

Nanomaterialien

DOI: 10.1002/ange.200602209

Maßgeschneiderte Liganden für biokompatible Nanopartikel**

*Marija S. Nikolic, Maren Krack, Vesna Aleksandrovic, Andreas Kornowski, Stephan Förster und Horst Weller**

Die Nanobiotechnologie ist eines der spannendsten Gebiete der Nanotechnologie.^[1,2] Vor einigen Jahren erwiesen sich fluoreszierende Halbleiter-Nanokristalle als hervorragend dafür geeignet, die ansonsten zur Fluoreszenzmarkierung verwendeten organischen Farbstoffe zu ersetzen. Nanopartikel sind organischen Farbstoffen sowohl wegen ihrer besseren Photostabilität als auch wegen ihrer breiteren Absorptions-

[*] M. S. Nikolic, Dr. M. Krack, V. Aleksandrovic, Dipl.-Ing. A. Kornowski, Prof. Dr. S. Förster, Prof. Dr. H. Weller
Institut für Physikalische Chemie
Universität Hamburg
Grindelallee 117, 20146 Hamburg (Deutschland)
Fax: (+49) 40-42838-3452
E-Mail: weller@chemie.uni-hamburg.de

[**] Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 508, GK 611) und den Fonds der Chemischen Industrie gefördert.



Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

banden und leicht einstellbaren, engeren Emissionsspektren überlegen. Nanopartikel von hoher Monodispersität und im Größenbereich zu untersuchender biologischer Systeme bieten zudem interessante Möglichkeiten als magnetische Materialien für die Biomedizin.^[3] Auf Wasserbasis synthetisierte magnetische Materialien, wie sie gegenwärtig in der Magnetresonanztechnik eingesetzt werden, führen allerdings wegen ihrer schlechten Größenverteilung nur zu einer geringen Verstärkung des Magnetresonanzsignals.

Der Nachteil von qualitativ hochwertigen Halbleiter-Nanokristallen ist, dass ihre typischen Herstellungsverfahren zu wasserunlöslichen Nanokristallen führen. Für den Einsatz von Nanopartikeln in Bioanwendungen ist aber ein effizienter Phasentransfer in Wasser erforderlich. Alle dafür entwickelten Methoden basieren auf einer der beiden folgenden Strategien:^[4] Ligandenaustausch^[5,6] oder Einschluss der ursprünglichen Nanokristalle in eine dicke und vernetzte Polymerenschicht.^[7-9]

Hier wird eine Methode vorgestellt, nach der Nanopartikel über einen Ligandenaustausch mithilfe aminomodifizierter Polyethylenoxide (PEOs) in eine wässrige Lösung überführt werden können. Polyethylenoxid ist ein wasserlösliches Polymer, das sich für biologische Anwendungen eignet, da PEO-beschichtete Oberflächen sich als nicht-immunogen, nicht-antigen und proteinresistent erwiesen haben.^[10] Wie zudem kürzlich berichtet wurde, reduziert der Gebrauch von PEO in den bisher entwickelten Nanopartikel-Biokonjugaten unspezifische Wechselwirkungen.^[11] Die Polyethylenoxide wurden an einem Ende mit Aminogruppen modifiziert. Diese funktionellen Gruppen können an die Metallatome der Nanokristalle binden und könnten in einigen Fällen deren Lumineszenzeigenschaften verbessern.^[12]

