

Nichtkonjugierte Polymerpunkte ohne Fluorophoreinheiten mit gesteigerter Emission durch Vernetzung

Shoujun Zhu, Yubin Song, Jieren Shao, Xiaohuan Zhao und Bai Yang*

Gesteigerte Emission durch Vernetzung · Kohlenstoff-Nanopunkte · Nichtkonjugierte Polymerpunkte · Photolumineszenz · Sub-Fluorophore

Nichtkonjugierte Polymerpunkte (NCPDs) werden als neuartiges fluoreszierendes Material vorgestellt. Die NCPDs enthalten anstelle typischer konjugierter fluorophorer Gruppen nur Sub-Fluorophore (das sind Gruppen wie C=O, C=N, N=O), und daher sollten diese Materialien keine starke Photolumineszenz (PL) im herkömmlichen Sinne aufweisen. Allerdings kann die PL dieser Sub-Fluorophore durch chemische Vernetzung oder physikalische Immobilisierung von Polymerketten verstärkt werden. Dieser Effekt wird als gesteigerte Emission durch Vernetzung (CEE) bezeichnet. Außerdem kann CEE über kovalente Bindungen, über Aggregation zu einer starren Struktur und über supramolekulare Wechselwirkungen bei NCPDs realisiert werden. Synthesestrategien, optische Eigenschaften und die Aussichten von NCPDs auf Gebieten wie biologische Bildgebung und Wirkstofftransport werden erörtert.

1. Einführung

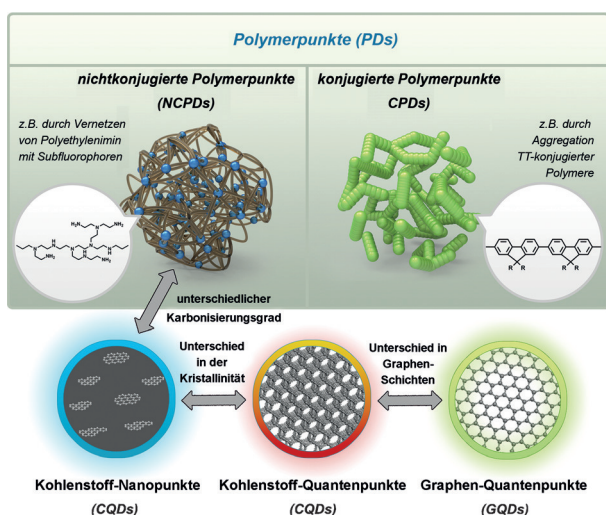
Polymerpunkte (PDs) können in zwei Unterkategorien unterteilt werden: konjugierte Polymerpunkte (CPDs, „conjugated polymer dots“) und nichtkonjugierte Polymerpunkte (NCPDs, „non-conjugated polymer dots“). CPDs werden durch Aggregation von konjugierten Polymeren erzeugt,^[1] während NCPDs, das Thema dieses Kurzaufsatzes, aggregierte nichtkonjugierte Polymerstrukturen aufweisen. NCPDs werden üblicherweise aus nichtkonjugierten Polymeren oder kleinen Molekülen durch Polymerisation und Vernetzung, hydrothermale Behandlung, Selbstorganisation und auch durch physikalische Verfahren hergestellt. Die NCPDs haben keine typischen Fluorophore, sodass die PL-Zentren kaum erörtert wurden. Aufgrund ihrer besonderen

Polymerstrukturen und hellen Fluoreszenz sind NCPDs jedoch vielversprechend als neue fluoreszierende Materialien.

Tatsächlich sind auf dem Forschungsgebiet der Kohlenstoff-Punkte (CDs, „carbon dots“) die NCPDs – neben Graphen-Quantenpunkten (GQDs, „graphene quantum dots“) und Kohlenstoff-Nanopunkten (CNDs, „carbon nanodots“) – von größtem Interesse (Schema 1).^[2,3] Generell sind die CNDs immer kugelförmig, und sie werden in Kohlenstoff-Nanopartikel ohne Kristallgitter und Kohlenstoff-Quantenpunkte (CQDs, „carbon quantum dots“) mit erkennbarem Kristallgitter unterteilt.^[4,5] Die NCPDs weisen eine aggregierte oder vernetzte Polymerstruktur ohne Kohlenstoffstruktur auf. Demzufolge werden NCPDs stets mit CNDs verwechselt,^[6–9] und einige der CNDs mit „amorphem Kohlenstoff“ sind eigentlich NCPDs.

Die NCPDs stellen einen Typ fluoreszierenden organischen Materials dar, neben organischen Farbstoffen, konjugierten Polymeren und Materialien auf Kohlenstoffbasis. Bei diesen fluoreszierenden Materialien werden Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung, Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindung oder π -Elektronen als wichtigste Baueinheit des PL-Zentrums angesehen. Einige andere chemische Gruppen mit schwacher Fluoreszenz (wir bezeichnen derartige potenzielle PL-Gruppen als Sub-Fluorophore), wie Doppelbindungen mit Heteroatomen (C=O, C=N, N=O) und Einfachbindungen (Aminogruppen, C–O), können jedoch bei entsprechender Immobilisierung eine gesteigerte PL zeigen.

[*] Dr. S. Zhu, Y. Song, J. Shao, X. Zhao, Prof. B. Yang
State Key Laboratory of Supramolecular Structure and Materials
College of Chemistry, Jilin University
Changchun, 130012 (Volksrepublik China)
E-Mail: byangchem@jlu.edu.cn
Dr. S. Zhu
Department of Chemistry, Stanford University
Stanford, California 94305 (USA)



Schema 1. Arten von Polymerpunkten (CPDs und NCPDs) und Zusammenhänge zwischen NCPDs und anderen CDs.

Die Methoden der Immobilisierung zur Steigerung der PL dieser Materialien können kovalente oder supramolekulare Vernetzung oder auch physikalische Aggregation sein.^[10] Ein Beispiel ist Poly(amidoamin) (PAMAM), bei dem allgemein anerkannt ist, dass die tertiäre Aminfunktion dessen PL-Zentren hervorbringt. In diesem System führen das Fördern der Polymerbildung oder das Senken des pH-Wertes der Lösung zu einer stärkeren Emission, weil eine starrere Umgebung geschaffen wird, die die Relaxation von Exzitonen über strahlungslose Vorgänge verhindert.^[11] Das andere System, das anvisiert wurde, ist das sauerstoffhaltige lineare Polymer Poly(vinylacetat-*alt*-maleinsäureanhydrid). Es wird gezeigt, dass die PL-Emission des Polymers mit der Clusterbildung der blockierten Carbonylgruppen verbunden ist.^[12] Diese NCPDs werden als Modellsysteme verwendet, um solche PL-Zentren zu erklären und die Mechanismen zusammenzufassen, die ihre Emission verstärken.

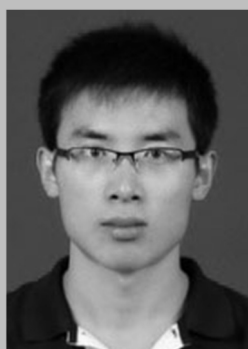
In diesem Kurzaufsatz konzentrieren wir uns vor allem auf die Synthese und die PL-Mechanismen von NCPDs die Anwendungen ihrer Fluoreszenzeigenschaften. In Abschnitt 2 liefern wir eine Zusammenfassung zu den chemischen Strukturen und Synthesewegen der NCPDs. In Abschnitt 3 geben wir einen Überblick über die physikalischen und chemischen Eigenschaften der NCPDs. In Abschnitt 4

wird der PL-Mechanismus bei NCPDs eingehend erörtert: gesteigerte Emission durch Vernetzung (CEE) über kovalente Bindungen, CEE über Aggregation zu einer starren Struktur und CEE über supramolekulare Wechselwirkungen. Außerdem behandelt dieser Abschnitt auch die Unterschiede zwischen polymerartigen Kohlenstoff-Nanopunkten und NCPDs sowie den CEE-Effekt bei diesen Kohlenstoff-Nanopunkten. Abschnitt 5 umfasst Anwendungen von NCPDs in der biologischen Bildgebung, beim Wirkstoff- oder Gentransport und auf anderen Gebieten. In Abschnitt 6 erörtern wir einige entscheidende Aspekte von NCPDs, die noch zu erforschen sind. Darüber hinaus untersuchen wir NCPDs als einfaches Modellsystem zum Verständnis der Eigenschaften und der PL-Verstärkung bei allen Arten von Sub-Fluorophoren. Wir hoffen, dass dieser Kurzaufsatz noch mehr Forscher inspirieren wird, die Ursprünge dieser besonderen Eigenschaften und die PL-Mechanismen von NCPDs zu erforschen. Darüber hinaus erwarten wir, dass weitere Anwendungen für NCPDs gefunden werden.

2. Synthese von NCPDs

NCPDs werden üblicherweise aus nichtkonjugierten Polymeren oder kleinen Molekülen hergestellt. Entsprechend der Art der Wechselwirkungen können nichtkonjugierte Polymerpunkte in drei Haupttypen unterteilt werden (Schema 2). Einen Typ bilden kovalent vernetzte NCPDs, die starke und gerichtete kovalente Wechselwirkungen zwischen den Molekülbausteinen aufweisen. Die anderen beiden Typen sind nichtkovalente NCPDs, die durch nichtkovalente Wechselwirkungen oder durch physikalische Aggregation gebildet werden. Die NCPDs haben unterschiedliche Sub-Fluorophore, und diese Sub-Fluorophore befinden sich im Polymergerüst oder in der Seitenkette der nichtkonjugierten linearen Ketten. Aufgrund der Vernetzung oder der physikalischen Immobilisierung der Polymerkette weisen die Sub-Fluorophore durch den CEE-Effekt eine gesteigerte Photolumineszenz auf. In Tabelle 1 sind typische NCPDs und nichtkonjugierte lineare Polymere mit unterschiedlichen Synthesemethoden, Ausgangsstoffen, potenziellen Sub-Fluorophoren und möglichem PL-Mechanismus aufgeführt.

