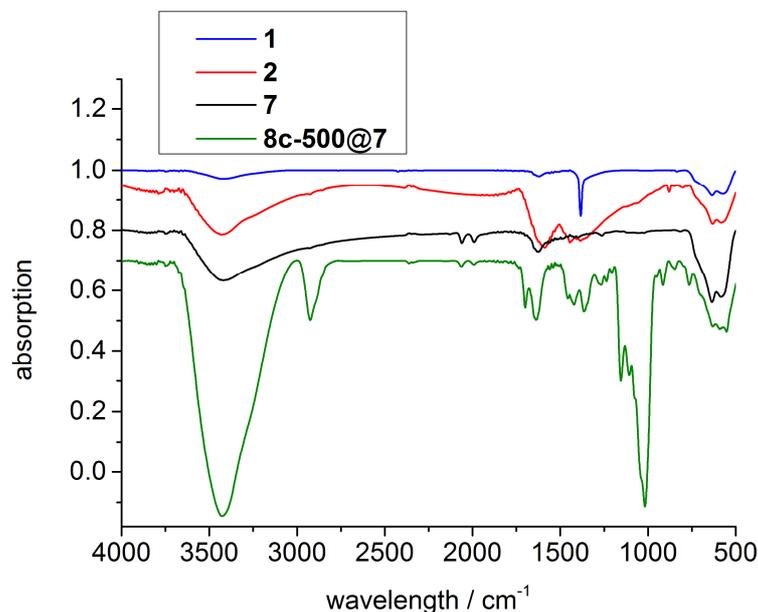


Abb. 28: Darstellung der IR-Spektren in KBr von; IONP (**1**) (blau), DOPA@IONP (**2**) (rot), CORM@IONP (**7**) (schwarz) und Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) (grün).

Die Carbonyl Streckschwingungen des $\text{Ru}(\text{CO})_3$ -Fragmentes in (**4**) wurden bei 1992 und 2063 cm^{-1} beobachtet (**Abb. 28**). Diese stimmen mit den Schwingungsfrequenzen von der Modellverbindung **5** und CORM-3 unter basischen Bedingungen überein.^[129]

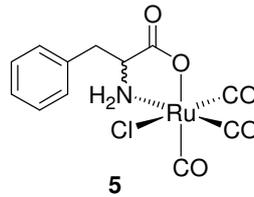


Abb. 29: Darstellung der molekularen Tricarbonyl-chloridophenylalaninato-ruthenium(II) Modellverbindung **5**.

Es konnten für das Coating der CORM@IONP (**7**) Partikel die Polymere **Poly-Ethylen-Glycol** (PEG-4K, -10K), **Poly-Di-Allyl-Di-Methyl-Ammonium-Chlorid** (PolyDADMAC) und **Dextran** (Dextran-100K, -500K) verwenden werden. Diese Polymere können Wassermoleküle von den Partikeln abschirmen, die Diffusion erschweren oder auch die Verweildauer von Wassermolekülen durch Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen erhöhen. Sie erhöhen dadurch auch die Löslichkeit der funktionalisierten Nanopartikel.^[130]

Die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung dieser Stoffe wurde mit Hilfe des Myoglobin-Assays untersucht. Es wurde eine einfache pseudo erste Ordnung Kinetik wie bereits zuvor angenommen. Diese Messungen wurden ohne magnetisches Wechselfeld bei 37 °C in MOPS-Puffer durchgeführt. Die Auswertung der Kinetik erfolgte anhand der Absorptionsbanden bei 541, 556 und 578 nm.

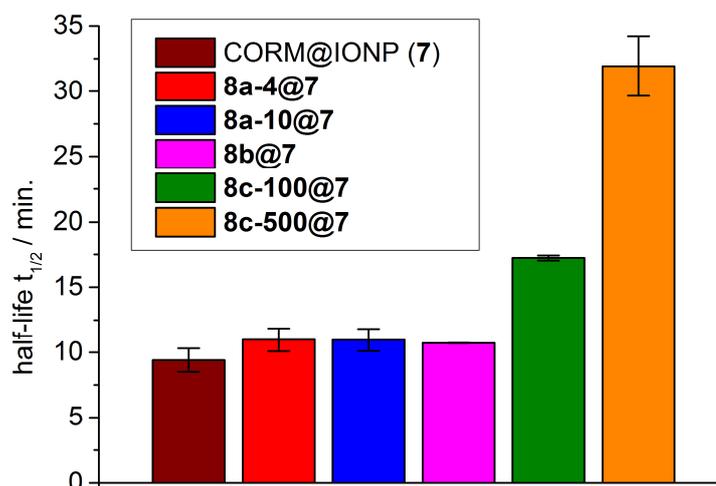


Abb. 30: Darstellung der Halbwertszeiten von CORM@IONP (**4**) und den verschiedenen Verbindungen mit Polymerhülle bei 37 °C.

Die beobachteten Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei 37 °C ergaben für CORM@IONP (**7**) 9 (1) min und für Poly@CORM@IONP mit PEG 4K (**8a-4@7**) 11 (1) min,

PEG 10K (**8a-10@7**) 11 (1) min, PolyDADMAC (**8b@7**) 11 (0) min, Dextran 100K (**8c-100@7**) 17 (1) und Dextran 500K (**8c-500@7**) 32 (2) min. Wie in **Abb. 30** beobachtet werden kann, zeigt die Ummantelung mit Dextran 500K eine besonders lange Halbwertszeit. Diese Erhöhung ist möglicherweise auf das große Gewicht des Polymers sowie den lange Ketten mit der Möglichkeit zur Verzweigung geschuldet.^[128]

Die Menge an Ruthenium auf den Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) wurde über eine Dreifachbestimmung mit Hilfe der Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) untersucht. Durch Verwendung von Lanthan als Signalverstärker konnte ein Anteil von 0.3 % in Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) gefunden werden. Die Probe wurde zuvor dreimal mit Königswasser bis zur trockene ausgekocht und dann leicht salzsauer wieder aufgenommen. Da die Signalintensität für Ruthenium sehr schwach im Vergleich zu anderen Elementen ist, muss die Probe recht stark konzentriert sein. So wurden 50 mg Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) in 50 mL 3.7 % Salzsäure mit 10 % Lanthanstandart (1g/L) versetzt und in der AAS vermessen.

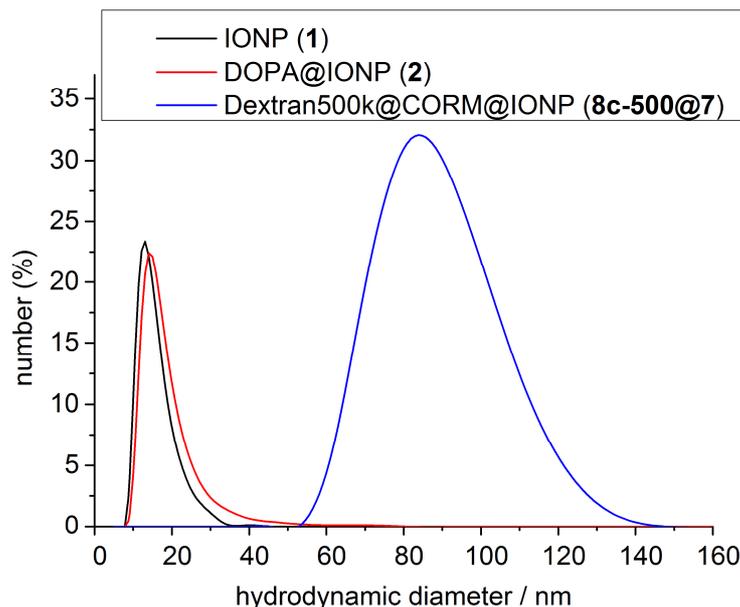


Abb. 31: Darstellung der Größenverteilung des hydrodynamischen Radius von IONP (1) (schwarz), DOPA@IONP (2) (rot) und Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) (blau) in Wasser.

Zur Bestimmung der Partikelgrößen wurde von den IONP (1), DOPA@IONP (2) und Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) Partikeln eine Lösung in einer Konzentration von 1 mg/mL angefertigt. Diese wurden mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung vermessen und die hydrodynamischen Durchmesser bestimmt (**Abb. 31**). Die IONP (1) zeigten eine

3 Ergebnisse

Verteilung von 10-30 nm mit einer durchschnittlichen Größe von 12 (4) nm (Standardabweichung σ). Für die funktionalisierten DOPA@IONP (**2**) konnte eine breitere Verteilung von 10-50 nm mit einer durchschnittlichen Größe von 14 (4) nm entsprechend der modifizierten Oberfläche und dem vergrößerten hydrodynamischen Radius gemessen werden. Durch die Polymerhülle der Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) Partikel wurde eine wesentlich weitere Verteilung von 60-140 nm gemessen mit einer durchschnittlichen Größe von 85 (15) nm. Der extrem vergrößerte hydrodynamische Radius ist einer Ansammlung von mehreren CORM@IONP (**7**) innerhalb eines Polymerstranges zu verschulden. Auch eine Messung bei starker Verdünnung führte nicht zu kleineren Durchmessern.

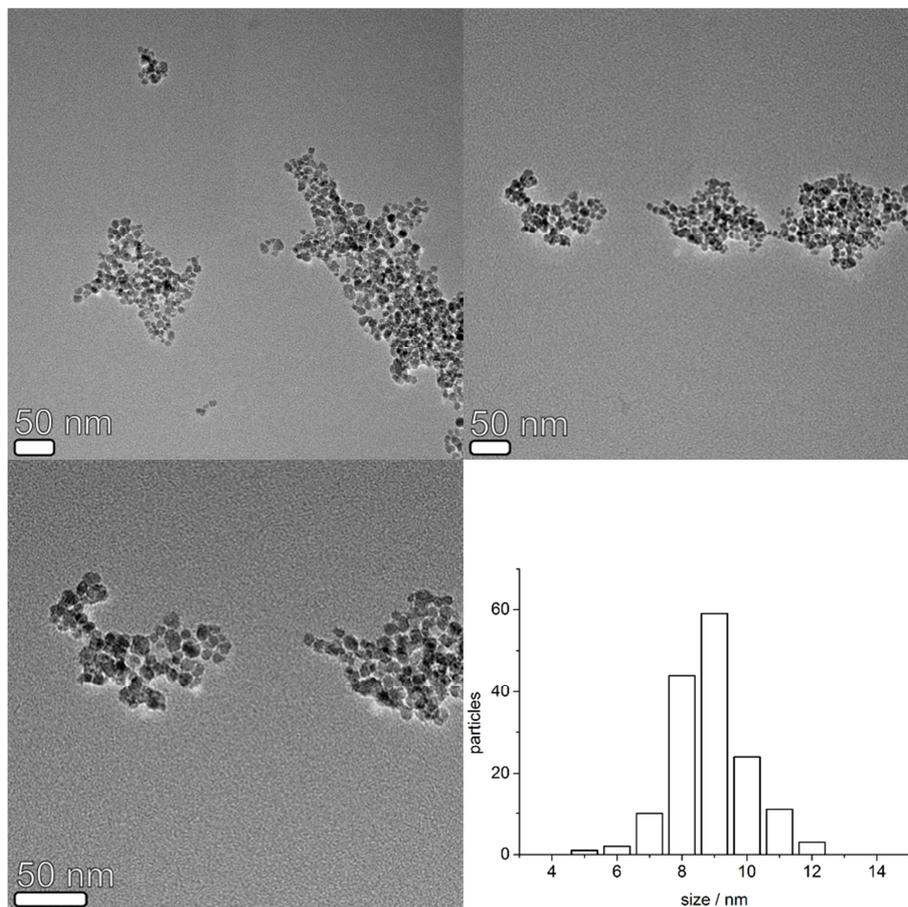


Abb. 32: TEM Bilder von **8c-500@7** zeigen Ansammlungen von agglomerierten CORM@IONPs (**7**). Auch in hoher Verdünnung der Polymer gecoateten Nanopartikel konnte keine feinere Verteilung auf dem Grid erlangt werden. Die ist ein Indiz für den Zusammenhalt der Partikel durch das Polymer. Das umgebende Polymer kann aufgrund der Geräteauflösung und des geringeren Kontrastes von Kohlenstoff gegenüber der Nanopartikel nicht gesehen werden.

3 Ergebnisse

High-angle annular dark field scanning transmission microscope (HAADF-STEM) Messungen ergeben den gleichen Durchmesser des **8c-500@7** Kompositmaterial wie die DLS Messungen. Auch in hoher Verdünnung der polymerummantelten Nanopartikel konnte keine feinere Verteilung auf dem Grid erlangt werden. Die ist ein Indiz für den Zusammenhalt der Partikel durch das Polymer. Das umgebende Polymer kann aufgrund der Geräteauflösung und des geringeren Kontrastes von Kohlenstoff gegenüber der Nanopartikel nicht gesehen werden. Hierbei haben die CORM@IONP (**7**) eine Verteilung von 5-12 nm, mit einem Durchschnitt von 9 ± 1 nm. Dies stimmt mit den Messungen des Bulkmaterial (**Abb. 33**) 8 ± 1 nm überein. Der Durchmesser der TEM-Aufnahmen ist erwartungsgemäß aufgrund des hydrodynamischen Durchmessers etwas kleiner als von Messungen der dynamischen Lichtstreuung.

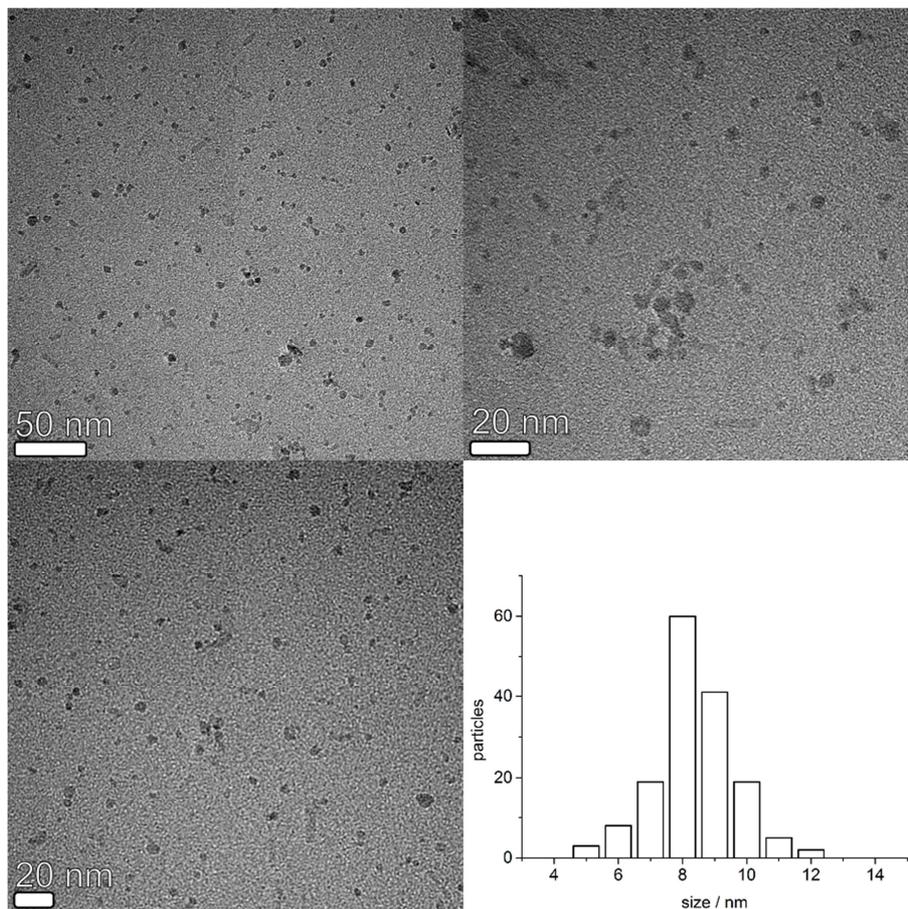


Abb. 33: TEM Bilder von Maghemitnanopartikel (**1**) bei verschiedenen Vergrößerungen. 150 Partikel wurden ausgemessen mit einer Größenverteilung von 8 ± 1 nm (Standartabweichung σ) im Bereich von 5-12 nm.

3.2.1 Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Dextran500K@CORM@IONP

Es wurde eine temperaturabhängige Messung der Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) durchgeführt, als auch eine Vermessung der Partikel im magnetischen Wechselfeld. Die Halbwertszeiten dieser Partikel zeigen ein interessantes Verhalten (**Abb. 34**). Aus vorherigen Studien konnte eine Halbwertszeit von 13 ± 2 min für CORM@IONP (**4**) bei 25°C bestimmt werden.^[127] Durch die Verwendung einer Polymerhülle konnten die Halbwertszeiten für Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) auf 58 ± 9 min bei 20°C , 32 ± 2 min bei 37°C und auf 9 ± 2 min erhöht werden. Die Verwendung eines magnetischen Wechselfeldes (31.7 kAm^{-1} , 247 kHz , 25°C , 1.7 mTesla) sollte die Halbwertszeit der Freisetzung deutlich verringern, da die Partikel durch dieses erwärmt werden. Es konnte eine sechsfache Beschleunigung der Freisetzung im Vergleich zur 20°C Messung erreicht werden. Die Halbwertszeit mit angelegtem magnetischem Wechselfeld betrug 8 ± 1 min bei 20°C im Vergleich zu 58 ± 9 min bei ausgeschaltetem Wechselfeld und gleicher Temperatur.

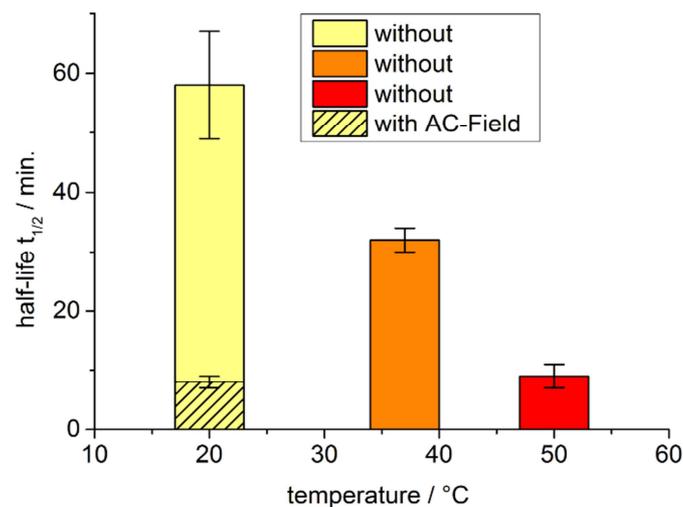


Abb. 34: Graphische Darstellung der Halbwertszeiten von Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) bei verschiedenen Temperaturen und angelegtem magnetischem Wechselfeld.

Die Aufnahme und Auswertung des Myoglobin-Assays war schwierig. Die starke UV/VIS Absorption der dunklen Eisenoxidnanopartikel in Lösung erschwerten die Bedingungen (**Abb. 35**). Eine stabile Dispersion der Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) Nanopartikel in wässriger Lösung ist Voraussetzung für eine angestrebte medizinische Verwendung. Nun führte jedoch die dunkle Färbung der Dispersion zu einer Maskierung der Absorptionsveränderungen im Myoglobin-Assay, wodurch die Zu- und Abnahme der Absorptionsbanden nicht genügend aufgelöst werden konnte.

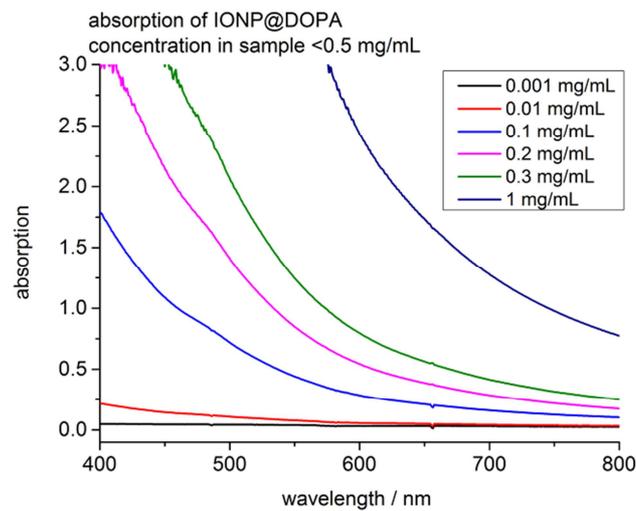


Abb. 35: Darstellung der Eigenabsorption von DOPA@IONP (2) bei verschiedenen Konzentrationen in wässriger Lösung.

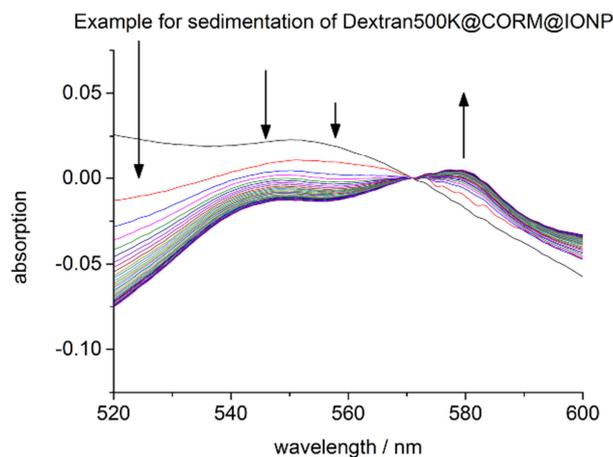


Abb. 36: Darstellung des Beispiels einer Sedimentation von Dextran500K@CORM@IONP (8c-500@7) Partikeln während der Aufnahme der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung in einem Myoglobin-Assay.

Aufgrund der hohen Eigenabsorption der Eisenoxid Nanopartikel wurden die Messungen in sehr niedrigen Konzentrationen durchgeführt. Das vorgestellte System ist zwar sehr gut löslich in wässrigen Medien, jedoch wurde auch hier eine leichte Sedimentation beobachtet. Wie in **Abb. 36** gezeigt, führen schon kleinste Änderungen der Konzentration zu großen Verschiebungen in den Absorptionen. Eine akzeptable Hintergrundkorrektur der Messungen konnte durch Verwendung von sehr niedrigen Konzentrationen erreicht werden. Die Ergebnisse der Messungen sind nicht zufriedenstellend (**Abb. 37**, **Abb. 38** und **Abb. 39**), konnten aber dennoch ausgewertet werden.

3 Ergebnisse

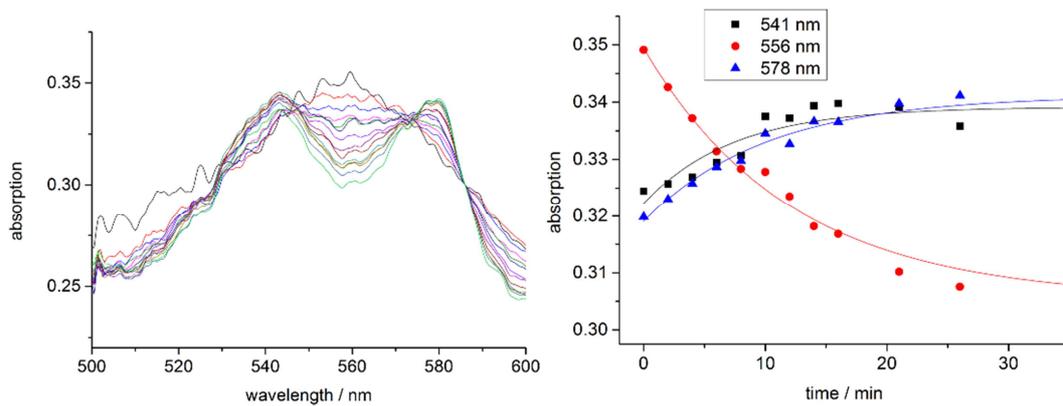


Abb. 37: Darstellung der durchschnittlichen Halbwertszeit von Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) $t_{1/2} = 7$ (2) min mit Wechselfeld 1/3 bei 20 °C.

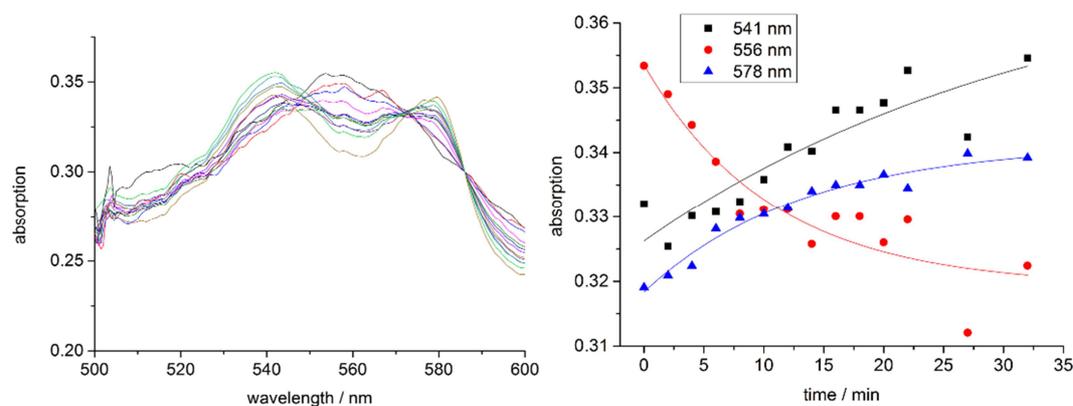


Abb. 38: Darstellung der durchschnittlichen Halbwertszeit von Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) $t_{1/2} = 8$ (1) min mit Wechselfeld 2/3 bei 20 °C.

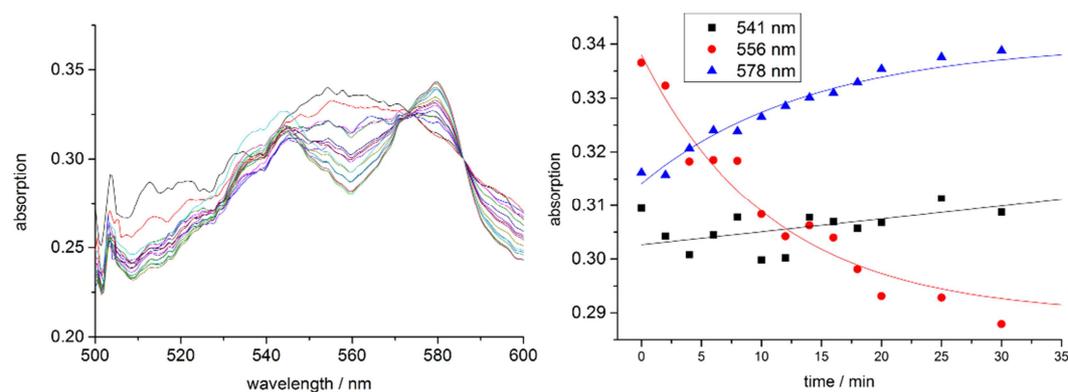


Abb. 39: Darstellung der durchschnittlichen Halbwertszeit von Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) $t_{1/2} = 9$ (1) min mit Wechselfeld 3/3 bei 20 °C.

Es wurde versucht, die Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) Partikel vom Myoglobin-Assay zu separieren, um zeitaufgelöste Studien durchführen zu können. Einige Methoden zur Separation der Myoglobin-Lösung von dem FreisetzungsmEDIUM wurden bereits in der

3 Ergebnisse

Literatur beschrieben.^[131] MOTTERLINI präsentierte einen Versuchsaufbau, in dem die zwei Lösungen in separaten Kammern gelagert wurden, welche durch eine für Kohlenstoffmonoxid permeable Membran verbunden waren. Die sogenannte Anapore™ Membran ist jedoch sehr teuer und das gesamte System ist nur schwer temperierbar. Zeitaufgelöste Spektren sind mit dieser Methode nur realisierbar, wenn in regelmäßigen Abständen Proben aus der Lösung genommen werden und in eine Küvette überführt werden.^[132]

3.2.2 Kohlenstoffmonoxidfreisetzung mit Hilfe der Alginat-Methode

Um einen besseren Messaufbau zu gewährleisten, sollte die Diffusion des Kohlenstoffmonoxides durch die Gasphase bei der Freisetzung verhindert werden. Es sollte ebenfalls ein System sein, welches in einer normalen UV/VIS Küvette benutzt werden kann und temperierbar ist. Die Entwicklung einer günstigeren, einfacheren Methode, welche aber dennoch die beiden Reaktionsphasen in einer temperierbaren Küvette vereint, sollte realisiert werden. Die Auflösung der UV/VIS Messungen sollten ebenfalls nur von der Aufnahmegeschwindigkeit des Spektrometers begrenzt sein und nicht durch den Aufbau oder Unterbrechungen während der Messung.

Die Einkapselung des Freisetzungsmediums in ein Polymer erschien eine mögliche Variante zu sein. Es wurden verschiedene Methoden untersucht, um die Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) Partikel einzulagern. Der Versuch, das Material in Silicagele einzulagern, wurde verworfen, da die Gelierung von Triethylorthosilicat durch Säure oder Base induziert wird. Der Prozess ist bei geringen Konzentrationen (>0.1 mol/L) sehr langsam (<7 Tage), und bei hohen Konzentrationen (<5 mol/L) relativ schnell (wenige Stunden). Hohe Konzentrationen an Säure können jedoch die Partikel auflösen und das CORM an der Oberfläche zerstören. Auch können hohe Konzentrationen an Base eine Kohlenstoffmonoxidfreisetzung einleiten und das Material somit unbrauchbar machen.

Als mögliche biologisch vertretbare Lösung wurde Agar als Polymer untersucht. Die Einbettung der Nanopartikel war möglich durch simples Mischen der Lösungen. Der Gelprozess wird jedoch durch Erhitzen der Lösung initiiert. Eine solche Erwärmung ist für ein thermosensibles Material wie die Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) nicht sinnvoll und wurde daher auch verworfen.

Natriumalginat ist ein anionisches Polysaccharid, welches weitverbreitet in den Zellwänden von Braunalgen zu finden ist. Das lineare Copolymer ist 1,4-glycosidisch in wechselndem Verhältnis zu seinen Ketten verbunden (**Abb. 40**). Eine supramolekulare Quervernetzung der Carboxylgruppen durch Coulombwechselwirkungen kann mit Hilfe von Ca^{2+} -Ionen gebildet werden.^[133,134] So können durch Tropfen einer Mischung aus Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) und Natriumalginat in eine Calciumchlorid-Lösung kleine Kügelchen geformt werden, die durch die Einlagerung von Calciumionen aushärten.

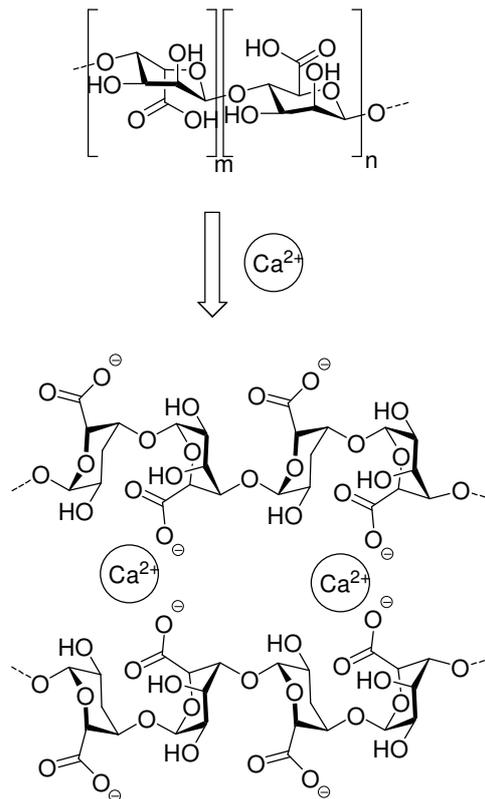


Abb. 40: Schematische Darstellung von Alginsäure aus den Monomeren β -D-Mannuronate (m) and α -L-Guluronate (n).

Das Calcium-Alginat-Netzwerk bildet eine Membran, die kleinen Molekülen erlaubt, durch sie hindurch zu diffundieren, hält jedoch die Nanopartikel zurück. Somit konnte ein „Käfig“ für die Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) hergestellt werden. Diese Methode ist sehr simpel und benötigt keinerlei Wärme, welche ein Problem für thermosensitive CORMs darstellt. Alginate ist nicht toxisch und wird für medizinische Anwendungen bereits verwendet.^[135] Die Zelleinkapselung wird für biomedizinische Anwendungen^[136,137] sowie in der Molekularküche verwendet.^[138,139] Des Weiteren sind auch Einlagerungen von Metallorganischen-Netzwerken (MOFs) in der Literatur bekannt.^[140]

Es konnte gezeigt werden, dass die Kombination aus Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**) mit Alginate sehr gut funktioniert. Die Alginatekügelchen konnten durch Eintropfen einer Mischung aus Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500@7**), Natriumalginate und deionisiertem Wasser in eine Calciumchlorid Lösung geformt werden.

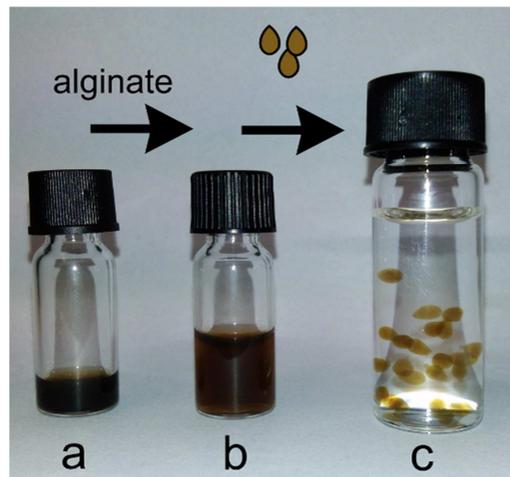


Abb. 41: Lösung von (a) **8c-500@7** in Wasser, (b) Lösung aus Natriumalginat in Wasser mit **a** in Wasser, (c) zugetropfte Lösung **b** in eine Calciumchlorid-Lösung zur Ausbildung der Alginatkügelchen (9).

Die Einlagerung von Nanopartikeln in eine Alginathülle erwies sich ebenfalls mit weiteren Wasserlöslichen Nanopartikeln als erfolgreich. So konnten Kügelchen mit Maghemit-, DOPA-funktionalisierten Maghemit- und Gold-Nanopartikel hergestellt werden.

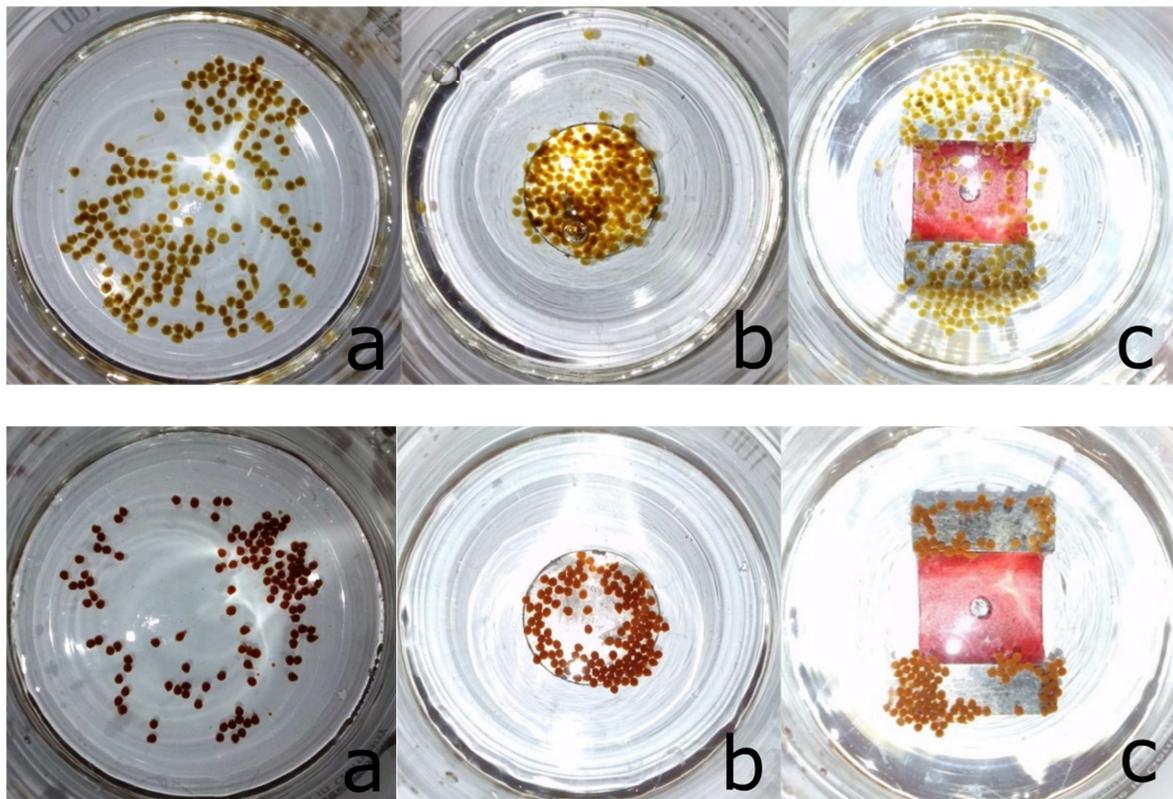


Abb. 42: Verhalten von Alginatkügelchen (9) mit Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500**) (oben) und Maghemitnanopartikel (unten) auf verschiedene Magnetfelder. (a) kein Magnet, (b) runder Magnet, (c) Barrenmagnet unter dem Gefäß.

3 Ergebnisse

Die Alginatkugeln sind im Durchschnitt 1-2 mm groß und beinhalten ungefähr 0.06 mg Dextran500K@CORM@IONP (**8c-500**) pro Kugel mit der beschriebenen Synthese. Das Volumen dieser Kugeln beträgt ungefähr 10 μL , was einem Tropfen aus einer Braun 0.60 x 80 mm BL/LB Kanüle entspricht. Die hergestellten Kugeln können mit einem Permanentmagneten sedimentiert werden. Sie wurden mit d.d. Wasser gewaschen und in 3-(*N*-Morpholin)propansulfonsäure (MOPS-Puffer) für maximal 6 h gelagert. Die Kugeln können leicht in eine UV-Küvette überführt werden und mit einem Permanentmagneten am Boden der Küvette gehalten werden. Der Magnet verhindert somit eine Störung des Strahlenganges (**Abb. 43**) durch die stark absorbierenden Kugeln. Es können aufgrund der Größe der Kugeln maximal 15 Stück im unteren Teil der Küvette, mit einem Querschnitt von 5 x 10 mm, gelagert werden.

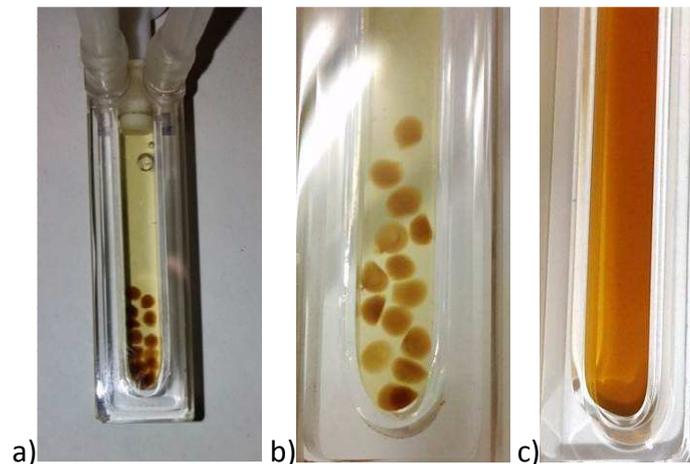


Abb. 43: a-b) Temperierbare Küvette mit 15 Alginat@**8c-500@7** Kugeln (**9**) in einer gelblichen Myoglobinlösung vor einer Kohlenstoffmonoxidfreisetzung. In dem linken Bild liegen die Kugeln teilweise hintereinander auf dem Boden der Küvette. Im mittleren Bild sind fast alle Kugeln in der Küvette verteilt und überlagern sich (bis auf zwei am Boden) nicht. c) UV/Vis-Küvette mit der gleichen Konzentration an **8c-500@7** gelöst in der Myoglobinlösung. Es kann eine deutliche Entfärbung der Lösung im Vergleich zu a) und b) beobachtet werden.

Das IR-Spektrum von **8c-500@7** stimmt mit den IR-Banden von CORM-3 und der Modellverbindung **5** bei 2139, 2064 und 1994 cm^{-1} überein. Die CO-Absorptionsbanden der Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (**9**) Kugeln erscheinen sehr schwach im Spektrum. Der hohe Anteil an Dextran und Alginat dominiert im IR-Spektrum und lässt die Absorptionen der funktionalisierten Partikel sehr gering erscheinen.

3 Ergebnisse

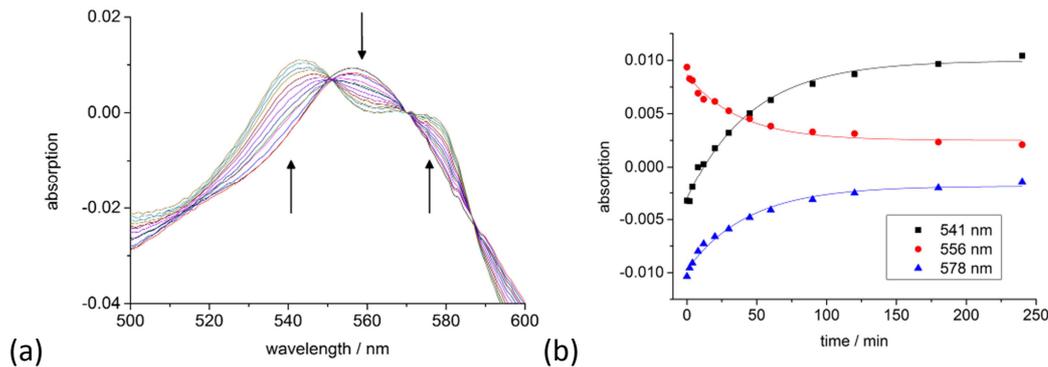


Abb. 44: a) Darstellung einer Veränderung der UV/Vis-Absorptionen im Myoglobin-Assay von Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (9) Kugeln mit angelegtem AC-Feld bei 50 °C. Eine Auftragung der Absorptionen (541, 556 und 578 nm mit Pfeilen gekennzeichnet) gegen die Zeit zeigt den kinetischen Verlauf der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung. b) Durch Anlegen einer Exponentialfunktionskurve an den Verlauf kann die Halbwertszeit der Freisetzung bestimmt werden. Ohne die Separation der dunklen Nanopartikel und der Myoglobinlösung durch die Alginatkügelchen ist der Verlauf der UV/Vis-Absorptionen schwerer zu erkennen. Es müsste in deutlich geringer konzentrierter Lösung gemessen werden, die zu schlechteren Qualitäten der Messungen führen.

Die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung wurde für das Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (9) Kompositmaterial mit Hilfe des Myoglobin-Assays in einer temperierbaren Küvette durchgeführt. Die Messungen wurden mit und ohne AC-Feld, reproduzierbar dreimal durchgeführt (s. **Anhang 1** bis **Anhang 6**). Die bestimmten Halbwertszeiten ergaben 890 ± 70 min für 20 °C, 172 ± 27 min für 37 °C und 45 ± 7 min für 50 °C ohne magnetisches Wechselfeld. Die Reduzierung der Halbwertszeiten durch magnetisches Heizen der IONP im magnetischen Wechselfeld zeigt sich bei geringeren Temperaturen stärker als bei höheren. Das Wechselfeld führte zu 155 ± 18 min bei 20 °C, 65 ± 5 min bei 37 °C und 30 ± 3 min bei 50 °C. Diese Ergebnisse zeigen unwiderruflich die Möglichkeit der beschleunigten Kohlenstoffmonoxidfreisetzung mit Hilfe eines magnetischen Wechselfeldes, sowie die Möglichkeit, das reaktive CORM-3 System effektiv in eine Wasserlösliche Polymerhülle einzulagern.