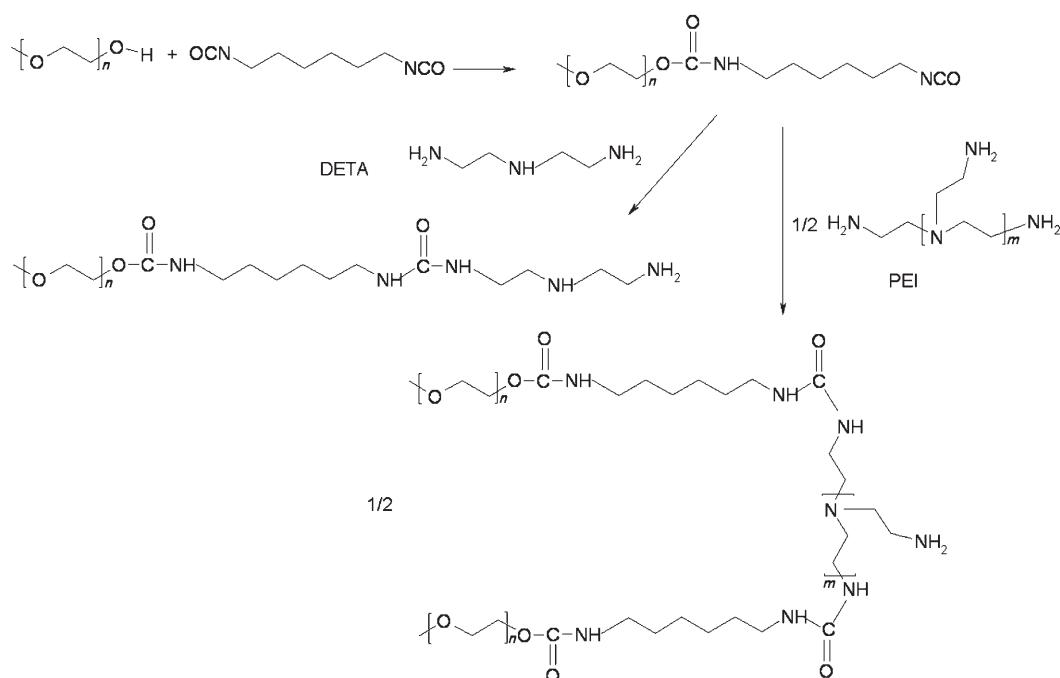
Mithilfe einer Diisocyanat-Kupplung wurden aminofunktionalisierte PEOs erhalten. Diese Reaktion hat sich

schnell als geeignet zur Kupplung von PEOs an Polyethylenimine (PEIs) von hohem Molekulargewicht erwiesen.^[13] Im ersten Schritt wurde ein PEO mit endständiger OH-Gruppe mit Hexamethyldiisocyanat umgesetzt, um ein PEO mit NCO-Endgruppe zu erhalten. Im zweiten Schritt ließen wir die NCO-Endgruppe mit einem großen Überschuss von Diethylentriamin (DETA) reagieren, wobei sich ein PEO mit zwei Aminogruppen an einem Ende der Polymerkette bildete (Schema 1). NCO-aktivierte PEOs wurden auch mit einem verzweigten PEI von niedrigem Molekulargewicht umgesetzt (Schema 1). Das Verhältnis der Reaktionspartner wurde hier so gewählt, dass Moleküle mit zwei PEO-Ketten des gewünschten Molekulargewichts entstanden.

Direkte Extraktion, eine sehr geläufige Methode zum Phasentransfer von Nanopartikeln, ergab keine wasserlöslichen Nanopartikel. Wir wählten daher einen alternativen Ansatz, bei dem die Nanopartikel unter Verwendung eines Lösungsmittels ausgefällt wurden, in dem die neuen Liganden unlöslich waren (Hexan oder Cyclohexan). Der erhaltene Niederschlag war ohne weiteres in Wasser wie auch in anderen protischen Lösungsmitteln wie Methanol löslich. Ein Kontrollexperiment mit nicht modifizierten PEOs unterschiedlichen Molekulargewichts ergab lediglich Polymerniederschlag, während die Nanopartikel gut dispergiert in der Hexan/Chloroform-Mischung verblieben. Dies belegte ein erfolgreiches Anbinden der Aminogruppen der modifizierten PEO an die Metallatome der Nanopartikel und schloss jegliche mögliche Agglomeration der Nanopartikel durch Polyethylenoxid selbst aus.