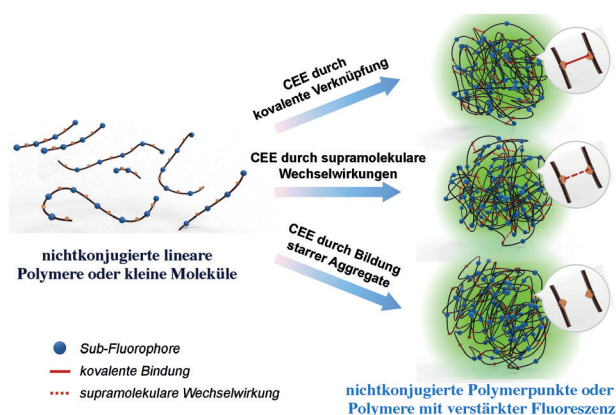
Hier konzentrieren wir uns im Wesentlichen auf NCPDs und nicht auf konjugierte lineare Polymere. Die Synthesemethoden für NCPDs umfassen Polymerisation und Vernet-



Shoujun Zhu ist Postdoktorand am State Key Laboratory of Supramolecular Structure and Materials der Jilin University und am Department of Chemistry an der Stanford University. 2014 promovierte er in Polymerphysik und -chemie bei Prof. Bai Yang und Prof. Junhu Zhang an der Jilin University. Seine Forschung konzentriert sich auf Synthese, Photolumineszenz-Mechanismen und Anwendungen fluoreszierender Kohlenstoffmaterialien mit Graphen-Quantenpunkten, Kohlenstoff-Nanopunkten und Polymerpunkten.



Bai Yang ist Professor am State Key Lab of Supramolecular Structure and Materials, College of Chemistry der Jilin University. Er ist Autor von über 430 Veröffentlichungen (mit 11500 Zitierungen vor 2015). Für seine Forschung erhielt er den Second Prize of the State Natural Science Award of China. Aktuell beschäftigt er sich mit polymeren Kohlenstoff-Nanopunkten, Polymer-Nanohybridisierung und photoelektrischen Materialien, optischen Polymerhybridmaterialien, der Herstellung geordneter Polymermikrostrukturen und mit photonischen Materialien.



Schema 2. Der Effekt der gesteigerten Emission durch Vernetzung (CEE) über kovalente Bindungen, über supramolekulare Wechselwirkungen und/oder über Aggregation zu einer starren Struktur bei nichtkonjugierten Polymerpunkten oder Polymeren. Die Sub-Fluorophore können sich im Polymergerüst oder in der Seitenkette der nichtkonjugierten linearen Ketten befinden; die Wechselwirkungsstellen für die kovalente oder supramolekulare Bindung können auch die Sub-Fluorophore selbst sein.

zung, hydrothermale Behandlung, Selbstorganisation sowie physikalische Verfahren. Alle Synthesewege haben die Gemeinsamkeit, dass dabei die freien und beweglichen Polymerketten, an denen sich Sub-Fluorophore befinden, immobilisiert werden.

2.1. Polymerisation und Vernetzung

NCPDs können durch Polymerisieren kleiner Moleküle mit mehreren aktiven Gruppen synthetisiert werden. Dai und Mitarbeiter beschrieben die Herstellung von NCPDs mittels Polykondensation von Ethylendiamin und Tetrachlormethan (TCM; Abbildung 1a).^[19] Sie entwickelten eine effektive „Flaschenschiff“-Methode: Kleine Vorstufenmoleküle werden im Inneren einer porösen Matrix (z. B. in einem mikroporösen Zeolith) zu einem aus großen Molekülen bestehenden Produkt polymerisiert, das die Matrix nicht verlassen kann. Den Sub-Fluorophor bilden in diesem Fall Aminogruppen, die durch Vernetzung mit TCM immobilisiert werden.

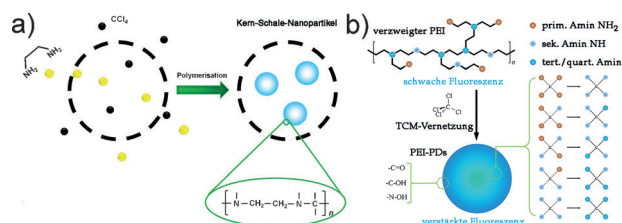


Abbildung 1. a) Herstellung von NCPDs nach Lit. [19]. b) Vernetzung von verzweigtem PEI mit Tetrachlormethan (TCM). Das verwendete PEI enthält 25 % primäres Amin, 50 % sekundäres Amin und 25 % tertiäres Amin. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [10]. Copyright 2014 Royal Society of Chemistry.

Die Vernetzung des linearen Polymers ist die direkteste Methode zur Herstellung von NCPDs. Yu und Mitarbeiter untersuchten fluoreszierende Nanokugeln aus vernetztem Phenol-Formaldehyd-Harz mit einer Größe von etwa 350 nm.^[13–15] Yang und Mitarbeiter nutzten verzweigtes Polyethylenimin (PEI) als Modellsystem. Die NCPDs wurden durch Vernetzung mit TCM synthetisiert.^[10] PEI wies ursprünglich eine sehr schwache Fluoreszenz auf. Nach Vernetzung mit TCM zeigten die NCPDs gesteigerte PL (Abbildung 1b). In diesen beiden Fällen wurden die potenziellen Sub-Fluorophore (Amino- und Phenolgruppe) durch den vernetzten Polymercluster immobilisiert und wiesen verbesserte PL-Eigenschaften auf.

Durch steuerbare Polymerisation oder Vernetzung könnten NCPDs mit abstimmbarer Größe und einstellbarem Vernetzungsgrad erhalten werden. Es ist wichtig, den CEE-Effekt mit regulierbaren NCPDs zu untersuchen, entsprechende Veröffentlichungen scheinen aber noch nicht zu existieren.

2.2. Hydrothermale Behandlung

Die hydrothermale Behandlung ist eine gängige Methode, um Nanopartikel aus organischen Vorstufen zu erhalten. Bestimmte Moleküle oder Polymere können nach hydrothermaler Behandlung NCPDs bilden. So erhielten Sun und Mitarbeiter durch hydrothermale Behandlung von Gras Polymer-Nanopunkte; eine Erhöhung der Reaktionstemperatur von 150 °C auf 200 °C führt zu einer Verkleinerung der Punkte von 22 nm auf 2 nm und zu einer Steigerung der Quantenausbeute (QY) von 2.5 auf 6.2 %.^[18] Yang und Mitarbeiter erforschten neuartige NCPDs, die aus nichtkonjugierten Polymeren mittels eines einstufigen hydrothermalen Verfahrens erhalten wurden.^[20] Durch hydrothermale Behandlung kann Polyvinylalkohol (PVA) teilweise vernetzt werden. Dabei entstehen vernetzte Punkte, wobei die PVA-Ketten synchron angeordnet und die sauerstoffhaltigen Sub-Fluorophore immobilisiert werden (Abbildung 2). Mehrere Gruppen berichteten über eine ähnliche hydrothermale Behandlung natürlicher Substanzen, wie Kokonseide,^[24] Glucose und Glycin^[23] sowie Chitosan,^[17] wodurch sie wasserlösliche stickstoffdotierte photolumineszierende NCPDs in Wasser herstellen konnten. Während dieser Prozesse können die Aminosäure- und Kohlenhydratmoleküle unter Bildung der aggregierten Strukturen dehydratisiert werden. Das Protein wird zunächst hydrolysiert und in die Aminosäuren abgebaut,

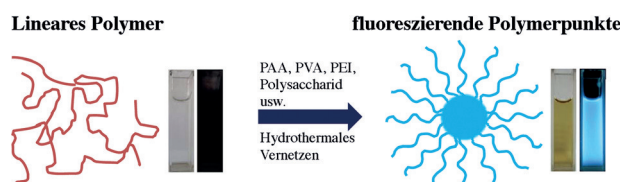


Abbildung 2. Photolumineszierende NCPDs, hergestellt durch moderate hydrothermale Behandlung eines linearen Polymers, z. B. Polyvinylalkohol (PVA). Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [20]. Copyright 2012 Royal Society of Chemistry.

Tabelle 1: Veröffentlichungen zu einer möglichen gesteigerten PL bei NCPDs und nichtkonjugierten linearen Polymeren.

Lit. ^[a]	Synthesemethode(n)	Ausgangsstoffe	Größe [nm]	QY [%]	PL-Farbe	Sub-Fluorophor	Möglicher PL-Mechanismus ^[c]
[13–15]	hydrothermale Behandlung und Vernetzung	Phenol und Hexamethylentetramin	> 100	4.3	Blau	phenolische Hydroxygruppe	SIE
[16] ^[b]	Polykondensation	Citronensäure, aliphatische Diole und verschiedene Aminosäuren	Bulk-Teilchen oder 80	62.33	Blau	Gruppen auf N- oder O-Basis	CBIE
[17]	hydrothermale Behandlung	Chitosan	4–7	43	Blau	Gruppen auf N- oder O-Basis	CBIE
[18]	hydrothermale Behandlung	Gras	2–3, 18–22	2.5–6.2	Blau	Gruppen auf N- oder O-Basis	CBIE
[19]	Polykondensation	Ethylendiamin und Tetrachlormethan	3–7	17.3	Blau	Aminogruppe	CBIE
[20]	hydrothermale Behandlung	lineare Polymere, wie PVA, PEI, Polysaccharide, Cellulose und Stärke	2.7	1.26	Blau	Gruppen auf O-Basis	CBIE
[21] ^[b]	Polymerisation	Tris(2-mercaptoethyl)amin und Ethylenglykoldiacrylat	Bulk-Teilchen	11–43	Blau	tertiäre aliphatische Amine	CBIE
[22]	hydrothermale Behandlung	Poly(acrylamid)	5, 20, 50	12.4–12.7	Blau	Gruppen auf N- oder O-Basis	CBIE
[23]	hydrothermale Behandlung	Glucose und Glycin	1–4	< 13.8	Blau	Gruppen auf N- oder O-Basis	CBIE
[24]	hydrothermale Behandlung	Kokonseide	70	38	Blau	Gruppen auf N- oder O-Basis	CBIE
[25]	Selbstorganisation	PEI-Polylactid(PLA)-Copolymer	50	31	Blau	Aminogruppe	RAE
[26]	Selbstorganisation	DNA	12	3.56	Blau	Gruppen auf N- oder O-Basis	RAE
[10]	Vernetzung, Immobilisierung	PEI	63	0.5, 2.7, 3.2, 9.6	Blau	Aminogruppe	CBIE/RAE
[27]	Selbstorganisation und Vernetzung	Polyethylenglykol (PEG), Poly(L-aspartinsäure) mit aufgepfropftem 2-Mercaptoethylamin (MEA) (Pasp(MEA)) und PEI	ca. 100	–	Blau	Gruppen auf N- oder O-Basis	RAE
[28] ^[b]	Oxidation und Polymerisation	N-Vinyl-2-pyrrolidon, Poly(N-vinylpyrrolidon)	Bulk-Teilchen	–	Blau	sekundäres Aminoxid	CBIE
[12] ^[b]	Polymerisation	Maleinsäureanhydrid und Vinylacetat	Bulk-Teilchen	20	Blau	Gruppen auf O-Basis	SIE

[a] Chronologische Auflistung nach dem Eingangsdatum. [b] Mit Bezug auf nichtkonjugierte lineare Polymere. [c] SIE = Steigerung über supramolekulare Wechselwirkungen, CBIE = Steigerung über kovalente Bindungen, RAE = Steigerung über Aggregation zu einer starren Struktur.

deren Dehydratisierung und Polymerisation dann die NCPDs ergibt. Sub-Fluorophore (wie Amin, Amid, konjugierter Ring in einer Aminosäure) sind in diesen Biomaterialien reichlich zu finden. Die hydrothermale Behandlung ist zwar wirksam und günstig, doch es ist nahezu unmöglich, den Bildungsprozess und die genaue chemische Struktur des Produkts zu ergründen oder zu steuern.