Die Halbwertszeiten von CORM-3 wurden bereits unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Dabei wurden Temperatur und Pufferlösung variiert, um die Einflüsse dieser Medien zu untersuchen. MOTTERLINI beschrieb eine Halbwertszeit von 3.6 min in Blutplasma bei 37 °C und weniger als 1 min in Anwesenheit von Myoglobin (**Tab. 3**).^[132] Es wurde für diese Messung ein Zwei-Kammer-System verwendet, welches den freisetzenden Stoff vom

3 Ergebnisse

Myoglobin trennt. McLEAN et al. zeigte die Abhängigkeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM-2 und CORM-3 zu Myoglobin und des als Reduktionsmittels eingesetzten Natriumdithionit.^[121] Erstaunlicherweise wurde die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung des CORM-3 mit steigender Natriumdithionit Konzentration erhöht. SANTOS-SILVA et al. Folgerte, dass die Wechselwirkungen von CORM-3 mit Proteinen in dem Verlust eines Chloridion, eines CO-Liganden und des Glycinat-Restes resultieren. Diese Annahme stütze er auf die Bildung eines stabilen Ru(CO)₂-Adduktes mit dem Protein welches als Kristallstruktur isoliert werden konnte.^[124]

Tab. 3: Halbwertszeiten von CORM-3 in verschiedenen Lösungen und Temperaturen; a) d. Wasser: destilliertes Wasser, PBS: „Phosphate Buffered Saline“ Phosphatgepufferte Salzlösung, KHB: Krebs Henseleit Puffer, DMEM: „Dulbecco Modified Eagle Medium“ Nährmedium für Zellkulturen, Plasma: von gesunden Probanden entnommen (s. Lit..^[108]); b) Celsior Lösung für die Organlagerung^[125]; c) KPI Puffer: Kaliumphosphatpuffer.^[121]

Lösung	Temperatur / °C	Halbwertszeit von CORM-3 / [min]
d. H ₂ O ^a	37	5900
Salinea ^a	37	638.4
PBS ^a	37	20.4
KHB ^a	37	10.8
DMEM ^a	37	10.2
Plasma ^a	37	3.6
Celsior solution ^b	4	120
KPI Buffer ^c	30	(4) _{bestimmt}

Dies führt nun zu weiteren möglichen Überlegungen, die eine Erklärung für die gemessenen Halbwertszeiten liefern kann und den Unterschied zwischen **8c-500@7** und dem Komposit Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (**9**) erklärt. Während die Erhöhung der Halbwertszeit von CORM@IONP (**4**) (9±1 min bei 37 °C) im Vergleich zur Verbindung (**8c-500**) (65±5 min bei 37 °C) mit Hilfe der Abschirmung des Myoglobins und des Natriumdithionit erklärt werden kann, ist einer Erklärung für die weitere Erhöhung von Verbindung Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (**9**) (172±27 min bei 37 °C) nicht so offensichtlich. Eine

3 Ergebnisse

mögliche Erklärung könnte eine zusätzliche Diffusionsbarriere für das Kohlenstoffmonoxid aus den Kugeln, oder für das Myoglobin und das Natriumdithionit in die Alginatkugeln. Um die Rolle der Alginathülle und ihren Einfluss in die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung aufzuklären, wurden weitere Experimente durchgeführt (**Tab. 4**).

Tab. 4: Gemessene Halbwertszeiten für die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Myoglobin-Assay verschiedener Kompositmaterialien bei 37 °C.

Kompositmaterial ^a	Halbwertszeit ($t_{1/2}$) / [min]
CORM@IONP (3) ^b	9 ±1
8c-500@7	65 ±5
(9) (~2 mm Kugeln) ^c	172 ±27
(9) (~1 mm Kugeln) ^d	100 ±20
Alginat@CORM-3 (10) (d.d. Wasser innen) ^e	106±30
Alginat@CORM-3 (10) (Puffer innen) ^f	28 ±8
Alginat@CORM-3 (10) (Na ₂ S ₂ O ₄ innen) ^g	<~1 ^h

^aUm die Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zu bestimmen wurden die Kompositmaterialien in Myoglobin-Lösung mit MOPS-Puffer und Na₂S₂O₄. ^bWert wurde aus Literatur übernommen.^[127] ^cAlginatkugeln (Ø=2 mm) beinhalten MOPS-Puffer. ^dAlginatkugeln (Ø=1 mm) beinhalten MOPS-Puffer. ^e Alginatkugeln (Ø=2 mm) beinhalten d.d. Wasser. ^fAlginatkugeln (Ø=2 mm) beinhalten MOPS-Puffer. ^g Alginatkugeln (Ø=2 mm) beinhalten die gleiche Konzentration an Na₂S₂O₄ wie die umgebende Myoglobin/MOPS-Puffer/Na₂S₂O₄ Lösung. ^hGeschätzt, da die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zu schnell für eine Messung verlief. Bevor die Alginatkugeln nach der Herstellung in die Küvette überführt werden konnten, war der größte Teil des Kohlenstoffmonoxides schon freigesetzt worden.

Als Vergleich wurden Alginat@CORM-3 (10) Kugeln sowohl mit d.d. Wasser als auch mit MOPS-Puffer in den Kugeln hergestellt. Dies sollte einen Effekt zwischen CORM-3 sowohl in d.d. Wasser als auch in Puffer-Lösung zeigen. Beide Systeme besitzen eine gleich große Alginathülle. Die Halbwertszeiten für die aus d.d. Wasser und CORM-3 hergestellten Kugeln lagen bei 106±30 min bei 37 °C.

3 Ergebnisse

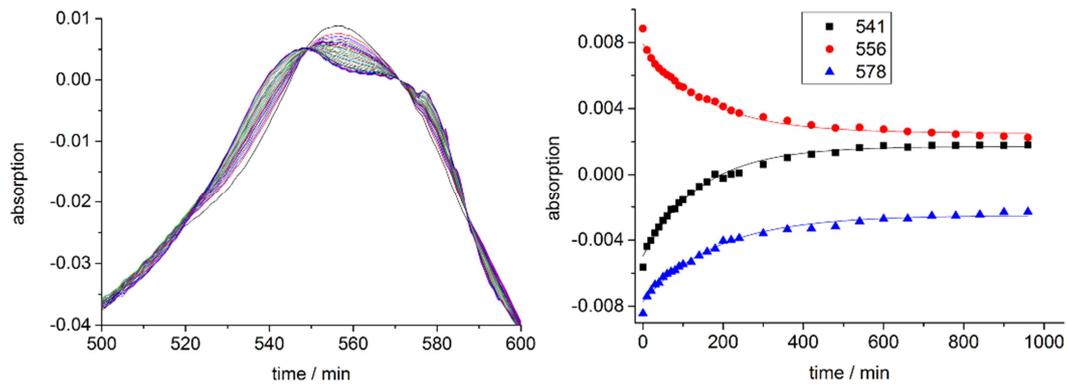


Abb. 45: Durchschnittliche Halbwertszeit von Alginat@CORM-3 (10) Kugeln $t_{1/2} = 106 \pm 30$ min bei 37 °C aus d.d. Wasser.

Die gleichen Alginat@CORM-3 (10) Kugeln mit MOPS-Puffer hergestellt besitzen eine verringerte Halbwertszeit von 28 ± 8 min bei 37 °C. Der Trend einer verlangsamt Kohlenstoffmonoxidfreisetzung wurde von MOTTERLINI beschrieben als eine drastische Erhöhung der Halbwertszeit von CORM-3 in destilliertem Wasser. Diese erhöhte sich auf 98 h im Vergleich zu gepufferten Lösungen (20 min) beobachtet werden konnte (Tab. 3). Das beschriebene System zeigt ein ähnliches Verhalten wie die Zwei-Kammer-Methode von MOTTERLINI.^[120]

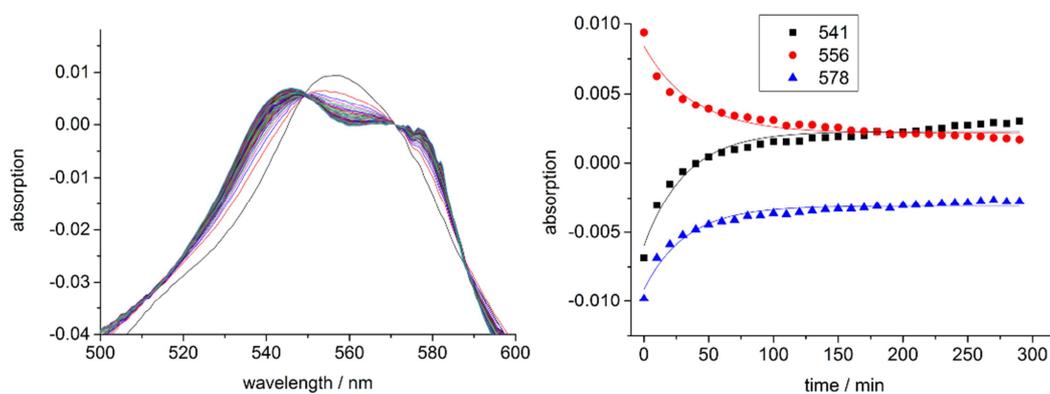


Abb. 46: Durchschnittliche Halbwertszeit von Alginat@CORM-3 (10) Kugeln $t_{1/2} = 28 \pm 8$ min bei 37 °C aus MOPS-Puffer.

Die Ergebnisse mit und ohne MOPS-Puffer lassen nicht auf einen signifikanten Effekt der Kohlenstoffmonoxid diffusion schließen. Es ist jedoch offensichtlich, dass die Alginathülle die Diffusion des Puffers innerhalb der Kugeln verlangsamt. Die Halbwertszeit von 28 ± 8 min bei 37 °C mit MOPS-Puffer im Vergleich zu 1 min für CORM-3 in Anwesenheit von Myoglobin könnte gleichbedeutend mit der Abschirmung von CORM-3 zum Myoglobin sein. Aufgrund

3 Ergebnisse

der Größe von Myoglobin (ca. 17000 da) wird eine Diffusion in die Alginatkugeln ausgeschlossen.

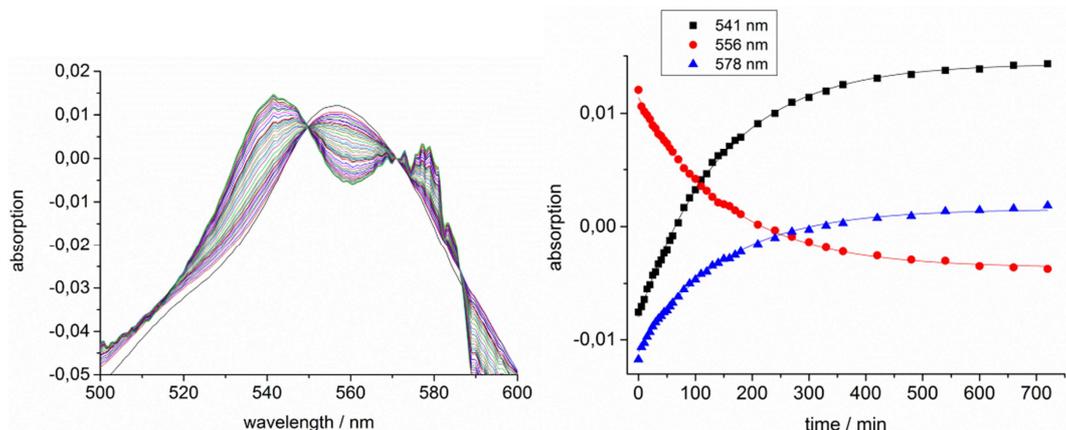


Abb. 47: Durchschnittliche Halbwertszeit von Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (9) in kleineren Kugeln $t_{1/2} = 100 \pm 20$ min at 37 °C.

Es konnte ein weiterer Effekt mit der Größe der Alginatkugeln beobachtet werden. Durch die Verwendung von kleineren Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (9) Kugeln verringerte sich die Halbwertszeit auf 100 ± 20 min bei 37 °C. Dieser Effekt korreliert möglicherweise mit der zunehmenden Oberfläche der Kugeln bei kleinerem Durchmesser und der daraus besseren Wechselwirkung mit dem Myoglobin. Die Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (9) mit der beschriebenen Kugelgröße ist wiederum größer (172 ± 27 min bei 37 °C), da eine zusätzliche Abschirmung der Dextran-Polymerhülle den CORM-3 analogen Kern gegenüber dem Myoglobin abschirmt.

Es ist offensichtlich, dass das Lösungsmedium und verschiedene Komponenten innerhalb der Kugeln genutzt werden können, um die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung der CORMs zu beeinflussen.

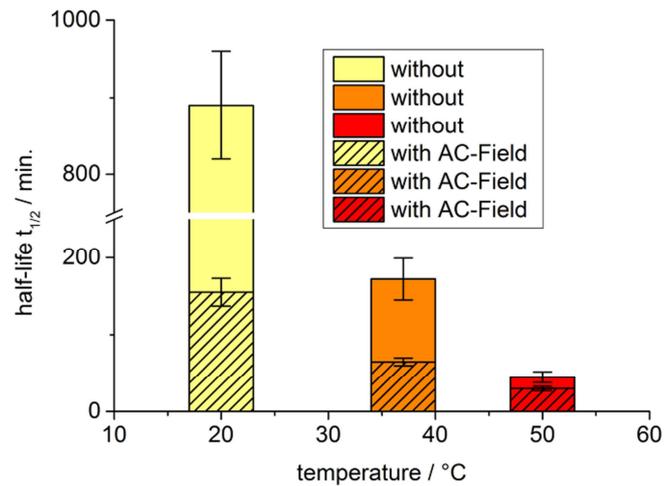


Abb. 48: Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (9) Kugeln mit und ohne magnetischem Wechselfeld bei verschiedenen Temperaturen.

Um die Temperatur auf der Oberfläche der Partikel zu bestimmen, die durch das Wechselfeld erreicht wird, wurde eine Auftragung von $\ln(t_{1/2})$ gegen die Temperatur verwendet wurde (**Abb. 49**). Unter der Annahme, dass in einem idealem System die Halbwertszeiten ausschließlich ein Funktion der Temperatur sind, würden die Nanopartikel eine Oberflächentemperatur von 37, 46 und 54 °C im Vergleich zu den 20, 37 und 50 °C Messungen ohne Wechselfeld haben. Eine Bestimmung der Aktivierungsenergie mit Hilfe einer Arrheniusauftragung von $\ln(\ln(2)/t_{1/2})$ gegen $1/T$ ergab 78 kJ/mol (**Abb. 49**).

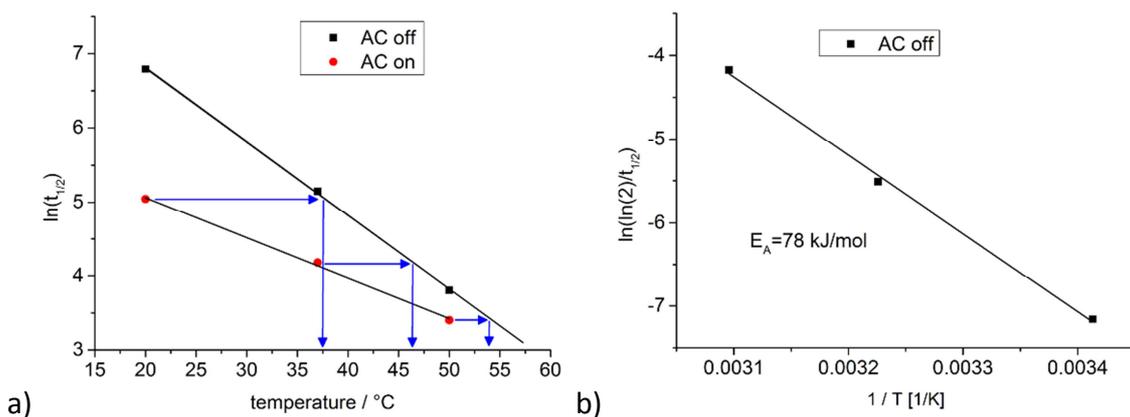


Abb. 49: a) Auftragung von $\ln(t_{1/2})$ gegen die Temperatur bei ein und ausgeschaltetem Wechselfeld zur Bestimmung der mit dem magnetischem Heizen erreichten Temperatur auf der Nanopartikeloberfläche. Die geschieht unter der Annahme einer direkten Beziehung der Halbwertszeit und Temperatur. b) Arrhenius Auftragung von $\ln k = \ln(\ln(2))/\ln(t_{1/2})$ gegen $1/T_{\text{Kelvin}}$ zur Bestimmung der Aktivierungsenergie aus der Steigung ($-EA/R$, $R = 8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$).

3 Ergebnisse

Durch diese Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Halbwertszeit und Löslichkeit von CORM@IONP mit $t_{1/2} = 13$ min (20 °C) gesteigert werden konnte. Des Weiteren wurde eine neue Methode zur Messung von stark absorbierenden Stoffen mit Hilfe des Myoglobin-Assays vorgestellt.

Zuerst wurde das CORM@IONP von einem Wasserlöslichen Polymer ummantelt. Das Dextran zeigte mit einer molaren Masse von 500 g/mol die beste Löslichkeit im Vergleich zu Dextran (100 g/mol) oder PolyDADMAC. Die stark erhöhte Halbwertszeit von 58 ± 9 min bei 20 °C erschließt sich aus der Abschirmung der CORM-3 analogen Verbindung gegenüber dem Protein. Das nun Wasserlösliche, aber stark UV/VIS absorbierende Dextran@CORM@IONP Kompositmaterial wurde weiter durch Alginat ummantelt und konnte somit ohne störende Eigenabsorption im Myoglobin-Assay vermessen werden.

Die bestimmten Halbwertszeiten der Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (9) Kompositmaterialien unterstützen die Machbarkeitsstudie für die Magnetfeld unterstützende Kohlenstoffmonoxidfreisetzung. Es konnten neue Wege der Oberflächenmodifizierung, einer Verzögerung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung sowie eine neue Methode zur Vermessung von stark absorbierenden Stoffen gezeigt werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP in dem Alginat@Dextran500K@CORM@IONP (9) Kompositmaterial durch magnetisches Heizen in einem Wechselfeld (31.7 kAm^{-1} , 247 kHz, 39.9 mTesla) um den Faktor 2.6 bei 37 °C beschleunigt werden konnte. Insgesamt konnte eine Beschleunigung von 5.7 bei 20 °C, 2.6 bei 37 °C und 1.5 bei 50 °C erreicht werden.

Die Möglichkeit, stark absorbierende Stoffe, mit Hilfe des gut untersuchten Myoglobin-Assays zu vermessen, bietet einen großen Vorteil gegenüber anderen bekannten Methoden. Diese Methode ist nicht nur für temperatursensible CORMs zu verwenden, sondern bietet auch die Möglichkeit, photolabile CORMs zu vermessen.

3.3 Oxim basierte CORMs

Das in Kapitel 3.1 vorgestellte Freisetzungsmodell basiert auf CORM-3 und hat dementsprechend eine relativ schnelle Kohlenstoffmonoxid Freisetzung mit geringen Halbwertszeiten. Auch wenn die Freisetzung von Kohlenstoffmonoxid über eine Einbettung in ein Polymer (s. Kapitel 3.2) zu längeren Halbwertszeiten verschoben werden kann, ist ein Molekül mit längeren Halbwertszeiten und einer besseren Löslichkeit zu bevorzugen.

ORESMAA beschrieb eine Syntheseroute zu neuartigen Oxim basierten CORMs. Diese zeigten im Myoglobin-Assay eine deutlich längere Halbwertszeit als CORM-3.^[141]

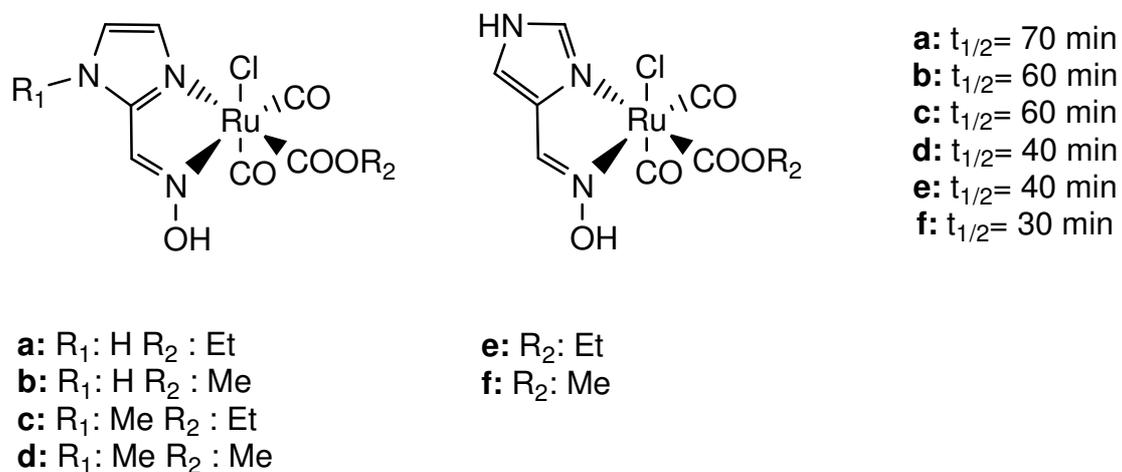


Abb. 50: Schema der von ORESMAA hergestellten Oxim basierten CORMs mit Halbwertszeiten.

Die Halbwertszeiten wurden ohne Messtemperatur angegeben. Des Weiteren wurde ein Phosphatpuffer verwendet, welcher aufgrund früherer Studien (s. 2.1.1.) nicht verwendet werden konnte. Es wurden zwei Oxim basierte CORMs hergestellt und im Myoglobin-Assay unter geeigneten Bedingungen vermessen.^[142] Die Versuche sollten zeigen, ob sich diese neue Verbindungsklasse als langsamerer Releaser zur möglichen Trägerung auf Nanopartikel eignet.

3.3.1 Synthese und Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Oxim basierten CORMs

Zuerst sollten die beiden Oxim basierten CORMs **a** und **b** aus **Abb. 50** hergestellt werden. Die Reaktion des Imidazol-2-carboxaldehyde (**11**) zum entsprechenden Oxim (**12**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von ORESMAA durchgeführt. Im Gegensatz zur beschriebenen Reaktionszeit von 1 h und Umgebungstemperatur wurde der Versuch einen Tag bei 70 °C gerührt. Die Verlängerung der Reaktionszeit war notwendig, da unter den beschriebenen Bedingungen kein Produkt entstanden war. Nach der Aufreinigung konnte eine Ausbeute von 41 % erzielt werden.

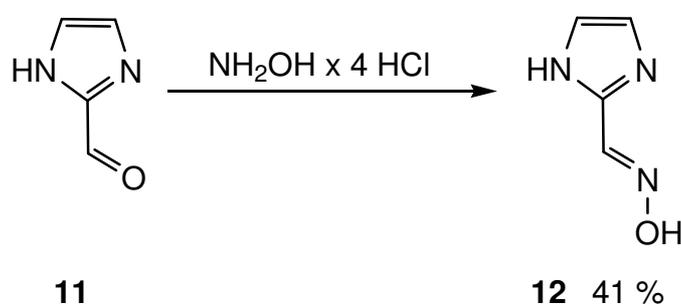


Abb. 51: Umsetzung von Imidazol-2-carboxaldehyde (**11**) zum Oxim (**12**).

Die beschriebene Untersuchung des Produktes mit Hilfe der ^1H -Spektroskopie in DMSO-d_6 war nur schwer möglich, da diese Verbindung eine sehr geringe Löslichkeit aufwies. Anstelle dessen wurde ein $\text{NaOD-D}_2\text{O}$ Gemisch verwendet, welches durch Deprotonierung des Produkts eine gute Löslichkeit in D_2O ermöglichte. Dies führte jedoch auch zu einer starken Veränderung der Signallage im ^1H -NMR-Spektrum. Mit Hilfe eines ^1H -NMR-Spektrum, in $\text{NaOH-D}_2\text{O}$ aufgenommen, und einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte die Verbindung vollständig charakterisiert werden.

Die Herstellung des Rutheniumdichlorotricarbonyldimers (**3**) wurde nach der Vorschrift von MANTOVANI durchgeführt.^[152] Es wurden Trirutheniumdodecacarbonyl, Ethanol und Chloroform in einen Stahlautoklaven mit Glasinlett gegeben. Die Mischung wurde bei 5 bar Stickstoffüberdruck für 18 h bei 110 °C gerührt. Das Produkt konnte anschließend bei -10 °C analysenrein auskristallisiert werden.

Die Umsetzung des Rutheniumdichlorotricarbonyldimers (**3**) mit dem Imidazol-Oxim (**12**) erfolgte in Anlehnung an die Veröffentlichung von ORESMAA.^[36] Die angegebenen

3 Ergebnisse

Reaktionsbedingungen und Reaktionszeiten wurden verändert, da bei den angegebenen Bedingungen kein, oder nur sehr wenig Produkt entstanden war. So wurde anstatt bei Umgebungstemperatur die Lösung bei 30 °C gerührt. Die Reaktionszeit wurde auf 5 Tage verlängert. Dadurch konnten Ausbeuten von 31 % für das Methoxy-Derivat (**13**) und 45 % für das Ethoxyderivat (**14**) erhalten werden. Die Ausbeuten liegen leicht unter den Angaben in der Literatur.^[35]

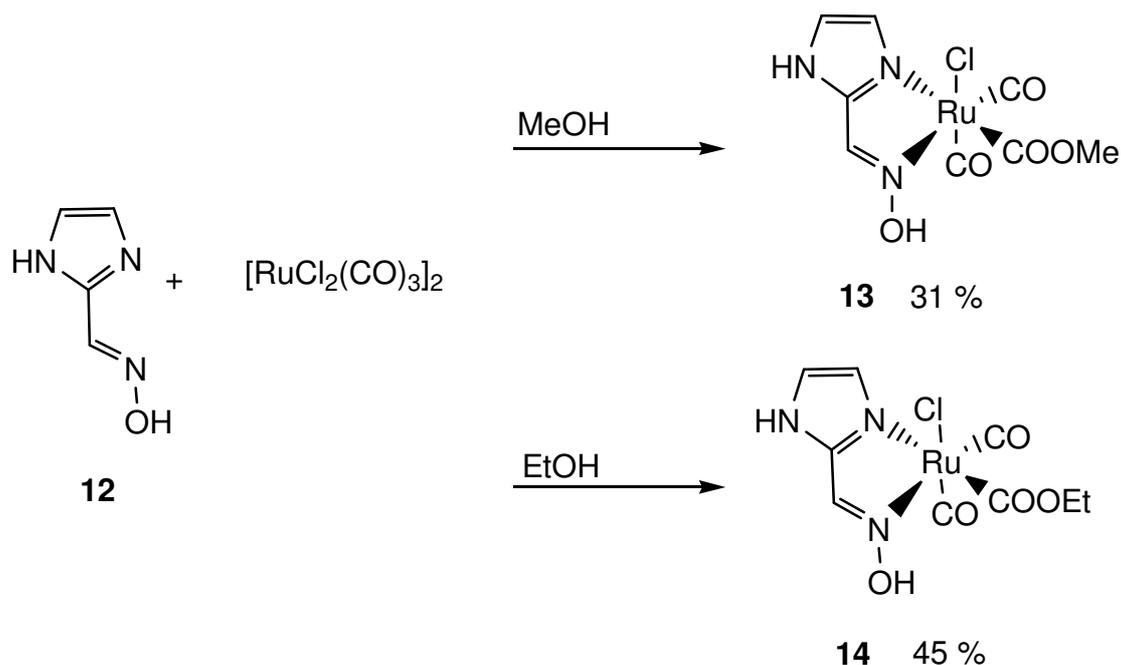


Abb. 52: Reaktionsschema zur Herstellung von Oxim basierten CORMs zu den Produkten $\text{Ru}(\text{Imidazol-2-Carbaldehydoxim}(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**13**) und $\text{Ru}(\text{Imidazol-2-Carbaldehydoxim}(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**14**).

Die Messung der Kohlenstoffmonoxid Freisetzung von $\text{Ru}(\text{Imidazol-2-Carbaldehydoxim}(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**14**) und $\text{Ru}(\text{Imidazol-2-Carbaldehydoxim}(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**13**) wurde mit Hilfe des Myoglobin-Assays durchgeführt. Zur Ermittlung der Halbwertszeiten bei verschiedenen Temperaturen wurden Messungen bei 20, 37 und 50 °C durchgeführt. Die Messungen wurden nicht wie von ORESMAA beschrieben durchgeführt, sondern verändert. Anstelle von phosphatgepufferter Salzlösung mit einem pH-Wert von 6.8 wurde ein 3-(*N*-morpholino)propanesulfonsäure-Puffer verwendet. Diese Veränderung soll in späteren Messungen mit Maghemit-Nanopartikeln eine Agglomeration verhindern.^[44] Der pH-Wert wurde auf 7.4 erhöht, um näher an den physiologischen Bedingungen des menschlichen Bluts zu liegen. Alle Messungen wurden mindestens 3 Mal durchgeführt.

3 Ergebnisse

Die jeweiligen Verläufe (**Abb. 53**) für das Methoxy- (**13**) und das Ethoxyderivat (**14**) können im Anhang (**Anhang 7** bis **Anhang 12**) für die entsprechenden Temperaturen eingesehen werden. Wie auch bei vorherigen Messungen ist hier das Absorptionsmaximum des Desoxy-myoglobin bei 556 nm. Es verändert sich durch Koordination von Kohlenstoffmonoxid an das Hämzentrum zu Carboxy-myoglobin, welches seine Absorptionsmaxima bei 541 nm und 578 nm hat.

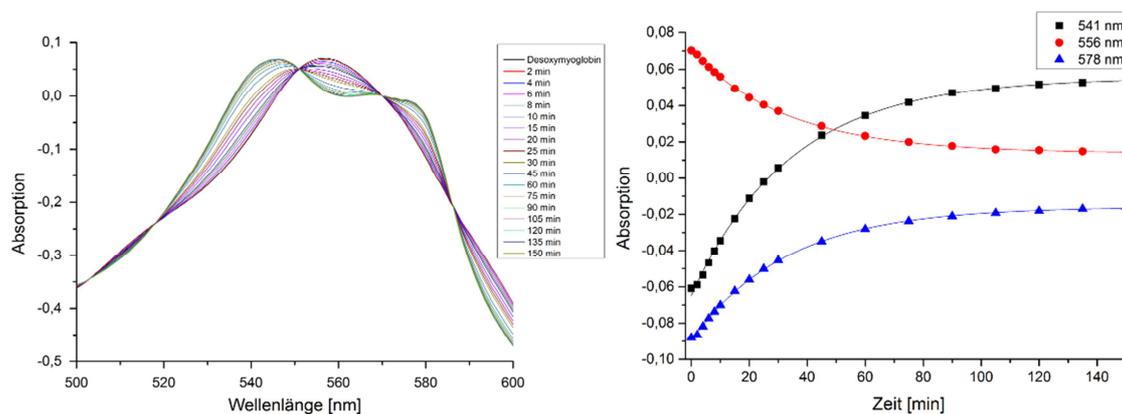


Abb. 53: Absorption des Myoglobin-Assay mit Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) bei 37°C über 150 Minuten.

Bei diesen Messungen wurde eine Normierung der Messgraphen bei 571 nm nach der Methode von ATKIN vorgenommen.^[120] In **Abb. 53** ist exemplarisch der Verlauf eines Myoglobin-Assays mit dem Ru(Imidazol-2-carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) dargestellt. Die angelegten Regressionskurven konnten den Verlauf sehr gut beschreiben. Für die hergestellten Verbindungen **13** und **14** wurden jeweils Dreifachbestimmungen bei jeweils 20, 3 und 50 °C durchgeführt. Die berechneten Halbwertszeiten sind in **Tab. 5** und **Tab. 6** dargestellt.

3 Ergebnisse

Tab. 5: Halbwertszeiten von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) bei 20 °C, 37 °C und 50 °C, die daraus resultierenden Mittelwerte und Standardabweichungen.

Temperatur [°C]	t _{1/2} [min]	∅ t _{1/2} [min]	Standartabweichung [min]
20	216	220	23
	200		
	246		
37	20	21	2
	20		
	23		
50	6	5	1
	5		
	5		

Die Halbwertszeiten lassen auf eine leicht beschleunigte Kohlenstoffmonoxidfreisetzung des Ethoxy-Derivats (**14**) schließen. Diese Beobachtung wurde von ORESMAA^[36] bereits beschrieben. Es konnte auch eine kürzere Halbwertszeit bei den 37°C-Messungen des Methoxy-Derivates (**13**) im Vergleich zum Ethoxy-Derivat (**14**) festgestellt werden. Dieser Trend konnte jedoch in weiteren Messungen nicht beobachtet werden.

Tab. 6: Halbwertszeiten von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOEt)(CO)₂Cl (**14**) bei 20 °C, 37 °C und 50 °C, die daraus resultierenden Mittelwerte und Standardabweichungen.

Temperatur [°C]	t _{1/2} [min]	∅ t _{1/2} [min]	Standartabweichung [°C]
20	230	226	9
	215		
	232		
37	16	15	1
	15		
	15		
50	6	6	1
	6		
	6		

Die für Verbindung **14** und Verbindung **13** beschriebenen Halbwertszeiten von ORESMAA lagen bei 60 Minuten (**13**) und bei 70 Minuten (**14**). Es wurden jedoch keine Angaben zur Messtemperatur beschrieben. Die beschriebenen Halbwertszeiten passen, unter Vernachlässigung des Einfluss des Puffers, zu den ermittelten Werten zwischen 20 und 37 °C.

3 Ergebnisse

Dies lässt auf eine Messung bei leicht erhöhter Raumtemperatur schließen, jedoch kann Aufgrund des unterschiedlichen Messaufbaus keine eindeutige Aussage getroffen werden.

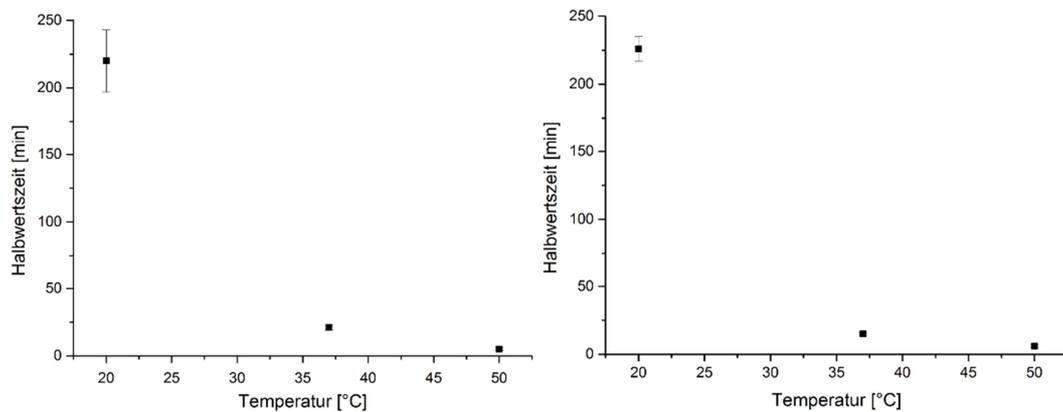


Abb. 54: Graphische Auftragung der Halbwertszeiten des CO-Release im Myoglobin-Assay von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) (links) und Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOEt)(CO)₂Cl (**14**) (rechts).

Die bestimmten Halbwertszeiten für die Verbindung **13** und **14** zeigen die interessante Möglichkeit einer langsameren Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei niedrigeren Temperaturen. Das am genauesten untersuchte CORM-3 besitzt eine Halbwertszeit von ungefähr einer Minute^[46] unter physiologischen Bedingungen. Eine verzögerte Freisetzung würde eine bessere Handhabbarkeit bedeuten und möglicherweise Vorteile gegenüber dem bekanntem CORM-3 System bedeuten.

3.3.2 Synthese einer Oxim haltigen Ankergruppe für IONP

Bei dem Aufbau der Syntheseroute zu einem immobilisierten Oxim-CORM auf der Oberfläche eines Maghemitnanopartikels konnte auf bereit gewonnene Erfahrungen zurückgegriffen werden. Das Prinzip ist ähnlich wie bei dem bereits vorgestellten CORM-3 Analogon (Kapitel 3.1). Es wird eine Ankergruppe zur Bindung an den Partikel, ein Verbindungsstück zur Ankergruppe und das entsprechende Oxim basierte CORM, welches an das Verbindungsstück gebunden ist, benötigt.

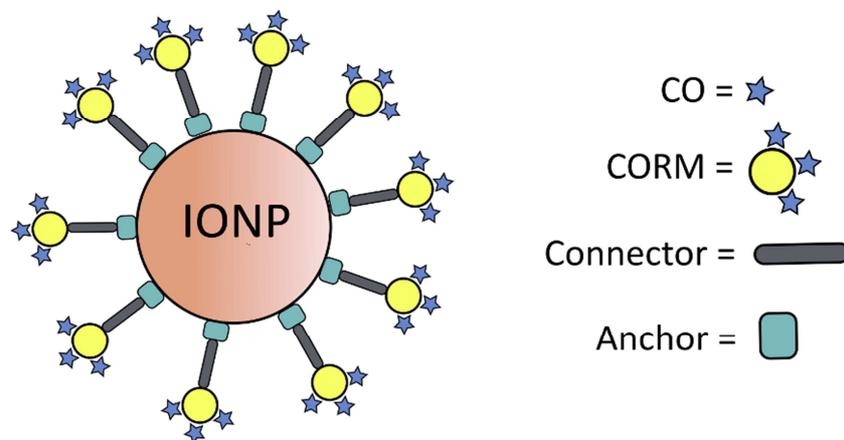


Abb. 55: Schematische Darstellung eines immobilisierten CORMs auf der Oberfläche eines Eisenoxidnanopartikels (IONP) mit Ankergruppe (Rechteck), Verbindungsstück (Stab) und CORM (Kreis mit Sternen).

Maghemit Nanopartikel wurden nach bekannter Route von $\text{Ew}_{11\text{K}}$ synthetisiert und für die weitere Funktionalisierung verwendet.^[118] Als Ankergruppe soll wie bisher auch ein Catechol-Derivat, in diesem Fall das 2-Chloro-2,4-dihydroxy-acetophenon, dienen. In Vorangegangenen Arbeiten stellte sich heraus, dass die Synthese dieses Anker-moleküls ausgehend von Catechol mit Hilfe einer Friedel-Craft-Acylierung nicht trivial erschien.^[142] Daher wurde das kommerziell erhältliche 2-Chloro-2,4-dihydroxy-acetophenon (**15**) verwendet. Die Verbindung der Ankergruppe mit dem CORM konnte auf mehreren Wegen ausprobiert werden. Es stellte sich jedoch schnell heraus, dass die Verknüpfung mit Imidazol-2-carboxaldehyd (**11**) und anschließende Umsetzung zum Oxim besser geeignet waren als die direkte Kopplung des CORMs mit der Ankergruppe.

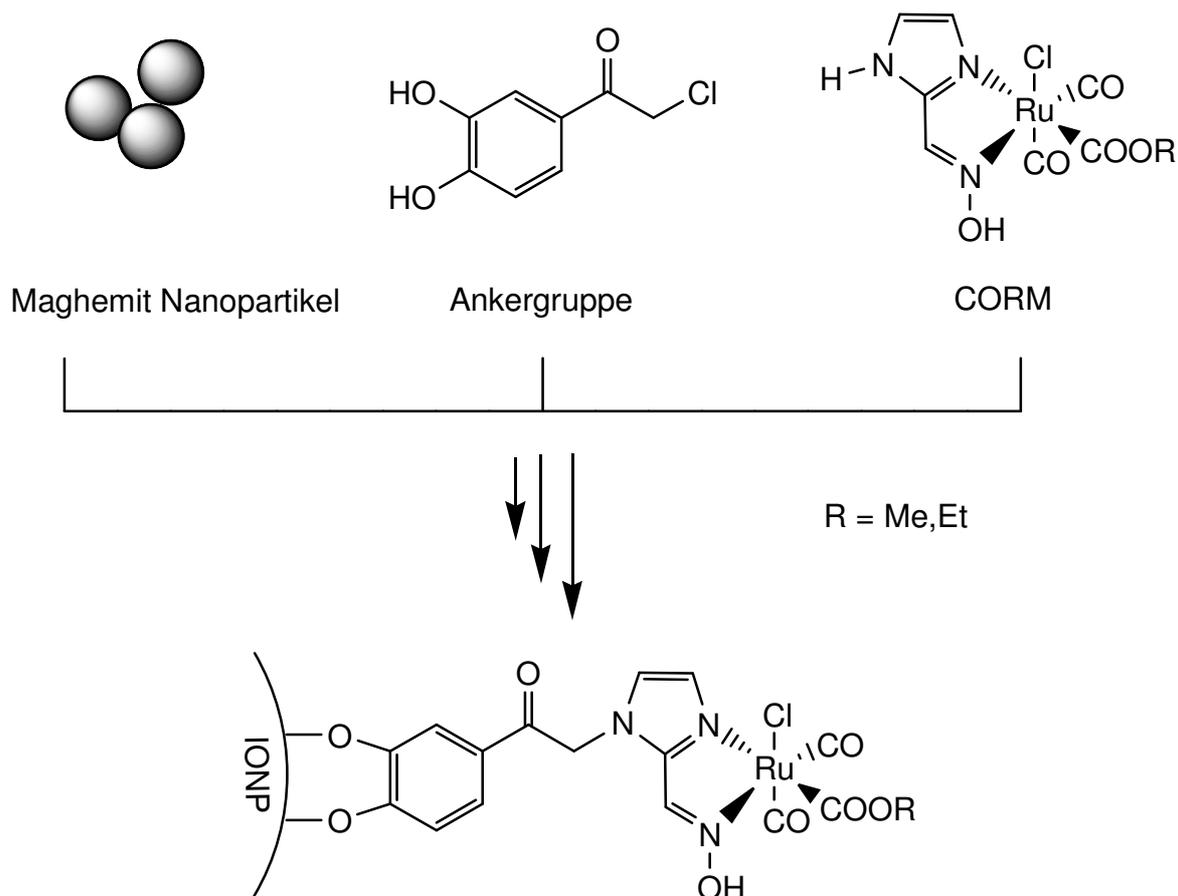


Abb. 56: Schematische Darstellung eines möglichen Zielmoleküls bestehend aus Nanopartikel, Ankergruppe und CORM.

Im ersten Schritt sollte eine Catecholankergruppe zur Immobilisierung an den Maghemitnanopartikel über einen Abstandshalter an das Imidazol-2-carboxaldehyd (**11**) gebunden werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Kopplungsreaktion von 2-Brom-2,4-dihydroxy-acetophenon gegenüber dem 2-Chloro-2,4-dihydroxy-acetophenon gelang. Die Ausbeuten waren jedoch sehr gering und eine Aufreinigung war nur schwer möglich. Der Versuch, die Ausbeute durch einen Finkelstein-Austausch zu steigern, um das vermutlich reaktivere 2-Iod-2,4-dihydroxy-acetophenon zu erhalten, gelang nicht.^[142]

Wie schon beschrieben, war eine direkte Umsetzung von 2-Chloro-3,4-dihydroxy-acetophenon (**15**) mit Imidazol-2-carboxaldehyd (**11**) nicht möglich. Um störende Effekte der freien Dirole zu vermeiden, sollte eine Schutzgruppe eingefügt werden, um so die Bildung des Produktes zu ermöglichen. Die Einführung einer Acetonidschutzgruppe führte zu guten Ausbeuten von (**16**).

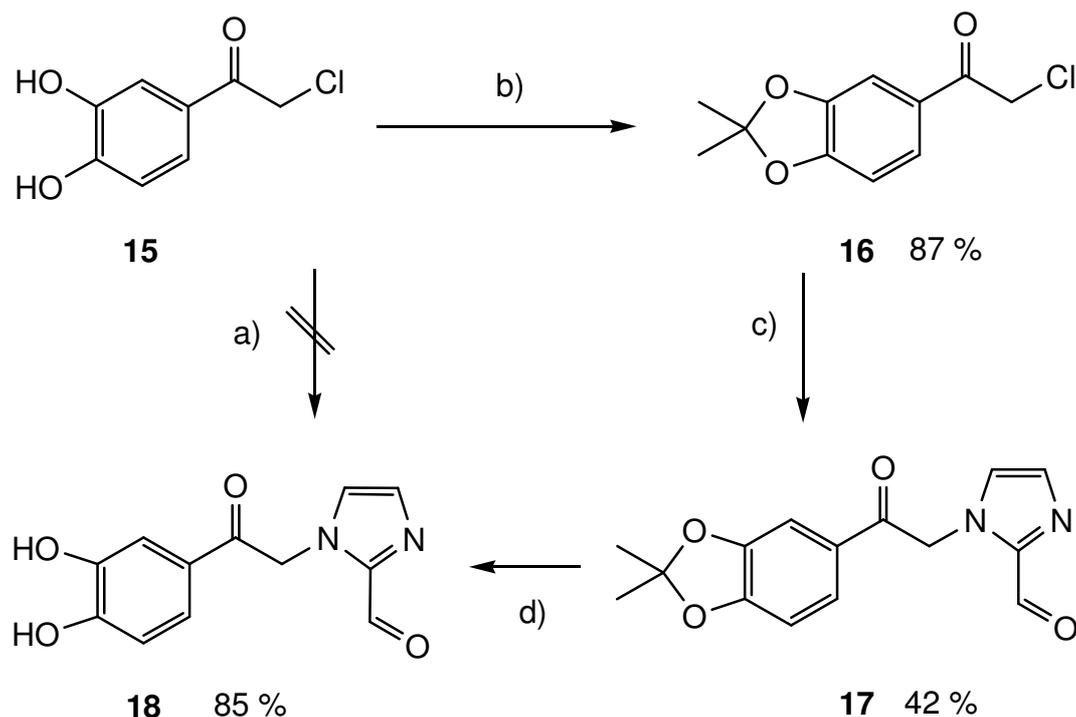


Abb. 57: Schematische Darstellung der Synthese von (**18**); a) Acetonitril, Natriumcarbonat, 60 °C, 5 d
 b) tr. Toluol, tr. Aceton, Phosphorpentoxid, 75 °C, 4 h c) Acetonitril, Natriumcarbonat, 60 °C, 7 d, d)
 100 °C, 2 h.