Aminofunktionalisierte PEOs sind im Allgemeinen ausgezeichnete Liganden, da mit ihnen unterschiedliche Nanopartikel leicht durch ein ähnliches, einfaches Verfahren in Wasser überführt werden können (Abbildung 1). Nach dem Transfer in ein protisches Lösungsmittel behielten die lumineszierenden Nanopartikel ihre ursprünglichen optischen Eigenschaften bei, allerdings bei schwächerer Fluoreszenz (Quantenausbeute 20%), wie bereits vorher an Nanopartikeln beobachtet worden war, die in eine wässrige Umgebung transferiert worden waren.^[14-17]

Die besten Quantenausbeuten bei CdSe/CdS-Nanopartikeln ergaben sich unter Verwendung von PEO mit $M = 2000 \text{ g mol}^{-1}$, das mit linearem Diethylentriamin modifiziert wurde (Abbildung 2). Dies könnte – wie nach sterischen Überlegungen zu erwarten (Schema 2) – auf eine höhere Belegung hindeuten als bei Verwendung von PEO, das mit verzweigtem PEI modifiziert ist. Wegen der sterischen Nachteile ist eine nied-



Schema 1. Synthese von aminofunktionalisierten PEOs; $n = 45$ bzw. 114, $M_{\text{PEI}} = 423 \text{ g mol}^{-1}$ ($m \approx 4$).

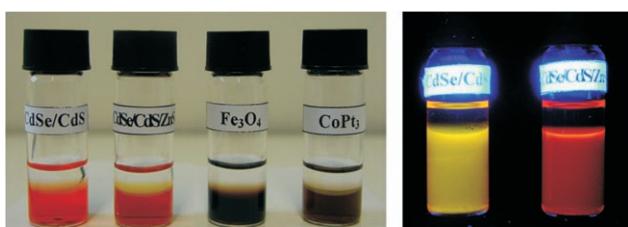


Abbildung 1. Verschiedene Nanopartikel, dispergiert in der wässrigen Phase unter einer Hexaphase. Die hohe Fluoreszenzausbeute von Quantenpunkten bleibt in Wasser erhalten (rechter Teil des Bildes).

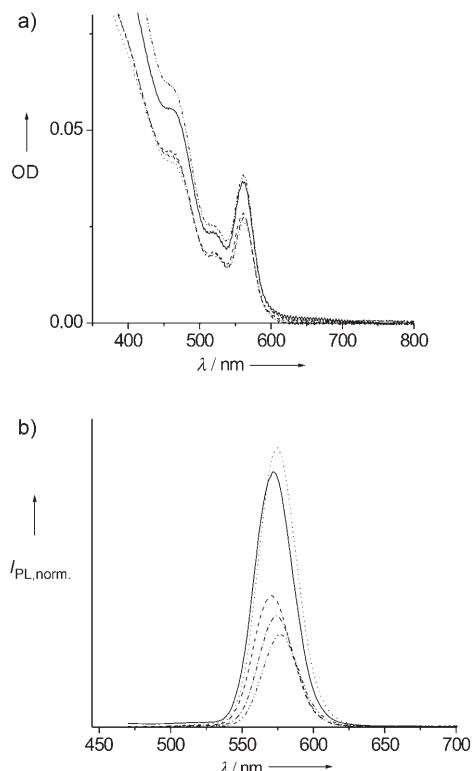
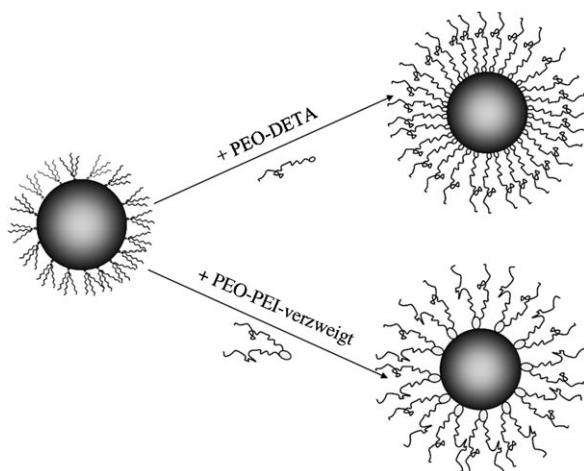


Abbildung 2. Absorptions- und Lumineszenzspektren von CdSe/CdS-Nanopartikeln in Chloroform (—) und in Wasser mit PEO2000-PEI-verzweigt (----), PEO2000-DETA (****), PEO5000-PEI-verzweigt (---) und PEO5000-DETA (-----).

rigere Belegung auch bei PEOs mit höherem Molekulargewicht zu erwarten. Die niedrigeren Belegungen in all diesen Fällen könnten eine unvollständige Oberflächenneutralisierung und eine leichtere Wasserdurchdringung zur Folge haben, was letztlich zu den niedrigeren Quantenausbeuten führt (Abbildung 2).