2.3. Selbstorganisation

NCPDs können durch Selbstorganisation von speziellen Polymeren oder Biomakromolekülen über supramolekulare Wechselwirkungen hergestellt werden. Sun et al. erhielten sehr helle NCPDs (QY = 31 %) durch Selbstorganisation eines amphiphilen Copolymers auf der Basis von hydrophilem PEI und hydrophobem Polylactid (PLA).^[25] Außerdem können Wirkstoffe durch ein modifiziertes Emulsions- bzw. Verdampfungsverfahren leicht in den NCPDs verkapselt werden (Abbildung 3 a). Die gesteigerte Fluoreszenz von PEI-PLA-Nanopartikel und PEI-PLA-Copolymer-Pulver zeigt, dass die starre und kompakte Struktur der NCPDs eine entscheidende Rolle bei der Fixierung des Sub-Fluorophors und der Ver-

besserung des Fluoreszenzverhaltens spielt. Guo et al. beschrieben eine neue Klasse fluoreszierender selbstorganisierter DNA-Biopunkte (Abbildung 3 b).^[26] Die Biopunkte wiesen eine aggregierte DNA-Struktur und Quantenausbeuten bis 3.65 % auf. Kürzlich berichteten Shuai und Mit-

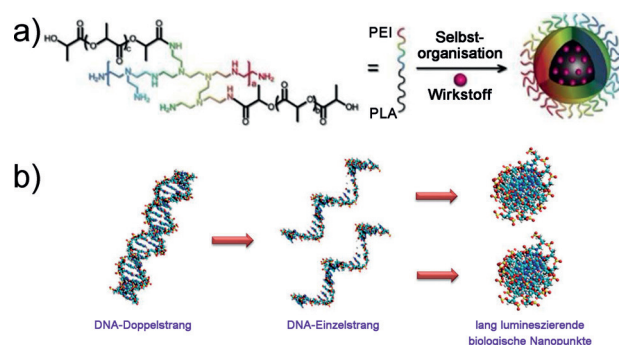


Abbildung 3. a) Aufbau multifunktionaler NCPDs aus einem amphiphilen Copolymer auf Basis von hydrophilem PEI und hydrophobem PLA. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [25]. Copyright 2013 Nature Publishing Group. b) Bildung von Biopunkten. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [26]. Copyright 2013 Nature Publishing Group.

arbeiter über einen interessanten, doppelt empfindlichen polymeren Vektor mit langer Zirkulationszeit zum gezielten Transport von siRNA in Tumoren.^[27] Ein Triblockcopolymer aus Polyethylenglykol (PEG), Poly(L-asparbinsäure) (PAsp) mit aufgepfropftem 2-Mercaptoethylamin (MEA), PAsp(MEA), und PEI wurde verwendet, um die NCPDs durch Komplexbildung und Vernetzung der Zwischenschichten mit siRNA zu bilden. Die Besonderheit der Methode der Selbstorganisation zu NCPDs ist die Anwendung der supramolekularen Aggregation, bei der die Polymerketten mit Sub-Fluorophoren durch schwache chemische Bindungen immobilisiert werden.

2.4. Methoden der physikalischen Immobilisierung

Die PL des Sub-Fluorophors an einem linearen Polymer kann durch chemische Immobilisierung oder auch nur durch physikalische Aggregation verstärkt werden. Yang und Mitarbeiter fixierten verzweigtes PEI auf der Oberfläche von Kohlenstoff-Nanopunkten und stellten fest, dass die PL der hergestellten NCPDs gesteigert wurde.^[10]

Es wurden außerdem spezielle NCPDs durch Aggregation eines polymeren Tensids und von Molekülen mit aggregationsinduzierter Emission oder von kondensierten Ringverbindungen hergestellt.^[29–31] Derartige NCPDs sind nicht Hauptgegenstand dieses Kurzaufsatzes, sie können jedoch als Sonderfall nichtkonjugierter Polymerpunkte angesehen werden.

Obwohl nur wenige Versuche unternommen wurden, NCPDs ausschließlich durch physikalische Immobilisierung herzustellen, kommt dieser Ansatz häufig vor: So sind sowohl die physikalische Immobilisierung als auch supramolekulare Wechselwirkungen in lebenden Proteinen vorzufinden, die aufgrund des möglichen Sub-Fluorophors und des CEE-Verhaltens immer eine Hintergrundfluoreszenz aufweisen. Somit ist die Anwendung dieser beiden Methoden erfolgversprechend bei der Herstellung von NCPDs mit reversiblen chemischen Strukturen und PL-Eigenschaften.

3. Physikalische und chemische Eigenschaften von NCPDs

3.1. Optische Eigenschaften

Wie in Abschnitt 2 erwähnt, gibt es verschiedene Typen fluoreszierender NCPDs und unterschiedliche Synthesewege für diese Materialien. Dadurch sind die chemischen Strukturen der NCPDs vielfältig. Trotzdem haben NCPDs einige gemeinsame optische Eigenschaften hinsichtlich Absorption und Fluoreszenz. Wir werden hier diese allgemeinen optischen Eigenschaften zusammenfassen, anstatt einige spezielle Beispiele zu erläutern. NCPDs weisen zumeist eine starke optische Absorption im UV-Bereich (230–320 nm) auf, deren Ausläufer in den sichtbaren Bereich reichen (Abbildung 4).^[10] Der höchste Peak im UV-Bereich kann auf einen $n-\pi^*$ -Übergang von C=O-Bindungen oder anderen Sub-Fluorophor-Gruppen zurückgeführt werden. Darüber hinaus kön-

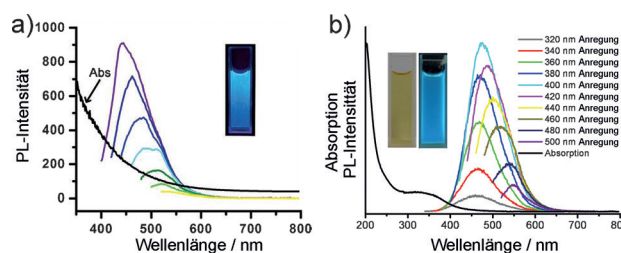


Abbildung 4. Fluoreszenz- und Absorptionsspektren von NCPDs.

a) NCPDs aus der Vernetzung von Ethylendiamin mit TCM (Anregungswellenlängen von 380 nm bis 500 nm in Schritten von 20 nm). Wiedergabe nach Lit. [19]. b) NCPDs aus der Vernetzung von PEI mit TCM. Die Einschübe zeigen wässrige NCPD-Lösungen bei Anregung mit Tageslicht (gelbe Lösung) bzw. UV-Licht (blaue Lösung). Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [10]. Copyright 2014 Royal Society of Chemistry.

nen die verknüpften chemischen Gruppen zur Absorption im UV/Vis-Bereich beitragen. Die beobachteten Abweichungen in den Daten der Absorptionsspektren deuten, zumindest teilweise, auf die differierenden Zusammensetzungen oder Strukturen unterschiedlicher Hybridisierungsderivate hin.

Die PL-Eigenschaften sind bei NCPDs der wichtigste Aspekt im Hinblick auf die Erforschung des PL-Mechanismus und neuer Anwendungen. Die synthetisierten NCPDs zeigen grundsätzlich starke Fluoreszenz, und es gibt viele Möglichkeiten, die Emission zu beeinflussen (d.h. zu verstärken oder abschwächen). Der wichtigste Punkt ist die Vernetzung oder Immobilisierung der potenziellen Sub-Fluorophore. Die Emissionsbande von NCPDs ist gewöhnlich breit, mit einer großen Stokes-Verschiebung im Vergleich zu organischen Farbstoffen. Die Lage der Emissionsbande hängt immer mit der Anregungswellenlänge zusammen (λ_{ex} -abhängiges Verhalten; Abbildung 4). Dieses Phänomen kann aus der breiten Verteilung von PL-Zentren resultieren.

3.2. Löslichkeit und Stabilität

Die NCPDs weisen grundsätzlich eine hohe physiologische Löslichkeit in wässriger Lösung auf (über 20 mg mL^{-1}).^[20] Wasser ist ein unbedingt erforderliches Medium für eine Vielzahl von biochemischen Reaktionen und biologischen Prozessen in verschiedenen lebenden Organismen, wobei die Einhaltung eines entsprechenden pH-Bereichs sehr wichtig ist.^[32] In der Natur gibt es zahlreiche mit wässrigen Medien kompatible Nanostrukturen, die durch Selbstorganisation natürlicher kleiner Moleküle in wässrigem Medium entstehen.^[33] NCPDs sind kompatibel mit Wasser und gut in diesem dispergierbar, da die Bausteine immer hydrophile Moleküle oder übliche Amphiphile sind. Die Fluoreszenz von NCPDs ist grundsätzlich sehr stabil gegenüber pH-Wert, Ionenstärke und UV-Einwirkung.^[19,20,26,27]

Nicht biologische abbaubare oder metabolisierbare körperfremde Trägersubstanzen sammeln sich in Organismen an. Da dies für den menschlichen Körper schädlich sein kann, sind die Herstellung und Verbesserung physiologisch verträglicher biomedizinischer Träger dringend erforderlich.^[37] Im Unterschied zu anderen Materialien auf Kohlenstoffbasis

könnten NCPDs im veränderlichen physiologischen Milieu des menschlichen Organismus aufgrund ihrer nichtkonjugierten Struktur mit dynamischen/reversiblen nichtkovalenten Verknüpfungen im Polymergerüst, die sich durch eine herausragende biologische Abbaubarkeit und Biokompatibilität auszeichnet, spontan abgebaut oder metabolisiert werden. Demzufolge hat die Entwicklung von NCPDs mit definierter Struktur, kontrolliertem Abbau und hervorragender Biokompatibilität ein großes Potenzial im Hinblick auf Systeme für den Wirkstoff-, Gen- oder Proteintransport *in vivo*, biologische Kontrastmittel, Gerüste für das Gewebe-Engineering und biomimetische Materialien.