Die Umsetzung zu 2-Chloro-1-(2,2-dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)ethanon (**16**) erfolgte analog zur Vorschrift von IWAGAMI (**Abb. 57**).^[143] Die Ausbeute konnte durch die Nutzung von trockenem Aceton sowie durch Verkürzung der Zugabeintervalle von Phosphorpentoxid, und mit einer verbesserten Aufreinigung in 87 % erhalten werden. Das Produkt 2-Chloro-1-(2,2-dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)ethanon (**16**) konnte eindeutig durch massenspetrometrische Methoden und ¹H-NMR Spektroskopie identifiziert werden.

Die Verknüpfung von 2-Chloro-1-(2,2-dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)ethanon (**16**) mit Imidazol-2-carboxaldehyd (**11**) erfolgte in Acetonitril mit äquimolare Mengen Natriumcarbonat, um das Imidazol zu deprotonieren. Nach der ersten wässrigen Aufarbeitung konnte das Rohprodukt in Ethylacetat gelöst werden und an einem Grace Säulenautomat mit einer 120 g Silicasäule in kleineren Schritten aufgetrennt werden. Bei jedem Durchgang konnten maximal 2 g Rohprodukt mit der Säule aufgetrennt werden, wobei jede Säule nur maximal zweimal zu verwenden war.^[144] Das Produkt 1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (**17**) konnte in einer Ausbeute von 42 % erhalten werden. Das Produkt konnte mit Hilfe massenspektrometrischer Methoden und ¹H-NMR eindeutig charakterisiert werden.

3 Ergebnisse

Die Abspaltung der Schutzgruppe von 1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (**17**) wurde nach PAK durchgeführt. Dabei wurde **17** in konzentrierter Essigsäure unter Zusatz von konzentrierter Salzsäure bei 100 °C für eine Stunde erhitzt um 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (**18**) zu erhalten.^[145] Die Aufreinigung von **18** wurde zunächst wie in der Vorschrift durch Einengen der Lösung und Trocknen des Rückstandes durchgeführt. Dies führte jedoch zu geringen Ausbeuten, weshalb ein Ausfällen des Produktes durch Neutralisation der Lösung mit Natriumhydroxid genutzt wurde. Durch Verwendung beider Methoden konnte die maximale Ausbeute von 85 % erreicht werden. Die Aufreinigung mit Hilfe einer Silicasäule konnte nicht erfolgen, da die freien Hydroxyfunktionalitäten sowie die Stickstoffe am Imidazol eine Elution am Säulenmaterial verhindern. Auf eine weitere Aufreinigung mit Hilfe einer präparativen „reversed phase“ Silicasäule wurde verzichtet, da massenspektroskopische Methoden und das ¹H-NMR eine gute Reinheit zeigten.

Die Umsetzung von 1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (**17**) zum entsprechenden (E)-1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (**19**) wurde entsprechend der Synthese von ORESMAA durchgeführt (**Abb. 58**).^[20]

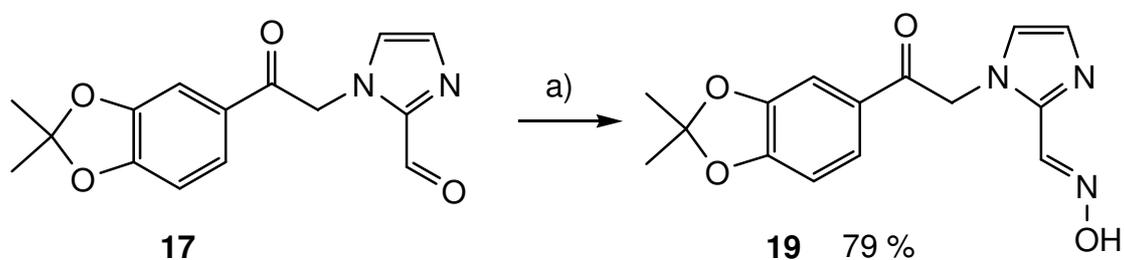


Abb. 58: Synthese von 1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (**17**) zu (E)-1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (**19**), a) d.d. Wasser, Natriumcarbonat, Hydroxylaminhydrochlorid, 70 °C, 24 h.

Durch Erhöhung der Reaktionszeit auf 24 Stunden konnte eine Ausbeute von 79 % erzielt werden. Eine geringere Löslichkeit in Wasser ist vermutlich auf das geschützte Catecholorückgrat zurückzuführen. Nach der Aufarbeitung konnte das Produkt **19** mit Hilfe von massenspektrometrischen Methoden und ¹H-NMR eindeutig zugeordnet und charakterisiert werden.

3 Ergebnisse

Die Umsetzung des Entschützten 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (**18**) zum entsprechenden Oxim wurde unter identischen Bedingungen wie **19** hergestellt (**Abb. 59**).

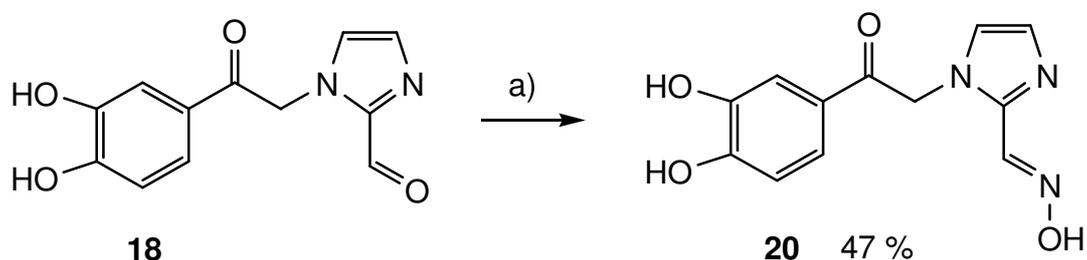


Abb. 59: Synthese von 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (**18**) zu 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (**20**) a) d.d. Wasser, Natriumcarbonat, Hydroxylaminhydrochlorid, 70 °C, 24 h.

Die freien Hydroxyfunktionalitäten am Edukt **18** sind möglicherweise verantwortlich für die geringe Ausbeute von 47 %. Da die Löslichkeit von Produkt und Edukt sehr ähnlich war, konnte nach der Zentrifugation nicht umkristallisiert werden. Auf eine weitere Aufreinigung mit Hilfe einer präparativen „reversed phase“ Silicasäule wurde verzichtet, da massenspektroskopische Methoden und das $^1\text{H-NMR}$ eine gute Reinheit zeigten.

3.3.3 Synthese von Oxim basierten Rutheniumcarbonylen zur Funktionalisierung von IONP

Zur Umsetzung zu den entsprechenden Kohlenstoffmonoxid freisetzenden Verbindungen wurden die Edukte (E)-1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (**19**) und 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (**20**) mit Dichloridotricarbonylruthenium(II)-Dimer (**3**) umgesetzt. Die Synthesen wurden analog der Arbeit von ORESMAA durchgeführt.^[141] Die Reaktionszeit wurde auf fünf Tage und die Reaktionstemperatur auf 30 °C erhöht.

Die Edukte (E)-1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (**19**) und Dichloridotricarbonylruthenium(II)-Dimer (**3**) wurden sowohl in Ethanol, als auch in Methanol umgesetzt, wodurch jeweils die ethoxy- bzw. methoxy-substituierten Rutheniumcarbonylkomplexe (**21** und **22**) entstanden sind.

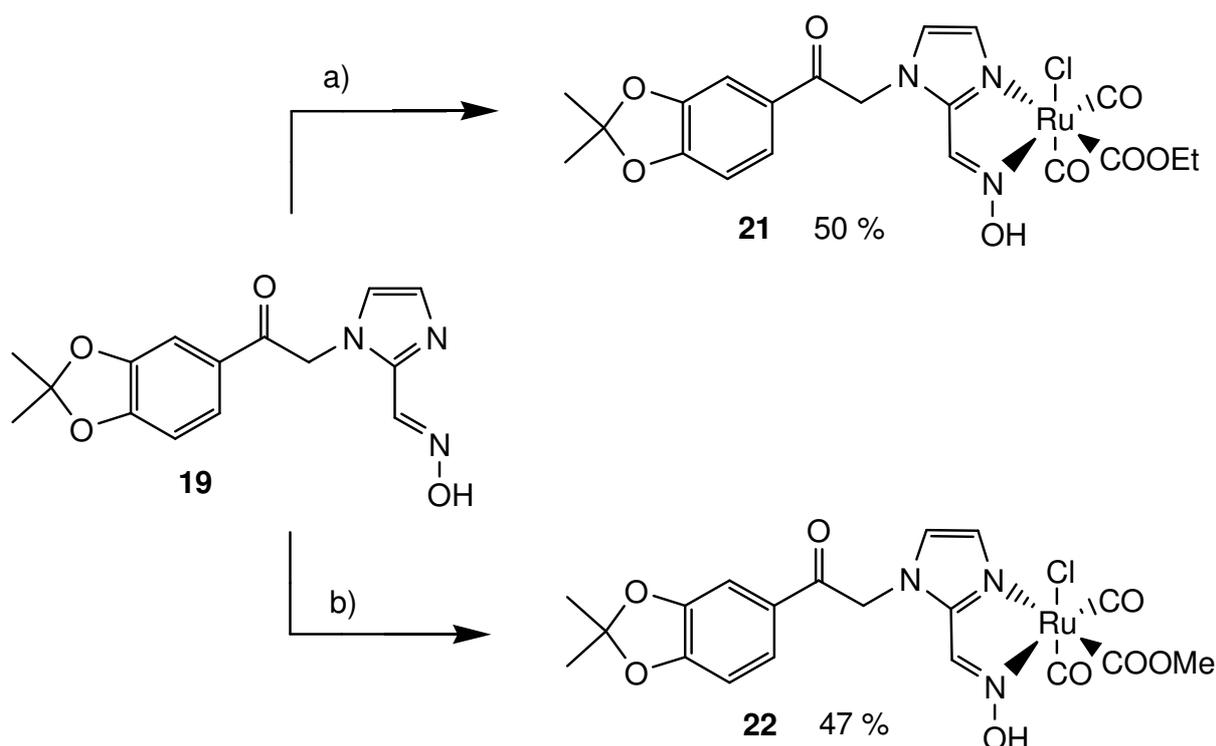


Abb. 60: Synthese von (E)-1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (**19**) mit $[\text{RuCl}_2(\text{CO})_3]_2$ (**3**) a) bei 30 °C, 5 d zu $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**), b) bei 30 °C, 5 d zu $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**).

Bei der Reaktion konnte im Gegensatz zu der genutzten Vorschrift von ORESMAA beobachtet werden, dass das Produkt schon während der Reaktion komplett ausgefallen war. Eiskühlung

und Einengen des Überstandes lieferten kein weiteres Produkt. Die Reaktionslösungen wurden jedoch bei der Aufarbeitung gekühlt, um die Löslichkeit gering zu halten und Ausbeuteverluste zu minimieren. Der Rückstand von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) wurde mit kaltem Ethanol gewaschen, im Hochvakuum getrocknet und das Produkt unter Stickstoff bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ gelagert. Der Rückstand von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) wurde mit kaltem Methanol gewaschen und analog zu $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) getrocknet und aufbewahrt. Für $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) lagen die erhaltenen Kohlenmonoxid (CO) Schwingungen im IR bei 2059 cm^{-1} und 1986 cm^{-1} (ATR), sowie bei 2065 cm^{-1} und 1988 cm^{-1} (KBr). Für $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) lagen sie bei 2074 cm^{-1} und 1985 cm^{-1} (ATR), sowie bei 2075 cm^{-1} und 1989 cm^{-1} (KBr). Die Lage der Absorptionsbanden (**Abb. 61**) stimmt mit den von ORESMAA angegebenen bei $2059\text{-}2056$ und $1980\text{-}1985\text{ cm}^{-1}$ in KBr Presslingen überein.^[141]

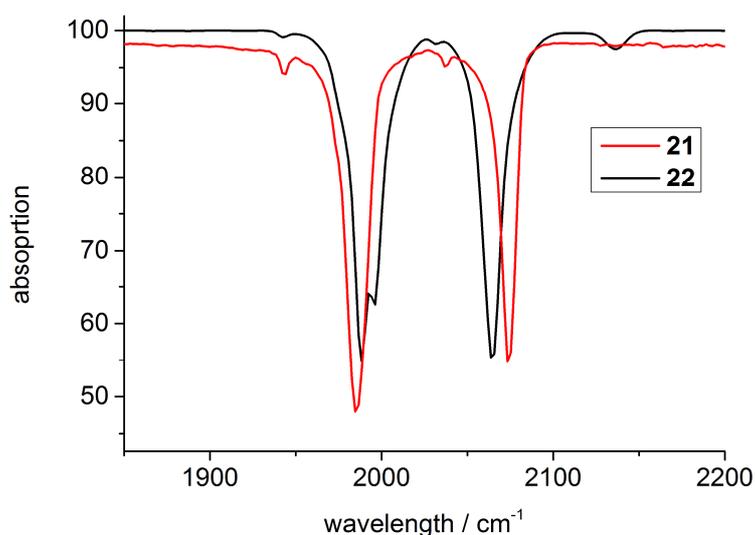


Abb. 61: Darstellung der Infrarotspektren von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) und $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) in KBr Presslingen.

Wie in **Abb. 61** zu sehen ist, unterscheiden sich die Absorptionsbanden nur gering in Ihrer Lage. Durch die Koordination eines Methoxy- und Ethoxyrestes der beiden Verbindungen **21** und **22** wird eine Verschiebung der Absorptionsbanden beobachtet. Verbindung **21** weist zudem eine kleine Schulter bei 1996 cm^{-1} auf. Mindestens zweimal musste das Produkt $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) mit kaltem Ethanol gewaschen werden, um Verunreinigungen zu entfernen.

3 Ergebnisse

Massenspektrometrische Untersuchungen zeigten, dass im ESI vermehrt Austauschreaktionen stattfanden. Für die Produkte $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) und $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) wurden identische Massenspektren erhalten. Das Isotopenmuster zeigte einen Rutheniumkomplex, an dem sowohl die Methoxy- als auch an dem anderen Produkt die Ethoxygruppe abgespalten war. Des Weiteren spaltete sich ein CO sowie ein Chlorid ab und es wurden Äquivalente des Lösungsmittels Acetonitril koordiniert.

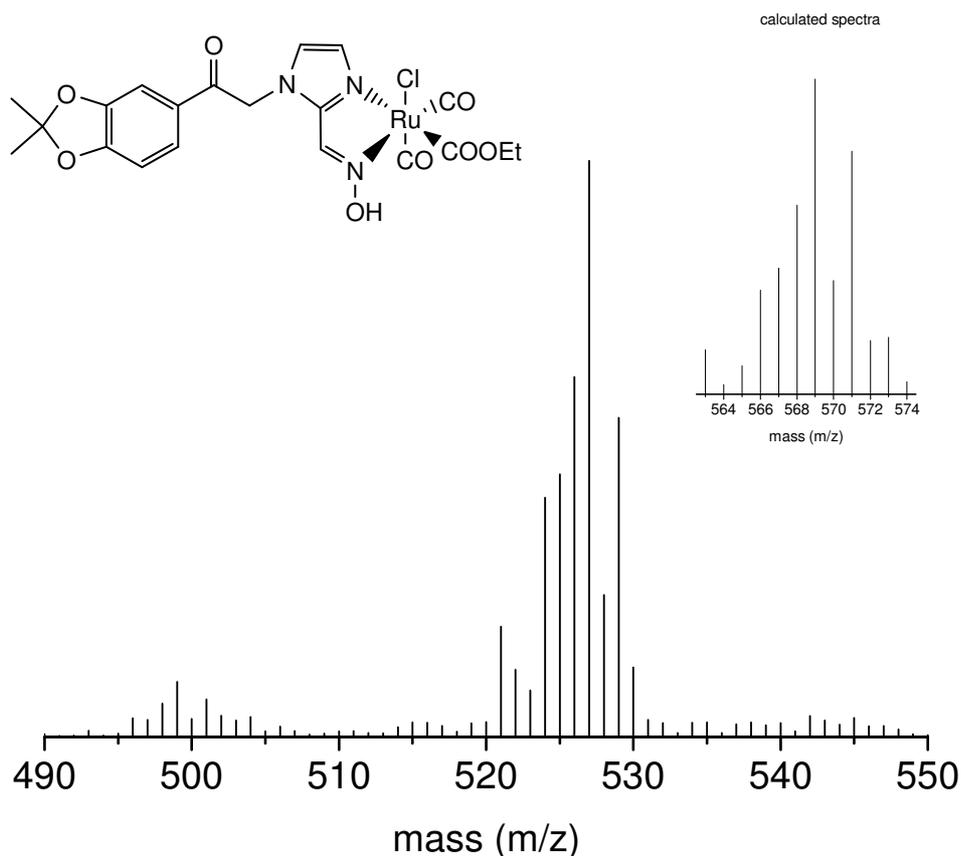


Abb. 62: Gemessenes (groß) und berechnetes (oben rechts klein) ESI-Massenspektrum von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) in Acetonitril/Wasser. Das Spektrum für $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) zeigte das identische Muster im gleichen Massenbereich. 499.1 $[\text{M} - \text{OEt}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ - \text{CO} + \text{CH}_3\text{CN}]^+$, 527.0 $[\text{M} - \text{OEt}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ + \text{CH}_3\text{CN}]^+$ für ^{102}Ru .

Das Isotopenmuster von Ruthenium ist bei beiden Komplexen gut zu erkennen. Die Masse von 499.1 entspricht der Spezies $[\text{M} - \text{OR}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ - \text{CO} + \text{CH}_3\text{CN}]^+$, die Masse 527.0 der Spezies $[\text{M} - \text{OR}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ + \text{CH}_3\text{CN}]^+$, für ^{102}Ru wobei der Rest "R" für die Ethyl-, bzw. Methylgruppe steht. Durch Austauschreaktionen wird das Chloridion vom Rutheniumkern abgespalten, wodurch das gesamte Molekül positiv geladen ist. Die freie Koordinationsstelle wird durch Anlagerung von Acetonitril besetzt (**Abb. 62**) welches durch hochauflösende

Massenspektren bewiesen werden konnte. Die Labilität von Carbonylkomplexen in ESI-Massenspektren ist bekannt und führt oftmals zu keinen bis hin zu wenigen Austauschreaktionen.^[146]

Die Auswertung der $^1\text{H-NMR}$ Spektren ermöglichte eine eindeutige Zuordnung. Die Signale der Ethoxy-, bzw. Methoxygruppe erschienen mit abweichender Intensität, was wiederum auf Austauschreaktionen mit dem Lösungsmittel zurückzuführen ist.

Zur Immobilisierung des CORMs an den Partikel muss das Diol entschützt sein. Das Rutheniumcarbonyl wird vorher am 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (**20**) gebunden. Die Einführung der Rutheniumcarbonylfunktionalität wird in **Abb. 62** gezeigt.

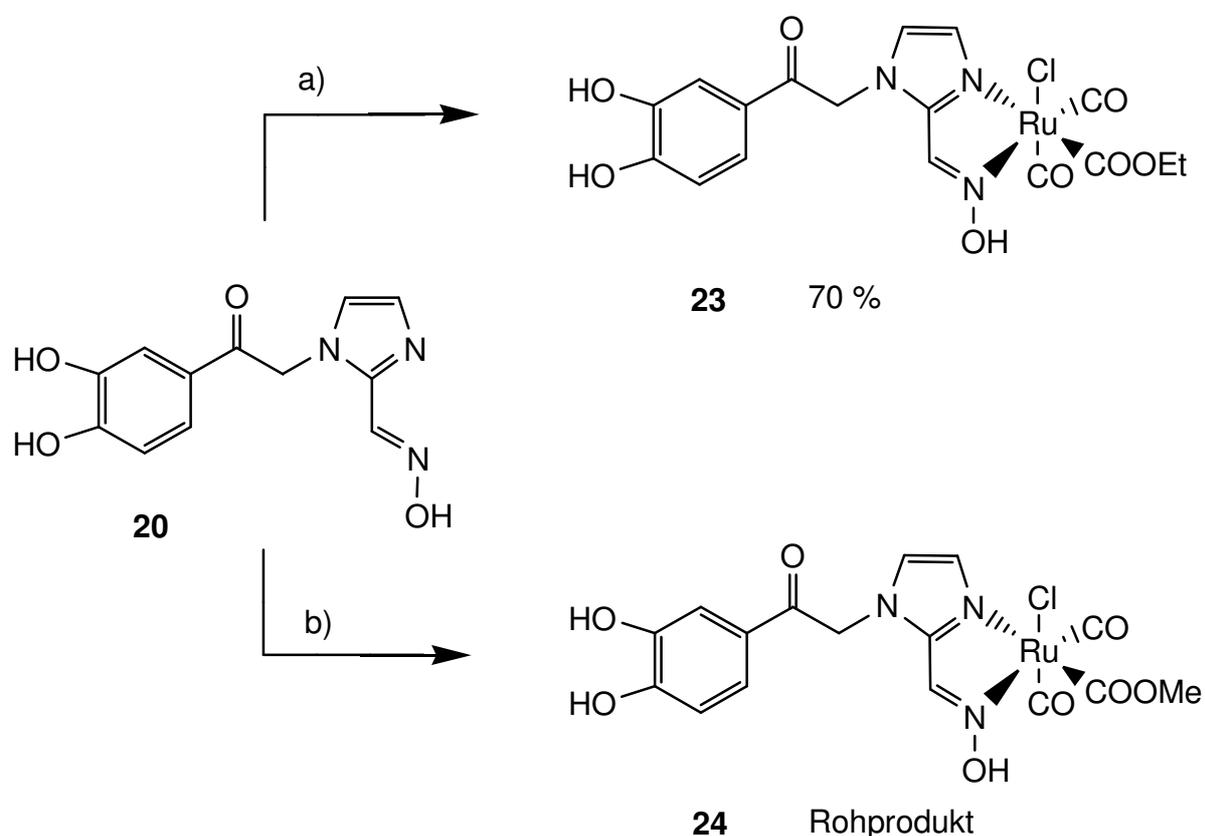


Abb. 63: Umsetzung des Oximderivats (**20**) mit $[\text{RuCl}_2(\text{CO})_3]_2$ (**3**) zu den Produkten

$\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**23**) und $\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**24**). a) Ethanol, 30 °C, 5 d; b) Methanol, 30 °C, 5 d.

Die Reaktionsbedingungen für $\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**23**) und $\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**24**) unterscheiden sich nicht und wurden analog der geschützten Derivate **21** und **22** durchgeführt. Beide Edukte wurden in Methanol oder Ethanol gelöst und fünf Tage bei 30 °C gerührt.

3 Ergebnisse

Verbindung **23** fiel als farbloser Feststoff während der Reaktion aus und konnte durch Waschen mit kaltem Ethanol gereinigt werden. Bei der Umsetzung zu **24** konnte auch durch Einengen und Kühlen der Reaktionslösung kein Produkt isoliert werden. Mit Hilfe von massenspektrometrischen Methoden konnte jedoch **24** als Rohprodukt nachgewiesen werden.

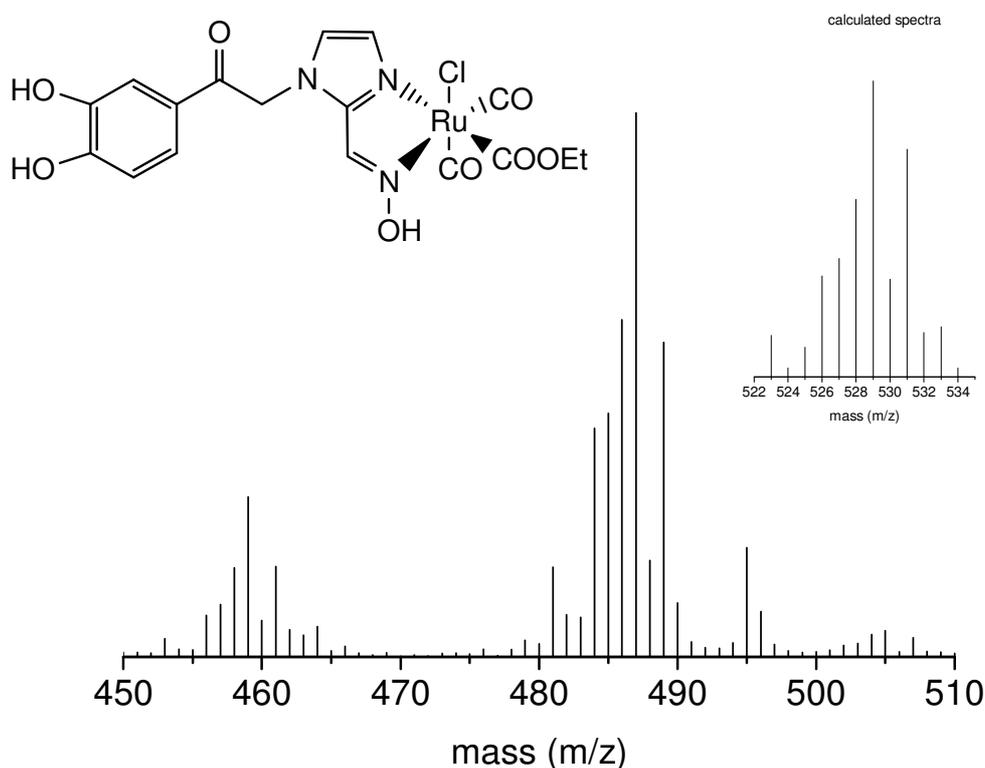


Abb. 64: Darstellung eines ESI-Massenspektrum von $\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**23**) in Acetonitril/Wasser. Das Rutheniumisotopenmuster ist klar zu erkennen und die Fragmente können wie folgt zugeordnet werden: 459.2 $[\text{M} - \text{OEt}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ - \text{CO} + \text{CH}_3\text{CN}]^+$, 487.0 $[\text{M} - \text{OEt}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ + \text{CH}_3\text{CN}]^+$ für ^{102}Ru .

Die erwarteten Isotopenmuster des Rutheniumkerns sind gut zu erkennen. Ebenfalls wie bei den geschützten Derivaten **21** und **22** sind die Fragmentierungen gleich. Die Masse 459.2 entspricht der Spezies $[\text{M} - \text{OEt}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ - \text{CO} + \text{CH}_3\text{CN}]^+$ und die Masse 487.0 der Spezies $[\text{M} - \text{OEt}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ + \text{CH}_3\text{CN}]^+$. Durch Austauschreaktionen wird das Chloridion vom Rutheniumkern abgespalten, wodurch das gesamte Molekül positiv geladen ist. Die freie Koordinationsstelle wird durch Anlagerung von Acetonitril besetzt (**Abb. 64**) welches durch hochauflösende Massenspektren bewiesen werden konnte. Die Labilität von Carbonylkomplexen in ESI-Massenspektren ist bekannt und führt oftmals zu keinen bis hin zu wenigen Austauschreaktionen.^[146]

3 Ergebnisse

Die Verbindung $\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**23**) zeigte im IR Carbonylschwingungen bei 1995 cm^{-1} und 2064 cm^{-1} . Diese Werte stimmen gut mit denen von ORESMAA^[21] beschriebenen überein. Zur Übersicht wurden in **Tab. 7** die Carbonylschwingungen von **21**, **22** und **23** mit den Ergebnissen von ORESMAA zusammengefasst.

Tab. 7: Vergleich der Carbonylschwingungsregion der synthetisierten Rutheniumcarbonyle (**21**, **22**, **23**) mit den Literaturwerten von ORESMAA^[141] für die Verbindungen **14** und **13**.

Verbindung	CO-Schwingung 1 [cm^{-1}]	CO-Schwingung 2 [cm^{-1}]
$\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (21)	2065	1988
$\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (22)	2075	1989
$\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (23)	2064	1995
14, 13	2059-2056	1980-1985

Die synthetisierten Verbindungen können nun hinsichtlich der Halbwertszeiten ihrer Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Myoglobin-Assay untersucht werden. Der Einfluss des erweiterten Rückrades wurde von ORESMAA durch Einführen einer Methylgruppe untersucht, hierbei zeigten sich verkürzte Halbwertszeiten bei der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung.

3.3.4 Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von neuartigen Oxim basierten Rutheniumcarbonylen

Die geschützten Verbindungen $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) und $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) wurden im Myoglobin Assay, bei unterschiedlichen Temperaturen vermessen. Exemplarisch wird in **Abb. 65** der Verlauf einer Messung gezeigt.

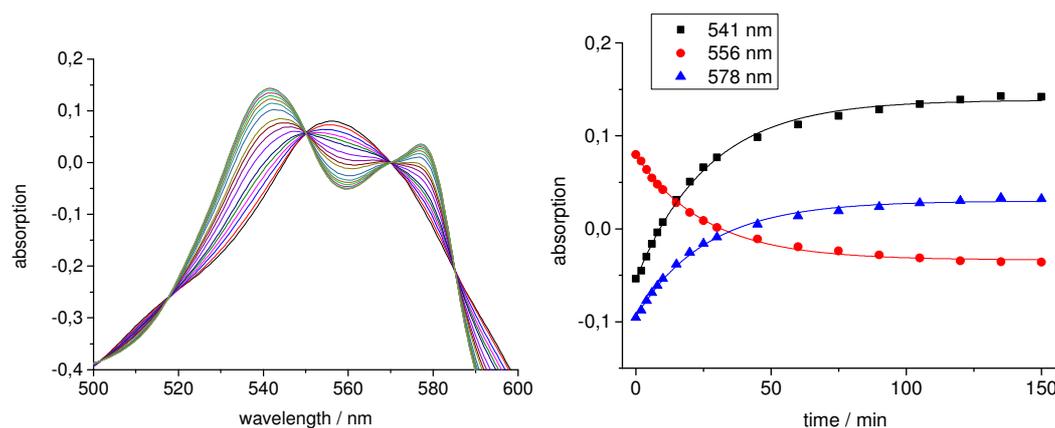


Abb. 65: Exemplarische Messung des Myoglobin Assays von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) bei 37 °C.

Die durchschnittlichen Halbwertszeiten mit Standardabweichung sind in **Tab. 8** beschrieben. Die Messungen der einzelnen Temperaturen in **Anhang 13**, **Anhang 14** und **Anhang 15** gezeigt.

Tab. 8: Halbwertszeiten des CO-Release von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) im Myoglobin Assay bei verschiedenen Temperaturen.

Temperatur [°C]	$t_{1/2}$ [min]	$\emptyset t_{1/2}$ [min]	Standartabweichung [min]
20	137	155	13
	168		
	159		
37	16	18	1
	19		
	18		
50	5	4	1
	4		
	4		

3 Ergebnisse

Die Halbwertszeiten verliefen wie erwartet antiproportional zur Messtemperatur und zeigten einen ähnlichen Verlauf wie die zuvor vermessenen Verbindungen **14** und **13**. Zur besseren Übersicht sind die Halbwertszeiten der Verbindung $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) in (**Tab. 9**) gezeigt. Die Messung der einzelnen Temperaturen können in **Anhang 13**, **Anhang 14** und **Anhang 15** betrachtet werden.

Tab. 9: Halbwertszeiten des Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) im Myoglobin Assay bei verschiedenen Temperaturen.

Temperatur [°C]	$t_{1/2}$ [min]	$\bar{\sigma} t_{1/2}$ [min]	Standartabweichung [min]
20	204	172	23
	154		
	157		
37	21	18	3
	19		
	14		
50	4	4	1
	5		
	4		

In **Abb. 66** kann die Abhängigkeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung gegenüber der Temperatur gut beobachtet werden. Ein Erhöhen der Temperatur führte zu einem Sinken der Halbwertszeit und somit zu einem schnelleren CO-Release. Die Differenz der Halbwertszeiten bei 37 °C und 50 °C ist im Vergleich zur Differenz zwischen 20 °C und 37 °C verhältnismäßig gering. Zwischen den Verbindungen $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) und $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) ließ sich keine signifikante Differenz feststellen. Die Mittelwerte bei 37 °C und 50 °C sind identisch. Die Werte bei 20 °C weichten zwar gering voneinander ab, die Differenz lag jedoch innerhalb der Messungengenauigkeit.

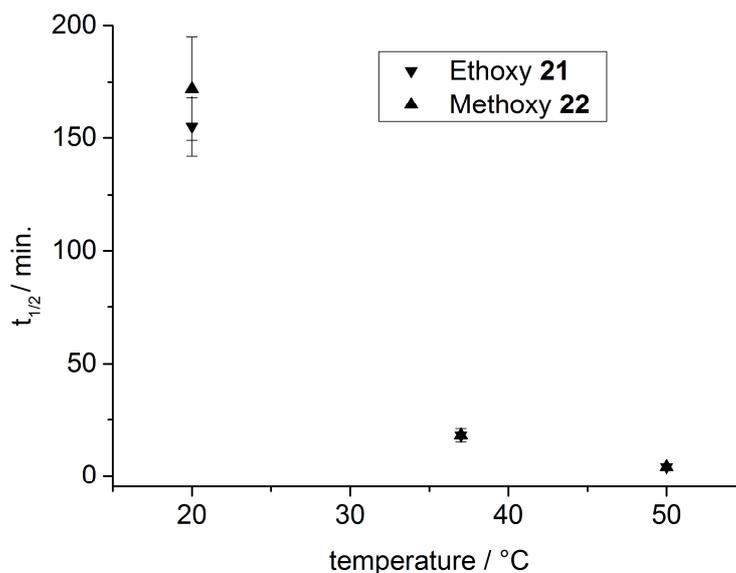


Abb. 66: Graphische Auftragung der Halbwertszeiten des CO-Release von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) und $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) im Myoglobin Assay bei verschiedenen Temperaturen. Die Datenpunkte überlagern sich bei 37 und 50 °C, sodass sie wie ein Punkt wirken.

Die Beobachtung von unterschiedlichen Halbwertszeiten in Abhängigkeit der Substituenten konnte bei diesen Verbindungen nicht gemacht werden. Es wurde bei den Verbindungen **14** und **13** ein Zusammenhang mit kleineren Methoxyrest vermutet, jedoch kann dieser Unterschied auch auf Messungenauigkeit zurückzuführen sein. Die von ORESMAA beschriebenen Unterschiede in den Halbwertszeiten sind aufgrund der fehlenden Temperaturangaben eher mit Vorsicht zu betrachten.

In **Tab. 10** werden die erhaltenen Halbwertszeiten von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**), $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**), $\text{Ru}(\text{Imidazol-2-Carbaldehydoxim}-(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**14**) und $\text{Ru}(\text{Imidazol-2-Carbaldehydoxim}-(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**13**) miteinander verglichen. Mit Hilfe des Vergleichs können Rückschlüsse auf die Auswirkung des Catecholrückgrates in Bezug auf die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung getroffen werden.

Die in **Tab. 10** gezeigten Halbwertszeiten weisen nicht auf einen Unterschied zwischen den Methoxy- oder Ethoxy-substituierten Verbindungen hin. Im Falle von **14** zu **13** weist das Ethoxy-Derivat eine leicht längere Halbwertszeit auf. Im Vergleich von **21** und **22** ist dieser Effekt genau anders herum. Eine eindeutige Aussage lässt sich daher mit den gemessenen Halbwertszeiten nicht formulieren. Auffällig sind die ähnlichen Halbwertszeiten zwischen allen Verbindungen.

3 Ergebnisse

Tab. 10: Übersicht der Halbwertszeiten der Verbindungen Ru(η^2 -**19**)(COOEt)(CO)₂Cl (**21**), Ru(η^2 -**19**)(COOMe)(CO)₂Cl (**22**), Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim-(COOEt)(CO)₂Cl (**14**) und Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim-(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) bei verschiedenen Temperaturen.

Verbindung	t _{1/2} bei 20 °C / [min]	t _{1/2} bei 37 °C / [min]	t _{1/2} bei 50 °C / [min]
14	226 ±9	15 ±1	6 ±1
13	220 ±23	21 ±2	5 ±1
21	155 ±13	18 ±1	4 ±1
22	172 ±23	18 ±3	4 ±1

Zusammengefasst zeigte sich bei beiden synthetisierten CORMs Ru(η^2 -**19**)(COOEt)(CO)₂Cl (**21**) und Ru(η^2 -**19**)(COOMe)(CO)₂Cl (**22**), eine tendenziell schnellere Kohlenstoffmonoxidfreisetzung durch das eingeführte Catecholrückgrat. Diese Beobachtung deckt sich mit den von ORESMAA beschriebenen Ergebnissen. Es wurde gezeigt, dass durch Kopplung des freien Imidazol-N mit einer Methylgruppe zu geringeren Halbwertszeiten führte.

Im Vergleich zu CORM-3 zeigen die in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen Ru(η^2 -**19**)(COOEt)(CO)₂Cl (**21**) und Ru(η^2 -**19**)(COOMe)(CO)₂Cl (**22**), eine deutlich langsamere und kontrollierbarere Kohlenstoffmonoxidfreisetzung. Für die Applikation von Kohlenstoffmonoxid und eine Trägerung auf Nanopartikel ist diese von großem Interesse. Es kann davon ausgegangen werden, dass die geschützte Catecholgruppe der Verbindungen **21** und **22** ähnliche Auswirkungen auf die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung hat, wie eine Koordination auf der Partikeloberfläche.

3.3.5 IONP mit Oxim basierten CORMs

Das wie zuvor beschrieben hergestellte Oxim-CORM (**23**) wurde zunächst als Ligand auf Maghemitnanopartikel (**1**) aufgebracht. Die Löslichkeit der Verbindung (**25**) war im wässrigen Medium schlecht und zur Verbesserung der Löslichkeit wurde (**25**) in Dextran eingebettet um das Einlagerungsprodukt (**26**) zu erhalten. Anschließend wurde das hergestellte Einlagerungsprodukt **26** in definierter Menge in 3-(*N*-Morpholino)-propansulfonsäure-Puffer (MOPS-Puffer) mit pH 7.4 und Alginatlösung suspendiert und zum Verbundmaterial **27** geformt. Die Synthese ist in **Abb. 67** dargestellt.

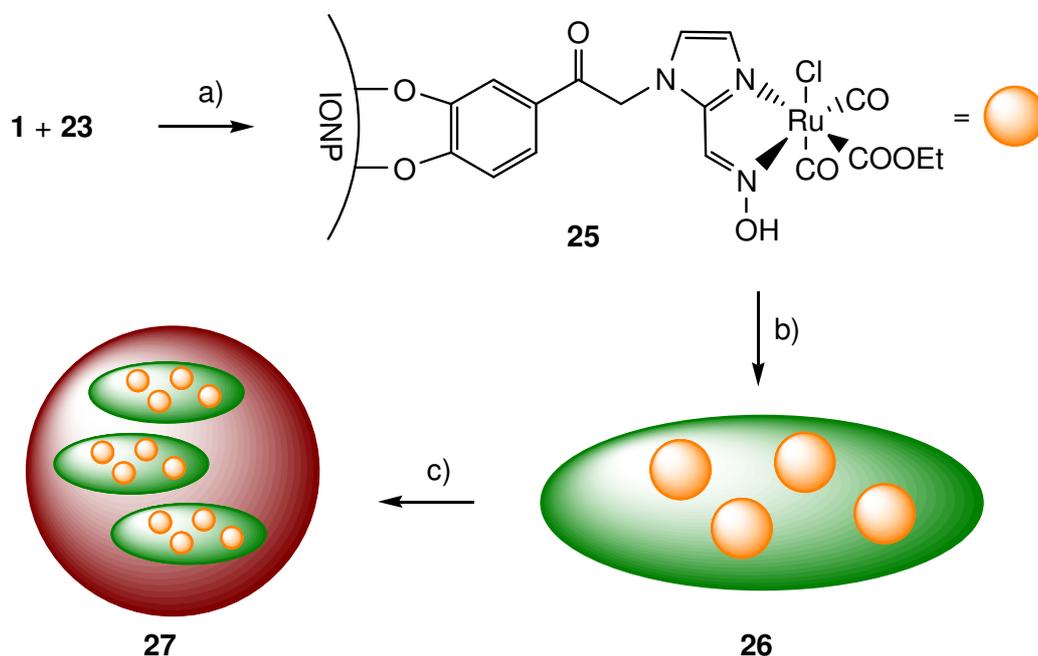


Abb. 67: Schematische Darstellung der Synthese von Nanopartikel mit Dextran in Alginat (**27**). a) Aufbringung von Oxim-CORM **23** auf Maghemit Nanopartikel (**1**), 5 min bei Raumtemp., b) Einlagerung in Dextran, 3 h bei Raumtemp., ergibt Einlagerungsprodukt **26**, c) Einlagerung in Alginat zum Verbundmaterial **27**.

Mit den hergestellten CORM-haltigen Alginatkügelchen **27** wurde anschließend ein Myoglobin-Assay durchgeführt, um die Halbwertszeiten der Freisetzungsgeschwindigkeit der Kohlenstoffmonoxid-Liganden bei verschiedenen Temperaturen zu bestimmen.

Der erste Schritt der Synthese bestand darin, das hergestellte Oxim-CORM **23** auf Maghemit-Nanopartikel (**1**) aufzubringen. Dazu wurde das Oxim-CORM **23** in d.d. Wasser gegeben und durch Zugabe von wenig Natronlauge gelöst. Dabei war darauf zu achten, dass

pH-8 nicht überschritten wurde, da sonst im nächsten Schritt die IONP ausflockten und für die weitere Verwendung unbrauchbar waren.

Sobald eine homogene Lösung entstanden war, wurde **1**-Lösung zugegeben und der Ansatz für 5 min gerührt. Wenn der pH Wert richtig eingestellt war, blieb eine homogene, dunkel gefärbte Lösung, da sich das Catecholrückgrat des Oxim-CORMs **23** an den Nanopartikel bindet und so die geträgerten Nanopartikel **25** entstehen. Bei zu hohem pH-Wert fiel in diesem Schritt wie vorher beschrieben ein Feststoff aus.

Es wurde so lange Aceton zur Lösung gegeben, bis ein brauner Feststoff ausfiel. Dieser wurde abzentrifugiert und mit Ethanol gewaschen. Mithilfe der IR-Spektroskopie wurde der Feststoff untersucht. Dabei zeigten Absorptionen im Carbonylbereich, dass es sich um Oxim-CORM@IONP **25** handeln musste, da freies Oxim-CORM **23** und verbleibende Nanopartikel in Ethanol löslich sind und somit mit beim Waschen entfernt wurden.

Die geträgerten Nanopartikel **25** wurden nun in MOPS-Puffer und Alginat suspendiert. Dabei zeigte sich, dass eine stabile Suspension nicht möglich war, sondern die Nanopartikel nach sehr kurzer Zeit, (wenige Sekunden) sedimentierten. Damit waren sie für die weitere Verwendung unbrauchbar. Aus diesem Grund wurde die Herstellung der funktionalisierten Nanopartikel **25** erneut durchgeführt. Wie aus vorherigen Synthesen bekannt, wurde zur Stabilisierung der Dispersion Dextran ($M_r = 500.000$) verwendet. Dieses ist ein Polymer, das aus Glucosebausteinen besteht und durch α -1,4- und α -1,6-Verknüpfungen querverzweigte Polymerketten bilden kann.

Durch Zugabe des Polymers bildete sich eine Hülle aus Dextran um die Nanopartikel, wodurch diese Wasserlöslich wurden, da Dextran sich sehr gut in Wasser löst und die Lösungseigenschaften hauptsächlich durch die Polymerhülle bestimmt werden. Nach 5 min rühren des Gemischs aus IONP und Oxim-CORM **23** wurde Dextran ($M_r = 500.000$) zugegeben und weitere 3 h gerührt. Dies ist notwendig, damit sich das Dextran gleichmäßig um alle Nanopartikel verteilen kann und eine gleichmäßige Löslichkeit erzeugt. Anschließend wurde mit Aceton ausgefällt, zentrifugiert und gewaschen, wodurch das Einlagerungsprodukt **26** entstand. Dies wurde durch Aufnahme eines IR-Spektrums bestätigt (**Abb. 68**).