Der Vorteil der PEO-PEI-verzweigten Polymere besteht darin, dass deren Struktur die innere Bindung der NH₂-reichen Schale an jedes infrage kommende Molekùl erleichtert. Gegenwärtig wird geprüft, ob diese innere Schale für eine Vernetzungsreaktion geeignet ist, wodurch die organische Beschichtung von Nanopartikeln weiter stabilisiert werden könnte.

Die Ergebnisse der dynamischen Lichtstreuung (DLS; Abbildung 3) entsprechen dem erwarteten Verlauf für die beiden auf PEO-PEI und PEO-DETA basierenden Reihen:



Schema 2. Ligandenaustausch mit zwei verschiedenen Arten von amifunktionalisierten PEOs.

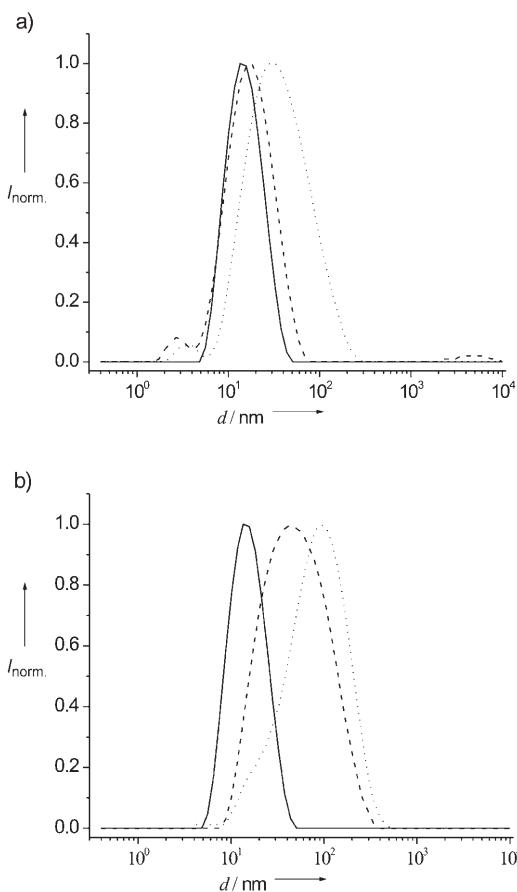


Abbildung 3. Durchmesser der CdSe/CdS-Nanopartikel in Chloroform (—) und in Wasser mit unterschiedlichen Polymerschalen: a) PEO-PEI-Serie, b) PEO-DETA-Serie (---- PEO2000, PEO5000).

Mit zunehmender Polymerkettenlänge vergrößern sich die hydrodynamischen Radien. Die bei DLS-Messungen der PEO-DETA-Reihe erzielten Werte sind allerdings beträchtlich höher als diejenigen der PEO-PEI-Reihe.

Dieses unerwartete Verhalten konnte durch eine Transmissionselektronenmikroskopie(TEM)-Untersuchung der wasserlöslichen Nanopartikel/Polymer-Paare aufgeklärt werden. Abbildung 4 zeigt das Auftreten von einzelnen, ge-