3.3. Biokompatibilität und Toxizität

Die beschriebenen NCPDs weisen grundsätzlich eine gute Biokompatibilität und geringe Toxizität auf.^[10,16,20,25–27] In der Arbeit von Zhu et al. wurde die In-vitro-Zytotoxizität verschiedener NCPDs-Gehalte mit differenzierten adrenalen Phäochromocytomzellen der Ratte (PC12) mithilfe eines Methylthiazolyldiphenyltetrazoliumbromid(MTT)-Assays bestimmt.^[10] Die Ergebnisse deuten auf eine relativ geringe Toxizität der NCPDs gegen P12-Zellen hin, wobei sich bei Zugabe von 20–30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ NCPDs eine relative Zellebensfähigkeit von über 80 % ergab (Abbildung 5a). Die Toxizität der NCPDs wurde außerdem in HeLa-Zellen und 293T-Zellen getestet, wobei die Zellebensfähigkeit jeweils nach Zugabe von bis zu 80 mg mL^{-1} NCPDs um weniger als 10 % zurückging.^[24]

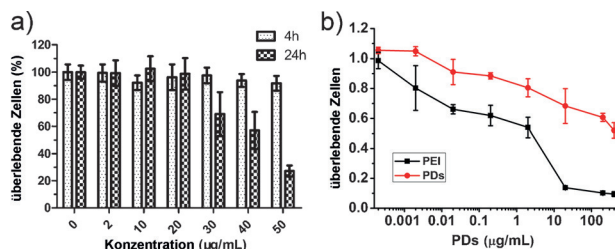


Abbildung 5. Zytotoxizität von NCPDs. a) Zytotoxizität der NCPDs aus der Vernetzung von PEI mit TCM. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [10]. Copyright 2014 Royal Society of Chemistry. b) Zytotoxizität von freiem PEI und von NCPDs aus PEI-PLA-Copolymer. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [25]. Copyright 2013 Nature Publishing Group.

In der Arbeit von Sun et al. wurde die Biokompatibilität von NCPDs mittels CCK-8-Assay in menschlichen Brustkrebszellen MCF-7 untersucht (Abbildung 5b). Die Ergebnisse demonstrierten, dass die NCPDs viel weniger zytotoxisch als das ursprüngliche PEI waren. Mit steigender Dosis erhöhte sich die Zytotoxizität der PDs etwas, allerdings wurden in den In-vitro-Bewertungen wesentlich höhere NCPD-Konzentrationen verwendet als für Anwendungen erforderlich.^[25] Außerdem wurde in einem Blutkompatibilitätstest keine Hämolyse roter Blutkörperchen durch die NCPDs, selbst bei einer Konzentration von 4000 mg mL^{-1} , verursacht, was auf eine gute Blutkompatibilität hindeutet.

4. PL-Mechanismus bei NCPDs

Chemische Gruppen als Sub-Fluorophore in linearen Polymeren oder Polymerpunkten, wie Doppelbindungen mit Heteroatomen ($\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{N}$, $\text{N}=\text{O}$) und Einfachbindungen (Aminogruppen, $\text{C}-\text{O}$), können bei entsprechender Immobilisierung eine gesteigerte PL zeigen. Wirksame Immobilisierungswege sind CEE über kovalente Bindungen, CEE über Aggregation zu einer starren Struktur und CEE über supra-molekulare Wechselwirkungen. Es ist zu beachten, dass sich die vorgeschlagene CEE von der beschriebenen aggregationsinduzierten Emission^[34,35] unterscheidet, die hauptsächlich bei kleinen organischen Molekülen auftritt.

Es gibt drei wesentliche Punkte zum Verständnis des PL-Mechanismus bei NCPDs: 1) Der Sub-Fluorophor in den NCPDs oder linearen Polymeren ist lediglich ein potenzieller Fluorophor mit an sich sehr schwacher PL. Allerdings kann die Fluoreszenz dieser Sub-Fluorophore durch Immobilisierung (chemische Vernetzung oder physikalische Aggregation) gesteigert werden. In diesem Prozess werden die Schwingung und Rotation des Sub-Fluorophors eingeschränkt, was zu einer Verstärkung des Strahlungsübergangs führt. 2) Die PL der NCPDs wird vor allem durch die immobilisierten Sub-Fluorophore gesteuert, die eine sehr große Bandlücke aufweisen.^[36] Dadurch zeigen die NCPDs grundsätzlich blaue Emission. Die Rotverschiebung der Emission von NCPDs könnte durch Erhöhung der Dichte der Hybridelektronen des Sub-Fluorophors, Energietransfer und akkumulierte Emission sowie durch Finden neuer Sub-Fluorophore mit kleiner Bandlücke erreicht werden. 3) NCPDs weisen stets eine λ_{ex} -abhängige PL auf, sodass es mehrere angeregte Zustände geben sollte. Da jedes einzelne Nanopartikel aus vielen Sub-Fluorophoren besteht, haben die NCPDs eine breit gefächerte Zusammensetzung, die Sub-Fluorophore können jeweils in unterschiedlichen chemischen Umgebungen vorliegen, und es können verschiedene PL-Zustände bei den NCPDs auftreten.

Zum weiteren Verständnis des PL-Mechanismus bei NCPDs sind Untersuchungen zum photophysikalischen Prozess und theoretische Rechnungen zum Verhalten angeregter Elektronen dringend erforderlich. So kann sich beispielsweise das angeregte Elektron in dem Sub-Fluorophor in freien Polymerketten ganz anders verhalten als in NCPDs mit Immobilisierung, bislang gibt es jedoch erst sehr wenige Berichte zu diesen Themen.

4.1. CEE über kovalente Bindungen

Yang und Mitarbeiter konnten als Erste bestätigen, dass der PL-Mechanismus bei NCPDs auf dem CEE-Effekt beruht.^[10] Die PL-Eigenschaften der potenziellen Fluoreszenzzentren (Sub-Fluorophore) wurden durch den CEE-Effekt verstärkt. Unter Verwendung von verzweigtem PEI als nichtkonjugiertes Modellpolymer wurde die CEE bei PEI-NCPDs untersucht. PEI enthält einen potenziellen Fluorophor (sekundäre und tertiäre Aminogruppe), und die gesteigerte PL wurde durch die eingeschränkte Schwingung und Rotation in derartigen vernetzten NCPDs auf PEI-Basis

verursacht. In Abbildung 1b und 4b sind die eingesetzten NCPDs und ihre PL-Eigenschaften dargestellt. Die NCPDs zeigten eine temperaturabhängige PL. Insbesondere durch hohe Temperaturen kann die PL bis zu einem gewissen Grad gelöscht werden. Dieses Verhalten belegte vor allem, dass das vernetzte Polymergerüst den Strahlungsübergang der Amin-PL-Zentren in den NCPDs erhöht. (Durch die hohe Temperatur werden die Schwingung und Rotation verstärkt, und der strahlungslose Prozess wird intensiviert.)

Der photophysikalische Prozess wird anhand transientser Spektren (TA) von PEI und NCPDs verdeutlicht (Abbildung 6a,b). Freies PEI lieferte keinen großen Beitrag zu den transienten Signalen, während bei den NCPDs eine deutliche Absorption des angeregten Zustands auftrat, was das gegen-

über freiem PEI verbesserte PL-Verhalten von NCPDs auf PEI-Basis erkennen ließ.

Das CEE-Verhalten wurde auch mit anderen Modellsystemen erreicht, beispielsweise wurde die PL von PVA durch hydrothermale Vernetzung oder durch sich überlappende „Kohlenstoff-Nanoringe“ von linearem PVA gesteigert.^[20,37] Erwähnt werden sollte ein spezieller Fall: Einige Forscher untersuchten den PL-Mechanismus bei Polymeren auf Aminbasis und stellten fest, dass die verstärkte Fluoreszenz sowohl auf die Bildung von sekundärem Aminoxid als auch auf aggregationsinduzierte Emission zurückzuführen ist. Beispielsweise untersuchten Wang und Mitarbeiter das PL-Verhalten von Poly(*N*-vinylpyrrolidon) (PVP).^[28] Sie fanden, dass die ursprünglichen Pyrrolidonringe (z. B. NMP) nur eine