3 Ergebnisse

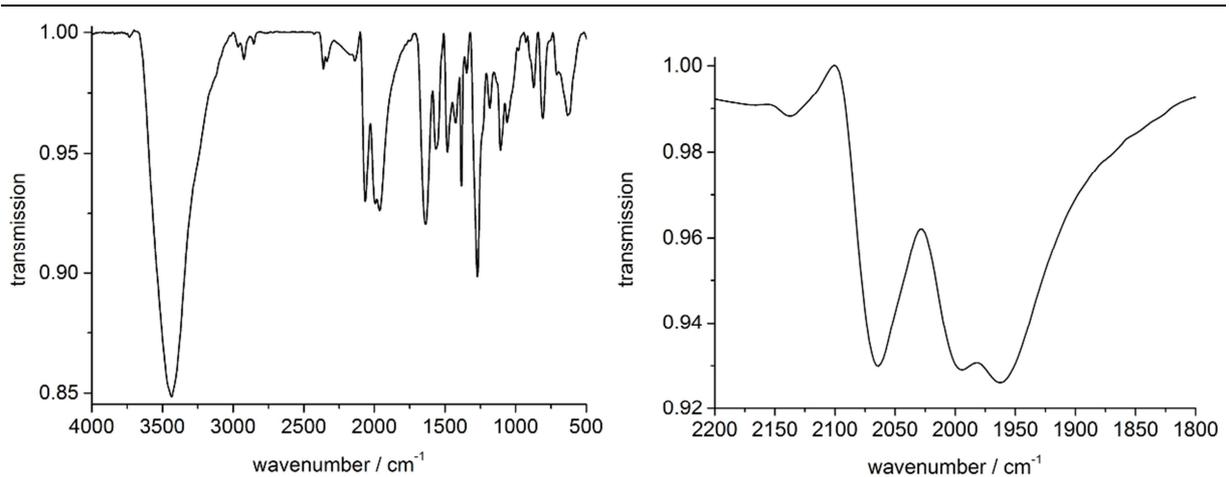


Abb. 68: IR-Spektrum des Einlagerungsmaterials **26** mit OH-Schwingung des Dextrans bei 3600-3000 cm^{-1} und CO-Schwingungen bei 2064, 1995 und 1961 cm^{-1} . Die Schwingungen ab 1700 cm^{-1} können nicht eindeutig zugeordnet werden, da mehrere Schwingungen überlagern.

Die Schwingungen bei 2064, 1995 und 1961 cm^{-1} können den Kohlenstoffmonoxidliganden von **23** zugeordnet werden. Die vielen OH-Schwingungen bei 3400 cm^{-1} können dem Dextran zugeordnet werden. Alle weiteren Schwingungen unterhalb von 1700 cm^{-1} können aufgrund von Überlagerungen nicht eindeutig zugeordnet werden.

Das Einlagerungsprodukt **26** wurde in MOPS-Puffer und Alginatlösung suspendiert. Durch mehrmaliges Aufziehen der Lösung durch eine dünne Kanüle bildete sich eine sehr feine Suspension, welche gegen Sedimentation mehrere Minuten stabil war (s. Kapitel **5.4.6**). Diese Suspension konnte zu Alginatkugeln verarbeitet werden, indem sie in eine Lösung aus Calciumchlorid und Wasser getropft wurde. Das Alginat, welches aus Polymerketten aus α -L-Guluronsäure und β -D-Mannuronsäure besteht, bildet mit Hilfe der Calciumionen in der Lösung ein Netzwerk, indem sich das Calcium an die Carbonsäurefunktionalitäten der beiden Monomere anlagert und so Brücken bildet.

3.3.6 Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von Oxim basierten IONP

Die hergestellten Kugeln **27** konnten für den Myoglobin-Assay verwendet werden, indem sie in definierter Menge in eine temperierbare Küvette mit Myoglobin und MOPS-Puffer gegeben wurden. Da die Alginatkugeln durch die IONPs magnetisch sind, können sie mit einem Magneten im unteren Teil der Küvette gehalten werden, wodurch das an der Oberfläche der IONPs gebundene CORM die Messung nicht direkt beeinflussen kann.



Abb. 69: Küvette mit bräunlichen Alginatkügelchen im unteren Bereich und Myoglobin-Lösung darüber.

Die besten Kurvenverläufe zeigte ein Verhältnis aus 15 Kugeln von 10 mg Einlagerungsprodukt **26** auf 0.5 mL (0.1mol/L, pH 7.4) MOPS-Puffer und 0.5 mL Alginat (50 mg Natriumalginat auf 10 mL d.d. Wasser) in 200 μ L Myoglobin-Lösung, aufgefüllt mit MOPS-Puffer. Alle Lösungen wurden entgast und die Küvette unter Stickstoff befüllt, um zu gewährleisten, dass das Myoglobin zu Beginn der Messung frei von Sauerstoff, Kohlenstoffdioxid und Kohlenstoffmonoxid ist und somit sämtliches aufgenommenes CO aus den Oxim-CORM stammt. Alle Messungen wurden jeweils dreimal bei 50, 37 und 20 °C durchgeführt.

3 Ergebnisse

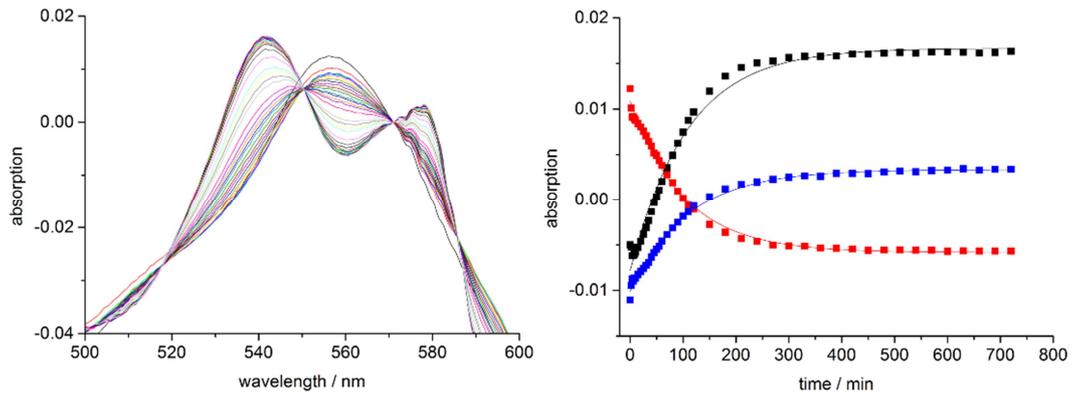


Abb. 70: Messverlauf der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei 50 °C Messung mit 15 Kugeln aus 10 mg Einlagerungsprodukt **26** über 12 h. Absorption gegen die Zeit für die Wellenlängen 541 nm (schwarz), 558 nm (rot) und 578 nm (blau), jeweils mit exponentieller Regressionskurve.

Hierbei zeigt sich deutlich die Änderung des Spektrums mit der Zeit. Die Messungen wurden in variierenden zeitlichen Abständen durchgeführt. Dadurch ergab sich eine Gesamtmesszeit von 830 min. Trägt man aus dieser Messung die Absorptionswerte bei den Wellenlängen 541, 556 und 571 nm gegen die Zeit auf, ergeben sich die Kurven aus **Abb. 70**.

Tab. 11: Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von drei Messungen bei 50°C der Verbindung **27** sowie die resultierende durchschnittliche Halbwertszeit mit Standardabweichung.

Temperatur [°C]	$t_{1/2}$ [min]	$\bar{t}_{1/2}$ [min]	Standardabweichung [min]
	72		
50	74	73	1
	73		

Anhand der Halbwertszeiten (**Tab. 11**) zeigte sich, dass nach ca. 73 min die Hälfte des gesamten Kohlenstoffmonoxids freigesetzt wurde. Anhand der Kurven aus **Abb. 70** zeigt sich außerdem, dass nach ca. 500 min, also etwas über 8 Stunden, kaum noch weiteres CO abgegeben wird, wodurch davon ausgegangen werden kann, dass sämtliches CO freigesetzt wurde. Somit konnte gezeigt werden, dass eine thermische Freisetzung des CO aus den geträgerten Nanopartikeln **26** möglich ist. Da das langfristige Ziel die Anwendung dieses Verfahrens in der Medizin ist, wurden weitere Messungen bei Körpertemperatur, also 37 °C, durchgeführt. Da die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung thermisch begünstigt wird, wurde bei

3 Ergebnisse

niedrigerer Temperatur eine höhere Halbwertszeit erwartet. Deshalb wurden die 37 °C Messungen über insgesamt 70 Stunden in variierenden zeitlichen Abständen durchgeführt. Dabei ergab sich der Messkurvenverlauf aus **Abb. 71**.

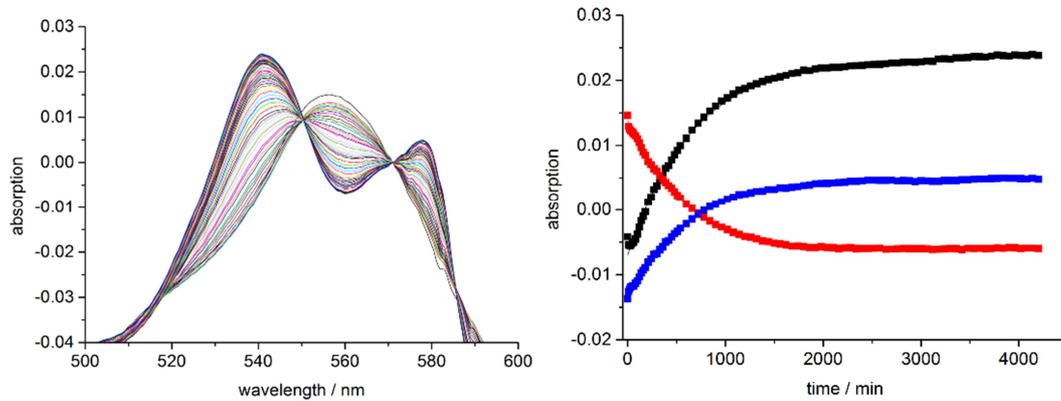


Abb. 71: Messverlauf der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei 37 °C Messung mit 15 Kugeln aus 10 mg Einlagerungsprodukt **26** über 70 h. Absorption gegen die Zeit für die Wellenlängen 541 nm (schwarz), 558 nm (rot) und 578 nm (blau), jeweils mit exponentieller Regressionskurve.

Auch bei dieser Messung zeigte sich wieder deutlich, dass das Maximum bei 558 nm absank und dafür zwei neue bei 541 nm und 578 nm entstanden, diesmal allerdings über einen sehr viel längeren Zeitraum, wie in **Abb. 71** zu sehen ist. Aus den Regressionskurven ergeben sich nach bekannter Methode die Halbwertszeiten (**Tab. 12**).

Tab. 12: Halbwertszeiten der drei Messungen der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei 37°C der Verbindung **27** sowie die resultierende durchschnittliche Halbwertszeit mit Standardabweichung.

Temperatur / [°C]	$t_{1/2}$ / [min]	$\bar{\sigma} t_{1/2}$ / [min]	Standartabweichung / [min]
37	347	346	83
	429		
	263		

Es zeigte sich, dass die Halbwertszeiten für die drei durchgeführten Messungen stark voneinander abweichen. So ergab sich eine minimale Halbwertszeit von 263 Minuten, das entspricht ungefähr 4 Stunden und eine maximale Halbwertszeit von 430 Minuten, also ungefähr 8 Stunden. Daraus ergab sich eine durchschnittliche Halbwertszeit von 346 Minuten.

3 Ergebnisse

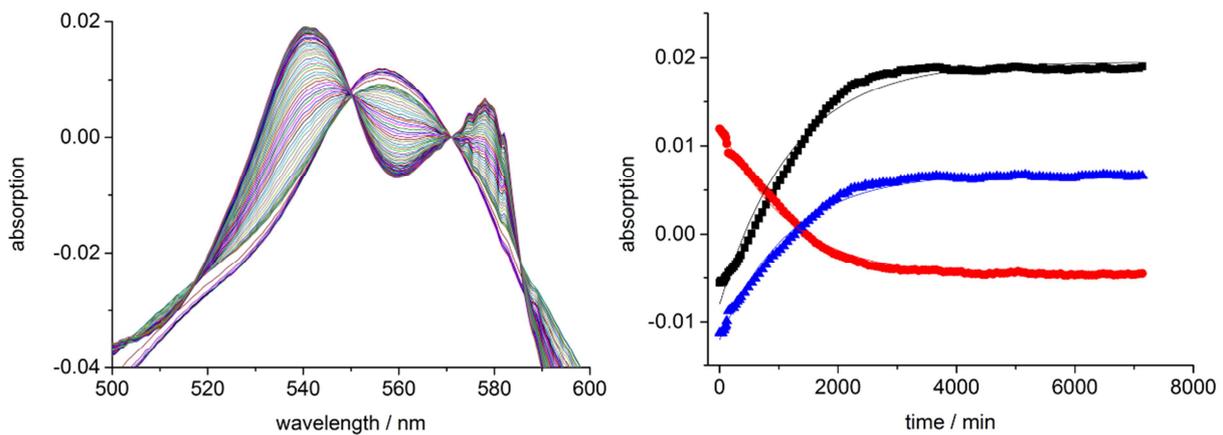


Abb. 72: Messverlauf der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei 20 °C Messung mit 15 Kugeln aus 10 mg Einlagerungsprodukt **26** über 120 h. Absorption gegen die Zeit für die Wellenlängen 541 nm (schwarz), 558 nm (rot) und 578 nm (blau), jeweils mit exponentieller Regressionskurve.

Die bestimmten Halbwertszeiten bei 20 °C benötigten die längste Messdauer (**Abb. 72**). Es konnte eine Halbwertszeit von 814 Minuten bestimmt werden. Die Streuung der Messwerte war sehr gering wodurch ebenfalls eine geringe Standardabweichung der Halbwertszeit berechnet werden konnte (**Tab. 13**).

Tab. 13: Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von drei Messungen bei 20°C der Verbindung **27** sowie die resultierende durchschnittliche Halbwertszeit mit Standardabweichung.

Temperatur / [°C]	$t_{1/2}$ / [min]	$\bar{\sigma} t_{1/2}$ / [min]	Standardabweichung / [min]
20	813	814	23
	837		
	792		

Das verwendete Kompositmaterial (**27**) wurde im magnetischen Wechselfeld vermessen, um die Beschleunigung der Freisetzung zu untersuchen. Die Messmethoden können Kapitel **5.4.6** entnommen werden. Es wurde eine Halbwertszeit von 153 ± 27 min bei 37 °C im magnetischen Wechselfeld bestimmt.

3 Ergebnisse

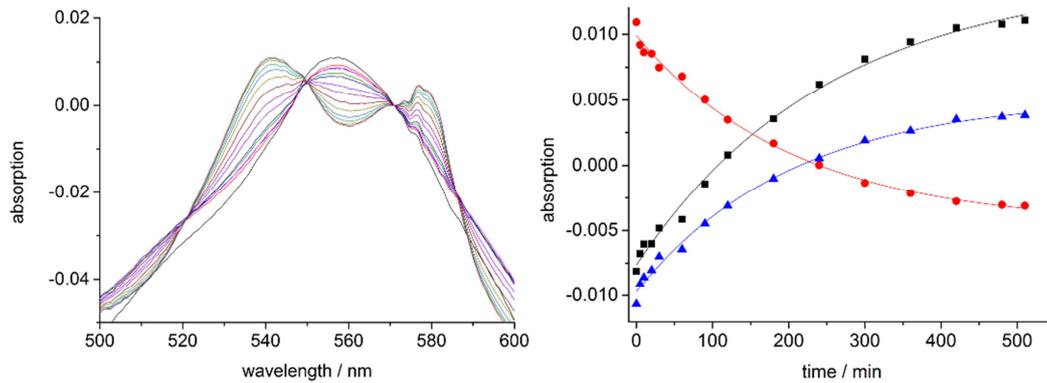


Abb. 73: Messverlauf der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei 37 °C Messung mit 15 Kugeln **27** über 8.5 h. Absorption gegen die Zeit für die Wellenlängen 541 nm (schwarz), 558 nm (rot) und 578 nm (blau), jeweils mit exponentieller Regressionskurve zur Bestimmung der Halbwertszeit.

Das magnetische Erwärmen der Maghemit Nanopartikel führt zu einer Beschleunigung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung um den Faktor 2.3. Diese Rate liegt leicht unter dem für das bekannte CORM-3 analoge System (**9**) von 2.6 bei 37 °C (s. Kapitel **3.2.2**). Möglicherweise sind die Faktoren jedoch nur aufgrund von Messungenauigkeiten scheinbar verschieden.

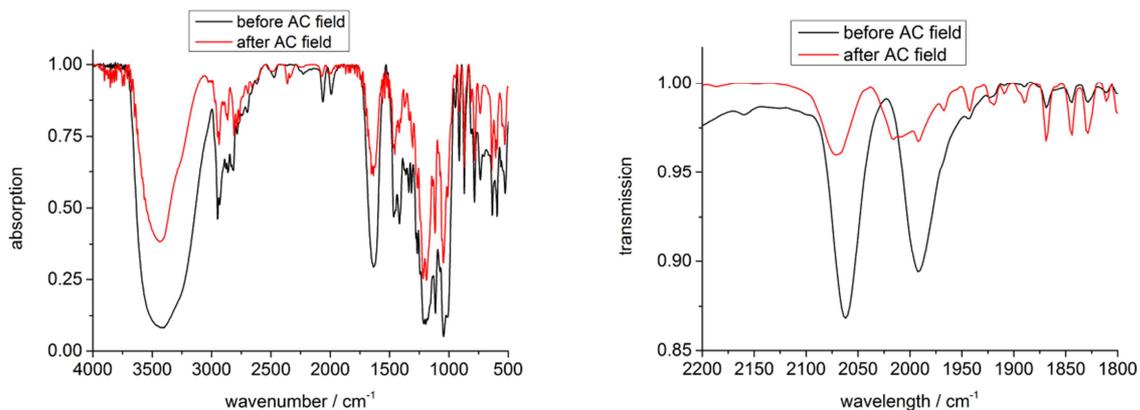


Abb. 74: Infrarot spektroskopische Aufnahme von **27** vor (schwarz) und nach (rot) der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im magnetischen Wechselfeld bei 37 °C. Zu sehen ist eine deutlich Verschiebung der Carbonylschwingungen von 2061 und 1991 cm⁻¹ (schwarz) zu 2071, 2015 und 1992 cm⁻¹ (rot).

Infrarot spektroskopische Aufnahmen zeigen, dass nach der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung noch Carbonylschwingungen im Bereich von 2061 und 1991 cm⁻¹ (schwarz) zu 2071, 2015 und 1992 cm⁻¹ (rot) verschoben sind. Eine vollständige Abwesenheit von Carbonylschwingungen nach dem Myoglobin Assay konnte nicht beobachtet werden. Dies

3 Ergebnisse

lässt den Rückschluss zu, dass nicht alles Kohlenstoffmonoxid freigesetzt wurde oder freigesetzt werden kann.

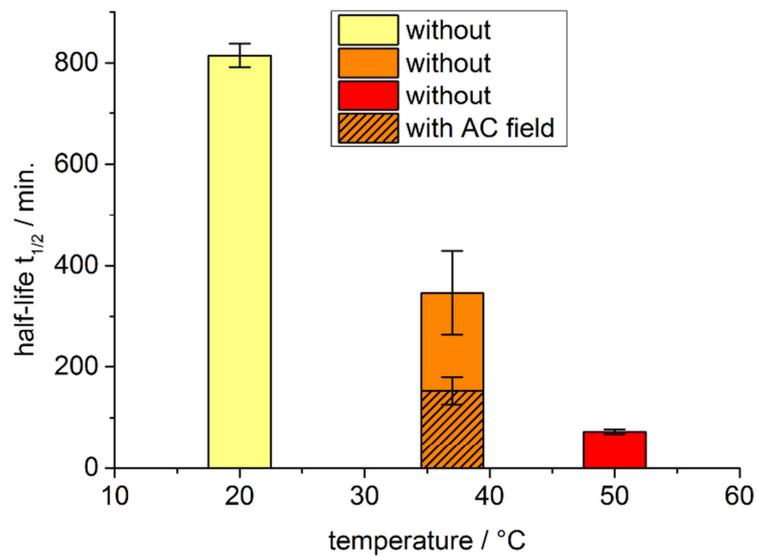


Abb. 75: Übersicht der Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von **27** bei 20, 37 und 50 °C sowie bei 37 °C im magnetischen Wechselfeld.

Abschließend lässt sich sagen, dass mit dem neuen Oxim basierten System eine Verzögerung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung erfolgreich durchgeführt werden konnte. Wie auch bei dem vorherigen CORM-3 analogen System (**9**) lässt sich eine Beschleunigung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung durch anlegen eine externen magnetischen Wechselfelds herbeiführen.

3.4 Photoreleaser auf IONP

Nachdem die Aufbringung von thermisch sensiblen CORMs gelungen war, sollten auch die Eigenschaften von photolabilen CORMs untersucht werden. Hierzu sollte ein Mangancarbonyl basiertes System verwendet werden, welches anschließend auf Maghemit Nanopartikel geträgert werden sollte.^[147]

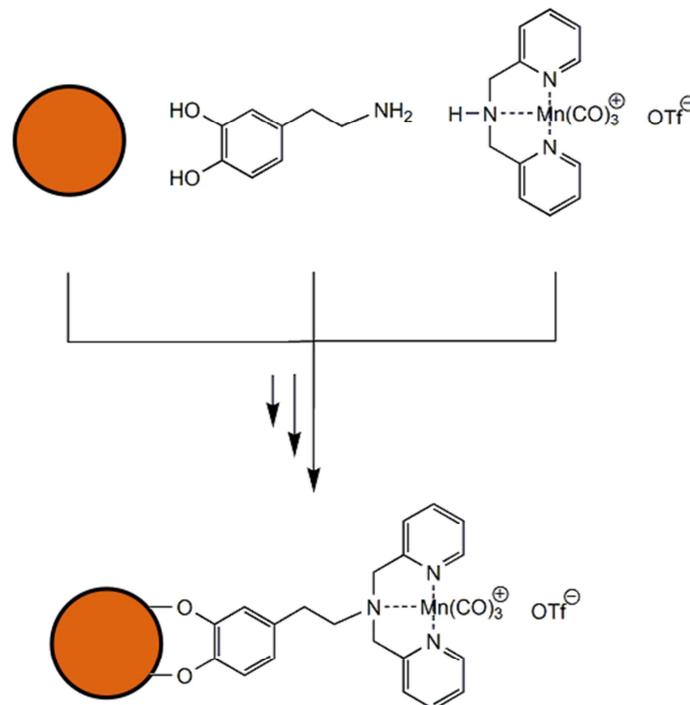


Abb. 76: Darstellung des Schemas der einzelnen Komponenten aus Maghemit Nanopartikel (links), Ankergruppe mit Verbindungsstück (Mitte), PhotoCORM (rechts), sowie der Zielverbindung (unten).

Die Untersuchung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung sollte sowohl mit dem freien PhotoCORM, als auch mit den geträgerten Partikeln analog der Alginatmethode durchgeführt werden. Die sollte eine mögliche Verwendung der Alginatmethode auch für PhotoCORMs aufzeigen.

Um eine kontinuierliche Messung zu gewährleisten, musste ein Messaufbau entwickelt werden, der es ermöglichte temperiert bei kontinuierlicher Einstrahlung und ohne Störung der Photoplatte des UV/Vis-Spektrometers zu messen.

3.4.1 Synthese des PhotoCORMs

Ausgehend von den bereits bekannten Grundkörpern (Maghemit Nanopartikel und Catecholankergruppe) muss zuerst der Chelatligand synthetisiert werden. Zur Synthese von 4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)benzol-1,2-diol (**32**) (Bpmd) wurden Dopaminhydrochlorid (**30**) und Natriumtriacetoxyborhydrid (STAB) in trockenem Dichlormethan bei 0 °C vorgelegt. Zu der kalten Lösung wurde langsam Pyridin-2-Aldehyd (**31**) zugetropft, um die Bildung von Nebenprodukten wie beispielsweise Pyridin-2-ylmethanol oder 4-(2-((pyridin-2-yl)methylamino)ethyl)benzol-1,2-diol zu verhindern. Das Produkt wurde zunächst gerührt und anschließend mit verdünnter Salzsäure extrahiert. Nach Neutralisation der wässrigen Phase und Lösen des entstandenen Feststoffes in Dichlormethan wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt. Der Chelatligand (**32**) konnte mit 36 % Ausbeute isoliert werden (**Abb. 77**).

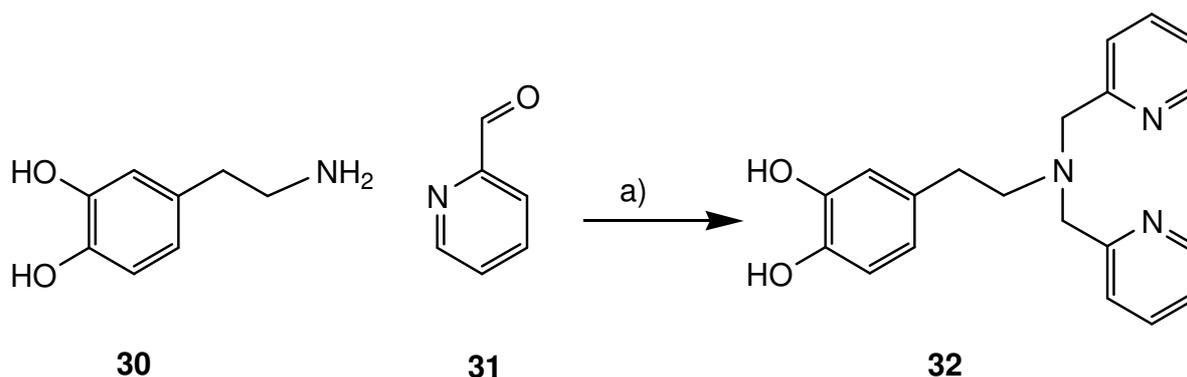


Abb. 77: Schematische Darstellung der Synthese von 4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)benzen-1,2-diol (**32**, Bpmd). a) Natriumtriacetoxyborhydrid, Dichlormethan, 0 °C 1 h, RT 19 h.

Vor der Einführung des Mangancarbonyls in die Chelattasche zum $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**) wurde mit Manganpentacarbonylbromid und Silbertriflat in Aceton unter Rückfluss und Lichtausschluss das Carbonyl aktiviert. Aceton und Silbertriflat müssen vor der Reaktion getrocknet werden, um kein Wasser einzubringen. Bei der Aktivierung des Manganpentacarbonylbromids fiel als Nebenprodukt Silberbromid aus. Das reaktive und stark Wasserempfindliche $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Solvent}]^+\text{OTf}^-$ wurde unter Sauerstoffausschluss filtriert und in eine Lösung aus 4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)benzol-1,2-diol (**32**, Bpmd) und Aceton überführt. Nach dem Ausfällen und Waschen mit *n*-Hexan konnte das Produkt in 80 % Ausbeute erhalten werden. Das Ausfällen des Produktes war mit Diethylether ebenso erfolgreich wie mit *n*-Hexan.

Das $^1\text{H-NMR}$ von $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**) zeigt eine eindeutige Koordination des Mangancarbonyls in die Chelattasche. Die Verschiebung der Pyridin-Wasserstoffatome zeigt die Anwesenheit eines Metallcarbonyls in der Tasche. Des Weiteren ist zu erkennen, dass die Kopplungskonstante der Protonen der verbrückenden Methylgruppen am Pyridinring eine 2J -Kopplung von 16.8 Hz aufweist. Die eingeschränkte Beweglichkeit der Methylgruppen, durch die Einlagerung des Mangancarbonyls in die Chelattasche führt zu nicht äquivalenten Protonen. Diese geminale Aufspaltung der Protonen ist typisch für eine koordinierte 2-Pyridylmethyl Gruppe.

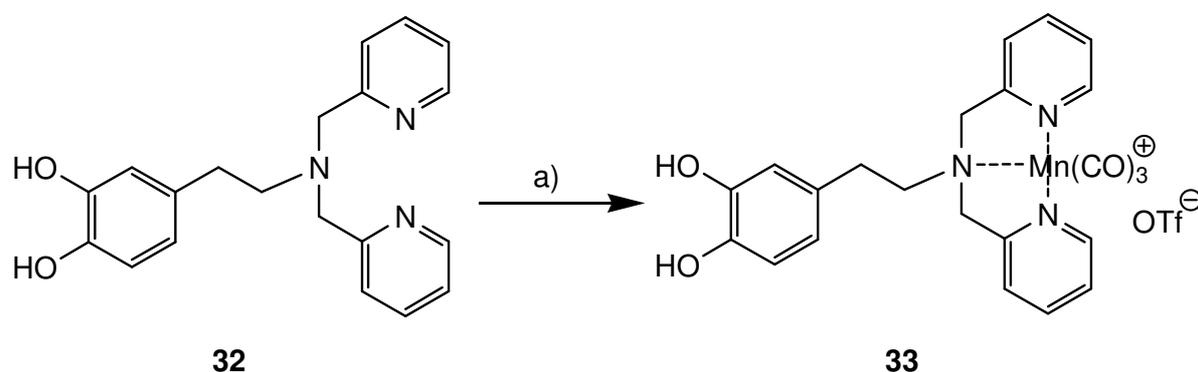


Abb. 78: Schema der Synthese von $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**). a) $\text{Mn}(\text{CO})_5\text{Br}$, AgOTf , 80°C 1.5 h, 80°C 1.5 h.

In dem IR-Spektrum des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**) sind drei deutliche und klar voneinander getrennte Carbonyl-Schwingungen bei 2038, 1958 und 1917 cm^{-1} zu sehen. Die drei getrennten Banden weisen auf eine nicht ideale C_{3v} Symmetrie bezüglich der Kohlenstoffmonoxidliganden am Manganatom hin. Dass es sich hierbei um ein *fac*-Mangancarbonyl handelt, erkennt man daran, dass sich zwei der drei Banden überlagern. Die Kohlenstoffmonoxide können sich aus sterischen Gründen durch die Koordination in die Chelattasche nicht ideal ausrichten, was zu einem verzerrten Oktaeder und drei Banden im IR-Spektrum führt.^[148,149]

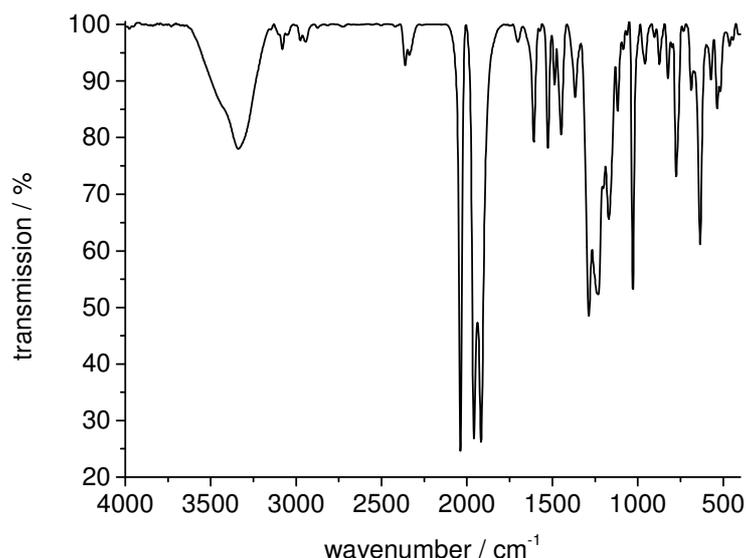


Abb. 79: IR Spektrum von $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**) in KBr mit den starken Absorptionen bei 2038, 1958 und 1917 cm^{-1} der Carbonylschwingungen.

3.4.2 Modifizierter Myoglobin Assay für PhotoCORMs

Um die UV-induzierte Kohlenstoffmonoxid-Freisetzung der Verbindung $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**) zu untersuchen, wurde der bekannte Myoglobin-Assay verwendet. Die Veränderungen der Absorption wurden auch hierbei zwischen 500 nm und 600 nm betrachtet.

Der Versuchsaufbau des Myoglobin-Assays wurde so konstruiert, dass eine kontinuierliche Messung möglich war. Eine UV-Handlampe (Modell: 13203 Mikrobiologie) wurde modifiziert, dass diese mit einem Netzteil kontinuierlich betrieben werden konnte. Diese wies im Abstand von 1 cm eine Leistung von $120\text{ }\mu\text{W}$ auf einer Fläche von $25\text{ }\mu\text{m}^2$ auf, was einer Leistung von 86.4 mW auf der gesamten bestrahlten Oberfläche der Küvette entspricht. Die UV-Lampe wurde an einem Gestell mit Abstandshaltern befestigt, um ein sicheres Anbringen der UV-Lampe in das Messgerät zu gewährleisten, ohne den Strahlengang zu blockieren und dennoch einen guten Einstrahlwinkel zu garantieren.

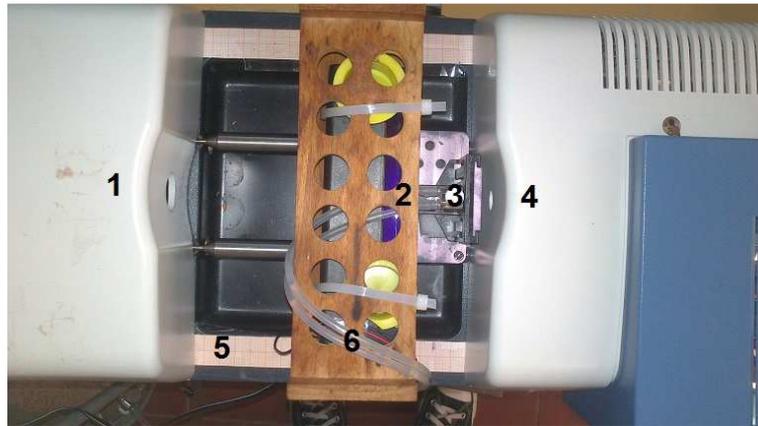


Abb. 80: Abbildung der Messvorrichtung in der Aufsicht. **1)** Detektor des Specord S 600 UV/Vis-Spektrometers, **2)** UV-Lampe in Halterung, **3)** temperierbare Küvette mit Probe und Teflonstopfen, **4)** Kontinuumstrahler, **5)** Skala zur Ausrichtung, **6)** Kühlschläuche.

Die entgegengesetzte Anordnung der Einstrahlrichtung der UV-Lampe war notwendig, da der Detektor des UV/Vis-Spektrometers nicht angestrahlt werden sollte. So konnte in eine Richtung bestrahlt und in die andere gemessen werden. Der Abstand von der UV-Lampe bis zur Vorderseite der Küvette betrug 1 cm. Dieser Abstand wurde mit einer fest angebrachten Skala vor jeder Messung überprüft. Ein Permanentmagnet unterhalb der Küvette sorgte in späteren Messungen für die Fixierung der magnetischen Alginatkügelchen und verhinderte deren Eindringen in den Strahlengang des Gerätes.

Zum Schutz des Aufbaus vor Sonnenlicht wurde eine genügend große Abdeckung über den Messaufbau gestellt. So konnte sichergestellt werden, dass die Aktivierungsenergie ausschließlich von der UV-Lampe ausgeht. Es wurde der Bereich des Kontinuumstrahlers und der Kühlschlitze im UV/Vis-Spektrometer nicht verdeckt, um einen Wärmestau zu verhindern.

3.4.3 Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von PhotoCORMs

Die Messungen wurden wie in Kapitel 5.4.7 beschrieben durchgeführt. Dabei wurde ein 3-(*N*-Morpholino)propansulfonsäure Puffer (0.1 mol/L MOPS-Puffer, pH 7.4) verwendet um Nebenreaktionen mit den Nanopartikeln zu vermeiden und Messungen mit vorrangegangenen Arbeiten vergleichen zu können. Bei Phosphatpuffer kam es bei nanopartikulären Proben von Maghemit zu Komplikationen durch Niederschlagsbildung.^[122]

Es wurde ein Überschuss (5.5 fach) an Myoglobin im Vergleich zum Liganden verwendet, was einer Konzentration von 7.3 $\mu\text{mol/L}$ entsprach. Der Ligand (**33**) wurde bei 20 °C und 37 °C jeweils mindestens dreimal vermessen, um die Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Auf Messungen bei 50 °C wie in vorrangegangenen Arbeiten wurde verzichtet, da die Freisetzung rein Lichtinduziert sein sollte und nicht thermisch. Die verwendeten Temperaturen sollen Aufschluss auf mögliche thermische Effekte geben.

Die Messdaten wurden nach der Methode von ATKINS (s. Kapitel 1.3) bearbeitet und sollten dann unter der Annahme einer Kinetik pseudo-erster Ordnung die Bestimmung der Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung liefern.^[128,150] Es wurde bei Messungen (20 °C) über einen längeren Zeitraum eine starke Abweichung einer simplen Kinetik beobachtet (**Abb. 81**). Auf Grund dieser Abweichungen war es nicht möglich, eine Funktion an die Werte zu legen und somit eine Halbwertszeit zu bestimmen. Es konnte im Rahmen der Messdaten nur der Zeitpunkt des Erreichens des ersten Maximums bestimmt werden. Die angegebenen Zeiten lassen daher nur Rückschlüsse auf das Verhalten des Liganden im Myoglobin-Assay schließen und liefern keine expliziten Halbwertszeiten. Des Weiteren sind diese Werte mit einer großen Fehlertoleranz behaftet, da die Auswertung nicht mit mathematischen Hilfsmitteln durchgeführt wurde. Die in **Tab. 14** angegebenen Abweichungen beziehen sich lediglich auf die Messwerte und beachten nicht den Fehler, der durch das Ablesen entstanden ist. Der Mittelwert ist somit ungenau und die Standardabweichungen in Wahrheit größer. Die durch die Bestimmung des Endpunktes eingebrachte Ungenauigkeit lässt sich jedoch nur schwer konkretisieren, weshalb hier auf eine Angabe dieser verzichtet wird. Eine Aussage hinsichtlich der Freisetzung im Vergleich zu den gemessenen Temperaturen lässt sich dennoch treffen.

3 Ergebnisse

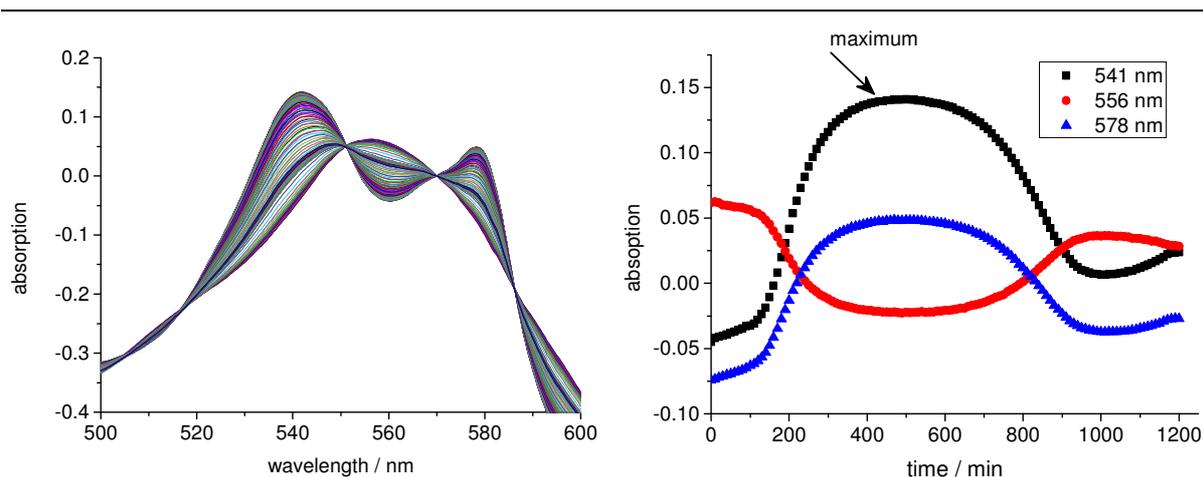


Abb. 81: Verlauf der Absorption der Messung des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**33**) bei 20 °C (links), sowie die Auftragung der Absorption gegen die Zeit derselben Messung (rechts).

Die geringe Freisetzung von Kohlenstoffmonoxid am Anfang der Messung lässt auf eine Induktionsphase vermuten, in der eine aktivere Spezies entsteht. Die Beobachtung einer solchen Induktionsphase wurde von BERENDS und KURZ, sowie bei SCHATZSCHNEIDER bei einem ähnlichen System beschrieben.^[148, 151]

Die Aktivierungsphase erklärt auch bei einigen 37 °C Messungen die zunächst langsame Kohlenstoffmonoxidfreisetzung. Diese Phase fällt allerdings bei höheren Temperaturen scheinbar kürzer aus. Die Reproduzierbarkeit dieser Freisetzungprozesse verlief jedoch nicht zufriedenstellend. Es zeigten sich verschiedene Freisetzungprozesse, die nicht erklärt werden konnten. Um Vergleiche zu den Ergebnissen von Schatzschneider ziehen zu können, sollte die Freisetzung mit Hilfe der IR-Spektroskopie untersucht werden.

Tab. 14: Übersicht der geschätzten Messergebnisse der Messung des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**33**) bei 20 und 37 °C.

Temperatur	Messung	Zeit / [min]	Mittelwert / [min]
20 °C	1	460	
	2	410	440±20
	3	440	
37 °C	1	220	
	2	370	360±110
	3	480	

3 Ergebnisse

Bei den 37 °C Messungen der Verbindung **33** ist nach der Aktivierung der Carbonylverbindung eine deutlich Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zu beobachten. Nach Erreichen der maximalen Freisetzung bleibt die Absorption konstant. Hier wäre zu erwarten, dass eine Veränderung analog der 20 °C Messungen eintreten würde. Die höhere Temperatur begünstigt offensichtlich die Bildung des Carboxymyoglobin und hemmt die Entstehung der zuvor beobachteten Intermediate. Die unterschiedlichen Freisetzungsprozesse könnten durch die freie Catecholgruppe begünstigt werden.

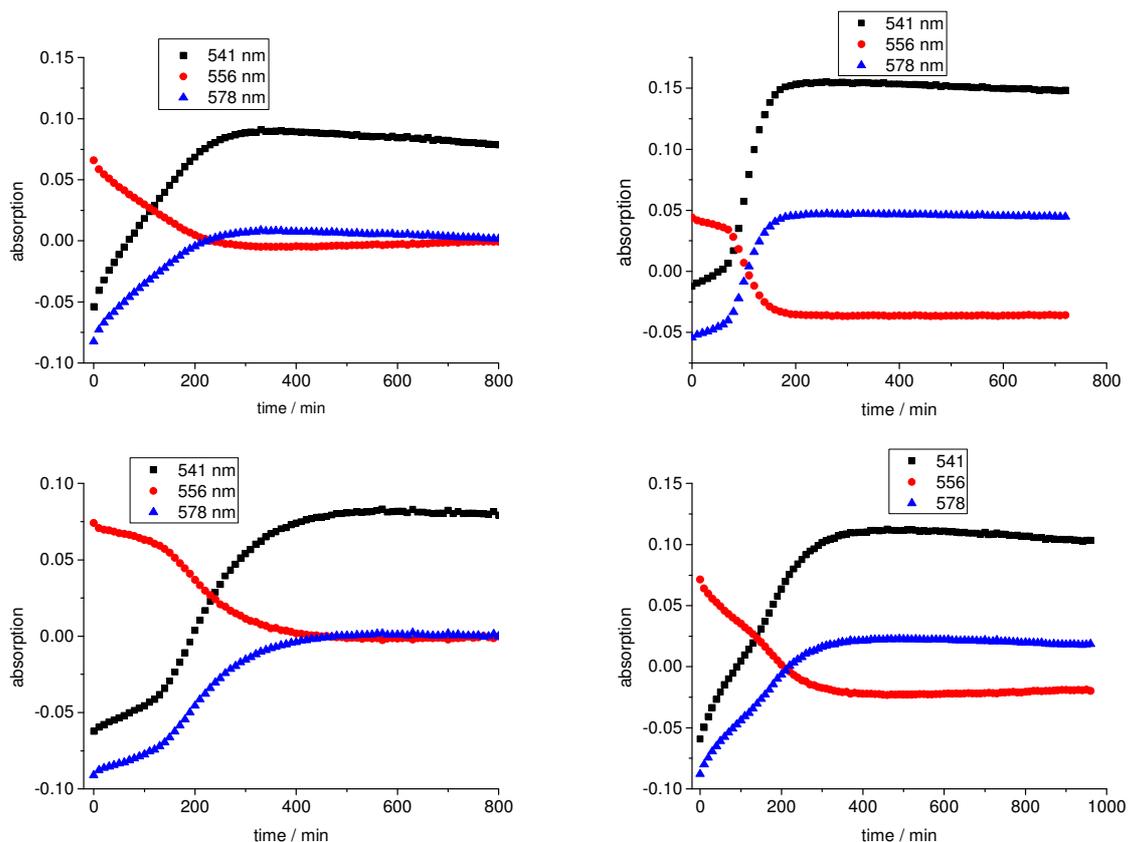


Abb. 82: Eine Auswahl der Auftragung der Absorption gegen die Zeit von 37 °C Messungen des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**33**).