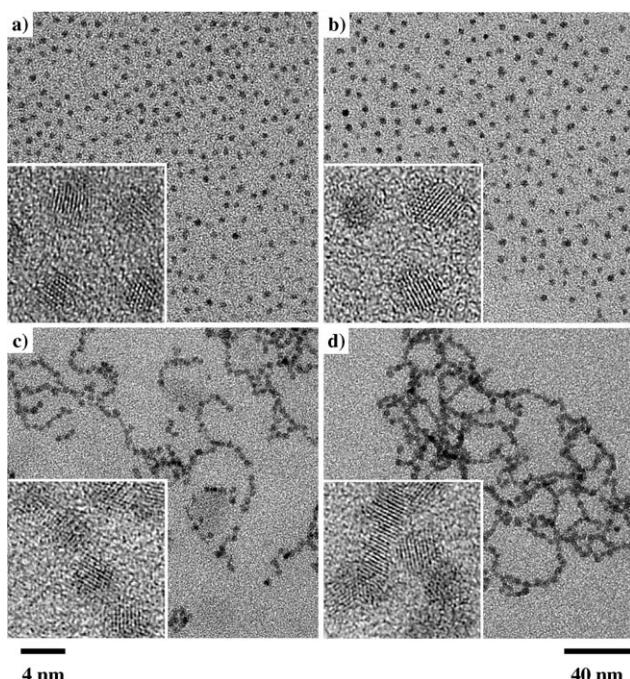


Abbildung 4. TEM-Aufnahme von wasserlöslichen CdSe/CdS-Nanopartikeln, modifiziert mit a) PEO2000-PEI-verzweigt, b) PEO5000-PEI-verzweigt, c) PEO2000-DETA und d) PEO5000-DETA.

trennten Partikeln in der PEO-PEI-Reihe, während in der PEO-DETA-Reihe wurmähnliche Agglomerate beobachtet werden (Abbildung 4c,d), die größere hydrodynamische Radien in den DLS-Messungen erkennen lassen. Diese Art von Organisation zeigt sich nur in Wasser, denn in den TEM-Aufnahmen von Chloroform-Lösungen wurden nach dem Ligandenaustausch nur einzelne Partikel ohne jegliche wurmartigen Agglomerate beobachtet.

Die Packdichte und der Abstand zwischen den einzelnen Nanopartikeln werden ebenfalls durch die Größe der Nanopartikel/Polymer-Paare beeinflusst. Abbildung 5 zeigt TEM-Aufnahmen von CoPt₃-Nanopartikeln nach dem Verdunsten des Lösungsmittels Chloroform vor und nach dem Ligandenaustausch mit zwei Polymeren von unterschiedlichem Molekulargewicht. In einem Kontrollexperiment (Abbildung 5b) wurden TEM-Aufnahmen nach dem Verdunsten des Chloroforms aus der Lösung von Nanopartikeln und nicht-modifiziertem Polyethylenoxid gemacht. Die Anordnung der Nanopartikel war identisch mit derjenigen von Nanopartikeln ohne Polymerzusatz (Abbildung 5a). Nach dem Ligandenaustausch hatte sich dagegen nicht nur die Anordnung, sondern auch der Abstand zwischen den Nanopartikeln geändert: Dieser wuchs mit zunehmender Größe der Polymerkette (d.h. des hydrodynamischen Radius). Das zeigt sich auch in den TEM-Aufnahmen von CdSe/CdS-Nanopartikeln aus wässriger Lösung (Abbildung 4a und b).

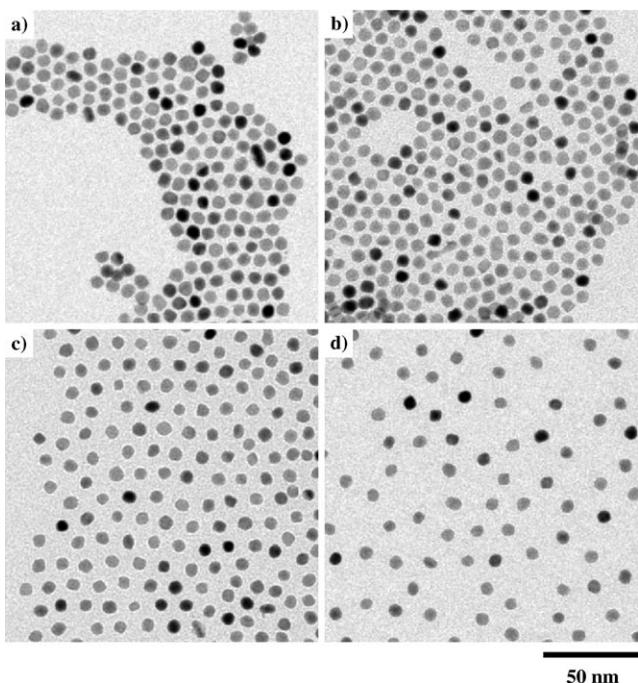


Abbildung 5. TEM-Aufnahmen von a) CoPt₃-Nanopartikeln mit Ligandenmantel von der Synthese, b) nach dem Mischen mit nicht modifiziertem PEO5000 sowie nach Ligandenaustausch mit c) PEO2000-PEI-verzweigt und d) PEO5000-PEI-verzweigt.