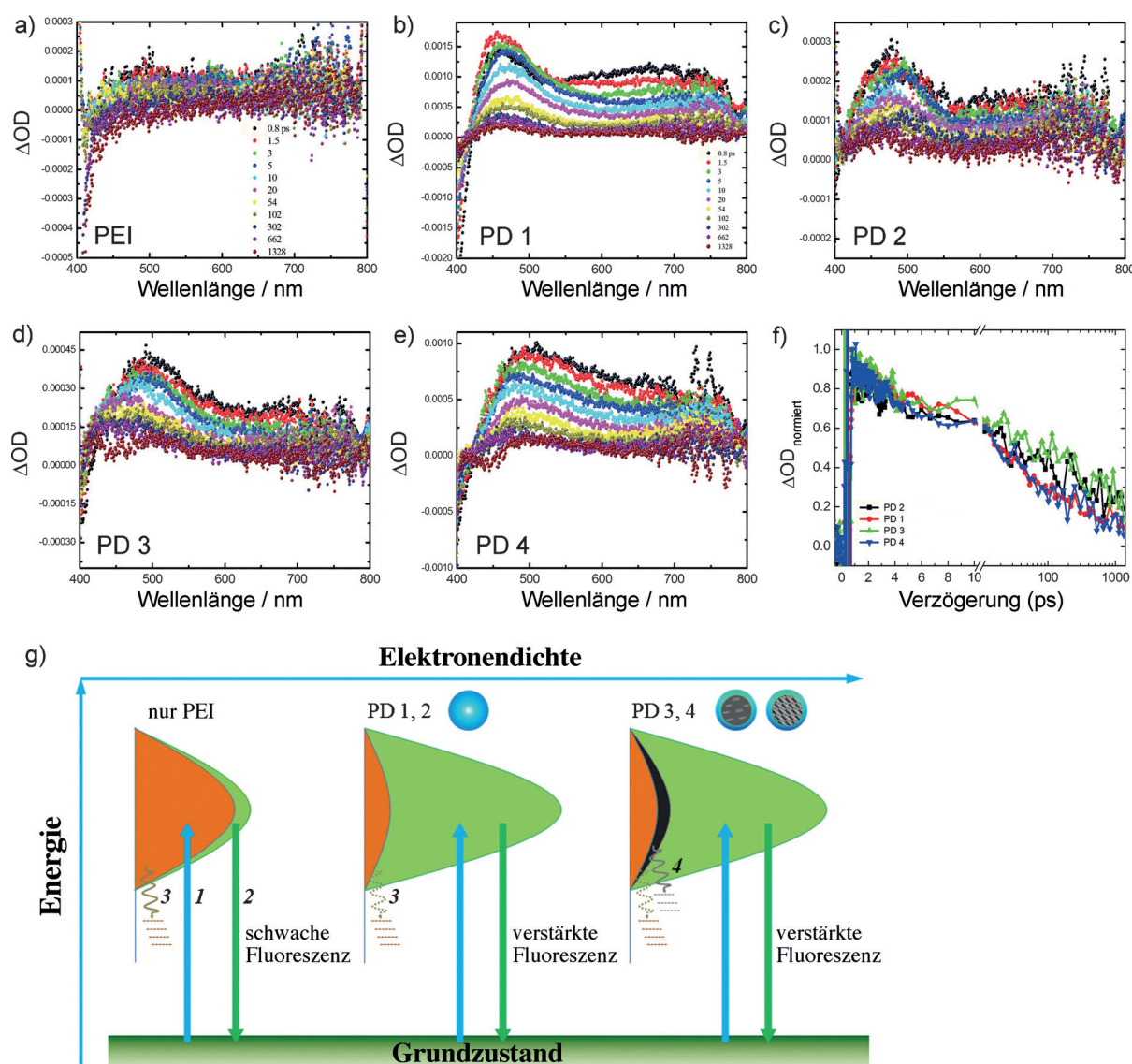


Abbildung 6. a–e) Transiente Spektren von PEI sowie von PD 1, PD 2, PD 3 und PD 4. f) Normierte TA-Dynamik bei 475 nm für PD 1, PD 2, PD 3 und PD 4. g) PL-Mechanismus (CEE-Effekt) von freiem PEI sowie von PD 1, PD 2, PD 3 und PD 4. 1) Elektronen werden aus dem Grundzustand angeregt und durch die auf Aminogruppen basierenden Zustände eingefangen. 2) Angeregte Elektronen kehren über einen Strahlungsvorgang in den Grundzustand zurück. 3) Angeregte Elektronen kehren über einen strahlungslosen Schwingungs- und Rotationsvorgang in den Grundzustand zurück. 4) Angeregte Elektronen kehren über einen auf dem Kohlenstoffkern basierenden strahlungslosen Vorgang in den Grundzustand zurück. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [10]. Copyright 2014 Royal Society of Chemistry.

sehr schwache Fluoreszenz, ihre Hydrolysate aber eine deutlich gesteigerte Fluoreszenz zeigten, was auf die Bildung von sekundärem Aminoxid zurückzuführen ist. Außerdem weisen Polymere mit angehängten Pyrrolidonringen und deren oxidiertes Hydrolysat aufgrund der gesteigerten Emission durch Vernetzung eine viel stärkere Fluoreszenz auf als die entsprechenden niedermolekularen Verbindungen.

4.2. CEE über Aggregation zu einer starren Struktur

Neben der CEE über kovalente Bindungen bei NCPDs oder nichtkonjugierten Polymeren gibt es auch den bekannteren Effekt der CEE über physikalische Aggregation. Da der strahlungslose Übergang (wie die Schwingungs- und Rotationsrelaxation) sowohl durch chemische Bindung als auch durch physikalische Immobilisierung eingeschränkt werden kann, können die PL-Eigenschaften des Sub-Fluorophors in den NCPDs auch durch Aggregation zu einer starren Struktur verbessert werden.

Yang und Mitarbeiter untersuchten die PL-Verstärkung bei PEI und dessen immobilisierten Verbundmaterialien.^[10] Bei freiem PEI fallen die angeregten Elektronen über einen strahlungslosen Schwingungs-/Rotationsvorgang im Wesentlichen in den Grundzustand zurück. PD 1 wurde durch Vernetzung von PEI über kovalente Bindungen hergestellt, PD 2 durch hydrothermale Behandlung von PEI, während PD 3 durch Immobilisierung von PEI auf der Oberfläche von CDs mit einem Kristallgitter und PD 4 durch Immobilisierung von PEI auf der Oberfläche von CDs ohne Kristallgitter erhalten wurden. In der TA-Analyse dieser Serie von NCPDs zeigt das ähnliche Verhalten des angeregten Zustands, dass alle NCPDs die gleichen PL-Zentren enthalten (Abbildung 6b–e). Dieses Ergebnis wird weiter gestützt durch die gleichen Kurven aus der normierten TA-Dynamik mit PL-Peaks bei 475 nm (Abbildung 6f). Bei PD 1 und PD 2 wurden die Schwingung und Rotation des Amino-Sub-Fluorophors aufgrund der Vernetzung des Polymergerüsts eingeschränkt, und der prozentuale Anteil des Strahlungsvorgangs erhöhte sich (CEE-Effekt). Bei PD 3 waren die PEI-Ketten durch an einem amorphen Kohlenstoffkern immobilisiert, und sowohl die Immobilisierung der PEI-Ketten als auch der Antenneneffekt des Kohlenstoffkerns verbesserten die PL-Eigenschaften. Auch bei PD 4 waren die PEI-Ketten fixiert, und das Amin-Zentrum war durch den CEE-Effekt über Aggregation zu einer starren Struktur optimiert, doch der Kohlenstoffkern wies ein mehrschichtiges Kristallgitter mit strahlungslosen Strukturen und Elektronenfallen auf, das den Strahlungsvorgang neutralisierte (Abbildung 6g).

Sun und Mitarbeiter erhielten sehr helle amphiphile NCPDs durch Selbstorganisation eines segmentierten Copolymers.^[25] Sie demonstrierten, dass die starre und kompakte Struktur der NCPDs eine entscheidende Rolle bei dem λ_{ex} -abhängigen Verhalten und der Steigerung der Fluoreszenz spielt. Außerdem wurde durch die pH-abhängige Fluoreszenz von NCPDs bestätigt, dass ein saures Milieu eine wesentlich starrere und kompaktere Konformation erzeugt und somit den Fluoreszenzeffekt induziert.

Dendrimere (wie PAMAMs) stellen einen Sonderfall von NCPDs dar. Sie sind in der Regel kugelförmig, und ihre Molekülarchitektur besteht aus einer baumartigen Verzweigung, wobei die jeweils äußere Schicht oder Generation viele Stellen für eine exponentielle Verzweigung enthält.^[38] Aufgrund der sterischen Hinderung ist der Sub-Fluorophor physikalisch immobilisiert, dadurch zeigen Dendrimere eine gesteigerte PL.

Es ist zu beachten, dass bei den NCPDs Umgebungsfaktoren (wie Konzentration oder pH-Wert) das Ausmaß der Aggregation zu einer starren Struktur und außerdem die PL beeinflussen können. Beispielsweise wurde mit Proben niedermolekularer Amine oder wässrigen Lösungen mit niedriger Konzentration keine signifikante Emission hervorgerufen, während die Gegenstücke davon eine verstärkte PL zeigten, was darauf hindeutet, dass die hohe lokale Konzentration an Aminogruppen (Amincluster) entscheidend für die außergewöhnliche Emission von Polyamin-Polymeren ist; dies könnte die Delokalisierung von Elektronenlöchern fördern, die von Aminogruppen im angeregten Zustand gebildet werden.

4.3. CEE über supramolekulare Wechselwirkungen

Die Steigerung der PL bei NCPDs beruht auf einer eingeschränkten Schwingung und Rotation von Sub-Fluorophor-Gruppen, wodurch der Strahlungsübergang verstärkt wird. Demzufolge könnten die supramolekularen Wechselwirkungen bei der Verstärkung der PL-Emission des Sub-Fluorophors eine ähnliche Rolle wie die gesteigerte Emission durch Vernetzung über kovalente Bindungen oder über Aggregation zu einer starren Struktur spielen.

Während es einige Berichte zu NCPDs mit CEE ausschließlich über supramolekulare Wechselwirkungen gibt, tritt diese in vielen Systemen auch zusammen mit CEE über kovalente Bindungen oder CEE über Aggregation zu einer starren Struktur auf. Diese Systeme weisen grundsätzlich Wasserstoffbrücken und Van-der-Waals-Wechselwirkungen auf; Yang et al. beschrieben beispielsweise biologisch abbaubare photolumineszierende Polymere (BPLPs, „biodegradable photoluminescent polymers“) mit aliphatischer Struktur und davon abgeleitete vernetzte Varianten (Abbildung 7).^[16] BPLPs sind abbaubare Oligomere, die aus biokompatiblen Monomeren, darunter Citronensäure, aliphatische Dirole und verschiedene Aminosäuren, durch eine Kondensationsreaktion einfach und kostengünstig synthetisiert werden. BPLBs können zu Elastomeren weitervernetzt werden. In der Struktur der vernetzten BPLBs trugen neben der CEE über kovalente Bindungen auch mehrere Wasserstoffbrücken zu der gesteigerten PL bei. Aufgrund der vielfältigen supramolekularen Wechselwirkungen – wie Wasserstoffbrücken, Van-der-Waals-Wechselwirkungen, π - π -Wechselwirkungen, Wirt-Gast-Wechselwirkungen und Koordination – wird die Herstellung von NCPDs, deren PL-Ansprechverhalten auf diesen reversiblen Wechselwirkungen beruht, sehr interessant sein.