Die unterschiedlichen Kurvenverläufe bei 37 °C der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zeigen eine deutliche Abweichung zu denen von 20 °C. Aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit sind die bestimmten Werte der Maxima aus **Tab. 14** nur bedingt zu verwenden. Eine klare Aussage kann nur hinsichtlich der Intermediate getroffen werden. Bei 20 °C konnte die Bildung von Intermediaten mit einer höheren Affinität zu Kohlenstoffmonoxid beobachtet werden. Diese entstehen bei 37 °C nicht oder nur in geringen Konzentrationen.

3 Ergebnisse

Eine Zersetzung des Myoglobins während der Messung konnte ausgeschlossen werden. Durch Begasung mit reinem Kohlenstoffmonoxid nach der Messung war die Absorption deutlich oberhalb der Maximalabsorption bei 541 und 578 nm.

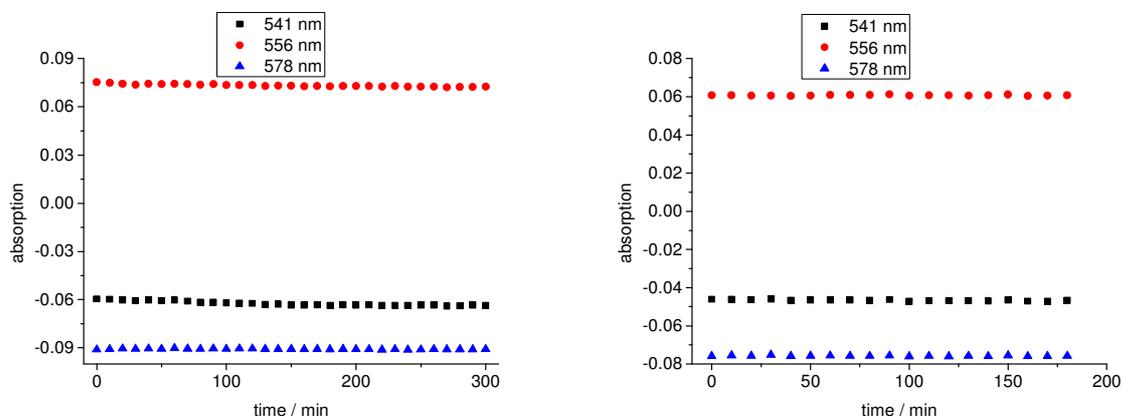


Abb. 83: Dunkelmessungen des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**) bei 20 °C (links) und 37 °C (rechts).

Der Freisetzungsprozess des Kohlenstoffmonoxids sollte bei der Verbindung **33** nur photolytisch aktiviert werden. Um weitere Effekte auszuschließen, wurden Dunkelmessungen bei 20 und 37 °C durchgeführt (**Abb. 83**). Es konnte gezeigt werden, dass eine Freisetzung im Dunkeln über einen längeren Zeitraum nicht ausgelöst wird. Der Kontinuumstrahler des UV/Vis-Gerätes reicht auch nach mehreren Messintervallen nicht aus, um eine Freisetzung zu initiieren. Die verschiedenen Temperaturen zeigen ebenfalls keinen Unterschied bei den Dunkelmessungen. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Temperatur keinen Einfluss auf den Freisetzungsprozess hat.

Es wurde untersucht, ob eine begrenzte Einstrahldauer ebenfalls ausreicht, um den Freisetzungsprozess zu aktivieren. Die Probe wurde bei diesen Messungen nur für die ersten zwei Stunden wie gewohnt bestrahlt, anschließend wurde die Lampe ausgeschaltet. Die Messung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung wurde in den üblichen Messabständen durchgeführt. Es konnte eine Freisetzung trotz fehlender UV-Strahlung beobachtet werden (**Abb. 84**). Die Freisetzung verlief langsamer und nicht Vollständig wie bei den 20 °C Messungen. Aktivierungsversuche bei 37 °C wurden aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit nicht durchgeführt.

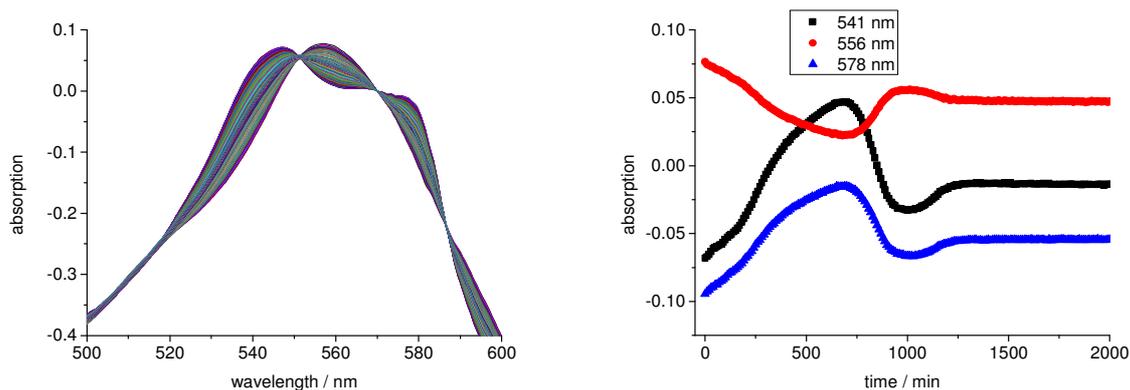


Abb. 84: Verlauf der Messung des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**33**) (links) und die Auftragung der Absorption gegen die Zeit (rechts) bei 2 h Bestrahlungsdauer und 20 °C. Die Spektren wurden über 65 h aufgenommen. Hier wurde zur Übersichtlichkeit der zeitliche Verlauf bis 2000 min aufgetragen.

3.4.4 IR spektroskopische Untersuchung der Kohlenstoffmonoxid-freisetzung

Die IR-Messungen wurden über einen Zeitraum von sieben Stunden durchgeführt. Der Ligand wurde in Dimethylsulfoxid gelöst und in einer mit Teflonstopfen verschlossenen Küvette bestrahlt. Zur Messung wurden Proben aus der bestrahlten Lösung entnommen und in einer NaCl-Einkristallküvette vermessen. Da Dimethylsulfoxid langsam das NaCl löst und die Einkristallfenster mit der Zeit trübe werden, musste für die Messung in NaCl gesättigtes Dimethylsulfoxid verwendet werden. So konnten die Einkristallfenster über den Zeitraum der Messung wiederverwendet werden. Die Vermessung mit Hilfe der ATR-Einheit war nicht möglich, da die Signalintensität zu gering war.

Der Aufbau bei der Bestrahlung war der Gleiche wie in **3.4.2** beschrieben. Zur Verringerung der Messdauer wurde die Küvette 0.5 cm vor der Lampe platziert und gegen sämtliches Streulicht verdeckt. Gemessen wurde in einer Konzentration von 10 mg/mL Ligand (**33**) in Dimethylsulfoxid. Das Volumen der Quarzküvette sollte möglichst konstant gehalten werden, dazu wurde so viel wie möglich der Probenlösung nach der Vermessung zurück in die Küvette überführt. Vor jeder Probennahme wurde die Lösung gut homogenisiert. Die Spektren wurden von 1500 - 2300 cm^{-1} in länger werdenden Abständen detektiert (**Abb. 85**).

3 Ergebnisse

Der Verlauf der Messungen im Myoglobin-Assay korreliert mit dem Verlauf der IR-Absorptionen. Wie in **Abb. 85** und **Abb. 86** beobachtet werden kann, führt eine Bestrahlung nicht direkt zur Kohlenstoffmonoxidfreisetzung. Hierzu würden die Absorptionsbanden bei 2033 (symmetrische CO Streckschwingung), 1939 und 1926 cm^{-1} (korrespondierende antisymmetrische CO Streckschwingung) mit Beginn der Bestrahlung geringer werden. Es kann jedoch deutlich beobachtet werden, dass zuerst zwei neue Banden im Bereich von 1871 und 1826 cm^{-1} entstanden sind. Erst ab dem Maximum dieser beiden neuen Banden tritt eine deutliche Verringerung der Carbonylbanden bei 2033, 1939 und 1926 cm^{-1} ein. Diese Beobachtungen zeigen auch hier, dass es sich zuerst um eine Aktivierung der Mangancarbonyls (**33**) handelt, welches anschließend sein Kohlenstoffmonoxid freisetzt. Sobald das Carbonyl aktiviert ist, findet eine Kohlenstoffmonoxidfreisetzung ohne weitere Zwischenstufen statt. SCHATZSCHNEIDER als auch BERENDS und KURZ konnte bei ihren Verbindungen einen ähnlichen Verlauf bei den IR-Spektren beobachten und begründete das Auftreten ebenfalls mit der Aktivierung des Carbonyls.^[151,148]

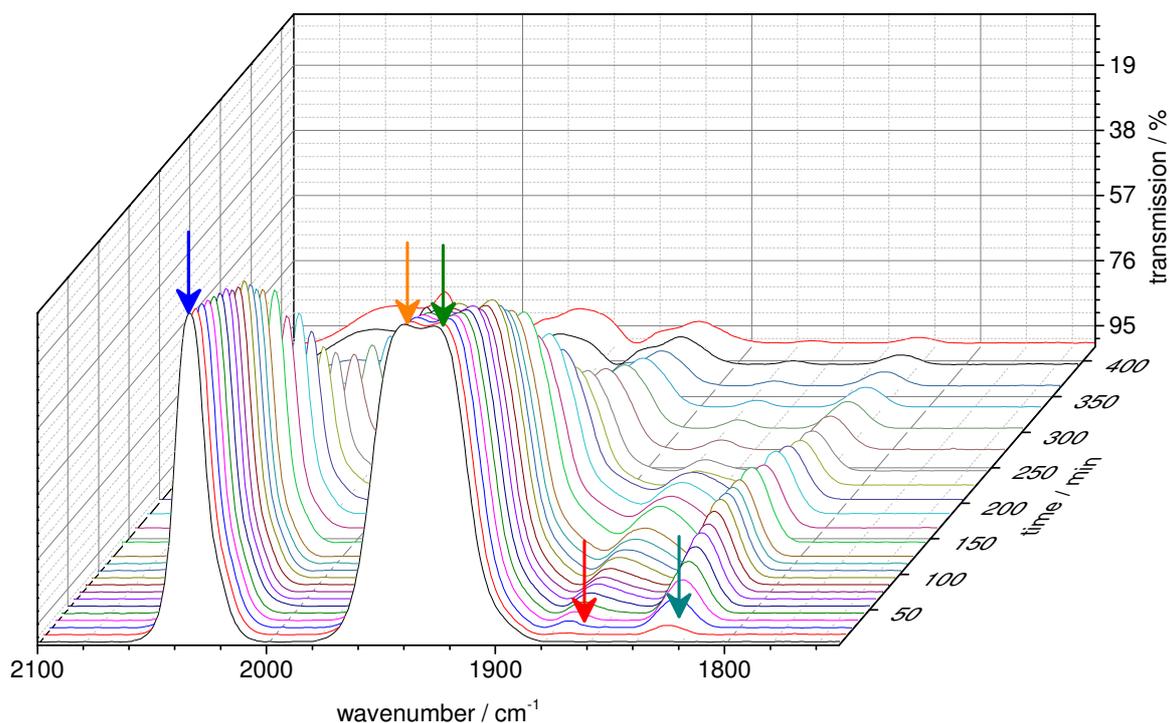


Abb. 85: Dreidimensionale Darstellung des zeitlichen Verlaufs und der Absorptionen der IR-Messung von $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**33**).

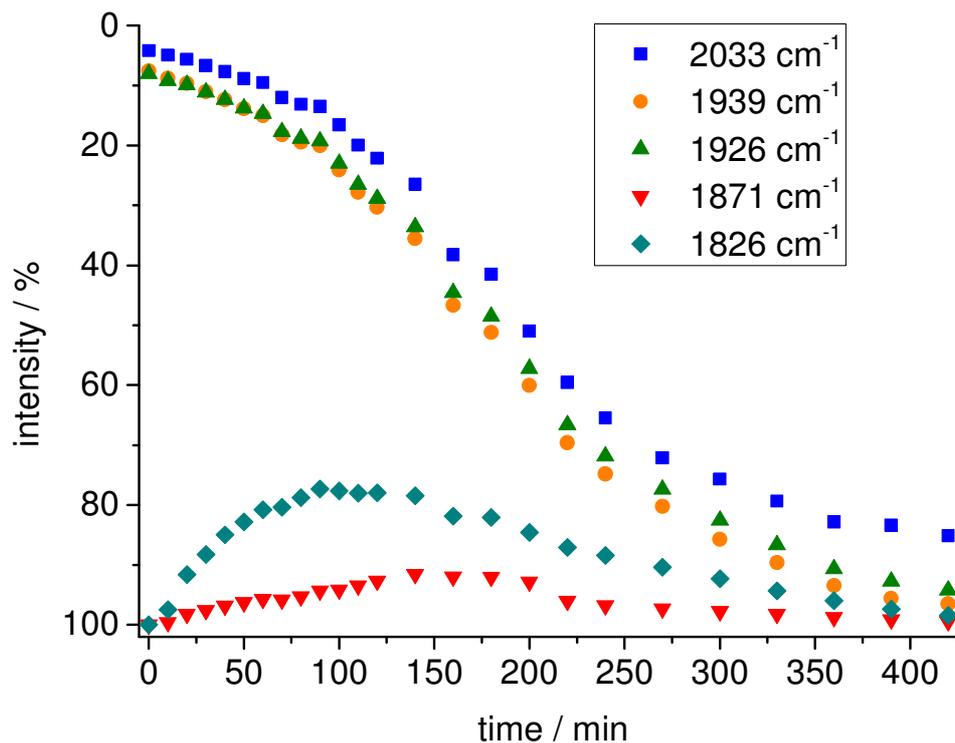


Abb. 86: Verlauf der relevanten Banden der Langzeit-IR-Messung von $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**).

Wie auch analog von SCHATZSCHNEIDER berichtet wurde, zeigt der Ligand im Dunkeln eine gute Langzeitstabilität. Wenn der Ligand jedoch bestrahlt wird, verändert sich die Farbe der Lösung von gelb über orange bis zu einem dunklen rot-braun. Die Oxidation des Mangans oder ein Dimerisierung, wie von BERENDS und KURZ beschrieben, ist ebenfalls denkbar und würde mit dem Farbverlauf korrelieren.

3.4.5 Synthese und Trägerung der PhotoCORMs auf IONP

Die Maghemit Nanopartikel wurden wie in 5.3.1 beschrieben synthetisiert. Mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung wurde ein hydrodynamischer Radius von 23 ± 5 nm bestimmt. Der größere Radius wurde bei den weiteren Synthesen vernachlässigt, da die Immobilisierung der Liganden auf der Oberfläche trotzdem erfolgreich war. Unterschiedliche Rührgeschwindigkeiten führen zu unterschiedlichen Partikelgrößen, wodurch die Diskrepanz erklärt werden kann.

Die Trägerung des Liganden Bpmd (**32**) auf der Partikeloberfläche wurde dieser zunächst in einer geringen Menge an Salzsäure (0.1 M) gelöst und anschließend auf pH 5 eingestellt. Diese Lösung wurde mit der Maghemit Nanopartikel Lösung zusammengegeben und mit Natriumhydroxid Lösung neutral gestellt wobei die geträgerten Partikel ausfielen. Die Partikel wurden zentrifugiert und mit Wasser gewaschen. Anschließend konnten die geträgerten Partikel in Dimethylsulfoxid dispergiert werden. Mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung wurde ein hydrodynamischer Radius von 35 ± 6 nm bestimmt. Durch den Bpmd Liganden auf der Oberfläche des Partikels vergrößert sich der hydrodynamische Radius im Vergleich zu den reinen Partikeln.

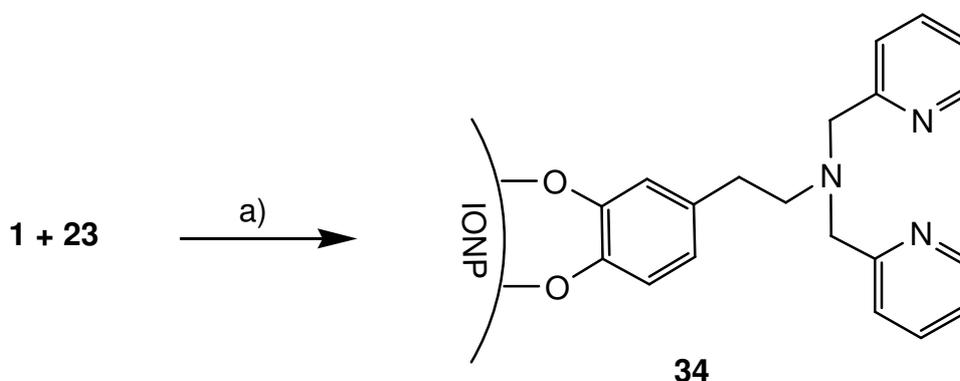


Abb. 87: Schema der Trägerung der Maghemit-Nanopartikel mit dem Liganden Bpmd (**32**).

Die Löslichkeit der geträgerten Partikel (**34**) in Dimethylsulfoxid war gut. Es bildete sich für mindestens eine Woche eine stabile Dispersion. Zur Identifizierung des Liganden auf der Oberfläche wurden IR spektroskopische Untersuchungen durchgeführt. Sie zeigten die typischen Liganden Absorptionen eines des Pyridinrings bei 1630 cm^{-1} auf der Partikeloberfläche.

3 Ergebnisse

Die Trägerung des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**33**) auf der Partikeloberfläche mit der gleichen Methode wie beim Bpmd (**32**) brachte keinen Erfolg, da die Löslichkeit im wässrigen Medium sehr schlecht war. Das Mangancarbonyl (**33**) wurde zunächst in Dimethylsulfoxid gelöst und dann mit der Partikellösung umgesetzt. Anschließend wurden die vereinten Lösungen wieder neutral gestellt und die geträgerten Partikel zentrifugiert, gewaschen und in Dimethylsulfoxid dispergiert.

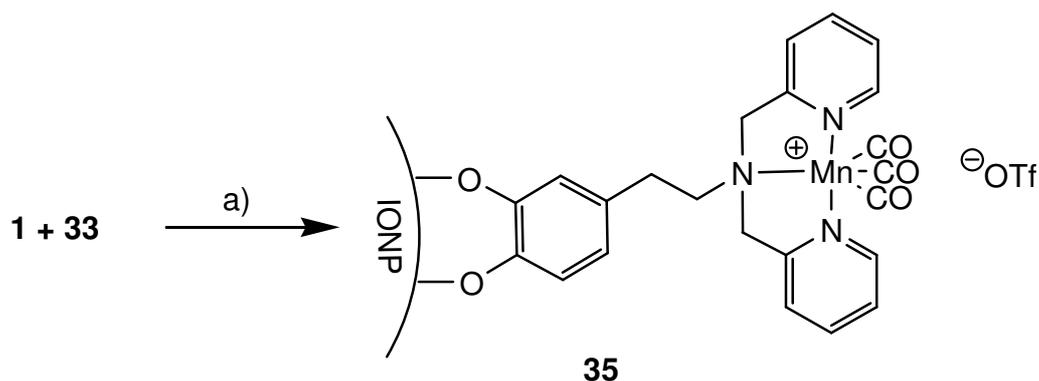


Abb. 88: Schema der Trägerung der Maghemit-Nanopartikel mit $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**35**).

Die mit Mangan-Ligand geträgerten Partikel (**34**) konnten in Dimethylsulfoxid gelöst werden, solange diese nicht getrocknet wurden. Die Trägerung wurde mit einer IR spektroskopischen Untersuchung nachgewiesen, da die Carbonyl-Schwingungen charakteristisch für CORMs sind und diese in der hier angewandten Synthese keinen anderen Ursprung haben konnten.

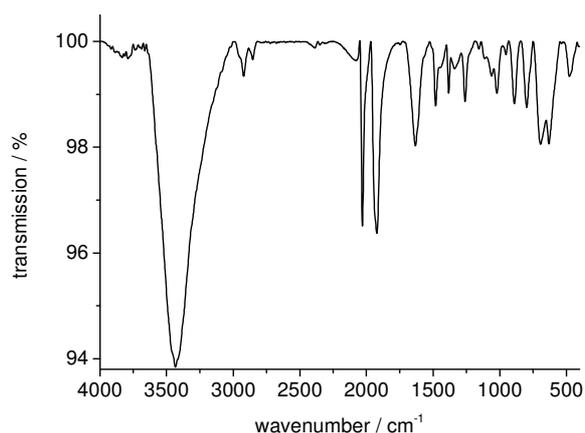


Abb. 89: Darstellung des IR-Spektrums der geträgerten $\text{IONP}@\text{[Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**35**) mit den charakteristischen Carbonylschwingungen bei 2032 und 1924 cm^{-1} . Die Absorption bei 1924 cm^{-1} ist stark verbreitert und weist auf zwei Banden hin.

3 Ergebnisse

Die Partikellösung wurde mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung untersucht und ergab einen Durchmesser von 37 ± 6 nm für das funktionalisierte System (**35**). In **Abb. 90** sind alle vermessenen Systeme mit Ihren Größenverteilungen aufgetragen. Es kann deutlich beobachtet werden, dass der Durchmesser der Partikel mit größerem Liganden ebenfalls steigt.

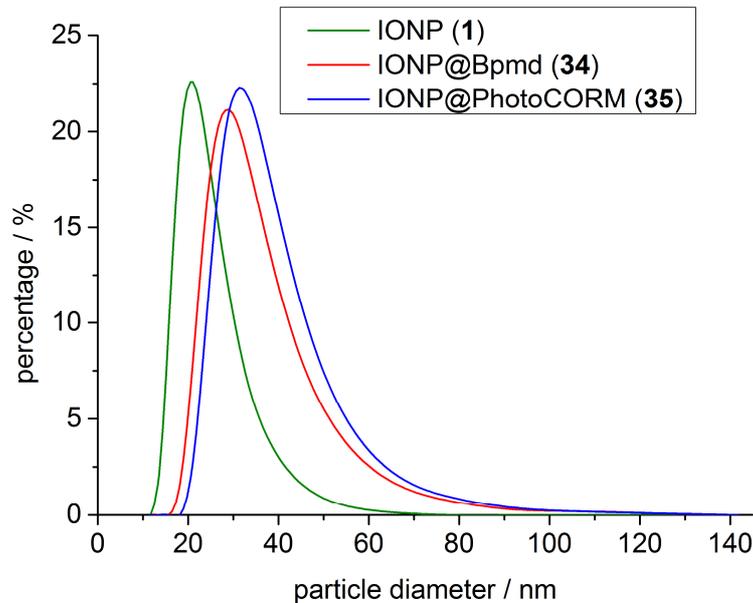


Abb. 90: Übersicht der hydrodynamischen Durchmesser der verschiedenen nanopartikulären von Maghemit (**1**) in Wasser, Bpmd@IONP (**34**) in DMSO und $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ @IONP (**35**) in DMSO.

Um einen Überblick über die Maghemit-Nanopartikel (**1**) und die mit $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**35**) zu erhalten und um diese besser vergleichen zu können, wurden Transmissionselektronenmikroskop (TEM) Messungen durchgeführt (**Abb. 91**).

Trotz der geringen Auflösung ist erkennbar, dass die Nanopartikel deutlich kleiner sind, als die Ergebnisse der DLS-Messungen aussagten. Eine exakte Auswertung der Größenverteilung ist aufgrund der geringen Auflösung jedoch nicht möglich. Es konnte beobachtet werden, dass die Partikel kleiner als der bestimmte hydrodynamische Radius mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung. Durch die Bestimmung des hydrodynamischen Radius der Partikel erscheinen diese größer. Im TEM wird nur der Partikel aufgrund der Elektronenbeugung als Festkörper gesehen und stellt somit die reale Größe des Partikels dar.

3 Ergebnisse

Die in **Abb. 91** dargestellten TEM-Aufnahmen sind bereits die höchste Auflösung, die möglich war. Durch eine an das Gebäude angrenzende Baustelle und dadurch resultierende Vibrationen, konnte jedoch keine höhere Auflösung erzielt werden.

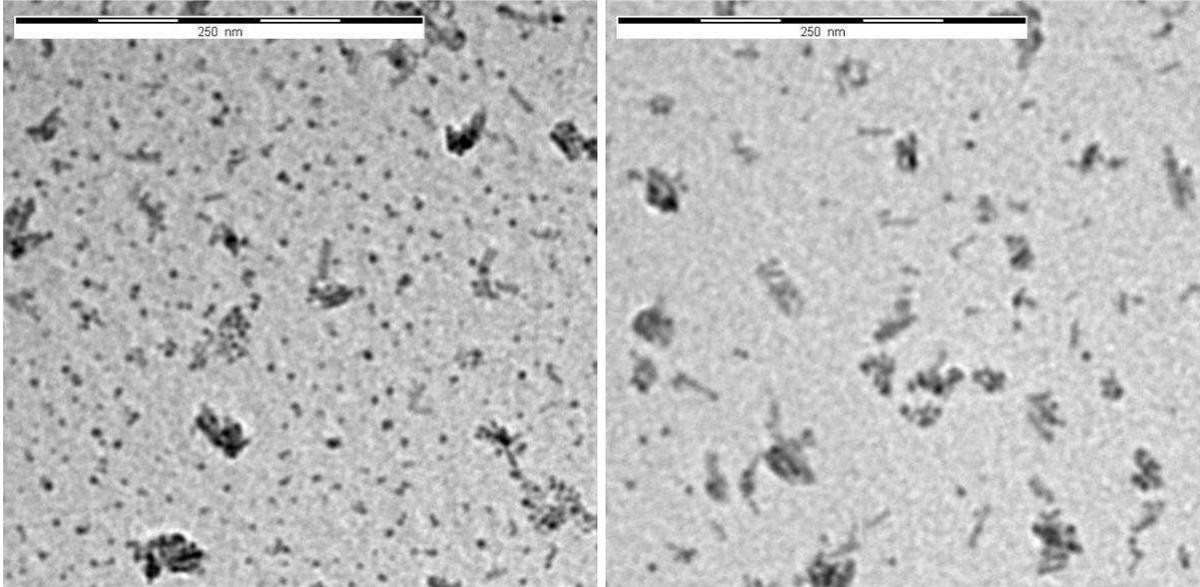


Abb. 91: links: reine Maghemit-Nanopartikel (**1**), rechts: mit $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**35**) geträgerte Maghemit-Nanopartikel.

3.4.6 Myoglobin-Assay der PhotoCORM funktionalisierten IONP

Die UV/Vis Spektren wurden ebenso wie bei der Vermessung des reinen $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ Liganden (**33**) von 500 bis 600 nm aufgenommen. Die geträgerten Nanopartikel (**35**) wurden wie in **Kapitel 5.3.31** beschrieben frisch hergestellt. Da die Eigenabsorption der Nanopartikel die Messung des Myoglobin-Assays stören würde, wurde die in Kapitel 5.4.8 beschriebene Alginat-Methode verwendet.

Es wurde eine homogene Mischung aus einer Alginat-Lösung mit den geträgerten Nanopartikeln (**35**) in Dimethylsulfoxid hergestellt. Diese wurde in eine Calciumchlorid-Lösung getropft wobei es zu Kugelbildung kam. Die Kugeln wurden für eine halbe Stunde in der Calciumchlorid-Lösung belassen, um eine komplette Quervernetzung des Alginatnetzwerkes mit den Calciumionen zu gewährleisten. Die Kugeln wurden möglichst ohne Lichteinwirkung hergestellt, mit MOPS-Puffer gewaschen und im Dunklen gelagert, um eine vorzeitige Freisetzung des Kohlenstoffmonoxids zu verhindern. Die Auswertung der Messung erfolgte wie in Kapitel **5.4.8** beschrieben. Die Konzentration der funktionalisierten Nanopartikel (**35**) und Anzahl der Alginat Kugeln wurde auf die des reinen Liganden (**33**) eingestellt, um eine gute Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

Die Messung der Partikel (**35**) im Myoglobin Assay waren reproduzierbar und zeigten keine Abweichungen im Freisetzungsverhalten, wie bereits mit dem Liganden (**33**) zu beobachten war. Die Absorption war bei beiden Temperaturen im Vergleich zu den Messungen des reinen Liganden schwächer. Eine mögliche Lichteinwirkung kann aufgrund der längeren Präparation der Probe nicht ausgeschlossen werden und führte möglicherweise somit zu einer vorzeitigen Freisetzung. Möglicherweise könnte die geringere Freisetzung auch durch geringere Lichteinstrahlung erklärt werden. Die Nanopartikel könnten innerhalb der Alginatkugel einen Teil des Lichtes absorbieren und würden somit die Freisetzung anderer CORM verhindern. Zu dieser Theorie würde auch die schwächere Absorption bei 20 °C im Vergleich zu der 37 °C Messung sprechen. Durch die höhere Temperatur wäre mehr Bewegung im System und es können mehr Liganden auf der Oberfläche des Partikels aktiviert werden.

3 Ergebnisse

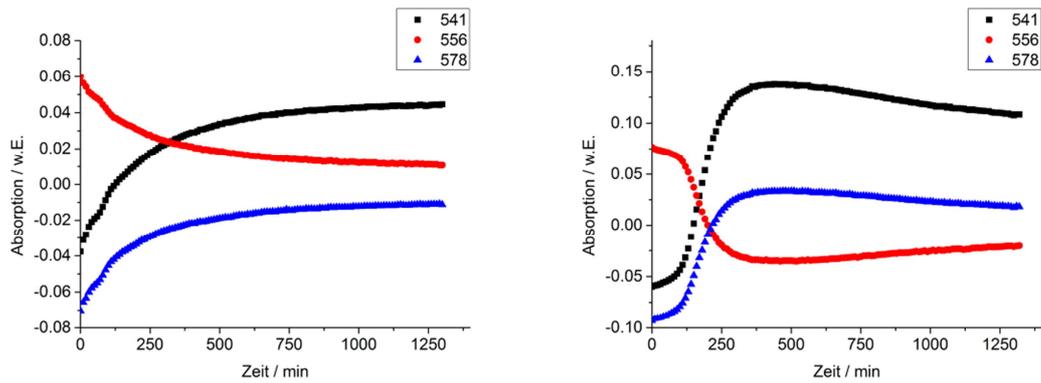


Abb. 92: Auftragung der Absorption gegen die Zeit der Messungen der $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}@\text{IONP}$ (**35**) bei 20 °C (links) und 37 °C (rechts).

Es wurde versucht, das verbleibende Kohlenstoffmonoxid auf der Partikeloberfläche in den Alginat-Kügelchen mittels IR (KBr) Messungen nachzuweisen. Die Versuche waren jedoch nicht erfolgreich. Lediglich bei einer deutlich zu hohen Konzentration der Nanopartikel in den Kügelchen konnte verbliebenes Kohlenstoffmonoxid nach Waschen und Trocknen der Kügelchen nachgewiesen werden. Bei geringerer Partikel-Konzentration in den Kügelchen konnten auch bei der Verwendung der doppelten Anzahl der Kügelchen keine Carbonyl-Schwingungen nach dem Myoglobin-Assay im IR beobachtet werden.

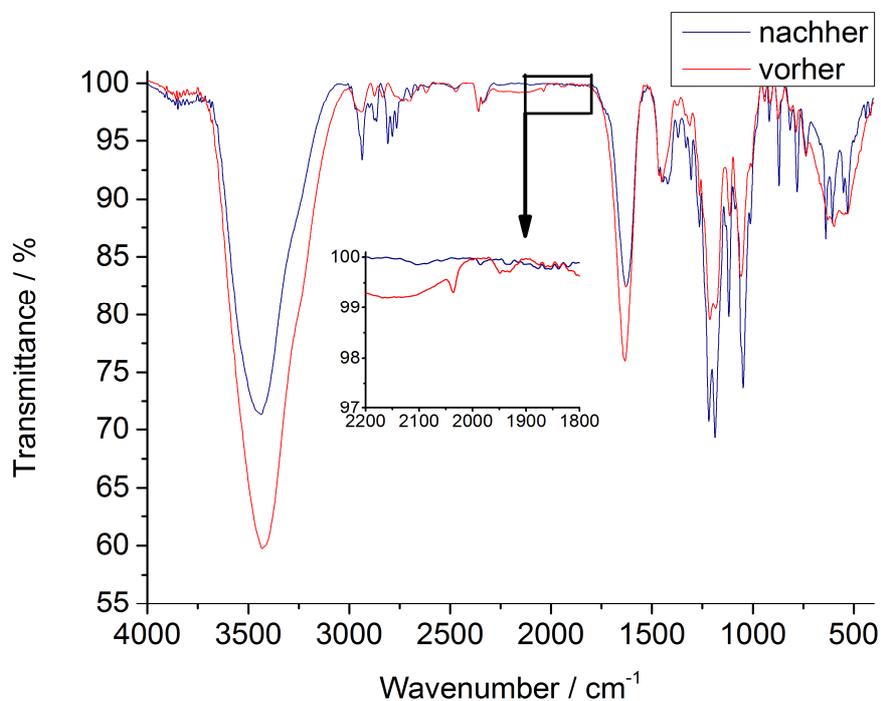


Abb. 93: IR-Spektrum der $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}@\text{IONP}$ (**18**) in Alginat-Kügelchen vor und nach der Vermessung des Myoglobin-Assays mit korrekter Konzentration. Die schwach zu erkennenden Carbonyl-Schwingungen sind als Vergrößerung dargestellt.

3 Ergebnisse

Der Beginn des Plateaus bei beiden Messtemperaturen streuen in einem relativ engen Bereich (**Tab. 15**). Die Endpunkte wurden, wie zuvor beschrieben, abgelesen. Die angegebene Standardabweichung stellen erneut lediglich die Abweichung der bestimmten Werte dar und berücksichtigt nicht den Fehler des Ablesens.

Tab. 15: Übersicht der Messergebnisse der Messung des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-@ \text{IONP}$ (**35**) bei den verschiedenen Temperaturen.

Temperatur	Messung	Zeit / [min]	Mittelwert / [min]
20 °C	1	530	
	2	570	550±20
	3	550	
37 °C	1	410	
	2	410	400±10
	3	390	

Das bei der niedrigeren Temperatur keine deutliche Startphase wie bei den Messungen des reinen Mangan-Liganden zu erkennen ist, kann ebenfalls an der Alginat-Hülle liegen. Es ist kein Abfall der Absorption nach 22 h zu erkennen. Dies deutet darauf hin, dass die beobachtete unübliche Kinetik der Kohlenstoffmonoxid-Freisetzung bei der Messung des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (**35**) auf die Hydroxygruppen des Dopamin zurückzuführen ist. Durch die Trägerung an die Nanopartikel sind die Hydroxygruppen des Catechols geschützt und können keine Nebenreaktionen, welche den Myoglobin-Assay stören, eingehen.

Wie der **Tab. 15** entnommen werden kann, ist der Freisetzungsprozess bei 37 °C schneller als im Vergleich bei 20 °C. Dies korreliert mit den vorangegangenen Messungen des reinen Liganden bei den gleichen Temperaturen. Die Freisetzung ist insgesamt etwas langsamer als beim freien Liganden. Eine mögliche Schwächung des eingestrahlt Lichtes durch die absorbierenden Nanopartikel ist hierfür eine Erklärung.

Eine Dunkelmessung der Partikel zeigte ebenfalls keine Kohlenstoffmonoxidfreisetzung bei beiden Temperaturen. Eine thermisch induzierte Freisetzung ist demnach auch bei den geträgerten Nanopartikel nicht möglich (**Abb. 94**).

3 Ergebnisse

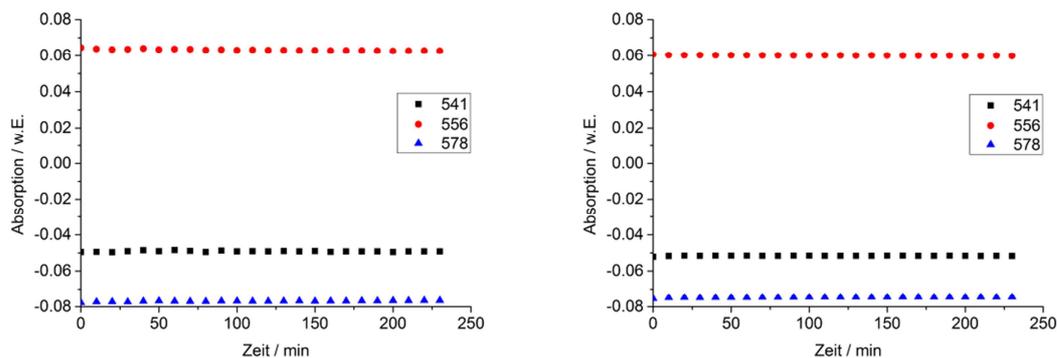


Abb. 94: Dunkelmessungen des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}@ \text{IONP}$ (**35**) bei 20 °C (links) und 37 °C (rechts).

Es wurden deutliche Vor- und Nachteile des modifizierten Myoglobin-Assays mit Hilfe der Messungen aufgezeigt. Sowohl der freie Ligand (**33**) als auch die geträgerten Partikel (**35**) konnten mit Hilfe dieser Methode vermessen werden. Die Reproduzierbarkeit der Messungen bei 37 °C des $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**33**) war nicht zufriedenstellend. Auch wurden starke Unterschiede bei den Absorptionsverläufen zwischen den Messungen bei 20 °C und 37 °C des Mangan-Liganden (**33**) deutlich. Einige Effekte konnten nicht temperaturunabhängig beobachtet werden. Darunter fallen vor allem das Sinken der Absorption und der folgende Anstieg bei den Messungen bei niedrigerer Temperatur. Eine mögliche Erklärung des Verhaltens von $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**33**) könnten die freien Hydroxygruppen am Catecholanker sein. Die Dirole könnten Nebenreaktionen eingehen oder auch als Ligand am Metallzentrum koordinieren. Für genauere Untersuchungen könnten die Dirole mit einer Schutzgruppe versehen werden, um so einen möglichen Einfluss zu untersuchen. Die Hydroxygruppen sind nach der Trägerung auf die Partikel nicht mehr frei, sodass über die Hydroxyfunktionalitäten des CORMs bei dem geträgerten Liganden keine Nebenreaktionen ablaufen könnten. Über die hier durchgeführten Messungen kann deutlich gesehen werden, dass das System $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}@ \text{IONP}$ (**35**) unter annähernd physiologischen Bedingungen stabil ist, da anderenfalls ähnliche Effekte auftreten müssten, wie es bei den Messungen des reinen Liganden zu beobachten war.

Die Langzeit IR spektroskopische Untersuchung des photosensiblen CORMs (**33**) zeigt, dass eine Freisetzung des Kohlenstoffmonoxides nicht direkt nach der Bestrahlung beginnt. Es muss zuerst eine Aktivierung erfolgen. Sobald diese Aktivierung erfolgt ist, ist bei dem reinen CORM (**33**) keine weitere Bestrahlung mehr notwendig, um das Kohlenstoffmonoxid freizusetzen. Bei geringerer Bestrahlung wird jedoch auch weniger CORM freigesetzt. Ohne

UV-Strahlung hingegen wird kein Kohlenstoffmonoxid freigesetzt. Die UV-Strahlung ist somit essentiell für die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung des hier vermessenen CORMs.

Die Vermessung der funktionalisierten Nanopartikel (**35**) konnte unter Verwendung von Alginatkügelchen (s. Kapitel **5.4.8**) durchgeführt werden. Die Freisetzung des Kohlenstoffmonoxids verlief auf der Partikeloberfläche langsamer als bei dem reinen Liganden. Eine mögliche Erklärung ist die Absorption der eingestrahlten Wellenlänge durch die Partikel. Zudem wurde gesehen, dass die Kohlenstoffmonoxid-Freisetzung bei höherer Temperatur schneller erfolgt als bei 20 °C. Dies könnte durch höhere Freiheitsgrade aufgrund der thermischen Anregung erklärt werden.

Die Aktivierung dieses photosensiblen Ligandensystems wurde in vorangegangenen Arbeiten möglicherweise durch die Verwendung von stärkeren UV-Lampen übersehen. Jedoch zeigten die Arbeiten von SCHATZSCHNEIDER^[151] als auch BERENDS und KURZ,^[148] dass eine solche Aktivierungsphase für tridentate Mangancarbonyle möglich ist. Eine exakte Auswertung der Messdaten durch die nicht triviale Kinetik sehr schwer. Es konnten maximal grobe Werte zur Orientierung ermittelt werden.

Die Versuche zeigen, dass die Verwendung der Alginatkügelchen im Myoglobin-Assay nicht nur auf thermisch labile Kohlenstoffmonoxid freisetzende Verbindungen, sondern auch für photosensible Systeme eingesetzt werden kann

4 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel der Arbeit war es, eine funktionalisierte IONPs (iron oxide nanoparticle) mit Kohlenstoffmonoxidfreisetzenden Verbindungen (CORMs, CO releasing materials) herzustellen. Hierzu sollte für die ersten Versuche ein CORM-3 System verwendet werden,

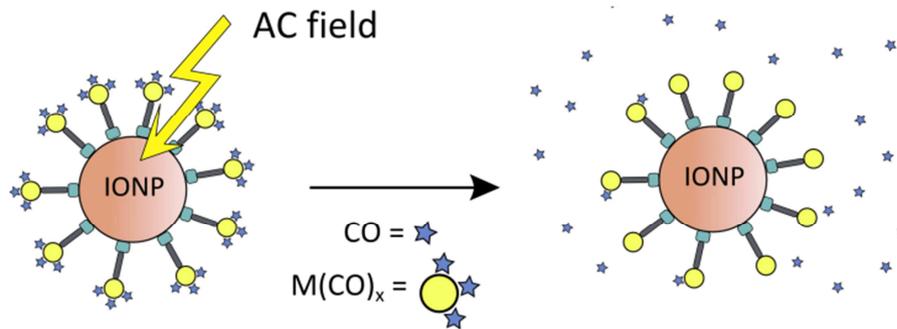


Abb. 95: Schematische Darstellung des Konzeptes zur Wechselwirkung induzierten Kohlenstoffmonoxidfreisetzung.

welches thermosensitiv und in der Literatur gut untersucht ist. Des Weiteren sollten stabile Dispersionen der Nanopartikel hergestellt werden und auf deren Kohlenstoffmonoxidfr

eisetzung bei verschiedenen Temperaturen und im magnetischen Wechselwirkung untersucht werden. Die mögliche Verwendung von photolytisch aktiven CORMs sollte untersucht werden um diese auf IONPs zu immobilisieren und deren Kohlenstoffmonoxidfreisetzung zu untersuchen.