Es wurde eine Reihe von Polymerliganden entwickelt, die einen Phasentransfer von Nanopartikeln ermöglichen. Unsere Methode erlaubt eine einfache Veränderung der Löslichkeitseigenschaften und kann bei vielfältigen Nanopartikeln eingesetzt werden, die ursprünglich nur in organischen Solventien löslich waren. Es gelang so, modifizierte PEO-beschichtete Nanopartikel für biologische Anwendungen zu erhalten. Die Zahl funktioneller Ankergruppen in den Liganden kann maßgeschneidert werden, was noch viele Möglichkeiten für die weitere Funktionalisierung von Nanopartikel/Polymer-Paaren offen lässt.

Eingegangen am 2. Juni 2006,
veränderte Fassung am 3. Juli 2006
Online veröffentlicht am 12. September 2006

Stichwörter: Bioanwendungen · Kolloide · Ligandendesign · Nanotechnologie · Polyethylenoxid

- [1] J. Parak, D. Gerion, T. Pellegrino, D. Zanchet, C. Michelet, S. C. Williams, R. Boudreau, M. A. Le Gros, C. A. Larabel, P. A. Alivisatos, *Nanotechnology* **2003**, *14*, 15–27.
- [2] R. E. Bailey, A. M. Smith, S. Nie, *Phys. E* **2004**, *25*, 1–12.
- [3] Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson, *J. Phys. D* **2003**, *36*, 167–181.
- [4] I. L. Medintz, H. T. Uyeda, E. R. Goldman, H. Mattoussi, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 435–446.
- [5] C. W. Warren, S. Nie, *Science* **1998**, *281*, 2016–2018.
- [6] G. P. Mitchell, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8122–8123.
- [7] B. Dubertret, P. Skourides, D. J. Norris, V. Noireaux, A. H. Briand, A. Libchaber, *Science* **2002**, *298*, 1759–1762.

- [8] X. Wu, H. Liu, J. Liu, K. N. Haley, J. A. Treadway, J. P. Larson, N. Ge, F. Peale, M. P. Bruchez, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 41–46.
- [9] T. Pellegrino, L. Manna, S. Kudera, T. Liedl, D. Koktysh, A. L. Rogach, S. Keller, J. Radler, G. Natile, W. J. Parak, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 703–707.
- [10] C. G. Golander, J. N. Herron, K. Lim, P. Claesson, J. D. Andrade in *Polyethylene Glycol Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications* (Hrsg.: J. M. Harris), Plenum, New York, **1992**, S. 221–245.
- [11] E. L. Bentyen, I. D. Tomlinson, J. Mason, P. Gresch, M. R. Warnement, D. Wright, E. Sanders-Bush, R. Blakely, S. J. Rosenthal, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 1488–1494.
- [12] D. V. Talapin, A. L. Rogach, I. Mekis, S. Haubold, A. Kornowski, M. Haase, H. Weller, *Colloids Surf. A* **2002**, *202*, 145–154.
- [13] H. Petersen, P. M. Fechner, D. Fischer, T. Kissel, *Macromolecules* **2002**, *35*, 6867–6874.
- [14] S. Kim, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14652–14653.
- [15] S.-W. Kim, S. Kim, J. B. Tracy, A. Jasanoff, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4556–4557.
- [16] T. Nann, *Chem. Commun.* **2005**, *13*, 1735–1736.
- [17] H. T. Uyeda, I. L. Medinty, J. K. Jaiswal, S. M. Simon, H. Mattoussi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3870–3878.