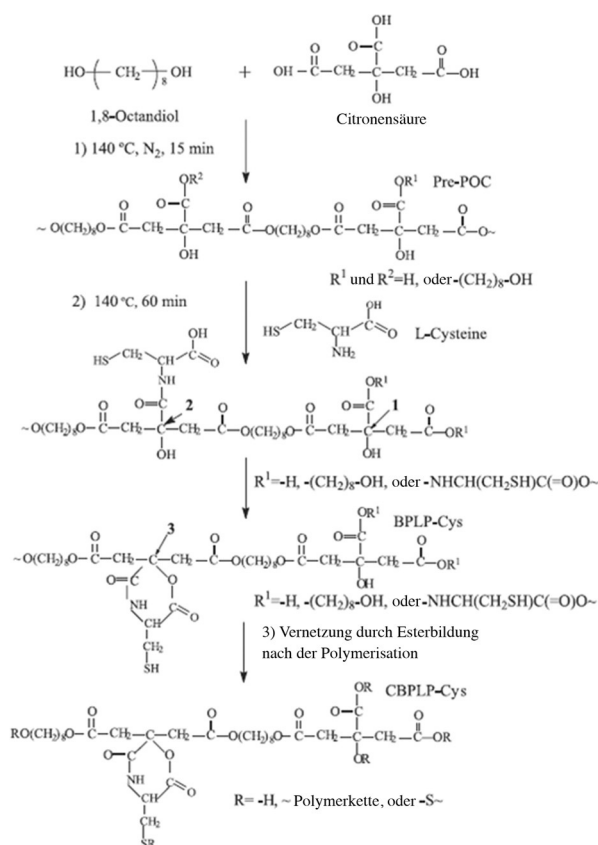


Abbildung 7. Synthese von BPLPs. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [16]. Copyright 2009 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.

4.4. Der CEE-Effekt bei polymerartigen CNDs

Bei der „Bottom-up“-Synthese von Kohlenstoff-Nanopunkten werden immer NCPDs vorgefunden, und viele der beschriebenen Kohlenstoff-Nanopunkte sind diesen NCPDs sehr ähnlich.^[2] Es ist schwierig, die Begriffe NCPDs und CNDs, insbesondere polymerartige CNDs, voneinander abzugrenzen. Wir schlagen vor, sie nach der chemischen Struktur und dem PL-Mechanismus zu unterscheiden. Bei CNDs sind sowohl die Oberflächengruppen als auch der Kohlenstoffkern entscheidend für die PL. Bei NCPDs ist der Carbonisierungsgrad sehr gering (oder gleich Null), die Polymerkettenstruktur bleibt erhalten, und die PL leitet sich aus dem CEE-Effekt bei Sub-Fluorophoren ab.

Einige CNDs, die aus niedermolekularen Vorstufen hergestellt wurden, können in gewissem Sinne NCPDs (polymerartige CNDs) sein, da die Ausgangsstoffe im Syntheseprozess polymerisiert werden. So berichteten Lai et al. über einen Typ von NCPDs aus der hydrothermalen Behandlung von Glucose und Glycin.^[23] Shi et al. synthetisierten CNDs unter Verwendung von Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) als Vorstufe.^[39] Allerdings sind einige PL-Nanopartikel aus nichtkonjugierten Polymeren keine typischen NCPDs. Das Polymer wurde in diesen Beispielen zu Segmenten depolymerisiert oder in Segmente aufgebrochen, und die Segmente bildeten die Bausteine für CNDs.^[40] Hu et al. entwickelten eine Herstellungsmethode für CNDs durch hydro-

thermale Behandlung verschiedener gebrauchter Plastiktüten in Lösungen mit niedriger H₂O₂-Konzentration.^[41] Zuerst wurde die Polyethylenkette der Plastiktüten in kleine oxidierte Spezies zerlegt. Danach wurden diese Spezies polymerisiert, carbonisiert und passiviert, um CNDs zu erhalten. In anderen Beispielen werden NCPDs durch Erhitzen unter Bildung von CNDs carbonisiert. Tatsächlich sind vernetzte NCPDs häufig eine Vorstufe von CNDs. Aus diesen Gründen ist es schwierig, zwischen NCPDs und CNDs anhand eines Wert für den Carbonisierungsgrad zu unterscheiden.

Der CEE-Effekt trifft gewöhnlich für viele typische NCPDs und einige Typen polymerartiger CNDs zu. Beispielsweise untersuchten Yang und Mitarbeiter CNDs aus Citronensäure und Ethylendiamin.^[42,43] Bei einer Reaktionstemperatur unter 150 °C bildete sich ein Fluorophortyp mit hoher Quantenausbeute. Bei einer Reaktionstemperatur von 150–300 °C bildeten sich aus Citronensäure und Ethylendiamin die Fluorophor-Moleküle, vernetzten Polymercluster und auch der CND-Kern. Zwischen diesen Komponenten stellte sich ein Gleichgewicht ein (Abbildung 8).^[44] Eine höhere Reaktionstemperatur führt dazu, dass das Gleichgewicht zugunsten des Polymerclusters oder Kohlenstoffkerns verschoben wird. Eine polymerartige Struktur ist wesentlich für die Bildung von CNDs.^[45] Weitere Untersuchungen zeigten, dass der Polymercluster ein Produkt bei den CNDs ist und der

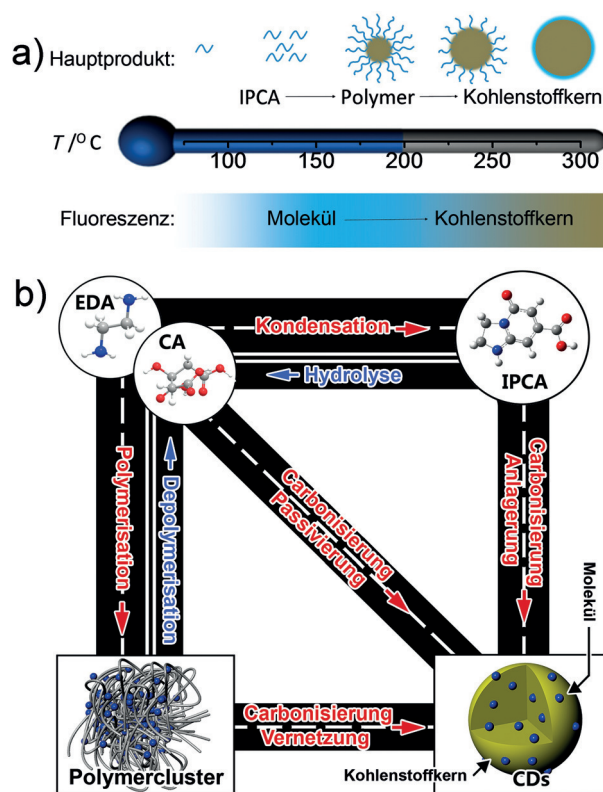


Abbildung 8. a) CDs, die bei unterschiedlichen Temperaturen der hydrothermalen Behandlung erhalten wurden. b) Beziehungen zwischen verschiedenen Produkten im hydrothermalen Eintopfsystem mit Citronensäure (CA) und Ethylendiamin (EDA). In diesem Artikel galt das Hauptaugenmerk dem Polymercluster. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [44]. Copyright 2015 Royal Society of Chemistry.

CEE-Effekt zu einer synergistischen PL in Polymerclustern beitragen kann (Abbildung 8b).^[44,45]

Auch wenn die CEE bei einigen typischen NCPDs beobachtet wird, muss sie nicht die Ursache für die PL sein. In einigen Fällen bewirkt die Polymerisation oder Vernetzung keine Steigerung der PL. So synthetisierten Zhang et al. CNDs und funktionalisierten sie danach auf der Oberfläche mit Glycidylmethacrylat, um polymerisierbare CNDs herzustellen.^[46] Nach der Polymerisation zeigte sich weder ein wesentlicher Unterschied der PL-Spektren noch eine Erhöhung der Quantenausbeute. Zwar wurden die CNDs polymerisiert, doch das PL-Zentrum der CNDs wurde nicht immobilisiert, sodass keine Verstärkung der PL beobachtet wurde.

5. Biologische Anwendungen von NCPDs

NCPDs weisen eine hervorragende Photolumineszenz, gute Beständigkeit und geringe Toxizität auf, was von größter Wichtigkeit für biologische Anwendungen ist. Wir konzentrieren uns nun auf funktionelle NCPDs für Anwendungen in der Biomedizin, wie Wirkstofftransport, Gentransfektion und biologische Bildgebung. Da nur wenige Berichte zu biologischen Anwendungen von NCPDs vorliegen, könnte dieser Abschnitt dazu anzuregen, weitere Anwendungen dieser neuartigen Materialien zu entwickeln.

5.1. Wirkstofftransport und Therapie

Wirkstofftransport bezieht sich auf Technologien, Methoden und Systeme zum Transport pharmazeutischer Wirkstoffe in menschliche Tumorgewebe, damit sie dort in sicherer Weise ihre therapeutische Wirkung erzielen. Bisher wurden NCPDs als erfolgversprechende Wirkstoffträger zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit und Bioverfügbarkeit von Wirkstoffen, einschließlich der bevorzugten Anreicherung an Tumoren, der Verlängerung der Zirkulationszeit und der Verringerung systemischer Nebenwirkungen, verwendet. In der Arbeit von Sun et al. wurde PEI mit hydrophobem Polylactid konjugiert, um amphiphiles PEI, das eine verstärkte Fluoreszenz (CEE über Aggregation zu einer starren Struktur) bei einer hohen Wirkstoffbeladungskapazität zeigte, zum Aufbau von NCPDs zu erhalten.^[25] Paclitaxel (PTX)-beladene Nanopartikel zeigten eine signifikante therapeutische Wirkung im Vergleich zu freiem PTX. Inzwischen wurde durch Fluoreszenzbildgebung die Anreicherung der NCPDs in der Umgebung des Tumors nachgewiesen. Versuche zur Wirkstoff-Freisetzung zeigten, dass es sowohl unter sauren Bedingungen (pH 5.2) als auch unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4) einen anfänglichen PTX-Freisetzungsschub aus den NCPDs innerhalb der ersten 12 Stunden gibt, an den sich eine längere Periode mit gleichmäßiger Freisetzung anschließt (Abbildung 9). Allerdings wurde PTX bei pH 5.2 viel schneller freigesetzt als bei pH 7.4, was darauf hindeutet. Diese pH-Empfindlichkeit der wirkstoffbeladenen NCPDs kann die Freisetzung von PTX begünstigen, wenn die NCPDs in saure Zellkompartimente (z. B. Endosomen oder Lysoso-