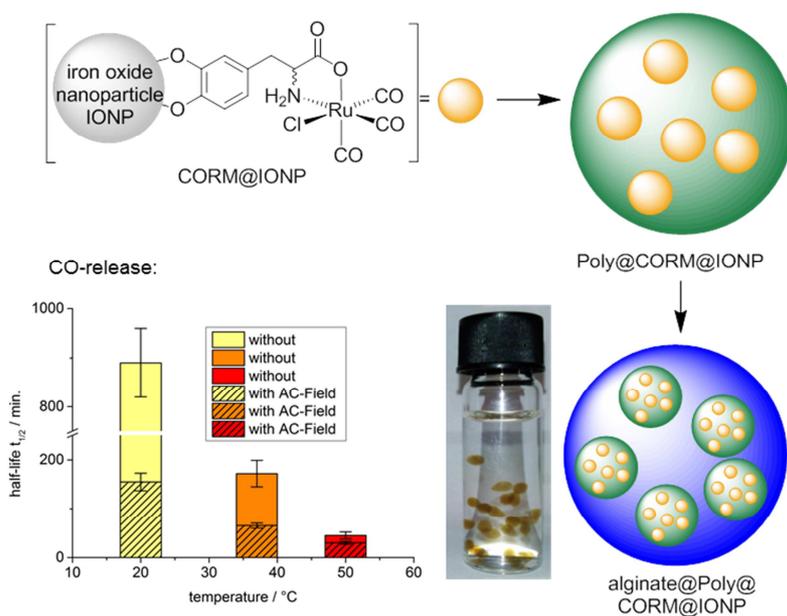
Im ersten Teil dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass das neue Konzept der beschleunigten Kohlenstoffmonoxidfreisetzung mit Hilfe eines magnetischen Wechselwirkung durch immobilisierte Kohlenstoffmonoxid freisetzende Verbindungen auf magnetischen Nanopartikeln erfolgreich angewendet werden konnte. Verwendet wurde ein CORM-3 analoges System, welches über eine Catechol-Ankergruppe auf der Oberfläche des Partikels immobilisiert wurde. Die Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung, welche mit dem bekannten Myoglobin Assay untersucht wurde, lag bei 13 ± 2 min bei 25°C . Durch Anlegen eines externen magnetischen Wechselwirkung konnte die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung auf 7 ± 2 min bei 25°C beschleunigt werden.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde eine Erhöhung der Halbwertszeit und Löslichkeit der CORM-3 analogen Verbindung auf magnetischen Nanopartikeln, sowie eine Modifikation des bekannten Myoglobin Assays zur Vermessung von stark absorbierenden Substanzen vorgestellt. Das CORM-3 analoge Molekül wurde auf einer Maghemit

4 Zusammenfassung und Ausblick

Nanopartikeloberfläche immobilisiert. Durch magnetisches Heizen der Nanopartikel wurde die Kohlenstoffmonoxidfreisetzung beschleunigt, jedoch nicht das umgebende Medium erwärmt. Um die Löslichkeit zu verbessern, wurden die funktionalisierten Nanopartikel in ein wasserlösliches Polymer eingebettet. Von den verschiedenen getesteten Polymeren Polyethylenglycol (PEG), Polydiallyldimethylammoniumchlorid (PDADMAC) und Dextran mit einer Molmasse von 100kDa zeigte Dextran mit einer Molmasse von 500kDa im Vergleich die beste Wasserlöslichkeit und Halbwertszeitverlängerung.

Das Kompositmaterial Dextran@CORM@IONP führte zu einer erhöhten Halbwertszeit von 58 ± 9 min bei 20°C im Vergleich zu CORM@IONP mit 13 ± 2 min bei 25°C . Die Verlangsamung



der Freisetzung resultiert aus einer Abschirmung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzenden Verbindung gegenüber

beschleunigenden

Faktoren aus dem Myoglobin Assay wie Natriumdithionit, MOPS-Puffer oder dem Protein. Des Weiteren wurde das

dunkle, stark UV/Vis

absorbierende

Dextran@CORM@IONP

Kompositmaterial durch Verwendung eines

quervernetzten

Abb. 96: Schematische Darstellung der CORM-3 funktionalisierten Partikel mit Polymerhülle und Einlagerung in Alginatekugeln zur Halbwertszeitenbestimmung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Myoglobin Assay von Alginate@Dextran@CORM@IONP (9).

Alginatenetzwerkes vom Myoglobin Assay separiert. Durch diese neu entwickelte Abtrennung konnten die Veränderungen im UV/Vis des Myoglobin Assays ohne Überlagerung der stark absorbierenden Nanopartikel beobachtet werden. Die Möglichkeit, stark absorbierende Substanzen im gut untersuchten und oft verwendeten Myoglobin Assay in einer einfachen UV/Vis Küvette mit geringem Aufwand und Kosten zu untersuchen, stellt einen großen Vorteil gegenüber anderen Methoden dar.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Die bestimmten Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung des Kompositmaterials Alginat@Dextran@CORM@IONP unterstützen das Konzept der durch magnetisches Heizen beschleunigten Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von CORM@IONP. Es konnte gezeigt werden, dass eine Beschleunigung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung in Alginat@Dextran@CORM@IONP um den Faktor 2.6 (von 172 ± 27 min zu 65 ± 5 min) bei physiologischen Temperaturen (37°C) erreicht werden konnte. Bei 20°C konnte die Halbwertszeit um den Faktor 5.7 und bei 50°C um 1.5 beschleunigt werden. Die Beschleunigung der Halbwertszeit konnte mit der Erwärmung der magnetischen Nanopartikel auf der Oberfläche durch das magnetische Heizen in Verbindung gebracht werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die Funktionalisierung von magnetischen Nanopartikeln

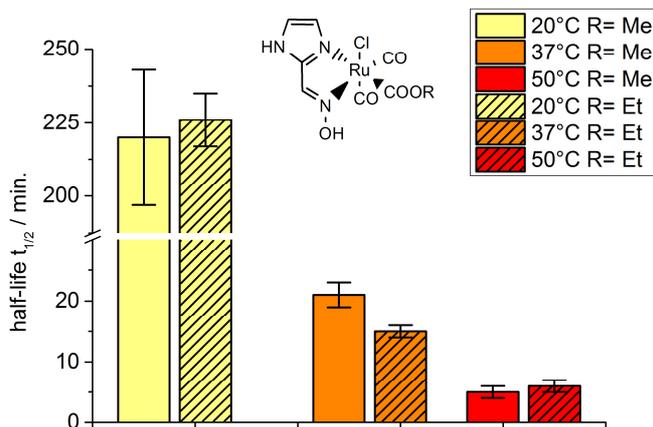


Abb. 97: Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Myoglobin Assay von Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) und Carbaldehydoxim(COOEt)(CO)₂Cl (**14**)

226 ± 9 min bei 20°C , 15 ± 1 min bei 37°C und 6 ± 1 min bei 50°C . Anschließend musste zur Immobilisierung auf der Partikeloberfläche das Rückgrat des Oxims erweitert werden.

mit Oxim basierten Kohlenstoffmonoxid freisetzenden Molekülen auf vorgestellt. Zunächst wurden die bekannten Verbindungen Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl und Carbaldehydoxim(COOEt)(CO)₂Cl hergestellt. Die Bestimmung der Halbwertszeiten erfolgte mit Hilfe des Myoglobin Assays (**Abb. 97**) und ergab für die Methoxy Verbindung 220 ± 23 min bei 20°C , 21 ± 2 min bei 37°C und 5 ± 1 min bei 50°C . Die Halbwertszeiten die Ethoxy-substituierten Verbindung ergaben

4 Zusammenfassung und Ausblick

Durch Verwendung einer Acetalschutzgruppe gelang die Synthese der neuartigen CORMs sowie eines der entschützten Derivate. Die Bestimmung der Halbwertszeiten (**Abb. 98**) der

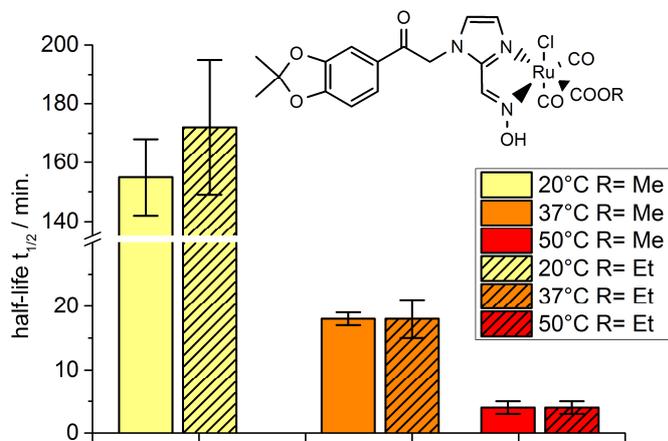


Abb. 98: Halbwertszeiten der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Myoglobin Assay von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) und $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**).

geschützten Methoxyverbindung ergab 155 ± 13 min bei 20 °C, 18 ± 1 min bei 37 °C und 4 ± 1 min bei 50 °C, sowie für die Ethoxyverbindung 172 ± 23 min bei 20 °C, 18 ± 3 min bei 37 °C und 4 ± 1 min bei 50 °C. Durch die Modifizierung des Rückgrates konnte eine Beschleunigung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Vergleich zu den unmodifizierten Verbindungen Methoxy- und Ethoxyverbindungen Carbaldehydoxim-(COOMe)(CO)₂Cl und Carbaldehydoxim-(COOEt)(CO)₂Cl (**Abb. 97**) festgestellt

werden. Der Vergleich der Halbwertszeiten untereinander zeigte im Rahmen der Messungengenauigkeit keine Unterschiede.

Die entschützte Oxim basierte Kohlenstoffmonoxid freisetzende Verbindung

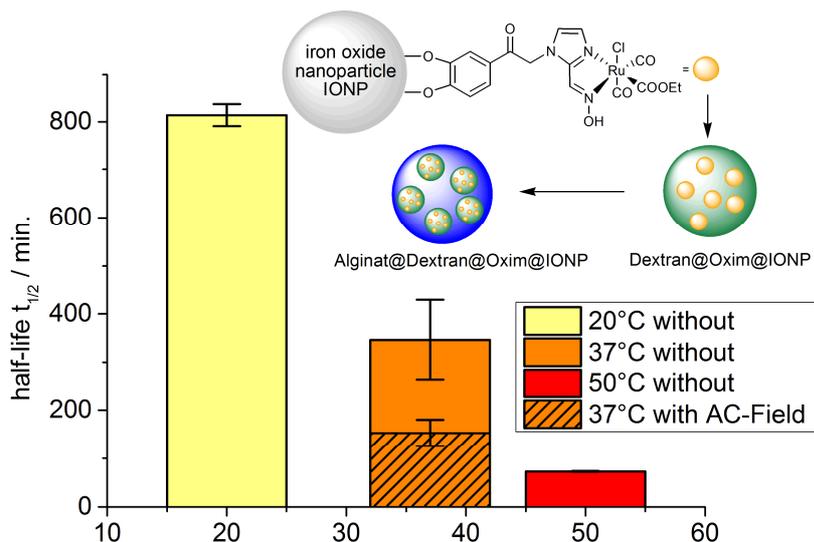


Abb. 99: Schematische Darstellung der Oxim funktionalisierten Partikel mit Polymerhülle und Einlagerung in Alginatekugeln zur Halbwertszeitenbestimmung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung im Myoglobin Assay von Alginate@Oxim@CORM@IONP (**27**).

$\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**23**) wurde auf Maghemit Nanopartikel immobilisiert, mit dem wasserlöslichen Polymer Dextran mit einer Molmasse von 500kDa eingebettet und im Myoglobin Assay auf ihre Kohlenstoffmonoxid freisetzenden Eigenschaften (**Abb. 99**) mit Hilfe der Alginate-Methode untersucht. Die Freisetzung von Kohlenstoffmonoxid

des Kompositmaterials Alginat@Dextran@Oxim@IONP ergab 814 ± 23 min bei 20°C , 346 ± 83 min bei 37°C und 73 ± 1 min bei 50°C , sowie eine Beschleunigung im magnetischen Wechselfeld um den Faktor 2.3 zu 155 ± 27 min bei 37°C . Es konnte gezeigt werden, dass die Beschleunigung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung auch auf andere Kohlenstoffmonoxid freisetzende Systeme übertragen werden kann. Des Weiteren ist die Alginat Methode nicht nur auf substitutionslabile Verbindungen beschränkt und kann auch für photolytisch aktive Verbindungen verwendet werden.

Im dritten Teil wurde die Immobilisierung einer photolabilen Kohlenstoffmonoxid freisetzenden Verbindung auf Maghemit Nanopartikel untersucht, sowie die Untersuchung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung mit Hilfe der Alginat Methode im Myoglobin Assay. Es

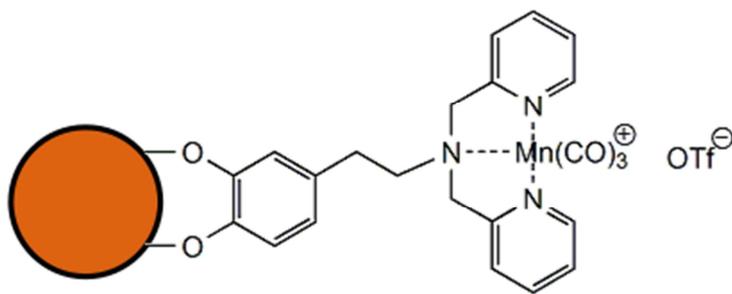


Abb. 100: Schematische Darstellung des auf der IONP Oberfläche immobilisierten PhotoCORMs (**35**).

konnte prinzipiell gezeigt werden, dass eine Immobilisierung auf Maghemit Nanopartikeln möglich ist. Auch eine Einbettung der Partikeldispersion in ein Alginatnetzwerk gelang. Die Untersuchung der Kinetik der

Kohlenstoffmonoxidfreisetzung der modifizierten Partikel verlief jedoch nicht einheitlich. Dennoch zeigten die Versuche, dass eine Verwendung von photosensiblen kohlenstoffmonoxidfreisetzenden Verbindungen mit Hilfe der Alginat Methode im Myoglobin Assay möglich ist.

Die in dieser Arbeit vorgestellte Messmethode und das Konzept, magnetische Nanopartikel zur Wechselfeldbeschleunigung einer Kohlenstoffmonoxidfreisetzung verwenden zu können, könnte nun auf diverse andere CORMs übertragen werden. Die Verringerung der Polymergröße oder Veränderung des Polymers an sich könnten für eine bessere Löslichkeit des Kompositmaterial und dadurch zu höheren Konzentrationen an Wirkstoff führen.

Die Funktionalisierung der IONPs könnte hinsichtlich der Beladungsdichte noch optimiert werden. Das Alginat@Dextran@CORM@IONP Kompositmaterial kann nur 0.2 mol Kohlenstoffmonoxid pro mol Ruthenium freisetzen. Bei diesem System wäre eine Steigerung der Freisetzung durch Vermeidung des Verlustes von Kohlenstoffmonoxid während der

4 Zusammenfassung und Ausblick

Synthese sehr interessant. Ebenfalls müsste die Dispergierbarkeit und Stabilität solcher Kompositsysteme in Blut getestet werden, um als Fernziel das tatsächliche Akkumulationsverhalten der Polymersysteme in einem Tumorgewebe zu untersuchen.

5 Experimenteller Teil

5.1 Geräte

NMR-Spektren

300 MHz: FT-NMR-Spektrometer Avance III (2010), Fa. Bruker.

600 MHz: FT-NMR-Spektrometer Avance III (2011), Fa. Bruker.

Für die Messungen in CDCl_3 wurde Tetramethylsilan (TMS) als Referenz verwendet. Bei Messungen in DMSO-D_6 wurde mit Hilfe des Solvenssignals referenziert. Alle chemischen Verschiebungen δ sind in ppm angegeben. Alle Spektren wurden bei 300 K durchgeführt, soweit nicht anders angegeben.

Massenspektren

HR-MS: UHR-QTOF maXis 4G (Bruker Daltonics).

EI: Triple-Quadrupol-Massenspektrometer TSQ 7000 (Finnigan MAT).

ESI: Ion-Trap-API-Massenspektrometer Finnigan LCQ Deca (Thermo Quest).

MALDI: MALDI-TOF Ultraflex I (Bruker Daltonics).

IR-Spektren

Die Messungen wurden an einem Tensor 37 der Firma Bruker unter Verwendung von KBr-Presslingen aufgenommen.

Säulenchromatograph

Die Auftrennung erfolgte an einem Reveleris Chromatograph der Firma Grace.

UV/Vis Spektrometer

Die Aufnahmen der Spektren erfolgte an einem Specord S 600 der Firma Analytik Jena.

Transmissionselektronenmikroskopie

Die Messungen wurden an einem Titan 80-300 der Firma FEI am Ernst-Ruska-Zentrum (ER-C) des Forschungszentrums Jülich aufgenommen.

Atomabsorptionsspektroskopie

Die Bestimmung erfolgte an einem AAnalyst der Firma Perkin Elmer. Alle Standards (Ruthenium und Lanthan) wurden von der Firma Sigma Aldrich erworben.

Zur Untersuchung von geringen Probenkonzentrationen wurde bei der Bestimmung von Ruthenium Lanthan als Signalverstärker hinzugefügt. Dies ermöglichte eine Bestimmung von Ruthenium in geringen Konzentrationen, ohne große Probenmenge zu verbrauchen.

Probenvorbereitung:

50 mg des zu untersuchenden Feststoffes wurde in einem Becherglas dreimal mit 10 mL Königswasser ausgekocht. Der Überstand wurde in HCl (3.7 %) gelöst und durch einen Filter in einen 1 L Messkolben gegeben. Der Messkolben wurde mit HCl (3.7 %) aufgefüllt. Es wurde eine Ruthenium-Konzentrationsreihe aus einem Ru-Standard (1 g/L) hergestellt. Die Konzentrationen betragen 10 mg/L, 6 mg/L, 3 mg/L, 1 mg/L und 0.5 mg/L. Zur Signalverstärkung wurden jeweils zu den Versuchsreihen zehn Volumenprozent Lanthan-Standard (1 g/L) zugegeben.

Dynamische Lichtstreuung

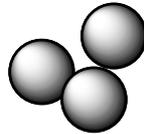
Die Bestimmung der hydrodynamischen Radien erfolgte an einem Zetasizer Nanoseries der Firma Malvern.

5.2 Chemikalien

Name	CAS	Hersteller	Reinheit [%]
2-Chloro-3,4-dihydroxy-acetophenon	99-40-1	Sigma-Aldrich	97
3-(N-Morpholino)-Propansulfonsäure	1132-61-2	Fluka Analytical	> 99.5
Aceton	67-64-1	VWR	99.8
Acetonitril	75-05-8	Sigma-Aldrich	≥ 99.5
Ammoniak	7664-41-7	technisch	25
D,L-3,4-Dihydroxy-phenylalanin	63-84-3	Sigma Aldrich	99
3,4-Dimethoxyphenethylamine	120-20-7	Sigma Aldrich	97
Dopaminhydrochlorid	62-31-7	Sigma Aldrich	99
Eisen(II)chloridtetrahydrat	13478-10-9	Alfa Aesar	98
Eisen(III)chloridhexahydrat	10025-77-1	Grüssing	99
Eisen(III)nitratnonahydrat	7782-61-8	Sigma Aldrich	≥ 98
Essigsäure	64-19-7	VWR	99
Ethanol	64-17-5	VWR	≥ 99.8
Ethylacetat	141-78-6	Sigma Aldrich	≥ 99.5
Hydroxylaminhydrochlorid	5470-11-1	Grüssing	98
Imidazol-2-carboxaldehyd	10111-08-7	TCI	≥ 98
Manganpentacarbonylbromid	14516-54-2	STREM	98
Methanol	67-56-1	Fischer Scientific	99
Myoglobin aus dem Skelettmuskel	Pferde- 100684-32-0	Sigma Aldrich	95-100
Natriumcarbonat	497-19-8	Riedel-de Haën	≥ 99.8
Natriumdithionit	7775-14-6	Fischer Scientific	> 85
Natriumhydroxid	1310-73-2	Merck	≥ 99
Natriumtriacetoxyborhydrid	56553-60-7	Sigma Aldrich	97
Phosphorpentoxid	1314-56-3	Applichem/Panreac	98
Pyridin-2-aldehyd	1121-60-4	Sigma Aldrich	99
Salpetersäure	7697-37-2	technisch	65
Salzsäure	7647-01-0	Fischer Scientific	36.9

5.3 Synthesen

5.3.1 Maghemit-Nanopartikel (1)



In 380 mL destilliertem Wasser wurden 3.27 g (16.5 mmol) $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ und 8.7 g (32.2 mmol) $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ gelöst. Unter starkem Rühren mittels eines KPG-Rührers (50 % Leistung) wurde das Reaktionsgemisch mit 20 mL konz. Ammoniak versetzt, wobei 0.33 Tropfen pro Sekunde zugegeben wurden. Die entstandene rotbraune Suspension wurde für zehn Minuten bei 2000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, der Bodensatz mit 50 mL Salpetersäure (2 mol/L) suspendiert und für 5 min gerührt. Nach der Zugabe von 60 mL einer 0.35 mol/L Eisen(III)-nitrat Lösung wurde für eine Stunde zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen der Suspension wurde diese für 20 min bei 2000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Maghemit-Nanopartikel mit d.d. Wasser aufgenommen. Die entstandene dunkelrote Lösung wurde mit d.d. Wasser auf 200 mL aufgefüllt.

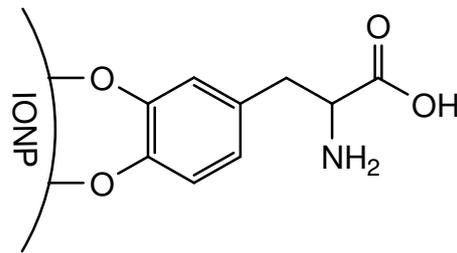
Ausbeute: 2.52 g.

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 3433, 1627, 1384, 629, 578.

DLS: 13±5 nm.

TEM: 8-12 nm

5.3.2 D/L-Dihydroxy-phenylalanin funktionalisierte Maghemit Nanopartikel (2)

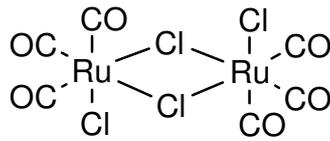


300 mg Maghemit Nanopartikel (**1**) wurden in 100 mL d.d. Wasser gelöst. 160 mg D,L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) wurden unter Ultraschall in 5 mL d.d. Wasser gelöst und zu der Lösung hinzugegeben. Der pH-Wert wurde mit verd. NaOH-Lösung auf 7.6 eingestellt und mit 800 mL Aceton versetzt. Die Partikel wurden mit einem Permanentmagneten sedimentiert und der Überstand verworfen. Abschließend wurden die Partikel dreimal mit je 50 mL Aceton gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 192 mg

IR-Spektrum (KBr): $\nu[\text{cm}^{-1}] = 581, 631$ (Fe-O Gerüstschwingung), 802 (DOPA), 879 (DOPA), 1384, 1587, 1445 (DOPA), 3431 (OH Oberflächenschwingung)

5.3.3 Tricarbonyldichlororuthenium(II) Dimer (3)

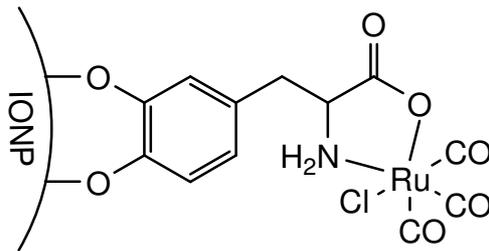


In einen Autoklaven mit Glasinlett wurden 2.00 g Trirutheniumdodecacarboxylat (3.1 mmol) 80 mL Chloroform und 2 mL Ethanol gegeben. Die Mischung wurde unter Stickstoffatmosphäre in einem Autoklaven bei 5 bar und 110 °C für 18 h gerührt. Die erhaltene Lösung wurde am Rotationsverdampfer auf die Hälfte eingedunstet. Der Kolben wurde über Nacht bei -10 °C gelagert, der Feststoff abfiltriert und dreimal mit 10 mL kaltem Chloroform gewaschen. Die vereinten Lösungen wurden erneut eingedunstet und zum Auskristallisieren in den Gefrierschrank gestellt. Die Lösung wurde so lange eingedunstet und auskristallisieren lassen, bis kein farbloser Feststoff mehr auskristallisierte.

Ausbeute: 1.47 g (62 %, Lit.^[152]: 61 % - 80 %).

IR-Spektrum (KBr): ν [cm⁻¹] = 2146 (freies CO), 2091, 2066 (Ru-CO), 610, 564, 477, 467.

5.3.4 CORM funktionalisierte Maghemit Nanopartikel, CORM@IONP (4)

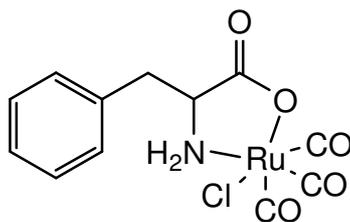


95 mg D/L-DOPA-funktionalisierte Nanopartikel (**2**), 90 mg (0.18 mmol) $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{CO})_6]_2$ und 50 mg Natriummethanolat wurden unter Stickstoffatmosphäre in 40 mL tr. Methanol suspendiert. Die Suspension wurde für 2 Stunden zum Rückfluss erhitzt, auf Raumtemp. abkühlen lassen und der Feststoff mit einem Permanentmagneten sedimentiert. Der Feststoff wurde dreimal mit jeweils 10 mL Aceton gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 80 mg.

IR (KBr): $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ = 3417 (br, s), 2961 (w), 2925 (w), 2856 (w), 2360 (w), 2238 (w), 2059 (m), 1986 (m), 1619 (s), 1482 (m), 1387 (w), 1262 (m), 1114 (w), 806 (w), 631 (s), 581 (s).

5.3.5 Tri(carbonyl)-chlorido-phenylalaninato-ruthenium(II) (5)



74 mg (0.45 mmol) D/L-Phenylalanin (2-Amino-3-phenylpropionsäure), 117 mg (0.23 mol) $[\text{RuCl}_2(\text{CO})_3]_2$ (**3**) und 42 mg (0.62 mol) Natriumethanolat wurden in 50 mL tr. Methanol unter Stickstoffatmosphäre bei Raumtemp. für 18 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und der entstandene Feststoff in 50 mL tr. Tetrahydrofuran wieder aufgenommen. Die Lösung wurde über Celite gefiltert, eingengt und ein gelblicher Feststoff mit *n*-Hexan ausgefällt.

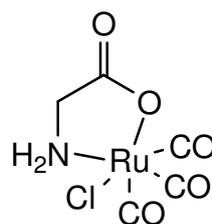
Ausbeute: 90 mg (0.23 mmol, 51 %).

IR (KBr): $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1} = 2137$ (s), 2057 (s), 1984 (m), 1644 (s).

MS (EI): $m/z = 320$ $[\text{M} - \text{CO}, \text{Cl}]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_8 -THF): $\delta = 7.38$ (d, $^3J=7.5$, 2H, 2,6-(ortho)- C_6H_5), 7.31 (t, $^3J=7.5$, 2H, 3,5-(meta)- C_6H_5), 7.21 (d, $^3J=7.3$, 1H, para- C_6H_5), 3.97 (m, 1H, CH), 3.42 (dd, 1H, diastereotopes H von CH_2), 3.04 (m, 1H, diastereotopes H von CH_2) ppm. Im NMR-Röhrchen konnte die Entstehung eines gelben Feststoffes aus der THF-Lösung innerhalb von 2 Stunden beobachtet werden. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigte zusätzliche kleine Signale bei 6.42 und 5.54 ppm auf. Diese könnten ein Indikator für die Entstehung eines weiteren Produkts durch Ligandenaustausch von CO und THF sein.

5.3.6 CORM-3 (6)

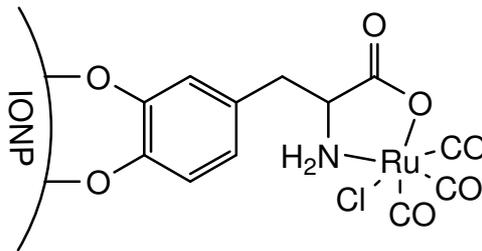


Unter Stickstoffatmosphäre wurden 129 mg (252 μmol) $[\text{RuCl}_2(\text{CO})_3]_2$, 39 mg (520 μmol) Glycin und 34 mg (630 μmol) Natriumethoxid in 75 mL tr. Methanol gegeben. Die Lösung wurde für 18 h bei Raumtemp. gerührt und färbte sich gelblich. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. bei 20 °C entfernt und der Rückstand in 50 mL Tetrahydrofuran suspendiert. Die Suspension wurde über eine Pore 3 Fritte filtriert und i. Vak. eingengt. Die Lösung wurde mit 50 mL *n*-Hexan versetzt und der entstandene Feststoff abfiltriert. Der gelbliche Feststoff wurde dreimal mit 5 mL *n*-Hexan gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 118 mg (80 %, Lit.^[107]:96 %)

IR: $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ = 2134 (s), 2072 (s), 2058 (s), 1985 (w). Das Spektrum ändert sich stark in Abhängigkeit des pH-Wertes.^[119]

5.3.7 $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}]$ DOPA-IONPs (7)



D/L-Dihydroxy-phenylalanin funktionalisierte Maghemit Nanopartikel (**2**) (20 mg) und $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2]_2$ (**3**) (20 mg, 45 mmol) wurden jeweils in 5 mL d.d. Wasser mit Ultraschall gelöst, vereint und bei Raumtemp. für drei Stunden gerührt. Nach der Zugabe von 50 mL Aceton wurden die Partikel mit einem Permanentmagneten sedimentiert und der Überstand verworfen. Der entstandene Feststoff wurde dreimal mit je 10 mL Aceton gewaschen und über Nacht i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 17.7 mg

IR (KBr): ν [cm^{-1}] = 584, 636 (Fe-O Gerüstschwingung), 817, 883 (DOPA), 1619, 1121, 1487 (DOPA), 1989 (M-CO), 2060 (M-CO), 2129 (M-CO).

5.3.8 Dextran@CORM@IONP (8c-500@7)

20 mg $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2]_2$ wurden in 5 mL d.d. Wasser in einem Schnappdeckelglas gelöst. 60 mg Dextran 500k wurden in 5 mL einer Lösung aus **2** (4 mg/mL in d.d. Wasser) ebenfalls in einem Schnappdeckelglas gelöst. Beide Lösungen wurden eine Stunde gerührt, dann vereinigt und für weitere 3 h gerührt. Das Schnappdeckelglas (25 mL) wurde komplett mit Aceton aufgefüllt und der ausgefallene Feststoff über Nacht sedimentiert. Der Feststoff wurde dreimal mit jeweils 5 mL Aceton gewaschen und anschließend i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 63 mg

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 548, 614 (FeO Gitterschwingungen), 766, 915, 1159 (CH Dextran), 848, 1009, 1426 (DOPA), 1367, 1647 (Nitrat- und Nitritschwingungen), 1985, 2059, 2141 (CO), 2924 (CO Dextran), 3435 (OH-Oberflächenschwingungen)

5.3.9 Synthese von Alginat@Dextran@CORM@IONP (9)

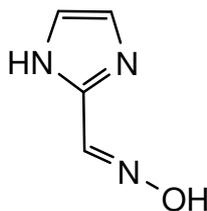
10 mg von **8c-500@7** wurden in 0.5 mL MOPS-Puffer mit Hilfe einer Spritze durch mehrmaliges Aufziehen gelöst. Anschließend wurden 0.3 mL der Lösung mit 0.7 mL Alginatlösung (50 mg Natriumalginat in 10 mL d.d. Wasser) vereint und wieder mit Hilfe einer Spritze gut durchmischt. Die entstandene stark viskose Lösung wurde durch eine Kanüle (B-Braun, Sterican, 0.60x80mm BL/LB, Einmal-Injektions-Kanüle) in eine Calciumchlorid-Lösung (2 g Calciumchlorid-Hexahydrat in 60 mL d.d. Wasser) getropft. Die entstandenen Kugeln wurden für 30 min. in der Lösung gelassen, um eine vollständige Quervernetzung des Polymers zu gewährleisten. Anschließend wurden die Kugeln fünfmal mit je 10 mL d.d. Wasser und dreimal mit je 10 mL MOPS-Puffer zur Lagerung gewaschen. Der Kugeldurchmesser betrug 2 mm.

Zur Herstellung von kleineren Kugeln (1 mm) wurde eine B-Braun, Sterican, 0.30x12mm BL/LB Kanüle verwendet.

5.3.10 Synthese von Alginat@CORM-3 (10)

3 mg CORM-3 (**6**) wurden in 10 mL MOPS-Puffer oder d.d Wasser mit Hilfe einer Spritze durch mehrmaliges Aufziehen gelöst. Anschließend wurden 0.3 mL der Lösung mit 0.7 mL Alginatlösung (50 mg Natriumalginat in 10 mL d.d. Wasser) vereint und wieder mit Hilfe einer Spritze gut durchmischt. Die entstandene stark viskose Lösung wurde durch eine Kanüle (B-Braun, Sterican, 0.60x80mm BL/LB, Einmal-Injektions-Kanüle) in eine Calciumchlorid-Lösung (2 g Calciumchlorid-Hexahydrat in 60 mL d.d. Wasser) getropft. Die entstandenen Kugeln wurden für 5 min. in der Lösung gelassen, um eine Quervernetzung des Polymers zu gewährleisten. Anschließend wurden die Kugeln fünfmal mit je 10 mL d.d. Wasser und dreimal mit je 10 mL MOPS-Puffer zur Lagerung gewaschen. Der Kugeldurchmesser betrug 2 mm.

5.3.11 Imidazol-2-Carbaldehyd Oxime (12)



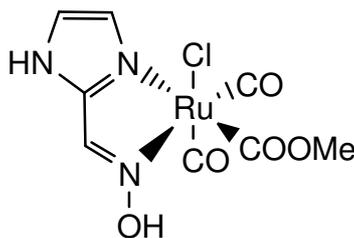
1.44 g (20.7 mmol) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ wurden in 8 mL Reinstwasser gelöst und mit 1.1 g (10.4 mmol) Na_2CO_3 neutralisiert. Anschließend wurden 1.0 g (10.4 mmol) Imidazol-2-Carboxaldehyde (**29**) hinzugefügt und 24 h bei 70 °C gerührt. Bei der anschließender Eiskühlung fiel ein farbloser Feststoff aus. Die Lösung wurde filtriert und mit d.d. Wasser gewaschen. Der Feststoff wurde i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 478 mg (41 %, Lit.: 44 % [35]).

HR-MS (ESI): $m/z = 112.05$ [M-H]⁺.

^1H NMR (300 MHz, D_2O): $\delta = 7.31$ (s, 1H, NO-H), 6.78 (s, 1H, NOH-CH-C), 6.39 (s, 2H, CH-CH), 6.34 (s, 1H, N-H) ppm.

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 3193 (OH-Schwingung), 3034, 2949 (C=CH-R Schwingung), 930,984 (HRC=CHR`-Schwingung).

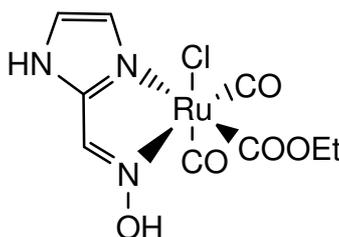
5.3.12 Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl) (13)

100 mg (0.20 mmol) Tricarbonyldichlororuthenium(II)-Dimer (**3**) wurden in einem Mikrowellenröhrchen in 1.5 mL Methanol gelöst. 66 mg (0.60 mmol) Imidazol-2-carbaldehydoxime (**26**) wurden in 1.5 mL Methanol gelöst und langsam unter Rühren zu dem zu dem Tricarbonyldichlororuthenium(II)-Dimer (**3**) gegeben. Das Mikrowellenröhrchen wurde verschlossen und bei 30°C für 7 Tage gerührt. Die Lösung wurde langsam rötlich und es bildete sich ein farbloser Feststoff. Die Lösung wurde zentrifugiert und der Überstand abgenommen. Der Feststoff wurde dreimal mit 2 mL kaltem Methanol gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der erneut ausfallende Feststoff wurde durch Zentrifugieren von der Lösung getrennt und mit kaltem Methanol gewaschen.

Ausbeute: 43.4 mg (31 %, Lit.: 41%^[141]).

IR-Spektrum (KBr): ν [cm⁻¹] = 2068, 1990 (CO-Schwingung).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ = 8.43 (s, 1H, N=C-H), 7.40 (d, J = 15.8 Hz, 2H, H-C=C-H), 3.36 (s, 3H, CH₃) ppm.

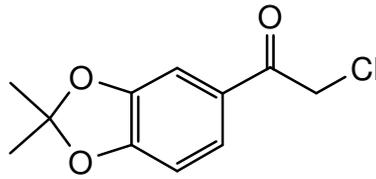
5.3.13 Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOEt)(CO)₂Cl) (14)

100 mg (0.20 mmol) Tricarbonyldichlororuthenium(II)-Dimer (**3**) wurden in einem Mikrowellenröhrchen in 1.5 mL Ethanol gelöst. 66 mg (0.60 mmol) Imidazol-2-carbaldehydoxime (**12**) wurden in 1.5 mL Ethanol gelöst und langsam unter Rühren zu dem zu dem Tricarbonyldichlororuthenium(II)-Dimer (**3**) gegeben. Das Mikrowellenröhrchen wurde verschlossen und bei 30 °C für 5 Tage gerührt. Die Lösung wurde langsam rötlich und es bildete sich ein farbloser Feststoff. Die Lösung wurde zentrifugiert und der Überstand abgenommen. Der Feststoff wurde dreimal mit 2 mL kaltem Ethanol gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der erneut ausfallende Feststoff wurde durch Zentrifugieren von der Lösung getrennt und mit kaltem Ethanol gewaschen.

Ausbeute: 68.4 mg (45 %, Lit.: 53 %^[141]).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ = 8.43 (s, 1H, N=C-H), 7.40 (d, 3J = 15.8 Hz, 2H, H-C=C-H), 3.62 (q, 3J = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 1.20 (t, 3J = 7.1 Hz, 3H, CH₃) ppm.

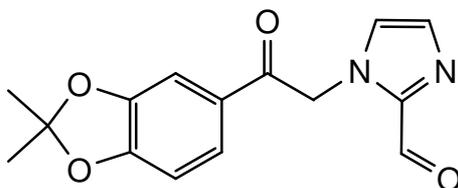
IR-Spektrum (KBr): ν [cm⁻¹] = 2067,1994 (CO-Schwingung).

5.3.142-Chloro-1-(2,2-dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)ethanone (16)

6 g (32.58 mmol) 2-Chloro-2,4-dihydroxy-acetophenon wurde mit 0.95 g Phosphorpentoxid in 120 mL tr. Toluol in einem 250 mL Dreihalskolben vorgelegt. Der Kolben wurde mit Septum und Rückflusskühler versehen und anschließend unter Rühren auf 75 °C erhitzt. Es wurde in 20 min Abständen je 0.55 mL Aceton und in 30 min Abständen je 0.85 g Phosphorpentoxid zugegeben. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches wurde der Überstand abgenommen und mit 24 mL 20 %iger Natronlauge versetzt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und die organische Phase dreimal mit je 60 mL dd. Wasser gewaschen. Das Lösemittel wurde abgezogen und der Rückstand i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 6.6 g (87 %)

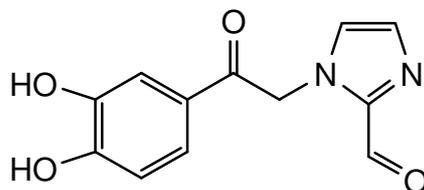
¹H NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ [ppm] = 7.64 (dd, 3J = 8.2 Hz, 4J = 1.8 Hz, 1H, CAR-H), 7.37 (dd, 4J = 1.8 Hz, 5J = 0.4 Hz, 1H, CAR-H), 6.90 (dd, 3J = 8.2 Hz, 5J = 0.4 Hz, 1H, CAR-H), 4.91 (s, 2H, CH₂-Cl), 1.71 (s, 6H, CH₃).

5.3.151-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazole-2-carbaldehyd (17)

5 g (22.1 mmol) (**16**), 2.34 g Na_2CO_3 und 4.24 g Imidazol-2-carboxaldehyd wurden in 200 mL Acetonitril in einem 250 mL Rundkolben vorgelegt. Es wurde ein Rückflusskühler mit Trockenrohr aufgesetzt und 10 d bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen der Reaktionsmischung wurde der ausgefallene Feststoff 30 min bei 10000 rpm abzentrifugiert. Der Überstand wurde in 1 L d.d. Wasser getropft, der ausfallende Feststoff abzentrifugiert und getrocknet. Der Feststoff wurde in 60 mL Ethylacetat gelöst und in 4 Durchgängen an einer 120 g Säule mit einer Flussgeschwindigkeit von 40 mL/min am Grace Säulenautomaten aufgetrennt.

Ausbeute: 2.5 g (40 %)

^1H NMR (300 MHz, Acetone- d_6): δ [ppm] = 9.67 (d, $3J = 0.9$ Hz, 1H, C-CH=O), 7.71 (dd, $3J = 8.2$ Hz, $4J = 1.8$ Hz, 1H, CAR-H), 7.48 (t, $4J = 0.9$ Hz, 1H, N-CH=C), 7.40 (d, $3J = 1.8$ Hz, 1H, CAR-H), 7.30 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, C=N-CH), 6.94 (d, $3J = 8.1$ Hz, 1H, CAR-H), 5.99 (s, 2H, C-CH₂-N), 1.72 (s, 6H, CH₃).

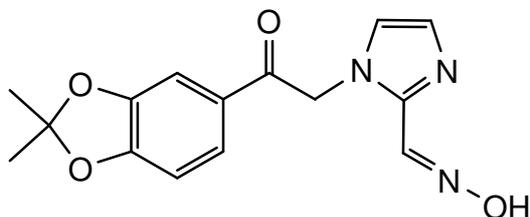
**5.3.161-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazole-2-carbaldehyd
(18)**

2 g (7 mmol) **19** wurden in 200 mL Essigsäure und 66 mL d.d. Wasser in einem 500 mL Rundkolben gelöst und mit 26 mL 6M Salzsäure versetzt. Es wurde 2 h bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen der Lösung wurde das Lösemittel abgezogen und der Rückstand mit 80 mL d.d. Wasser gewaschen. Es wurde 15 min bei 10000 rpm zentrifugiert und der Rückstand bei RT getrocknet. Der Überstand wurde mit Natriumhydroxid neutralisiert. Der ausgefallene Feststoff wurde abzentrifugiert und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 1.47 g (85 %)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 9.64 (s, 1H, C-CH=O), 7.57 (s, 1H, C_{AR}-H), 7.43 (d, ³J = 7.3 Hz, 1H, C_{AR}-H), 7.36 (s, 1H, C_{AR}-H), 7.32 (s, 1H, N-CH=C), 6.86 (s, 1H, C=N-CH), 5.88 (s, 2H, C-CH₂-N).

MS (ESI): m/z = 247.2 [M-H]⁺, 265.2 [M-H + H₂O]⁺.

5.3.17(E)-1-(2-(2,2-Dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxime (19)

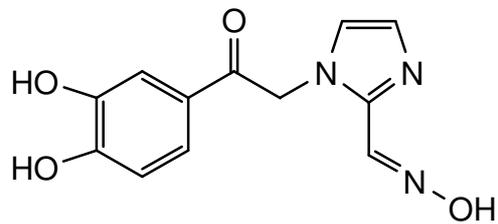
200 mg (0.70 mmol) **17** wurde zu 74 mg (0.7 mmol) Natriumcarbonat und 94 mg (1.4 mmol) Hydroxylaminhydrochlorid in 4 mL d.d. Wasser in einen 10 mL Rundkolben gegeben und 24 h bei 70 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in ein 50 mL Zentrifugenröhrchen überführt und 60 min bei 10000 rpm und 5 °C zentrifugiert. Nach dem Abdekantieren wurde der Rückstand mit Ethylacetat gewaschen, erneut 30 min bei 10000 rpm und 5 °C zentrifugiert und der Rückstand im HV getrocknet.

Ausbeute: 158 mg (75 %)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 11.22 (s, 1H, NO-*H*), 7.97 (s, 1H, NOH-*CH*-C), 7.65 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 2.4 Hz, 1H, C_{AR}-*H*), 7.44 (s, 1H, C_{AR}-*H*), 7.22 (s, 1H, C_{AR}-*H*), 7.11 – 6.98 (m, 2H, *CH=CH*), 5.86 (s, 2H, NCH₂), 1.70 (s, 6H, CH₃).

MS (ESI): *m/z* = 302.1 [M-H]⁺.

5.3.181-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazole-2-carbaldehyd-oxim (20)

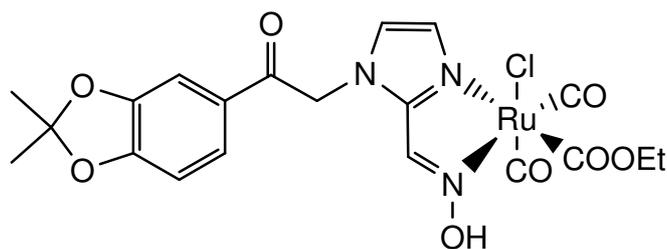


300 mg (1.22 mmol) (**18**), 95 mg (1.22 mmol) Na_2CO_3 und 169 mg (2.44 mmol) Hydroxylaminhydrochlorid wurden in 10 mL d.d. Wasser gegeben und 24 h bei 70 °C gerührt. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches wurde das Gemisch Eisgekühlt und der ausgefallene Feststoff 5 min bei 5000 rpm abzentrifugiert und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 151 mg (47 %)

MS (ESI): $m/z = 247.2$ $[\text{M}-\text{H}]^+$, 265.2 $[\text{M}-\text{H} + \text{H}_2\text{O}]^+$.

IR-Spektrum (KBr): ν $[\text{cm}^{-1}] = 1692$ (C=O Streckschwingung), 1472 (C=C aromatische Ringschwingungen).

5.3.19Ru(η^2 -19**)(COOEt)(CO)₂Cl (**21**)**

250 mg (0.83 mmol) **19** wurden mit 160 mg **3** (313 μ mol) in 5 mL Ethanol in ein Mikrowellenröhrchen gegeben. Es wurde 5 d bei 30 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde nach Eiskühlung 5 min bei 5000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, der Rückstand 2 Mal mit je 6 mL kaltem Ethanol gewaschen.

