

Abstract

In this doctoral work, judiciously selected nanomaterials were synthesized, functionalized, and investigated towards their biomedical applications. The underlying research strategy consisted of size-specific synthesis of target nanoparticles (Au, SiO₂, Fe₃O₄ and Fe₂O₃) followed by their surface-conjugation with appropriate ligands that enabled attachment of biomolecules. Through specific chemical interactions, both target ligands and radioactive tracers (¹⁸F) could be covalently bonded to the surface of the carrier nanoparticles to obtain dual-functional nanosystems suitable for guided cellular uptake and localized radiation therapy.

This thesis describes various synthetic protocols for obtaining iron oxide, silica, gold and silver nanostructures in different shapes and morphologies. Moreover, new synthetic pathways were described to produce covalently-bonded novel assemblies of nanostructures with predefined chemical interactions between the constituent nanoparticles. For example, different types of "click reaction" protocols were used to functionalize the nanoparticles with complementary azide and alkyne groups that were conjugated via a cyclo-addition reaction. It was possible to successfully carry out the assembly of different novel nanoparticulate-architecture with defined chemical bonding. The peculiarity of such nanoassemblies was manifested in the chemically defined covalent bond among the nanoparticles that kept the assembly intact even after several washing steps. In addition to a copper-catalyzed Huisgen reaction representing the click chemistry, a reversible system was generated via the Diels-Alder reaction that allowed bonding and disbonding nanoparticles by change of temperature. In addition to the aforementioned inorganic nanomaterials, numerous organic ligands have been synthesized and characterized in this work. The focus was placed on the use of "click chemistry" and the required azide or alkyne groups were added via carbodiimide coupling. For the first time compounds such as undec-10-inoyl-L-glutamic acid or (S)-2-amino-N¹-(3-azidopropyl)pentanediamide were synthesized and attached to carrier nanoparticles.

Another important aspect of this work was the targeted labeling of various nanoparticles using the radioisotope ¹⁸F, which is particularly well suited for positron emission therapy due to its short half-life time and high-resolution capability. The magnetic nanomaterials were used as carrier systems due to their magnetic properties, which can be used for contrast applications thus demonstrating the concept of theranostics that integrates therapeutic (FeO_x) and diagnostic (¹⁸F) units. In addition, a new system for the purification of radiolabeled magnetic nanoparticles was developed and successfully demonstrated within the framework of this project. The efficacy of the functionalization of nanoparticles and attachment of radioactive

tracers was studied by high-performance liquid chromatography. After optimizing the reaction conditions, it was possible to label folic acid-functionalized nanoparticles with a maximum radiochemical yield of $47.9 \% \pm 3.2 \%$. It showed that the surface bound folic acid had a decisive influence on the yield and cellular uptake of the presented system. The excellent biocompatibility and high cell uptake of the various nanomaterials was demonstrated by means of MTT tests on human HEK cells and by means of FACS measurements and radioactive cell uptake studies on human MCF-7 cells and murine E0771 cells.

Kurzzusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden sorgfältig ausgewählte nanoskalige Materialien synthetisiert, funktionalisiert und hinsichtlich ihrer biomedizinischen Anwendbarkeit untersucht. Die zugrunde liegende Forschungsstrategie bestand in der größenspezifischen Synthese von Zielnanopartikeln (Au, SiO₂, Fe₃O₄ und Fe₂O₃) und der anschließenden Oberflächenkonjugation mit geeigneten Liganden, die die Anbindung von Biomolekülen ermöglichten. Durch spezifische chemische Wechselwirkungen konnten sowohl Zielliganden, als auch radioaktive Tracer (¹⁸F) kovalent an die Oberfläche der Trägernanopartikel gebunden werden. Es gelang zudem, bifunktionale Nanosysteme zu synthetisieren, die für die zielgerichtete Aufnahme in Zellen und die lokale Strahlentherapie geeignet sind.

In dieser Arbeit wurden verschiedene Synthesevorschriften zum Erhalt von diversen Eisenoxid-, Siliciumdioxid-, Gold- und Silber-Nanostrukturen in verschiedenen Formen und Morphologien beschrieben. Darüber hinaus wurden neue Synthesewege beschrieben, um neuartige, kovalent gebundene Anordnungen von Nanostrukturen mit vordefinierten chemischen Wechselwirkungen zwischen den Nanopartikeln herzustellen. Dafür wurden die Nanomaterialien mittels maßgeschneiderter Oberflächenfunktionalisierung modifiziert und anschließend durch die Verwendung unterschiedlicher „Click Reaktionen“ miteinander gekuppelt. Die Besonderheit solcher Nanoanordnungen manifestierte sich in der chemisch definierten kovalenten Bindung zwischen den Nanopartikeln, die die Anordnung auch nach mehreren Waschschritten intakt hielt. Zusätzlich zu einer kupferkatalysierten Huisgen-Reaktion, wurde über die Diels-Alder-Reaktion ein reversibles System erzeugt, das das Binden und Lösen von Nanopartikeln durch Temperaturänderung ermöglichte. Neben den angeführten anorganischen Nanomaterialien wurden in dieser Arbeit zahlreiche organische Liganden synthetisiert und charakterisiert. Der Fokus wurde auf die Verwendung in der Click Chemie gelegt und die dafür erforderlichen Azid- oder Alkylgruppen wurden über Carbodiimid-Kupplung hinzugefügt. Dabei wurden erstmalig Verbindungen wie Undec-10-inoyl-L-glutaminsäure oder (S)-2-Amino-N¹-(3-azidopropyl)pentandiamid in moderaten Ausbeuten synthetisiert und an Trägernanopartikel gebunden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt dieser Arbeit war die zielgerichtete Markierung verschiedener Nanopartikel mittels des Radioisotops ¹⁸F, welches aufgrund seiner geringen Halbwertszeit und hohen Auflösung besonders gut für die Positronen-Emissions-Therapie geeignet ist. Dafür wurden hauptsächlich magnetische Nanomaterialien verwendet, welche aufgrund ihrer magnetischen Eigenschaften als Trägersystem verwendet werden können. Dies demonstriert das Konzept der Theranostik, welches die diagnostische (¹⁸F) und therapeutische (FeO_x)

Einheit integriert. Es gelang zudem ein neues Reinigungssystem für radioaktiv markierte magnetische Nanopartikel zu entwickeln und die erfolgreiche Synthese mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie zu untersuchen. Nach einer Reaktionsoptimierung gelang es folsäurefunktionalisierte Nanopartikel in einer maximalen radiochemischen Ausbeute von $47.9 \% \pm 3.2 \%$ zu markieren. Dabei zeigte sich, dass die oberflächengebunden Folsäure für das vorgestellte System einen entscheidenden Einfluss auf die Ausbeute hatte. Die ausgezeichnete Bioverträglichkeit und hohe Zellaufnahme der verschiedenen Nanomaterialien wurde mit MTT-Tests an humanen HEK-Zellen und mittels FACS-Messungen und radioaktiven Zellaufnahmestudien an humanen MCF-7-Zellen und murinen E0771 Zellen nachgewiesen.