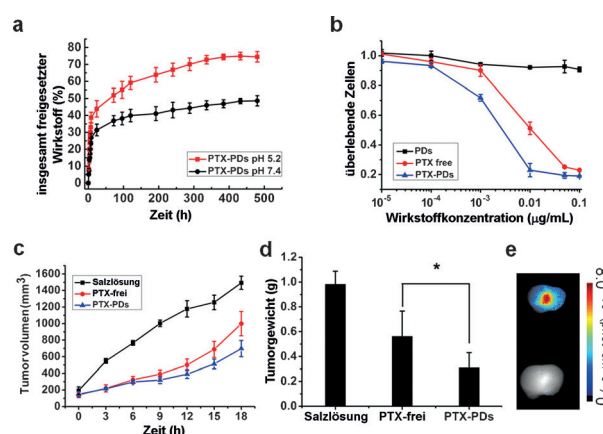


Abbildung 9. a) In-vitro-Wirkstoff-Freisetzung aus PTX-beladenen NCPDs unter sauren Bedingungen (pH 5.2) und physiologischen Bedingungen (pH 7.4). b) Zytotoxizität von freiem PTX, PTX-beladenen NCPDs und unbeladenen NCPDs nach 48 h Inkubation mit MCF-7-Zellen. Die Konzentration der unbeladenen NCPDs und die Konzentration der PTX-beladenen NCPDs waren gleich groß. c,d) Tumorgewicht und Tumorgewicht bei MCF-7-Tumoren tragenden weiblichen Nacktmäusen, die mit Salzlösung, PTX oder PTX-beladenen NCPDs behandelt wurden. e) Fluoreszenzaufnahmen, die die Ex-vivo-Bioverteilung von NCPDs in aus den Mäusen isolierten Tumoren, die sich nach intravenöser Injektion gebildet hatten, zeigen. Unten: Gruppe, die mit Salzlösung behandelt wurde. Oben: Gruppe, die mit PTX-beladenen NCPDs behandelt wurde. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [25]. Copyright 2013 Nature Publishing Group.

men) eindringen. Diese Ergebnisse demonstrieren einen neuen Typ multifunktionaler Nanopartikel auf Polymerbasis, die für die bildgebungsgeführte Wirkstoff-Freisetzung hergestellt wurden.

5.2. Gezielter Transport von siRNA in Tumoren

In den vergangenen zwei Jahrzehnten hat die Gentherapie sehr große Beachtung als potenzielle Methode zur Behebung von Gendefekten oder zum Ausschalten tumorspezifischer Gene gefunden. Sie dient als alternative Strategie zur herkömmlichen Chemotherapie, die bei der Behandlung zahlreicher Erkrankungen angewendet wird. Bei der Gentherapie werden grundsätzlich nichtvirale Vektorsysteme eingesetzt, wie kationische Lipide, Polymere, Dendrimere und Peptide; demzufolge sind NCPDs vielversprechend hinsichtlich der Realisierung faszinierender Anwendungen mit stärkerer Integration und mehr Modifizierungen gegenüber dem homogenen Material. Beispielsweise wurde ein PEG-PASP(MEA)-PEI-Triblockcopolymer verwendet, um kurze interferierende RNA (siRNA) in die Tumorzellen einzubringen.^[27] Nach Bildung einer kompakten Verbindung mit diesen aminhaltigen kationischen Polymeren, können die siRNA-Moleküle vor enzymatischem Abbau in vivo geschützt werden. Zudem können die NCPDs mit einem Liganden zur zielgerichteten Tumoransteuerung modifiziert werden, um eine tumorspezifische Aufnahme und Wirkung zu ermöglichen. Außerdem kann der reversible Charakter der Oberflächenladung, der auf die protonenpuffernde Wirkung von PEI zurückzuführen ist, kurze interferierende RNA vor dem Abbau

schützen und währenddessen die ursprüngliche Größenstabilität im Blutkreislauf aufrechterhalten.

5.3. Biologische Bildgebung

Die biologische Bildgebung ist ein junges Forschungsgebiet, das auf die Anwendung hochentwickelter Bildgebungssonden zur Visualisierung spezifischer Molekülwege *in vivo* gerichtet ist. Gegenwärtig werden zumeist niedermolekulare Verbindungen als Bildgebungssonden in der klinischen Praxis eingesetzt, diese sind aber tendenziell instabil, toxisch und unspezifisch, und sie werden rasch ausgeschieden. Dagegen versprechen Bildgebungssonden auf NCPD-Basis eine erheblich verbesserte Stabilität, verringerte Toxizität, verlängerte Plasmahalbwertszeit, gesteigerte Emission und erhöhte Zielspezifität, und sie könnten in der Zukunft aussichtsreiche Kandidaten für die gezielte biologische Bildgebung in der klinischen Praxis sein.

Der Mechanismus der zellulären Aufnahme und die Internalisierung von NCPDs wurden von Zhu et al. eingehend untersucht.^[10] Es wurde gezeigt, dass aufgrund des energieabhängigen Effektes die Endozytose von NCPDs bei niedriger Temperatur oder im Umfeld einer ATP-Verarmung vollständig unterdrückt wurde (Abbildung 10a). Die Endozytosewege von NCPDs wurden durch die Zugabe von pharmakologischen Inhibitoren weiter erforscht (Abbildung 10a).

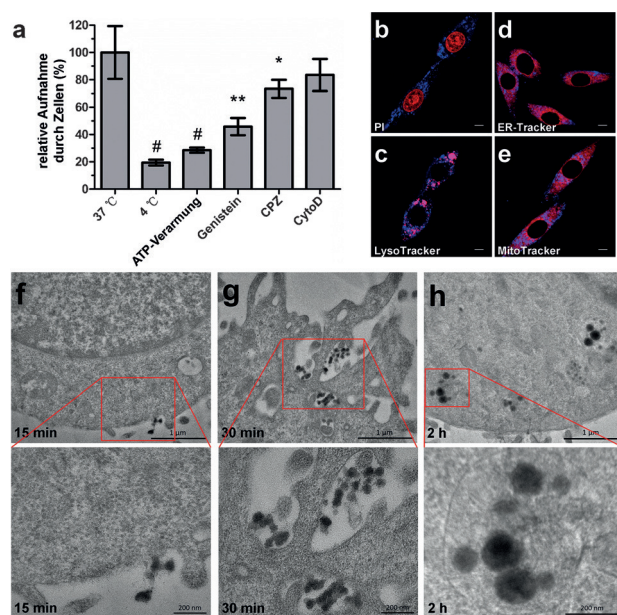


Abbildung 10. a) Mit einem fluoreszenzaktivierten Zellsortierer (FACS) erhaltene quantitative Daten für die Aufnahme von NCPDs durch PC12-Zellen bei Inkubation bei 37 °C, Inkubation bei 4 °C, ATP-Verarmung, Zugabe des Inhibitors Genistein, Zugabe des Inhibitors Chlorpromazin bzw. Behandlung mit Cytochalasin D (Cyto D). b)–e) Colokalisierung von NCPDs und spezifischen Farbstoffen für Zellorganellen in P12-Zellen. Maßstabsbalken: 5 µm. f)–h) Der Endozytoseprozess von in eine Zelle eindringenden NCPDs wurde mittels TEM an fixierten Schnitten verfolgt. Maßstabsbalken: 1 µm bei den oberen Aufnahmen, 200 nm bei den unteren Aufnahmen. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [10]. Copyright 2014 Royal Society of Chemistry.

Die Ergebnisse bestätigten, dass NCPDs über Caveolae- und Clathrin-vermittelte Endozytose sowie über Makropinozytose in PC12-Zellen internalisiert wurden. Die intrazelluläre Verteilung von NCPDs wurde durch Colokalisierung von NCPDs und spezifischen Farbstoffen für Zellorganellen in P12-Zellen untersucht. Propidiumiodid (PI), LysoTracker (rot), ER-Tracker (rot) und MitoTracker (rot) wurden verwendet, um Zellkern, Lysosomen, endoplasmatisches Retikulum bzw. Mitochondrien zu markieren. Es zeigte sich, dass die NCPDs hauptsächlich im Zytoplasma und in den Mitochondrien lokalisiert waren (Abbildung 10b–e). Darüber hinaus wurde die intrazelluläre Verteilung von NCPDs in P12-Zellen mittels TEM an fixierten Schnitten verfolgt. Wie in Abbildung 10f–h veranschaulicht, wurde ein typischer Endozytoseprozess in unterschiedlichen Kultivierungsstadien beobachtet, und NCPDs wurden durch die während 2 h Kultivierung gebildeten Vakuolen umhüllt.

6. Schlussfolgerungen und Ausblick

Aktuell wurden große Fortschritte auf dem Gebiet funktioneller nichtkonjugierter Polymerpunkte erzielt. Synthesemethoden, CEE-Mechanismus und biologische Anwendungen wurden ausführlich beschrieben. Allerdings befindet sich dieses Gebiet noch am Anfang der Entwicklung und steht vor mehreren wichtigen Herausforderungen.

1. Die CEE sollte ein grundlegender wissenschaftlicher Aspekt sein, der von entscheidender Bedeutung für die Fluoreszenz von NCPDs und einigen Arten von CNDs ist. Das CEE-Verhalten ist zutreffend für Systeme nichtkonjugierter Polymere mit Sub-Fluorophoren (Doppelbindungen mit Heteroatomen, wie C=O, C=N, N=O, und Einfachbindungen, wie in Aminogruppen oder C-O). Die λ_{ex} -abhängige PL von NCPDs zeigte, dass es mehrere angeregte Zustände gibt, zwischen denen kein Energietransfer erfolgt. Aufgrund der großen Bandlücke der Sub-Fluorophore zeigen die NCPDs typischerweise blaue Emission. Demzufolge sollten verstärkt Methoden zur Synthese von NCPDs mit hoher Quantenausbeute, Emission im gesamten sichtbaren Bereich und reversibler PL entwickelt werden.

2. Die derzeitige Funktionalität der NCPDs ist noch recht einfach und einförmig, deshalb ist die Entwicklung ausgeklügelter multifunktionaler NCPDs dringend notwendig. Spezielle Verfahren, wie Vernetzung durch UV-Bestrahlung oder Tempern, können bei der Herstellung dieser NCPDs angewendet werden. Außerdem sollte eine Vielzahl biologisch abbaubarer, biokompatibler oder bioresorbierbarer synthetischer Polymere, wie Polyole, Polyether, Polyester, Polylactide und Polyphosphate, als ideale Bausteine zur Synthese funktioneller NCPDs genutzt werden.