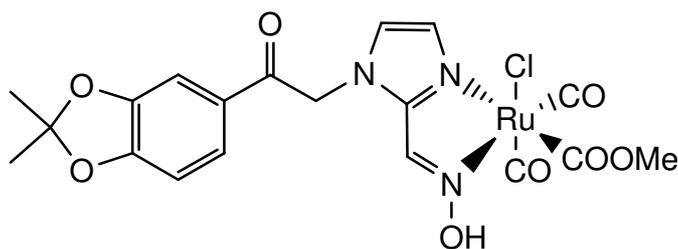
Ausbeute: 221 mg (47 %)

IR-Spektrum (ATR): ν [cm^{-1}] = 2059; 1986 (CO-Schwingungen)

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 2065, 1988 (CO-Schwingungen)

^1H NMR (300 MHz, Aceton- d_6): δ [ppm] = 8.73 (s, 1H), 7.72 (dd, J = 8.2, 1.8 Hz, 1H), 7.51 – 7.47 (m, 1H), 7.42 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.06 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 4.26 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 3.56 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 1.72 (s, 6H), 1.28 (dd, J = 8.5, 5.6 Hz, 2H), 1.12 (s, 1H).

MS (ESI): m/z = 499.1 [$\text{M} - \text{OEt}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ - \text{CO} + \text{C}_2\text{H}_3\text{N}$] $^+$, 527.0 [$\text{M} - \text{OEt}^- - \text{Cl}^- - \text{H}^+ + \text{C}_2\text{H}_3\text{N}$] $^+$.

5.3.20Ru(η^2 -19**)(COOMe)(CO)₂Cl (**22**)**

270 mg (0.9 mmol) **19** und 170 mg **3** (0.3 mmol) wurden je in 2.5 mL Methanol gelöst, unter Rühren in ein Mikrowellenröhrchen gegeben und verschlossen. Das Gefäß wurde verschlossen und 5 d bei 30 °C gerührt. Das unter Eiskühlung ausgefallene Produkt wurde 15 min bei 5000 rpm abzentrifugiert, mit 5 mL kaltem Methanol gewaschen und erneut 15 min bei 5000 rpm abzentrifugiert.

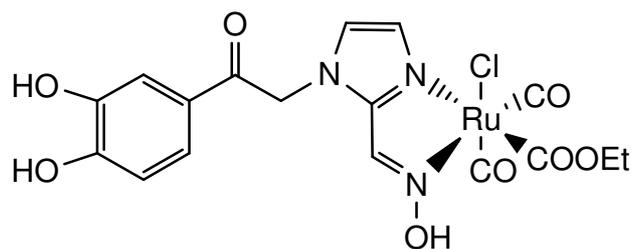
Ausbeute: 249 mg (50 %)

IR-Spektrum (ATR): ν [cm^{-1}] = 2074; 1985 (CO-Schwingungen)

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 2075; 1989 (CO-Schwingungen)

^1H NMR (300 MHz, Aceton- d_6): δ [ppm] = 8.75 (s, 1H, NO-**H**), 7.72 (dd, J = 8.2, 1.8 Hz, 1H, C_{AR}-**H**), 7.51 – 7.46 (m, 2H, CH=CH), 7.42 (d, J = 1.8 Hz, 1H, C_{AR}-**H**), 6.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C_{AR}-**H**), 6.05 (d, J = 3.7 Hz, 2H, NC-**H**₂), 3.75 (s, 3H, COOC-**H**₃), 1.72 (s, 6H, (CH₃)₂).

HR-MS (ESI): m/z = 499.1 [M -OMe⁻ -Cl⁻ -H⁺ -CO +C₂H₃N]⁺, 527.0 [M -OMe⁻ -Cl⁻ -H⁺ +C₂H₃N]⁺.

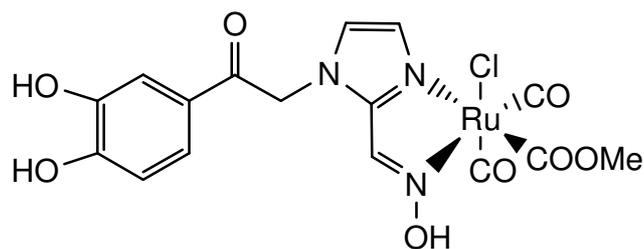
5.3.21 Ru(η^2 -20)(COOEt)(CO)₂Cl (23)

50 mg **20** (0.19 mmol) wurden in 1 mL Ethanol gelöst zu mit 48 mg **3** (96 μ mol) in 1 mL Ethanol getropft. Das Mikrowellenröhrchen wurde verschlossen und 7 d bei 30 °C gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde eisgekühlt und 5 min bei 5000 rpm abzentrifugiert. Der Rückstand wurde zweimal mit je 5 mL kaltem Ethanol gewaschen. Der Rückstand wurde i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 70 mg (70 %)

IR-Spektrum (KBr): ν [cm⁻¹] = 2064, 1995 (CO-Schwingungen), 1678 (C=O Streckschwingung), 1478 (C=C aromatische Ringschwingungen).

MS (ESI): m/z = 459.1 [M -OEt⁻ -Cl⁻ -H⁺ -CO + CH₃CN]⁺, 487.0 [M -OEt⁻ -Cl⁻ -H⁺ + CH₃CN]⁺.

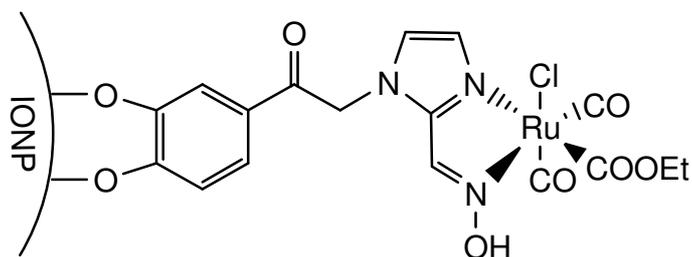
5.3.22Ru(η^2 -20)(COOMe)(CO)₂Cl (24)

50 mg **20** (0.19 mmol) wurden in 1 mL Methanol gelöst zu mit 32 mg **3** (63 μ mol) in 1 mL Methanol getropft. Das Mikrowellenröhrchen wurde verschlossen und 5 d bei 30 °C gerührt. Die klare braune Lösung wurde eingengt und der Rückstand i. Vak. getrocknet. Das Produkt konnte nicht aus dem Rückstand ausgefällt werden und wurde als Rohprodukt vermessen.

Rohausbeute: 88.5 mg

MS (ESI): $m/z = 459.2$ [M - OMe⁻ - Cl⁻ - H⁺ - CO + CH₃CN]⁺, 487.0 [M - OMe⁻ - Cl⁻ - H⁺ + CH₃CN]⁺.

5.3.23 Trägerung von $\text{Ru}(\eta^2\text{-20})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ auf IONP und Einbettung in Dextran (25)



Eine Suspension aus 5 mg **23** in 2 mL d.d. Wasser wurde mit wenigen Tropfen 0.1 M Natronlauge versetzt, bis sich eine klare Lösung bildete. Nun wurde 3 mL Maghemit-Nanopartikellösung (10 mg/mL) zugegeben und der Reaktionsansatz für 5 min gerührt. In einem zweiten Kolben wurden 60 mg Dextran in 5 mL d.d. Wasser gelöst und zum Reaktionsansatz gegeben. Nach weiteren 10 min Rühren wurde die Lösung neutralisiert, mit 100 mL Aceton ausgefällt und zentrifugiert. Der Rückstand wurde einmal mit 5 mL Ethanol gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 69 mg

IR (KBr): $\tilde{\nu} =$ 3400 (OH-Schwingung Dextran), 2064, 1995 (CO-Schwingung), 1678 (C=O-Streckschwingung).

5.3.24 Trägerung von (23) auf IONP und Einbettung in Dextran (26)

Eine Suspension aus 5 mg **23** in 2 mL d.d. Wasser wurde mit wenigen Tropfen 0.1 M Natronlauge versetzt, bis sich eine klare Lösung bildete. Nun wurde 3 mL Maghemit-Nanopartikel­lösung (10 mg/mL) zugegeben und der Reaktionsansatz für 5 min gerührt. In einem zweiten Kolben wurden 60 mg Dextran 500k in 5 mL d.d. Wasser gelöst und zum Reaktionsansatz gegeben. Nach weiteren 10 min Rühren wurde die Lösung neutralisiert, mit 100 mL Aceton ausgefällt und zentrifugiert. Der Rückstand wurde einmal mit 5 mL Ethanol gewaschen und i. Vak. getrocknet.

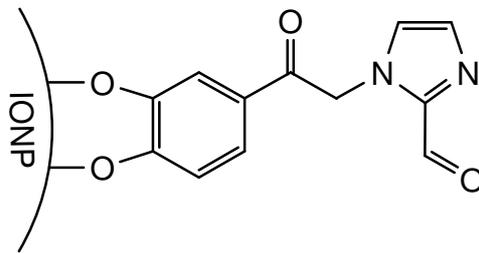
Ausbeute: 69 mg

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3400 (OH-Schwingung Dextran), 2064, 1995 (CO-Schwingung), 1678 (C=O-Streckschwingung).

5.3.25 Einbettung von (26) in Alginatkügelchen (27)

10 mg **26** wurden in 0.5 mL 3-(N-Morpholin)-propansulfonsäure-Puffer (pH 7.4) dispergiert. Anschließend wurde eine Lösung aus 50 mg Natriumalginat in 10 mL d.d. Wasser hergestellt und 0.5 mL dieser Lösung zum Ansatz gegeben. Nach Homogenisierung dieser Lösung wurde sie vorsichtig zu einer Lösung aus 2 g $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 60 mL d.d. H_2O getropft. Die gebildeten Kugeln wurden für 30 min zur Quervernetzung in der CaCl_2 -Lösung belassen und anschließend mit 3-(N-Morpholin)-propansulfonsäure-Puffer gewaschen und gelagert.

5.3.26 Trägerung von 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd (9) auf IONP (28)



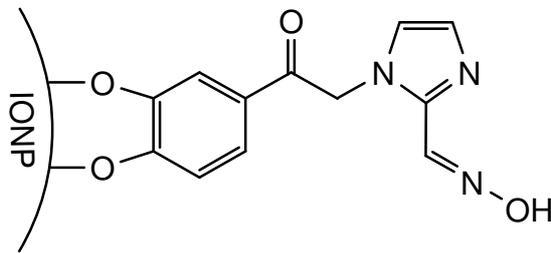
100 mg **18** (0.41 mmol) wurden in 6 mL d.d. Wasser gegeben und mit verdünnter Natronlauge pH 10 eingestellt. Es wurden 2 mL Maghemit-Nanopartikelösung (10 mg/mL) zugegeben und für 10 min gerührt. 2 mL der Lösung wurden in 10 mL Aceton gegeben. Der ausgefallene Feststoff wurde mit einem Magneten sedimentiert, zentrifugiert, dreimal mit 10 mL Aceton gewaschen und im Trockenschrank getrocknet.

Ausbeute: 25 mg

IR-Spektrum (KBr): ν [cm⁻¹] = 1686 (C=O Streckschwingung), 1488 (C=C aromatische Ringschwingungen).

DLS-Messung: Mittelwert hydrodynamischer Radius 23 ± 4 nm.

5.3.27 Trägerung von 1-(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxoethyl)-1H-imidazol-2-carbaldehyd-oxim (13) auf IONP (29)



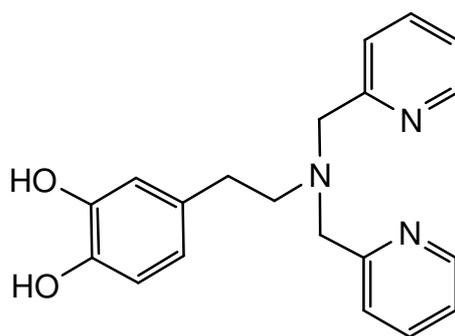
5 mg **20** (0.41 mmol) wurden in 1 mL d.d. Wasser gegeben und mit verdünnter Natronlauge (0.2 μ L 1M) gelöst und in 1 mL Nanopartikellösung gegeben. Die Lösung wurde mit 0.1 mol/L Salzsäure neutralisiert und anschließend in Aceton ausgefällt. Die Partikel wurden 5 min bei 5000 rpm zentrifugiert und mit 10 mL Aceton gewaschen.

Ausbeute: 7 mg

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 1638 (C=O Streckschwingung), 1490 (C=C aromatische Ringschwingungen).

DLS-Messung: Mittelwert hydrodynamischer Radius 32 ± 10 nm.

5.3.284-(2-(bis((pyridin-2-yl)methyl)amino)ethyl)-benzene-1,2-diol (32)



Es wurden 180 mL tr. Dichlormethan vorgelegt und im Stickstoffgegenstrom 1.71 g (9.02 mmol) Dopaminhydrochlorid und 4.72 g (22.3 mmol) Natriumtriacetoxyborhydrid zugegeben. Die Lösung wurde mit einem Eis-Salz-Bad auf 0 °C herunter gekühlt. Unter Rühren wurden 2.2 mL (23.1 mmol) Pyridin-2-Aldehyd zu der Lösung getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktionslösung für eine Stunde bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde über Nacht auf Raumtemp. erwärmt und für weitere 19 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit 80 mL Dichlormethan versetzt und das Produkt mit 200 mL 0.7 M Salzsäure extrahiert. Mit einer Natriumhydroxid-Lösung wurde die wässrige Phase neutralisiert und der entstandene Feststoff in Dichlormethan gelöst. Die abgetrennte organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Dichlormethan i. Vak. entfernt. Das entstandene gelbe Öl wurde in 6 mL Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch an einer GraceResolv Silica 24 g/32 mL Säule gereinigt. Als Eluent wurde eine Mischung aus Dichlormethan und Methanol mit den unten angegebenen Verhältnissen verwendet.

Schritt	x · Säulenvolumen	Eluenten-Verhältnis Dichlormethan : Methanol
1	0.0	95 : 5
2	3.3	95 : 5
3	3.3	90 : 10
4	3.3	80 : 20
5	1.0	40 : 60
6	5.0	40 : 60

Das Lösemittel wurde im Hochvakuum entfernt, es wurde ein gelblicher Feststoff erhalten.

Ausbeute: 1.1 g (3.26 mmol, 36 %).

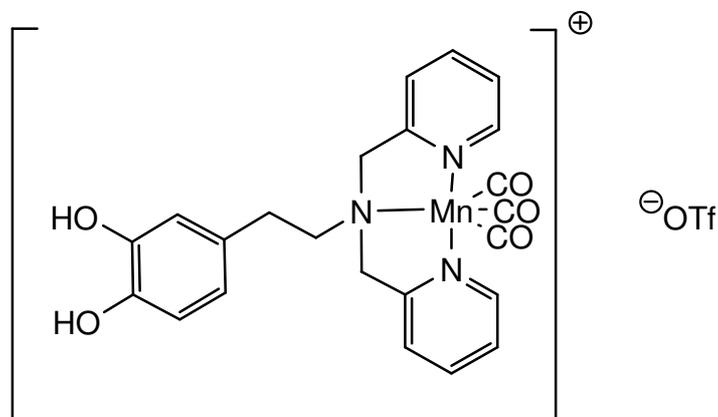
5 Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.40$ (d, $^3J = 4.2$ Hz, $-\text{N}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}$), 7.58 (td, $^3J = 7.7$ Hz, $^2J = 1.9$ Hz, 2H, $-\text{C}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}$), 7.40 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 2H, $-\text{C}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}$), 7.10 (ddd, $^3J = 7.4$ Hz, 2H, $-\text{N}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}$), 6.67 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, $-\text{COH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}$), 6.51 (d, $^4J = 2.0$ Hz, 1H, $-\text{COH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}$), 6.35 (dd, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, $-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}$), 3.81 (s, 4H, $-\text{C}_{\text{PY}}-\text{CH}_2-\text{N}$ -), 2.65 - 2.60 (m, 2H, $-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -), 2.60 – 2.55 (m, 2H, $-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 159.2$ ($-\text{CH}_2-\text{C}_{\text{PY}}-\text{N}_{\text{PY}}$ -), 148.4 ($-\text{N}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}$ -), 145.0 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{COH}_{\text{Ar}}-\text{COH}_{\text{Ar}}$ -), 143.4 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{COH}_{\text{Ar}}-\text{COH}_{\text{Ar}}$ -), 137.3 ($-\text{C}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}$ -), 132.1 ($-\text{C}_{\text{Ar}}$ -), 123.6 ($-\text{C}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}$ -), 122.5 ($-\text{N}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}-\text{CH}_{\text{PY}}$ -), 120.4 ($-\text{COH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}$ -), 116.0 ($-\text{COH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}$ -), 115.4 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}$ -), 59.8 ($-\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}_{\text{PY}}$ -), 56.6 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -), 32.7 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -) ppm.

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 3052 (OH-Streckschwingung), 3019 (aromatische =C-H Streckschwingung), 2929 (C-H Streckschwingungen), 1593 (Pyridin), 1282 (-O-H), 766 (C-H).

5.3.29 [Mn(CO)₃(4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)benzen-1,2-diol)]OTf (33)



In einem sekurierten Schlenkcolben wurden 212 mg (0.77 mmol) Manganpentacarbonylbromid und 208 mg (0.81 mmol) Silbertriflat in 30 mL trockenem Aceton vorgelegt und unter N₂-Atmosphäre für 1.5 h in einer lichtgeschützten Apparatur zum Rückfluss erhitzt. In einem zweiten sekurierten Kolben wurden 271 mg **32** (0.81 mmol) (4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)benzen-1,2-diol in 30 mL trockenem Aceton gelöst. Nach dem Erhitzen unter Rückfluss für 2 h und kurzem Abkühlen wurde der Überstand über eine Fritte (Pore 3) in die Liganden-Lösung überführt. Der Kolben wurde mit 10 mL tr. Aceton gespült. Die vereinten Lösungen wurden ebenfalls unter Lichtausschluss für 1.5 h zum Rückfluss erhitzt. Die abgekühlte Lösung wurde i. Vak. eingeeengt und in 10 mL tr. Aceton aufgenommen. Mit 90 mL *n*-Hexan wurde das Produkt überschichtet und über Nacht im Kühlschrank stehen gelassen. Die überstehende Lösung wurde mit einer Spritze abgenommen und der ausgefallene gelbliche Feststoff getrocknet. Zur Aufreinigung wurde das Produkt erneut in 20 mL Aceton gelöst und mit 80 mL *n*-Hexan wie oben beschrieben ausgefällt und erneut getrocknet.

Ausbeute: 387 mg (0.62 mmol, 80 %).

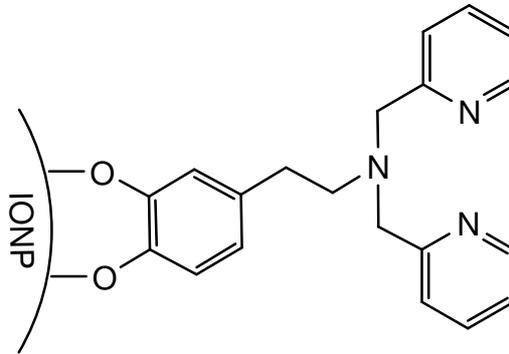
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 8.76 (d, ³J = 5.1 Hz, -N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.69 (t, ³J = 7.0 Hz, 2H, -N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.29 (d, ³J = 7.1 Hz, 2H, -C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.22 (t, ³J = 7.3 Hz, 2H, -N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 6.62 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H, -COH_{Ar}-CH_{Ar}-CH_{Ar}), 6.55 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, -COH_{Ar}-CH_{Ar}-C_{Ar}), 6.51 (d, ³J = 1.9 Hz, 1H, -CH_{Ar}-CH_{Ar}-C_{Ar}), 4.74 (d, J = 16.7 Hz, -C_{Py}-CH₂-N-), 4.46 (d, J = 16.6 Hz, -C_{Py}-CH₂-N-), 3.72 (s, 2H, -C_{Ar}-CH₂-CH₂), 2.97 (s, 2H, C_{Ar}-C₂-CH₂) ppm.

5 Experimenteller Teil

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 159.2$ ($-\text{CH}_2-\text{C}_{\text{Py}}-\text{N}_{\text{Py}}-$), 149.1 ($-\text{N}_{\text{Py}}-\text{CH}_{\text{Py}}-\text{CH}_{\text{Py}}-$), 148.0 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{COH}_{\text{Ar}}-\text{COH}_{\text{Ar}}-$), 147.3 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{COH}_{\text{Ar}}-\text{COH}_{\text{Ar}}-$), 136.5 ($-\text{C}_{\text{Py}}-\text{CH}_{\text{Py}}-\text{CH}_{\text{Py}}-$), 133.2 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-$), 122.9 ($-\text{C}_{\text{Py}}-\text{CH}_{\text{Py}}-\text{CH}_{\text{Py}}-$), 122.1 ($-\text{N}_{\text{Py}}-\text{CH}_{\text{Py}}-\text{CH}_{\text{Py}}-$), 120.8 ($-\text{CO}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-$), 112.3 ($-\text{CO}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}-$), 111.1 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-\text{CH}_{\text{Ar}}-$), 60.4 ($-\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}_{\text{Py}}-$), 56.3 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 56.1 ($\text{CH}_3-\text{O}-\text{C}_{\text{Ar}}$), 55.8 ($\text{CH}_3-\text{O}-\text{C}_{\text{Ar}}$) 33.3 ($-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$) ppm.

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 3338 (OH-Streckschwingung), 2038, 1958, 1917 (-CO Streckschwingung), 1610-1449 (Pyridin), 1029 (C-O), 777, 637 (C-H).

5.3.30 Trägerung von IONP mit 4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)benzen-1,2-diol (34)



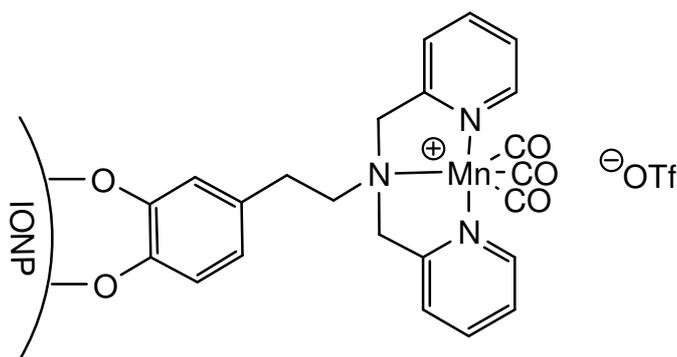
40 mg **32** (0.12 mmol) 4-(2-(Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)benzen-1,2-diol wurden zunächst in einigen Tropfen Salzsäure pH 2 gelöst. Anschließend wurde ein pH-Wert von 5 eingestellt und der Ansatz mit d.d. Wasser auf ein Gesamtvolumen von 10 mL aufgefüllt. Ein Milliliter dieser Lösung wurde mit 1 mL der Maghemit-Nanopartikel Lösung (10 mg/mL) vereint und mittels weniger Tropfen einer verdünnten Natriumhydroxid-Lösung basisch gestellt (pH 12). Nach ausreichendem Vermischen wurde der Feststoff für 10 min bei 6000 rpm Leistung mit der Tischzentrifuge zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Präzipitat mit d.d. Wasser gewaschen, bis das Waschwasser nach erneuter Zentrifugation fast farblos war.

Ausbeute: 28.6 mg.

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 3431 (OH-Streckschwingung), 1630 (Pyridin), 1477 (Alkan), 1259 (-O-H), 623 (Fe-O-Gerüstschwingung).

DLS: 35±6 nm.

5.3.31 Trägerung von IONP mit $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}^-$ (35)



$[\text{Mn}(\text{CO})_3(4-(2-(\text{Bis}(\text{pyridin-2-ylmethyl})\text{amino})\text{ethyl})\text{benzen-1,2-diol})]^+\text{OTf}^-$ (**33**) (4 mg, 6 μmol) wurden in 1 mL DMSO gelöst. Die Lösung wurde mit dem gleichen Volumen Maghemit-Nanopartikel Stammlösung (10 mg/mL) vermengt, mit einigen Tropfen einer Natriumhydroxid Lösung basisch gestellt (pH 12) und anschließend für fünf Minuten bei 100 % Leistung in der Zentrifuge sedimentiert. Der Überstand wurde verworfen und die Nanopartikel zweimal mit je 2 mL d.d. Wasser gewaschen. Das Waschwasser wurde verworfen und die noch feuchten Nanopartikel in 1.5 mL DMSO gelöst.

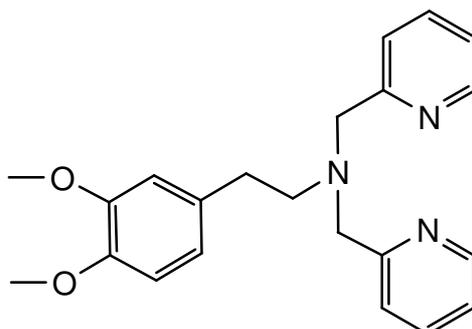
Ausbeute: 32.2 mg.

IR-Spektrum (KBr): ν [cm^{-1}] = 3434 (-OH Schwingung), 2078, 2032, 1924 (-CO Streckschwingungen), 1631, 1383 (Nitrat und Nitrit), 1536-1485 (Pyridin), 797, 693 (Alkan), 629 (Fe-O-Gerüstschwingung).

DLS: 37 \pm 6 nm.

TEM: 5-10 nm (exakte Auswertung auf Grund der Auflösung nicht möglich.).

5.3.322-(3,4-dimethoxyphenyl)-N,N-bis((pyridin-2-yl)methyl)ethanamin (36)



5 Experimenteller Teil

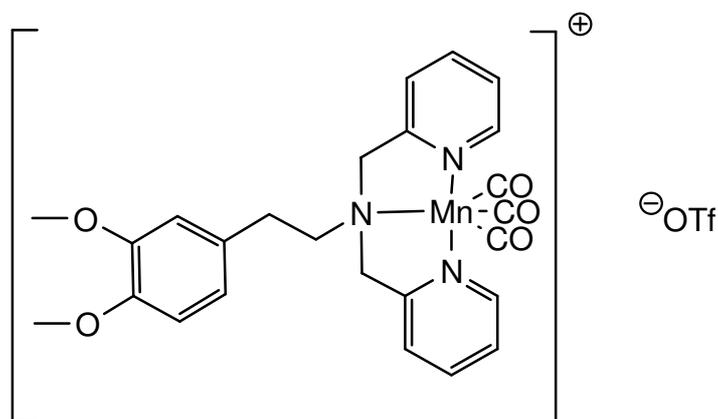
3,4-Dimethoxyphenethylamin (1.74 g, 8.66 mmol), Natriumtriacetoxyborhydrid (4.7 g, 22.1 mmol) und (2.2 mL, 23.1 mmol) Pyridin-2-aldehyd wurden in 80 mL tr. Dichlormethan gelöst. Die Lösung wurde 1 h bei 0° C und anschließend 72 h bei Raumtemp. gerührt. Nach der Zugabe von 100 mL Dichlormethan wurde die Lösung zweimal mit je 80 mL ges. NaCl-Lösung und 80 mL d.d. Wasser gewaschen. Die wässr. Phase wurde zweimal mit 50 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten org. Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an einer GraceResolv Silica 24 g/32 mL Säule gereinigt. Die Durchführung erfolgte analog (Abschnitt 5.3.28).

Ausbeute: 1.5 g (4.13 mmol, 48 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 8.47 (d, ³J = 4.9 Hz, -N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.54 (td, ³J = 7.7 Hz, ²J = 1. Hz, 2H, -C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.33 (d, ³J = 7.8 Hz, 2H, -C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.08 (ddd, ³J = 7.3 Hz, 2H, -N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 6.72 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H, -COH_{Ar}-CH_{Ar}-CH_{Ar}), 6.61 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, -COH_{Ar}-CH_{Ar}-C_{Ar}), 6.57 (d, ³J = 1.9 Hz, 1H, -CH_{Ar}-CH_{Ar}-C_{Ar}), 3.85 (s, 4H, -C_{Py}-CH₂-N), 3.81 (s, 4H, -O-CH₃), 3.74 (s, 4H, C_{Ar}-O-CH₃) 2.73- 2.79 (m, 4H, -C_{Ar}-CH₂-CH₂-) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 159.2 (-CH₂-C_{Py}-N_{Py}), 149.1 (-N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 148.0 (-C_{Ar}-CH_{Ar}-COH_{Ar}-COH_{Ar}), 147.3 (-C_{Ar}-CH_{Ar}-COH_{Ar}-COH_{Ar}), 136.5 (-C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 133.2 (-C_{Ar}-), 122.9 (-C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 122.1 (-N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 120.8 (-CO_{Ar}-CH_{Ar}-CH_{Ar}), 112.3 (-CO_{Ar}-CH_{Ar}-C_{Ar}), 111.1 (-C_{Ar}-CH_{Ar}-CH_{Ar}), 60.4 (-N-CH₂-C_{Py}), 56.3 (-C_{Ar}-CH₂-CH₂-), 56.1 (CH₃-O-C_{Ar}), 55.8 (CH₃-O-C_{Ar}) 33.3 (-C_{Ar}-CH₂-CH₂-) ppm.

5.3.33 [Mn(CO)₃Br(N,N,N-OMe)]OTf (37)



5 Experimenteller Teil

In einem sekurierten 50 mL Schlenkkolben wurden unter N₂-Atmosphäre 100 mg (0.36 mmol) Mg(CO)₅Br und 94 mg (0.36 mmol) AgTf vorgelegt und in 15 mL tr. Aceton gelöst. Die Reaktionslösung wurde 1.5 h zum Rückfluss erhitzt. In einem zweiten sekurierten 50 mL Schlenkkolben wurden 10 mL tr. Aceton unter N₂-Atmosphäre vorgelegt. Die Reaktionslösung wurde filtriert und in 10 mL tr. Aceton mit 130 mg ~~\$\$\$~~ (0.36 mmol) 4-(2-(bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)benzene-1,2-dimethoxy inert überführt. Die vereinigten Lösungen wurde 1.5 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 1 mL Volumen im Vakuum eingeeengt, mit *n*-Hexan überschichtet und 3 d in den Kühlschrank gestellt. Anschließend wurde der Überstand dekantiert und der Feststoff im Vakuum getrocknet. Es resultierte ein gelbes, feines Pulver.

Ausbeute: 196 mg (0.29 mmol, 80 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 8.47 (d, ³J = 4.9 Hz, -N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.54 (td, ³J = 7.7 Hz, ²J = 1. Hz, 2H, -C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.33 (d, ³J = 7.8 Hz, 2H, -C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 7.08 (ddd, ³J = 7.3 Hz, 2H, -N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 6.72 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H, -COH_{Ar}-CH_{Ar}-CH_{Ar}), 6.61 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, -COH_{Ar}-CH_{Ar}-C_{Ar}), 6.57 (d, ³J = 1.9 Hz, 1H, -CH_{Ar}-CH_{Ar}-C_{Ar}), 3.85 (s, 4H, -C_{Py}-CH₂-N), 3.81 (s, 4H, -O-CH₃), 3.74 (s, 4H, C_{Ar}-O-CH₃) 2.73- 2.79 (m, 4H, -C_{Ar}-CH₂-CH₂-) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 159.2 (-CH₂-C_{Py}-N_{Py}), 149.1 (-N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 148.0 (-C_{Ar}-CH_{Ar}-COH_{Ar}-COH_{Ar}), 147.3 (-C_{Ar}-CH_{Ar}-COH_{Ar}-COH_{Ar}), 136.5 (-C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 133.2 (-C_{Ar}), 122.9 (-C_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 122.1 (-N_{Py}-CH_{Py}-CH_{Py}), 120.8 (-CO_{Ar}-CH_{Ar}-CH_{Ar}), 112.3 (-CO_{Ar}-CH_{Ar}-C_{Ar}), 111.1 (-C_{Ar}-CH_{Ar}-CH_{Ar}), 60.4 (-N-CH₂-C_{Py}), 56.3 (-C_{Ar}-CH₂-CH₂-), 56.1 (CH₃-O-C_{Ar}), 55.8 (CH₃-O-C_{Ar}) 33.3 (-C_{Ar}-CH₂-CH₂-) ppm.

5.4 Durchführung des Myoglobin Assays

5.4.1 3-(*N*-Morpholino)-propansulfonsäure-Puffer

5.225 g (0.25 mol) 3-(*N*-Morpholino)-propansulfonsäure wurden in 190 mL d.d. Wasser gelöst. Anschließend wurde mit einer pH-Elektrode und verdünnter Natronlauge der pH-Wert auf 7.4 eingestellt und die Lösung auf 250 mL aufgefüllt.

5.4.2 Myoglobin-Assay mit CORM@IONP

Die UV/Vis-Spektren wurden mit einem Specord S 100 Spektrometer der Firma Analytik Jena aufgenommen. Alle Arbeiten wurden unter Argon oder Stickstoff in temperierten Küvetten durchgeführt.

Es wurde eine Myoglobin-Stocklösung (44 mmol/L) aus 20 mg Myoglobin (1.17 mmol) gelöst in 13 mL 3-(*N*-morpholin)-propansulfonsäure-Puffer (0.1 mol/L, pH 7.4) hergestellt. Nach dem Entgasen wurde diese mit 100 mg Natriumdithionit (575 μ mol) reduziert. Die Küvette wurde inert mit 1.4 mL der Myoglobin-Stocklösung und 1.5 mg der CORM funktionalisierten Nanopartikel befüllt. Die Messung wurde schnellst möglichst gestartet.

5.4.3 Myoglobin-Assay mit Dextran@CORM@IONP

5.0 mg (0.29 μ mol) Myoglobin vom Pferdeherzmuskel wurden in 3.25 mL MOPS-Puffer gelöst und mit Schutzgas entgast. Anschließend wurden 30 mg Natriumdithionit (179 μ mol, Überschuss von 550 äq zugegeben, um das Myoglobin zu reduzieren. In den ebenfalls entgasten MOPS-Puffer wurden 1.2 mg von **8c-500** in 1.4 mL Pufferlösung mit Hilfe einer Spritze gelöst. In eine temperierbare Küvette wurden 0.6 mL der gelösten Probe, 0.6 mL MOPS-Puffer und 0.2 mL der Myoglobinstocklösung unter Ausschluss von Sauerstoff überführt. Die endgültigen Konzentrationen in der Küvette betragen 12.8 μ M Myoglobin und 7.04 mM Natriumdithionit. Als Referenz diente eine Lösung aus 0.8 mL MOPS-Puffer und 0.6 mL der Probenlösung. Die Messung wurde direkt nach Zugabe der Myoglobinstocklösung gestartet.

5.4.4 Myoglobin-Assay mit Alginat@Dextran@CORM@IONP

Die Myoglobinstocklösung wurde wie in **5.4.3** beschrieben angefertigt. In die Küvette wurden 15 Kugeln (**9**) überführt, 1.2 mL MOPS-Puffer und 0.2 mL der Myoglobinstocklösung. Die Kugeln wurden mit Hilfe eines Permanentmagneten am Küvettenboden gehalten, um ein Eindringen in den Strahlengang zu verhindern. Als Referenz diente eine reine MOPS-Pufferlösung.

5.4.5 Myoglobin-Assay mit Oxim basierten CORMs

In einen Erlenmeyerkolben mit Schliff wurden 6.3 mg Myoglobin vom Pferdeherzmuskel gegeben. Der Kolben wurde mit einem Septum verschlossen und es wurden 5 mL 3-(*N*-morpholin)propansulfonsäure-Puffer (pH 7.4; 0.1 M) zugegeben. Man erhält eine Lösung, die 66 µM stark ist. Durch die Lösung wurde 5 Minuten lang Stickstoff geleitet. Anschließend wurden 5 mg Natriumdithionit (5.7 mmol / mL) zugegeben. Die Mischung wurde weitere 10 Minuten lang mit Stickstoff entgast. Es wurde 1.0 mg des Analyten in so viel Dimethylsulfoxid gelöst, bis eine 10 mM starke Lösung erhalten wurde. Eine temperierbare Küvette, welche 30 Minuten lang unter Stickstoff gelagert wurde, wurde im Stickstoffgegenstrom mit 1.5 mL der vorbereiteten Myoglobin-Pufferlösung befüllt. Anschließend wurden 6 µL der Analyten-Lösung hinzugefügt, die Küvette wurde mit einem Teflonstopfen fest verschlossen und die Messung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung schnellstmöglich gestartet.

5.4.6 Myoglobin-Assay mit Dextran@OximCORM@IONP

Ein 50 mL Erlenmeyerkolben wurde mit 3-(*N*-Morpholino)propansulfonsäure Puffer (MOPS Puffer) (0.1 mol/L, pH 7.4) gefüllt und für 5 min mit Stickstoff entgast. In einem 25 mL Erlenmeyerkolben wurden 5.4 mg Myoglobin in 7 mL entgastem MOPS Puffer gelöst und für 5 min mit Stickstoff entgast. Anschließend wurden 5 mg Natriumdithionit zugegeben und die Lösung unter Stickstoff gelagert. Es wurde eine UV Referenzmessung mit reinem MOPS-Puffer durchgeführt. Eine temperierbare Küvette wurde für 30 min mit Stickstoff gespült. Anschließend wurden 15 Alginatkügelchen (**27**) unter Stickstoff in die Küvette gefüllt und die Küvette mit entgastem MOPS-Puffer aufgefüllt. Nun wurden 200 µL des MOPS-Puffers

(0.1 mol/L, pH 7.4) abgenommen, durch entgaste Myoglobinlösung (5.4 mg Myoglobin auf 7 mL d.d. Wasser) ersetzt und die Küvette zügig mit einem Teflonstopfen verschlossen. Die Messung der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung wurde schnellstmöglich gestartet.

5.4.7 Myoglobin-Assay mit PhotoCORM

Es wurden 6.3 mg Myoglobin von Pferde-Skelett-Muskulatur in 5 mL MOPS-Puffer gelöst. Durch den MOPS-Puffer wurde zuvor für 10 min Stickstoff gespült. Die Myoglobin-Lösung wurde über ein Septum für 5 Minuten mit Stickstoff durchspült. Anschließend wurde im Stickstoffgegenstrom 5 mg Natriumdithionit zugegeben. Abschließend wurde die Myoglobin-MOPS Lösung (Myoglobin-MOPS) erneut für 10 min mit Stickstoff durchspült.

An jedem Versuchstag wurde die Lösung frisch angesetzt. Mit jeder Lösung wurden vier Messungen, im gleichen Aufbau wie zuvor beschrieben, durchgeführt. Die sekurierten Küvetten wurden im Stickstoffgegenstrom jeweils mit 1.5 mL Lösung befüllt und mit einem Teflonstopfen fest verschlossen. Für die Hauptmessung wurden 1.5 mg des Mangan-Liganden (**33**) in 1.32 mL DMSO gelöst. Im Stickstoffgegenstrom wurden 6 µL dieser Lösung in eine mit 1.5 mL Myoglobin-MOPS befüllte Küvette überführt und kurz durch auf- und abpipettieren durchmischt. Unmittelbar im Anschluss wurde die Küvette in die Apparatur gestellt und die Messung nach einigen Sekunden Temperierzeit gestartet. Bei jeder Messung war die UV-Lampe im gleichen Abstand eingeschaltet. Als Referenz wurde MOPS-Puffer vermessen.

5.4.8 Myoglobin-Assay mit PhotoCORM@IONP

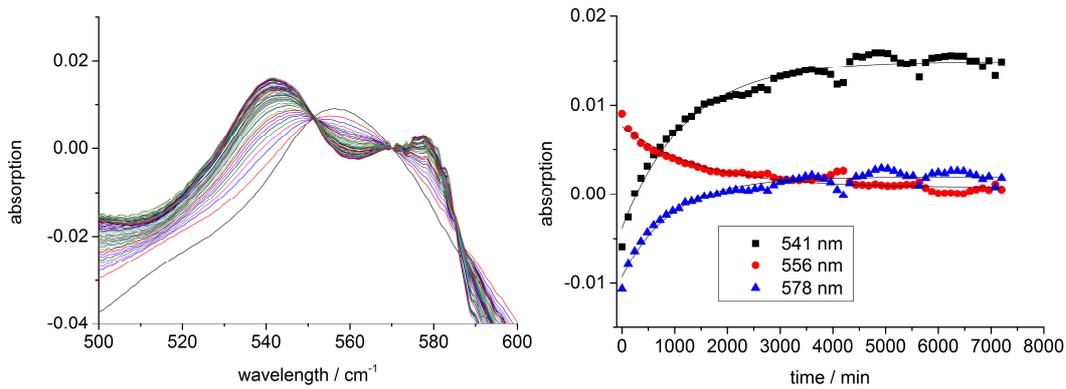
Bei der Vermessung der Nanopartikel (**18**) wurde die Myoglobin Lösung ebenso angesetzt wie bei der Messung des reinen Liganden (**8**), lediglich die Probenvorbereitung wich ab.

Die Maghemit-Nanopartikel (**16**) wurden vor jeder Messung frisch mit $[\text{Mn}(\text{CO})_3\text{Bpmd}]^+\text{OTf}$ (**8**), wie in Abschnitt 5.3.31 beschrieben, geträgert. Von der Mangan-Liganden Nanopartikel Lösung (**18**) wurden 52 µL mit 1 mL einer Alginate Lösung zu einer homogenen Lösung vermischt. Dazu wurde spätestens alle zehn Tage erneut 50 mg Natriumalginate in 10 mL dd. Wasser gelöst. Das homogene Nanopartikel-Alginate-Gemisch wurde anschließend mit einer Spritze und einer Sterican® 0.60x80 mm Kanüle in eine Calciumchlorid Lösung (3 g Calcium

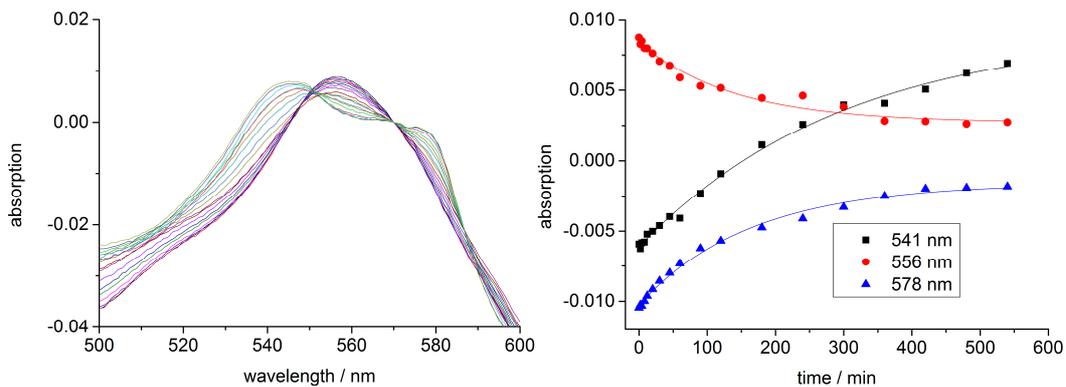
5 Experimenteller Teil

Hexahydrat in 60 mL Reinstwasser) getropft. Die entstandenen Kügelchen wurden 30 min in der Calciumchlorid Lösung gelagert und anschließend in MOPS-Puffer gewaschen. 14 dieser Kügelchen wurden in 1.5 mL Myoglobin-MOPS Lösung vermessen.

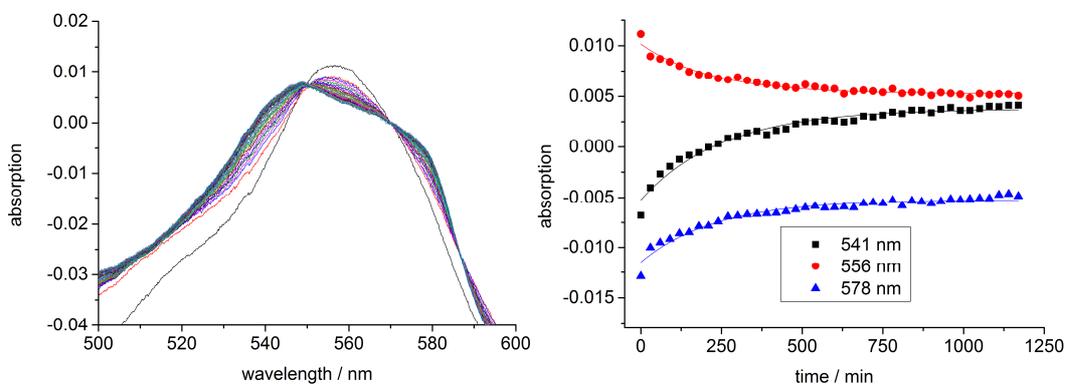
6 Anhang



Anhang 1: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Alginat@Dextran@CORM@IONP (9) bei 20 °C ohne Wechselfeld und einer Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von $t_{1/2} = 890 \pm 70$ min.