3. Der gegenwärtige Wissensstand ist von großer Bedeutung für das Verständnis der Fluoreszenz von bekannten linearen Polymeren und Biomakromolekülen, die in der Regel deutliche Lumineszenz bei bestimmten Anregungswellenlängen zeigen. Das liegt daran, dass die in diesen Systemen vorhandenen Sub-Fluorophore vernetzt oder immobilisiert sind, was zu einer hellen Photolumineszenz führt. Wenn beispielsweise eine wässrige PVA-Lösung unter Bildung eines

Gels verfestigt wird, tritt Fluoreszenz auf, während Proteine in lebenden Organismen immer eine Hintergrundfluoreszenz aufweisen, aufgrund des möglichen Sub-Fluorophors und des CEE-Verhaltens (Strukturen infolge mehrphasiger Aggregation).

4. Funktionelle NCPDs wurden bisher überwiegend für biomedizinische Anwendungen *in vitro* genutzt, und es ist noch ein langer Weg bis zu ihrem Einsatz in der klinischen Diagnostik und Therapie. Folglich reicht die relevante Forschung auf diesem Gebiet bei Weitem nicht aus, und es bleibt noch viel zu tun. Da die NCPDs die klassischen Eigenschaften herkömmlicher Polymere wie Viskoelastizität und Verarbeitbarkeit behalten, stellt sich außerdem die Nutzung verschiedener Anwendungen auf Basis dieser NCPDs als sehr aussichtsreich dar.^[47]

Danksagung

Diese Arbeit wurde finanziell unterstützt durch die National Science Foundation of China (NSFC) unter Grant Nr. 51433003, 51373065, 21221063, 91123031, das National Basic Research Program of China (Programm 973) unter Grant Nr. 2012CB933800 und das 57. Stipendium der China Postdoctoral Science Foundation (2015M570267).

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 14626–14637
Angew. Chem. **2015**, *127*, 14834–14846

- [1] C. Wu, D. T. Chiu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 3086–3109; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 3164–3190.
- [2] S. Zhu, Y. Song, X. Zhao, J. Shao, J. Zhang, B. Yang, *Nano Res.* **2015**, *8*, 355–381.
- [3] a) Y. Song, S. Zhu, B. Yang, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 27184–27200; b) S. Zhu, S. Tang, J. Zhang, B. Yang, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 4527–4539.
- [4] L. Cao, M. J. Mezzani, S. Sahu, Y. P. Sun, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 171–180.
- [5] H. Li, Z. Kang, Y. Liu, S.-T. Lee, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 24230–24253.
- [6] K. Lawrence, F. Xia, R. L. Arrowsmith, H. Ge, G. W. Nelson, J. S. Foord, M. Felipe-Sotelo, N. D. Evans, J. M. Mitchels, S. E. Flower, S. W. Botchway, D. Wolverson, G. N. Aliev, T. D. James, S. I. Pascu, F. Marken, *Langmuir* **2014**, *30*, 11746–11752.
- [7] E. J. Goh, K. S. Kim, Y. R. Kim, H. S. Jung, S. Beack, W. H. Kong, G. Scarcelli, S. H. Yun, S. K. Hahn, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 2554–2561.
- [8] D. Chowdhury, N. Gogoi, G. Majumdar, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 12156–12159.
- [9] A. Sachdev, I. Matai, P. Gopinath, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 20915–20921.
- [10] S. Zhu, L. Wang, N. Zhou, X. Zhao, Y. Song, S. Maharjan, J. Zhang, L. Lu, H. Wang, B. Yang, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 13845–13848.
- [11] W. I. Lee, Y. Bae, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8358–8359.
- [12] E. Zhao, J. W. Y. Lam, L. Meng, Y. Hong, H. Deng, G. Bai, X. Huang, J. Hao, B. Z. Tang, *Macromolecules* **2015**, *48*, 64–71.
- [13] S.-R. Guo, J.-Y. Gong, P. Jiang, M. Wu, Y. Lu, S.-H. Yu, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 872–879.
- [14] P. Yang, Y. Zhao, Y. Lu, Q. Z. Xu, X. W. Xu, L. Dong, S. H. Yu, *ACS Nano* **2011**, *5*, 2147–2154.
- [15] J. Zhang, Y. Yuan, Z. L. Yu, A. Yu, S. H. Yu, *Small* **2014**, *10*, 3662–3666.
- [16] J. Yang, Y. Zhang, S. Gautam, L. Liu, J. Dey, W. Chen, R. P. Mason, C. A. Serrano, K. A. Schug, L. Tang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 10086–10091.
- [17] Y. Yang, J. Cui, M. Zheng, C. Hu, S. Tan, Y. Xiao, Q. Yang, Y. Liu, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 380–382.
- [18] S. Liu, J. Tian, L. Wang, Y. Zhang, X. Qin, Y. Luo, A. M. Asiri, A. O. Al-Youbi, X. Sun, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 2037–2041.
- [19] Z. A. Qiao, Q. Huo, M. Chi, G. M. Veith, A. J. Binder, S. Dai, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 6017–6021.
- [20] S. Zhu, J. Zhang, L. Wang, Y. Song, G. Zhang, H. Wang, B. Yang, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 10889–10891.
- [21] M. Sun, C. Y. Hong, C. Y. Pan, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 20581–20584.
- [22] J. Gu, W. Wang, Q. Zhang, Z. Meng, X. Jia, K. Xi, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 15589–15591.
- [23] T. Lai, E. Zheng, L. Chen, X. Wang, L. Kong, C. You, Y. Ruan, X. Weng, *Nanoscale* **2013**, *5*, 8015–8021.
- [24] W. Li, Z. Zhang, B. Kong, S. Feng, J. Wang, L. Wang, J. Yang, F. Zhang, P. Wu, D. Zhao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 8151–8155; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 8309–8313.
- [25] Y. Sun, W. Cao, S. Li, S. Jin, K. Hu, L. Hu, Y. Huang, X. Gao, Y. Wu, X. J. Liang, *Sci. Rep.* **2013**, *3*, 3036.
- [26] C. X. Guo, J. Xie, B. Wang, X. Zheng, H. B. Yang, C. M. Li, *Sci. Rep.* **2013**, *3*, 2957.
- [27] J. Li, X. Yu, Y. Wang, Y. Yuan, H. Xiao, D. Cheng, X. Shuai, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 8217–8224.
- [28] G. Song, Y. Lin, Z. Zhu, H. Zheng, J. Qiao, C. He, H. Wang, *Macromol. Rapid Commun.* **2015**, *36*, 278–285.
- [29] D. Ding, C. C. Goh, G. Feng, Z. Zhao, J. Liu, R. Liu, N. Tomczak, J. Geng, B. Z. Tang, L. G. Ng, B. Liu, *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 6083–6088.
- [30] S. Zhu, L. Wang, B. Li, Y. Song, X. Zhao, G. Zhang, S. Zhang, S. Lu, J. Zhang, H. Wang, H. Sun, B. Yang, *Carbon* **2014**, *77*, 462–472.
- [31] K. Li, W. Qin, D. Ding, N. Tomczak, J. Geng, R. Liu, J. Liu, X. Zhang, H. Liu, B. Liu, B. Z. Tang, *Sci. Rep.* **2013**, *3*, 1150.
- [32] J. C. Orr, V. J. Fabry, O. Aumont, L. Bopp, S. C. Doney, R. A. Feely, A. Gnanadesikan, N. Gruber, A. Ishida, F. Joos, R. M. Key, K. Lindsay, E. Maier-Reimer, R. Matear, P. Monfray, A. Mouchet, R. G. Najjar, G. K. Plattner, K. B. Rodgers, C. L. Sabine, J. L. Sarmiento, R. Schlitzer, R. D. Slater, I. J. Totterdell, M. F. Weirig, Y. Yamanaka, A. Yool, *Nature* **2005**, *437*, 681–686.
- [33] J. Roughgarden, S. Gaines, H. Possingham, *Science* **1988**, *241*, 1460–1466.
- [34] Y. Hong, J. W. Lam, B. Z. Tang, *Chem. Commun.* **2009**, 4332–4353.
- [35] Y. Hong, J. W. Lam, B. Z. Tang, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5361–5388.
- [36] A. B. Mabire, M. P. Robin, W. D. Quan, H. Willcock, V. G. Stavros, R. K. O'Reilly, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 9733–9736.
- [37] X. Li, Y. Liu, X. Song, H. Wang, H. Gu, H. Zeng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1759–1764; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 1779–1784.
- [38] Y. Shen, X. Ma, B. Zhang, Z. Zhou, Q. Sun, E. Jin, M. Sui, J. Tang, J. Wang, M. Fan, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 5319–5326.
- [39] Q.-Q. Shi, Y.-H. Li, Y. Xu, Y. Wang, X.-B. Yin, X.-W. He, Y.-K. Zhang, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 1563–1566.
- [40] M. Chen, W. Wang, X. Wu, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 3937–3945.
- [41] Y. Hu, J. Yang, J. Tian, L. Jia, J.-S. Yu, *Rsc Adv.* **2014**, *4*, 47169–47176.
- [42] S. Zhu, Q. Meng, L. Wang, J. Zhang, Y. Song, H. Jin, K. Zhang, H. Sun, H. Wang, B. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 3953–3957; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 4045–4049.

- [43] Y. Song, S. Zhu, S. Xiang, X. Zhao, J. Zhang, H. Zhang, Y. Fu, B. Yang, *Nanoscale* **2014**, 6, 4676–4682.
- [44] Y. Song, S. Zhu, S. Zhang, Y. Fu, L. Wang, X. Zhao, B. Yang, *J. Mater. Chem. C* **2015**, 3, 5976–5984.
- [45] L. Deng, X. Wang, Y. Kuang, C. Wang, L. Luo, F. Wang, X. Sun, *Nano Res.* **2015**, 9, 2810–2821.
- [46] P. Zhang, W. Li, X. Zhai, C. Liu, L. Dai, W. Liu, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 10431–10433.
- [47] S. Zhu, J. Zhang, Y. Song, G. Zhang, H. Zhang, B. Yang, *Acta Chim. Sin.* **2012**, 70, 2311–2315.
- Eingegangen am 1. Juni 2015
Online veröffentlicht am 16. Oktober 2015
Übersetzt von Kerstin Mühle, Chemnitz
-