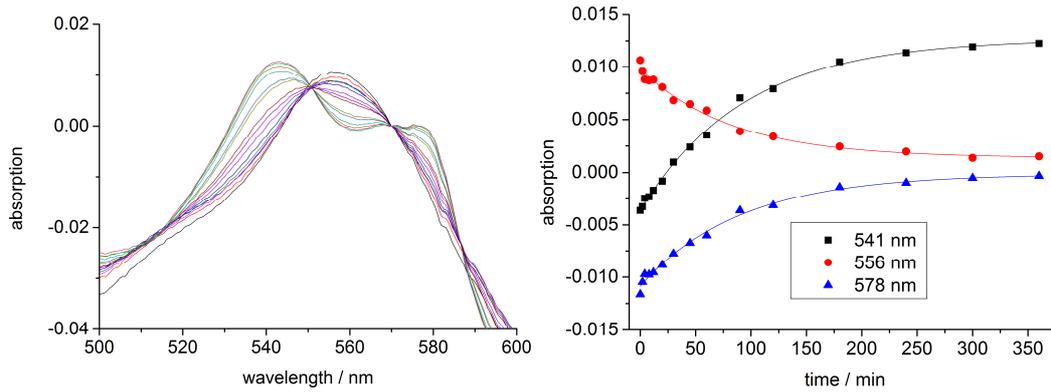


Anhang 2: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Alginat@Dextran@CORM@IONP (9) bei 20 °C mit Wechselfeld und einer Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von $t_{1/2} = 155 \pm 18$ min.

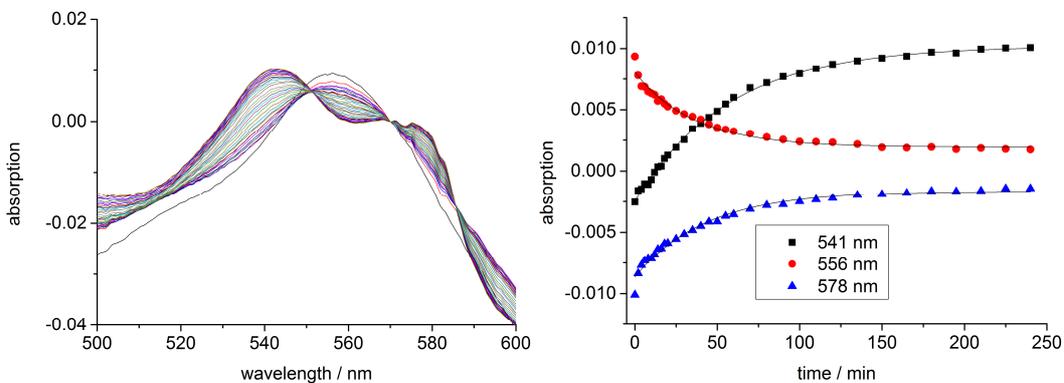


Anhang 3: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Alginat@Dextran@CORM@IONP (9) bei 37 °C ohne Wechselfeld und einer Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von $t_{1/2} = 172 \pm 27$ min.

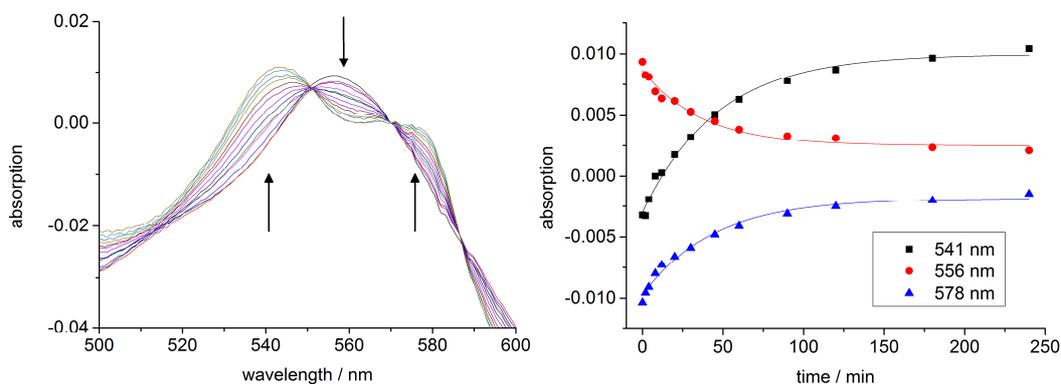
6 Anhang



Anhang 4: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Alginat@Dextran@CORM@IONP (9) bei 37 °C mit Wechselfeld und einer Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von $t_{1/2} = 65 \pm 5$ min.

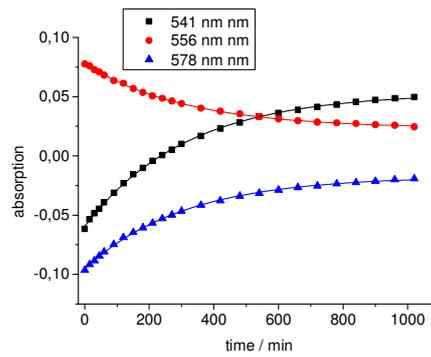
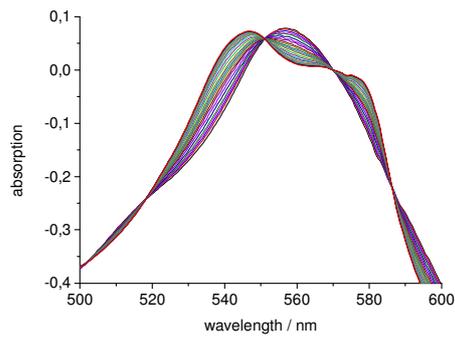


Anhang 5: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Alginat@Dextran@CORM@IONP (9) bei 50 °C ohne Wechselfeld und einer Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von $t_{1/2} = 45 \pm 7$ min.

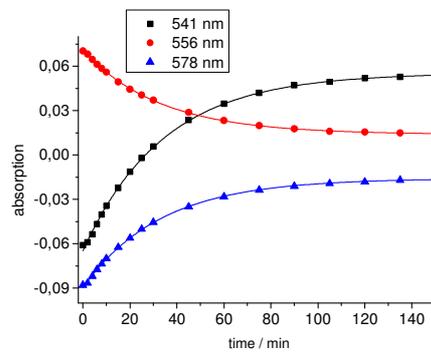
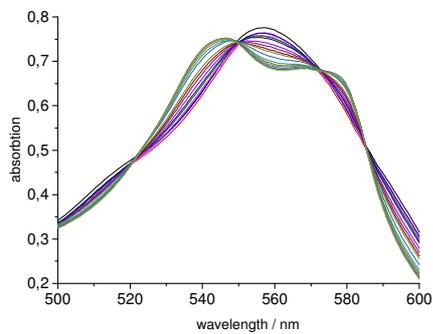


Anhang 6: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Alginat@Dextran@CORM@IONP (9) bei 50 °C mit Wechselfeld und einer Halbwertszeit der Kohlenstoffmonoxidfreisetzung von $t_{1/2} = 30 \pm 3$ min.

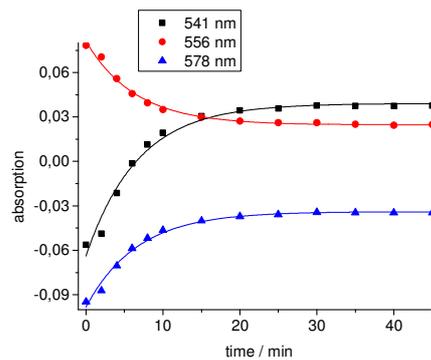
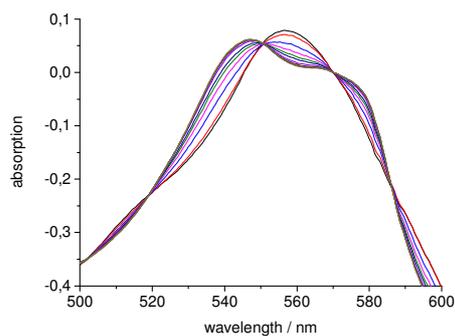
6 Anhang



Anhang 7: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) bei 20 °C.

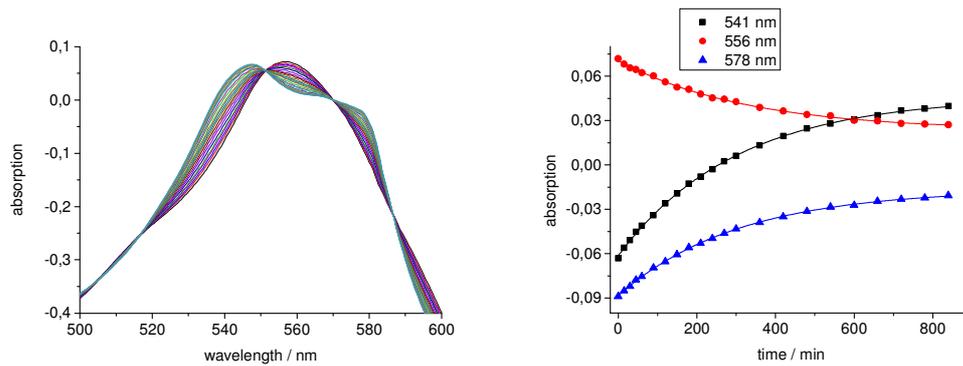


Anhang 8: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) bei 37 °C.

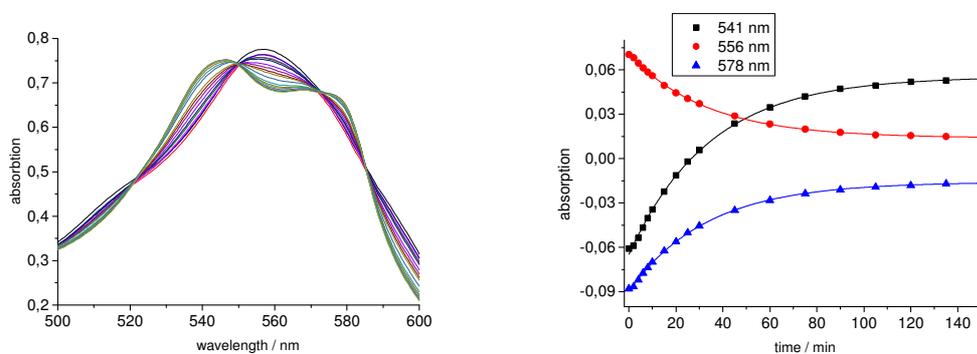


Anhang 9: Messung des auf 570 nm normierten Myoglobin-Assay von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOMe)(CO)₂Cl (**13**) bei 50 °C.

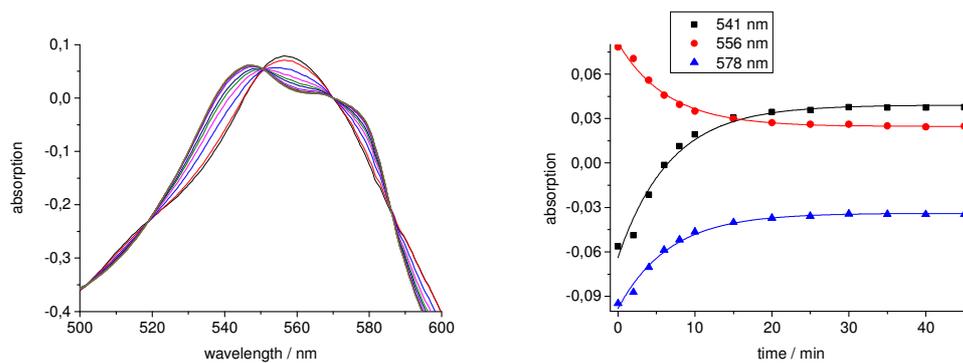
6 Anhang



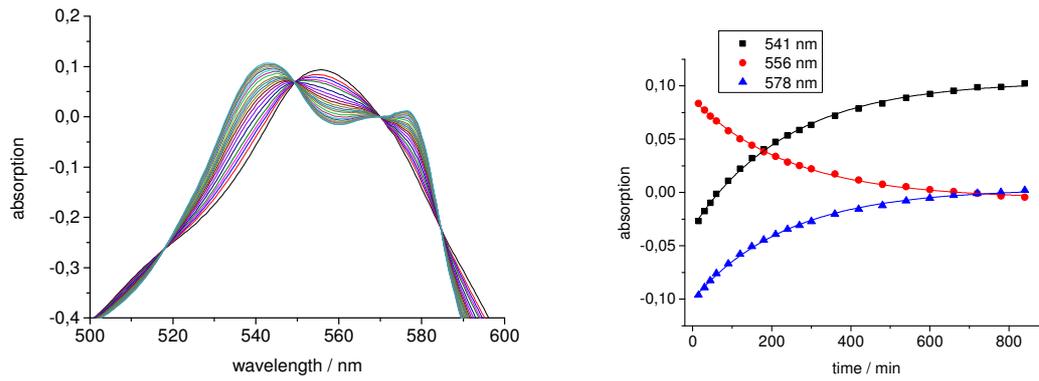
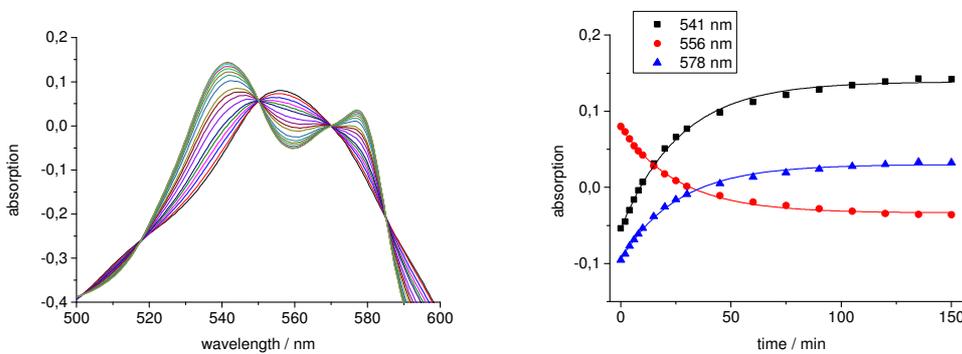
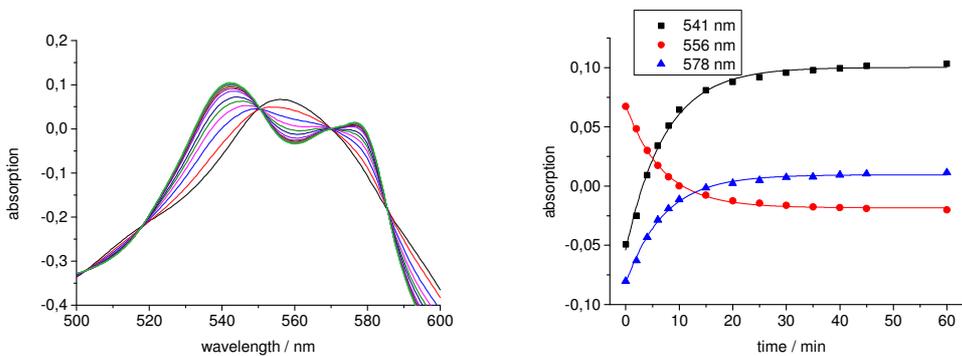
Anhang 10: Messung des Myoglobin-Assay von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOEt)(CO)₂Cl (**14**) bei 20 °C.

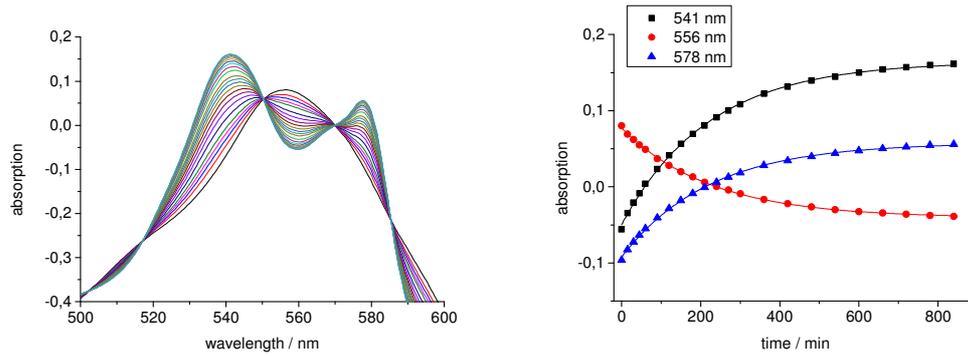
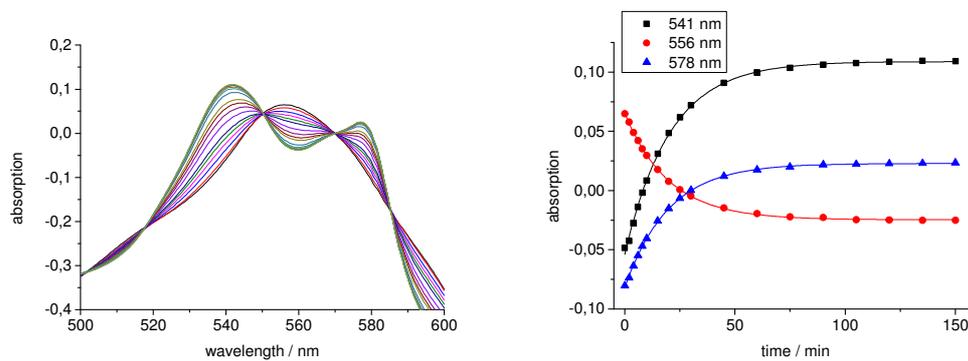
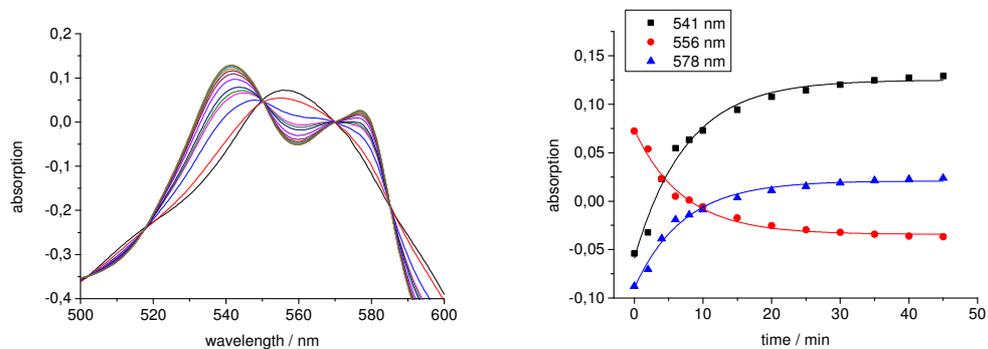


Anhang 11: Messung des Myoglobin-Assay von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOEt)(CO)₂Cl (**14**) bei 20 °C.



Anhang 12: Messung des Myoglobin-Assay von Ru(Imidazol-2-Carbaldehydoxim(COOEt)(CO)₂Cl (**14**) bei 20 °C.

**Anhang 13:** Messung des Myoglobin Assays von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) bei 20 °C.**Anhang 14:** Messung des Myoglobin Assays von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) bei 37 °C.**Anhang 15:** Messung des Myoglobin Assays von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOEt})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**21**) bei 50 °C.

**Anhang 16:** Messung des Myoglobin Assays von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) bei 20 °C.**Anhang 17:** Messung des Myoglobin Assays von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) bei 37 °C.**Anhang 18:** Messung des Myoglobin Assays von $\text{Ru}(\eta^2\text{-19})(\text{COOMe})(\text{CO})_2\text{Cl}$ (**22**) bei 50 °C.

7 Literatur

- ¹ H. Goesmann, C. Feldmann, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 1402-1437.
- ² M. Takagi, *J. Phys. Soc. Jpn.* **1954**, *9*, 551.
- ³ K. J. Klabunde, *Nanoscale Materials in Chemistry*, Wiley, New York, **2001**, S. 263.
- ⁴ S. Bhattacharjee, D. M. Dotzauer, M. L. Brüning, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3601.
- ⁵ H. Althues, J. Henle, S. Kaskel, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1454.
- ⁶ W. J. Parak, L. Manna, F. C. Simmel, S. Gerion, P. Alivisatos, G. Schmid, *Quantum Dots in Nanoparticles*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, S. 4.
- ⁷ J. Z. Zhang, C. Noguez, *Plasmonics* **2008**, *3*, 127.
- ⁸ M. Grätzel, J. R. Durrant, *Ser. Photoconvers. Sol. Energy* **2008**, *3*, 503.
- ⁹ M. Nanu, J. Schoonman, A. Goossens, *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 453.
- ¹⁰ P. G. Bruce, B. Scrosati, J. M. Tarascon, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 2972; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2930.
- ¹¹ H. Althues, J. Henle, S. Kaskel, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1454-1465.
- ¹² G. Buxbaum, *Industrial Inorganic Pigments*, VCH, Weinheim, **1993**.
- ¹³ K. Landfester, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4556; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4488.
- ¹⁴ P. M. Ajayan, L. S. Schadler, P. V. Braun, *Nanocomposite Science and Technology*, Wiley-VCH, Weinheim, **2003**.
- ¹⁵ B. Domènech, J. Bastos-Arrieta, A. Alonso, J. Macanás, M. Muñoz, D. N. Muraviev (2012). *Bifunctional Polymer-Metal Nanocomposite Ion Exchange Materials, Ion Exchange Technologies*, Prof. Ayben Kilislioglu (Ed.), Available from: <http://www.intechopen.com/books/ion-exchange-technologies/bifunctional-polymer-metal-nanocomposite-ion-exchange-materials>
- ¹⁶ Q. Zhang, J. Kano, F. Saito, *Handb. Powder Technol.* **2007**, *12*, 509.

- ¹⁷ D. Vollath, *Nanomaterials*, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, S. 71.
- ¹⁸ N. Pinna, M. Niederberger, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5372; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5292.
- ¹⁹ J. Dupont, J. D. Scholten, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1780–1804.
- ²⁰ V. K. LaMer, R. H. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 4847.
- ²¹ W. Ostwald, *Z. Phys. Chem.* **1879**, *22*, 289.
- ²² C. Medina, M. J. Santos-Martinez, A. Radomski, O. I. Corrigan, M. W. Radomski, *British Journal of Pharmacology* **2007**, *150*, 552-558.
- ²³ R. D. Brook, B. Franklin, W. Cascio, Y. Hong, G. Howard, M. Lipsett, *Circulation* **2004**, *109*, 2655-2671.
- ²⁴ Y. S. Prakash, S. Matalon, *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* **2014**, *306*, L393-L396.
- ²⁵ C. Buzea, I. I. Pacheco, K. Robbie, *Biointerphases* **2007**, *4*, MR17-MR71.
- ²⁶ A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*. de Gruyter, Berlin, **1995**, 101. Auflage, S. 1300–1310
- ²⁷ M. Colombo, S. Carregal-Romero, M. F. Casula, L. Gutierrez, M. P. Morales, I. B. Böhm, J. T. Heverhagen, D. Prospero, W. J. Parak, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 4306-4334.
- ²⁸ V. Demas, T. J. Lowery, *New J. Phys.* **2011**, *13*, 025005.
- ²⁹ E. Riedel, C. Janiak, T. M. Klapötke, H.-J. Meyer, *Moderne Anorganische Chemie*, de Gruyter, Berlin, **2007**, 3.Auflage, S. 199.
- ³⁰ M. P. Morales, S. Veintemillas-Verdaguer, M. I. Montero, C. J. Serna, A. Roig, L. I. Casas, B. Martinez, F. Sandiumenge, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3058–3064.
- ³¹ A. Sandhu, H. Handa, M. Abe, *Nanotechnology* **2010**, *21*, 442001–442022.
- ³² Y. Koseoglu, *J. Magn. Magn. Mater.* **2006**, *300*, 327–330.

- ³³ A. Karimi, B. Denizot, F. Hindre, R. Filmon, J.-M. Greneche, S. Laurent, T. J. Daou, S. Begin-Colin, J.-J. Jeune, *J. Nanopart. Res.* **2010**, *12*, 1239–1248.
- ³⁴ R. E. Rosensweig, *J. Magn. Magn. Mater.* **2002**, *252*, 370–374.
- ³⁵ M. G. Harisinghani, K. S. Jhaveri, R. Weissleder, W. Schima, S. Saini, P. F. Hahn, P. R. Mueller, *Clin. Radiol.* **2001**, *56*, 714–725.
- ³⁶ V. Cabuil, *Encycl. Nanosci. Nanotechnol.* **2004**, 1715–1730.
- ³⁷ E. Taboada, E. Rodriguez, A. Roig, J. Oro, A. Roch, R. N. Muller, *Langmuir* **2007**, *23*, 4583–4588.
- ³⁸ A. Corrias, G. Mountjoy, D. Loche, V. Puntès, A. Falqui, M. Zanella, W. J. Parak, M. F. Casula, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 18667–18675.
- ³⁹ S. Sun, H. Zeng, D. B. Robinson, S. Raoux, P. M. Rice, S. X. Wang, G. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273–279.
- ⁴⁰ N. Feltin, M. P. Pileni, *Langmuir* **1997**, *13*, 3927–3933.
- ⁴¹ J. F. Hochepped, M. P. Pileni, *J. Appl. Phys.* **2000**, *87*, 2472–2478.
- ⁴² F. Tourinho, R. Franck, R. Massart, *J. Mater. Sci.* **1990**, *25*, 3249–3254.
- ⁴³ Z. H. Zhou, J. Wang, X. Liu, H. S. O. Chan, *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 1704–1709.
- ⁴⁴ S. Ge, X. Shi, K. Sun, C. Li, C. Uher, J. Baker, M. Holl, B. Orr, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 13593–13599.
- ⁴⁵ M. Niederberger, F. Krumeich, K. Hegetschweiler, R. Nesper, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 78–82.
- ⁴⁶ R. Massart, *IEEE Trans. Magn.* **1981**, *17*, 131.
- ⁴⁷ A. K. Gupta, M. Gupta, *Biomaterials* **2005**, *26*, 3995–4021.
- ⁴⁸ C. Bergemann, D. Muller-Schulte, J. Oster, L. Brassard, A. S. Lubbe, *J. Magn. Magn. Mater.* **1999**, *194*, 45–52.

- ⁴⁹ H. Hibst, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 263; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1982**, *21*, 270.
- ⁵⁰ A. H. Lu, E. L. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1242; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222.
- ⁵¹ L. Wang, L. Wang, W. Ding, F. Zhang, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, *10*, 8617–8624.
- ⁵² M. Levy, N. Luciani, D. Alloyeau, D. Elgrabli, V. Deveaux, C. Pechoux, S. Chat, G. Wang, N. Vats, F. Gendron, C. Factor, S. Lotersztajn, A. Luciani, C. Wilhelm, F. Gazeau, *Biomaterials* **2011**, *32*, 3988–3999.
- ⁵³ R. Duncan, R. Gaspar, *Mol. Pharmaceutics* **2011**, *8*, 2101–2141.
- ⁵⁴ P. R. Gil, D. Hühn, L. L. del Mercato, D. Sasse, W. J. Parak, *Pharmacol. Res.* **2010**, *62*, 115–125.
- ⁵⁵ Y. Hirokawa, H. Isoda, Y. Maetani, S. Arizono, K. Shimada, T. Okada, T. Shibata, K. Togashi, *Radiology* **2009**, *251*, 388–397.
- ⁵⁶ H. Qiao, H. Zhang, Y. Zheng, D. Ponde, D. Shen, F. Gao, A. Bakken, A. Schmitz, H. Kung, V. Ferrari, R. Zhou, *Radiology* **2009**, *250*, 821–829.
- ⁵⁷ K. Obata, H. Tajima, M. Yohda, T. Matsunaga, *Pharmacogenomics* **2002**, *3*, 697–708.
- ⁵⁸ I. Safarik, M. Safarikova, *Biomagn. Res. Technol.* **2004**, *2*, 7.
- ⁵⁹ J. Dobson, *Drug. Dev. Res.* **2006**, *67*, 55.
- ⁶⁰ C. Sun, J. S. H. Lee, M. Zhang, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, *60*, 1252–1265.
- ⁶¹ J.-H. Lee, J.-T. Jang, J.-S. Choi, S. H. Moon, S.-H. Noh, J.-W. Kim, J.-G. Kim, I.-S. Kim, K. I. Park, J. Cheon, *Nat. Nanotechnol.* **2011**, *6*, 418–422.
- ⁶² S. Mornet, S. Vasseur, F. Grasset, E. Duguet, *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 2161–2175.
- ⁶³ R. T. Gordon, J. R. Hines, D. Gordon, *Med. Hypotheses* **1979**, *5*, 83–102.
- ⁶⁴ I. Hilger, W. Andra, R. Hergt, R. Hiergeist, H. Schubert, W. A. Kaiser, *Radiology* **2001**, *218*, 570–575.

- ⁶⁵ S. J. DeNardo, G. L. DeNardo, L. A. Miers, A. Natarajan, A. R. Foreman, C. Gruettner, G. N. Adamson, R. Ivkov, *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 7087–7092.
- ⁶⁶ R. S. Rachakatla, S. Balivada, G. M. Seo, C. B. Myers, H. Wang, T. N. Samarakoon, R. Dani, M. Pyle, F. O. Kroh, B. Walker, X. Leaym, O. B. Koper, V. Chikan, S. H. Bossmann, M. Tamura, D. L. Troyer, *ACS Nano* **2010**, *4*, 7093–7104.
- ⁶⁷ J. Kubes, J. Svoboda, J. Rosina, M. Starec, A. Fiserova, *Physiol. Res.* **2008**, *57*, 459–465.
- ⁶⁸ B. J. Haldane *Biochem. J.* **1927**, *21*, 1068–1075.
- ⁶⁹ L. D. Prockop, R. I. Chichkova, *J. Neurol. Sci.* **2007**, *262*, 122–130.
- ⁷⁰ T. R. Johnson, B. E. Mann, J. E. Clark, R. Foresti, C. J. Green, R. Motterlini, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3722–3729.
- ⁷¹ R. Tenhunen, H. S. Marver, R. Schmid, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1968**, *61*, 748–755.
- ⁷² D. Boehning, S. H. Snyder, *Science* **2002**, *298*, 2339–2340.
- ⁷³ R. Motterlini, L. E. Otterbein, *Nature* **2010**, *9*, 728–743.
- ⁷⁴ B. E. Mann, *Organometallics* **2012**, *31*, 5728–5735.
- ⁷⁵ A. W. Carpenter, M. H. Schoenfisch, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 3742–3752.
- ⁷⁶ D. S. Bredt, S. H. Snyder, *Annu. Rev. Biochem.* **1994**, *63*, 175–195.
- ⁷⁷ B. E. Mann, R. Motterlini, *Chem. Commun.* **2007**, 4197–4208.
- ⁷⁸ R. Foresti, R. Motterlini, *Curr. Drug Targets* **2010**, *11*, 1595–1604.
- ⁷⁹ S. W. Ryter, J. Alam, A. M. K. Choi, *Physiol. Rev.* **2006**, *86*, 583–650.
- ⁸⁰ Clark, J. E.; Naughton, P.; Shurey, S.; Green, C. J.; Johnson, T. R.; Mann, B. E.; Foresti, R.; Motterlini, R. *Circ. Res.* **2003**; *93*, 2–8.
- ⁸¹ Motterlini, R.; Clark, J. E.; Foresti, R.; Sarathchandra, P.; Mann, B. E.; Green, C. J. *Circ. Res.* **2002**, *90*, 17–24.

- ⁸² J. D. Seixas, F. A. Marino, A. Mukhopadhyay, A. C. Coelho, P. M. Reis, L. F. Veiros, A. R. Marques, N. Penacho, A. M. L. Goncalves, M. J. Romao, G. J. L. Bernardes, T. Santos-Silva, C. C. Romao, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 5058-5075.
- ⁸³ L. Oresmaa, H. Tarvainen, K. Machal, M. Haukka, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 11170.
- ⁸⁴ R. Alberto, R. Motterlini, *Dalton Trans.* **2007**, 1651–1660.
- ⁸⁵ L. Oresmaa, H. Tarvainen, K. Machal, M. Haukka, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 11170-11175.
- ⁸⁶ R. Motterlini, B. E. Mann, R. Foresti, *Expert Opin. Investig. Drugs* **2005**, *14*, 1305–1318.
- ⁸⁷ S. McLean, B. E. Mann, R. K. Poole, *Anal. Biochem.* **2012**, *427*, 36–40.
- ⁸⁸ T. R. Johnson, B. E. Mann, I. P. Teasdale, H. Adams, R. Foresti, C. J. Green, *Dalton Trans.* **2007**, 1500-1508.
- ⁸⁹ T. Santos-Silva, A. Mukhopadhyay, J. D. Seixas, G. J. L. Bernardes, C. C. Romao, M. J. Romao, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1192–1195.
- ⁹⁰ T. Pitchumony, B. Spingler, R. Motterlini, R. Alberto, *CHIMIA* **2009**, *62*, 277–279.
- ⁹¹ R. Motterlini, P. Sawle, J. Hammad, S. Bains, R. Alberto, R. Foresti, C. J. Green, *FASEB J.* **2005**, *19*, 284–286.
- ⁹² N. E. Brückmann, M. Wahl, G. J. Reiß, M. Kohns, W. Wätjen, P. C. Kunz, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, 4571–4577.
- ⁹³ W. Huber, R. Linder, J. Niesel, U. Schatzschneider, B. Spingler, P. C. Kunz, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 3140–3146.
- ⁹⁴ S. Romanski, B. Kraus, U. Schatzschneider, J. M. Neudörfl, S. Amslinger, H. G. Schmalz, *Angew. Chem.* **2011**, 2440–2444.
- ⁹⁵ M. Ma, H. Noei, B. Mienert, J. Niesel, E. Bill, M. Muhler, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 6785-6790.
- ⁹⁶ G. Dördelmann, T. Meinhardt, T. Sowik, A. Krüger, U. Schatzschneider, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11528-11530.

- ⁹⁷ C. Bohlender, S. Glaeser, M. Klein, J. Weisser, S. Thein, U. Neugebauer, J. Popp, R. Wyrwa, A. Schiller, *J. Mater. Chem. B.* **2014**, *2*, 1454-1463.
- ⁹⁸ U. Schatzschneider, *British Journal of Pharmacology* **2015**, *172*, 1638–1650.
- ⁹⁹ K. S. Davidge, G. Sanguinetti, C. H. Yee, A. G. Cox, C. W. McLeod, C. E. Monk, B. E. Mann, R. Motterlini, R. K. Poole, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 4516–4524.
- ¹⁰⁰ M. Desmard, R. Foresti, D. Morin, M. Dagouassat, A. Berdeaux, E. Denamur, S. H. Crook, B. E. Mann, D. Scapens, P. Montravers, J. Boczkowski, R. Motterlini, *Antioxid. Redox Signaling* **2012**, *16*, 153–163.
- ¹⁰¹ S. McLean, B. E. Mann, R. K. Poole, *Anal. Biochem.* **2012**, *427*, 36–40.
- ¹⁰² A. J. Atkin, J. M. Lynam, B. E. Moulton, P. Sawle, R. Motterlini, N. M. Boyle, M. T. Pryce, I. J. S. Fairlamb, *Dalton Trans.*, **2011**, *40*, 5755–5761.
- ¹⁰³ M. Klein et. al. *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 5381-5390
- ¹⁰⁴ L. Yuan, W. Y. Lin, L. Tan, K. B. Zheng, W. M. Huang *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1628-1630.
- ¹⁰⁵ H. J. Vreman, D. K. Stevenson *Anal Biochem* **1988**, *168*, 31-81.
- ¹⁰⁶ M. Balazy, H. Jiang *Acta Haematol* **2000**, *103*, 78.
- ¹⁰⁷ C. C. Romão, W. A. Blättler, J. D. Seixas, G. J. L. Bernardes, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 3571–3583; T. Johnson, B. E. Mann, J. Clark, R. Foresti, C. Green *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3722–3729.
- ¹⁰⁸ R. Motterlini, L. E. Otterbein, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2010**, *9*, 728–743; R. Alberto, R. Motterlini, *Dalton Trans.* **2007**, 1651–1660; R. Motterlini, B. E. Mann, T. Johnson, J. Clark, R. Foresti, C. Green, *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9*, 2525–2539.
- ¹⁰⁹ R. Motterlini, B. E. Mann, R. Foresti, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2005**, *14*, 1305–1318.
- ¹¹⁰ R. Motterlini, P. Sawle, S. Bains, J. Hammad, R. Alberto, R. Foresti, C. Green, *FASEB J.* **2005**, *18*, 284–286.

- ¹¹¹ A. E. Pierri, A. Pallaoro, G. Wu, P. C. Ford, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18197-18200. W. Huber, R. Linder, J. Niesel, U. Schatzschneider, B. Spingler, P. C. Kunz, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 3140; V. P. L. Velásquez, T. M. A. Jazzazi, A. Malassa, H. Gorls, G. Gessner, S. H. Heinemann, M. Westerhausen, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 1072–1078; D. Crespy, K. Landfester, U. S. Schubert, A. Schiller, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6651-6662; R. D. Rimmer, H. Richter, P. C. Ford, *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 1180–1185; U. Schatzschneider, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, 1451–1467; P. C. Kunz, W. Huber, A. Rojas, U. Schatzschneider, B. Spingler, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, 5358–5366.
- ¹¹² S. Romanski, B. Kraus, M. Guttentag, W. Schlundt, H. Rücker, A. Adler, J.-M. Neudoerfl, R. Alberto, S. Amslinger, H. G. Schmalz, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 13862-13875.
- ¹¹³ A. J. Cole, V. C. Yang, A. E. David, *Trends Biotechnol.* **2011**, *29*, 323–332.
- ¹¹⁴ A. S. Lübbe, C. Alexiou, C. Bergemann, *J. Surg. Res.* **2001**, *95*, 200–206; C. Alexiou, W. Arnold, R. J. Klein, F. G. Parak, P. Hulin, C. Bergemann, W. Erhardt, S. Wagenpfeil, A. S. Lübbe, *Cancer Res.* **2000**, *60*, 6641–6648.
- ¹¹⁵ (a) A. M. Schmidt, *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *289*, 5–8; (b) R. Messing, A. M. Schmidt, *Prog. Colloid Polym., Sci.* **2008**, *134*, 134–140; (c) T. Gelbrich, G. U. Marten, A. M. Schmidt, *Polymer* **2010**, *51*, 2818–2824; (d) G. U. Marten, T. Gelbrich, A. M. Schmidt, *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 922–931.
- ¹¹⁶ M. Perner, P. Bost, U. Lemmer, G. von Plessen, J. Feldmann, U. Becker, M. Mennig, M. Schmitt, H. Schmidt, *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 2192; P. Koblinski, D. Cahill, A. R. Bodapati, T. A. Tato, *J. Appl. Phys.* **2006**, *100*, 1–5; I. Levine, O. Shenkman, M. Winkler, A. M. Schmidt, M. Gottlieb, *Macromol. Symp.* **2010**, 291-292, 1, 278–286.
- ¹¹⁷ J. Stehr, C. Hrelescu, R. Sperling, G. Raschke, M. Wunderlich, A. Nichtl, D. Heindl, K. Kürzinger, W. J. Parak, T. A. Klar, J. Feldmann, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 619-623; M. Reismann, J. C. Bretschneider, G. von Plessen, U. Simon, *Small*, **2008**, *4*, 607-610.
- ¹¹⁸ G. A. van Ewijk, G. J. Vroege, A. P. J. Philip, *J. Magn. Magn. Mater.* **1999**, *201*, 31-33.

- ¹¹⁹ T. R. Johnson, B. E. Mann, I. P. Teasdale, H. Adams, R. Foresti, C. J. Green, R. Motterlini, *Dalton Trans.* **2007**, 1500–1508.
- ¹²⁰ A. J. Atkin, J. M. Lynam, B. E. Moulton, P. Sawle, R. Motterlini, N. M. Boyle, M. T. Pryce, I. J. S. Fairlamb, *Dalton Trans.* **2011**, 40, 5755–5761.
- ¹²¹ S. McLean, B. E. Mann, R. K. Poole, *Anal. Biochem.* **2012**, 427, 36-40.
- ¹²² Bachelorarbeit, M. Tuerkmen, **2012**, Heinrich Heine Universität Düsseldorf.
- ¹²³ M. Desmard, R. Foresti, D. Morin, M. Dagoussat, A. Berdeaux, E. Denamur, S.H. Crook, B.E. Mann, D. Scapens, P. Montravers, J. Boczkowski, R. Motterlini, *Antioxid. Redox Signal.* **2012**, 16, 153–163.
- ¹²⁴ T. Santos-Silva, A. Mukhopadhyay, J.D. Seixas, G.J.L. Bernardes, C.C. Romao, M.J. Romao, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 1192–1195.
- ¹²⁵ K.S. Davidge, G. Sanguinetti, C.H. Yee, A.G. Cox, C.W. McLeod, C.E. Monk, B.E. Mann, R. Motterlini, R.K. Poole, *J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 4516–4524.
- ¹²⁶ U. Hasegawa, A. J. van der Vlies, E. Simeoni, C. Wandrey, J. A. Hubbell, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 18273–18280.
- ¹²⁷ P. C. Kunz H. Meyer, J. Barthel, S. Sollazzo, A. M. Schmidt, C. Janiak, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 4896-4898.
- ¹²⁸ Masterarbeit, F. Winkler, **2012**, Heinrich Heine Universität, Düsseldorf.
- ¹²⁹ S. Romanski, B. Kraus, U. Schatzschneider, J.-M. Neudörfl, S. Amslinger, H.-G. Schmalz, *Angew. Chem.* **2011**, 2440–2444.
- ¹³⁰ N. Lee, T. Hyeon, *Chem Soc. Rev.* **2012**, 41, 2575-2589.
- ¹³¹ G. Dördelmann, T. Meinhardt, T. Sowik, A. Krüger, U. Schatzschneider, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 11528-11530.
- ¹³² R. Motterlini, *Circ. Res.* **2002**, 90, 17-24.

- ¹³³ Draget KI. Alginates. In: Phillips GO, Williams PA, editors. *Handbook of hydrocolloids*; **2009**. p. 379-95.
- ¹³⁴ S. N. Pawar, K. J. Edgar, *Biomaterials* **2012**, *33*, 3279-3305.
- ¹³⁵ J.S. Boateng, K.H. Matthews, H.N.E. Stevens, G.M. Eccleston *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97*, 2892-923.
- ¹³⁶ H. Zimmermann, S. Shirley, U. Zimmermann, *Curr. Diab. Rep.* **2007**, *7*, 314-320.
- ¹³⁷ K.Y. Lee, D.J. Mooney, *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*, 106-126.
- ¹³⁸ P. Braham, L. H. Skibsted, W. L.P. Bredie, M. B. Frost, P. Moller, J. Risbo, P. Snitkjaer, L. M. Mortensen *Chemical Reviews* **2010**, *110*, 4, 2313-2365.
- ¹³⁹ F. Adria, J. Soler, A. Adria, *El Bulli* 1998-2002; Ecco: London, 2005.
- ¹⁴⁰ R. Blohm, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 8973-8978.
- ¹⁴¹ L. Oresmaa, H. Tarvainen, K. Machal, M. Haukka, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 11170-11175.
- ¹⁴² *Bachelorarbeit*, M. Brenner, **2014**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
- ¹⁴³ H. Iwagami, M. Yatagai, M. Nakazawa, H. Orita, Y. Honda, T. Ohnuki, T. Yukawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, *64*, 175-182.
- ¹⁴⁴ *Bachelorarbeit*, S. P. Höfert, **2014**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
- ¹⁴⁵ J. J. Pak, L. Jaime, M. Shurdha, E. Shurdha, *Tetrahedron Letters* **2006**, *47*, 233-237.
- ¹⁴⁶ B.F.G. Johnson, J. S. McIndoe, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *200-202*, 901-932.
- ¹⁴⁷ *Bachelorarbeit*, L. Richter, **2014**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
- ¹⁴⁸ H.-M. Berends, P. Kurz; *Inorganica Chimica Acta* **2012**, *380*, 141-147.
- ¹⁴⁹ C. Elschenbroich, *Organometallic Chemie*, Teubner, Wiesbaden, 6. Auflage, **2008**.
- ¹⁵⁰ *Bachelorarbeit*, M. Wahl, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2010**.
- ¹⁵¹ C. Nagel, S. McLean, R. K. Poole, H. Braunschweig, T. Kramer, U. Schatzschneider, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 9986-9997.

¹⁵² A. Mantovani, S. Cenini, *Inorg. Synth.* **1976**, *16*, 51.