

# Festkörper-NMR-Charakterisierung von Curcuminderivaten und Gamavuton-0-Poly(2-Methyl- 2-Oxazolin)-block-Poly(2-n-Propyl-2-Oxazin)-block- Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-Polymermizellen



## Bachelorarbeit

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Fakultät für Chemie und Pharmazie

Studienfach: Chemie

vorgelegt von

Lucas Ferrando Plo aus Zaragoza

Würzburg, 2021

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum vom 1. Oktober bis zum 1. März 2021 im Institut für Organische Chemie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg unter der Leitung von Stephanie Bachmann und Jun.-Prof. Dr. Ann-Christin Pöppler angefertigt.



# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	III
Zusammenfassung	V
1-. Einleitung	7
1.1-. Wirkstoff-Transport-Systeme	7
1.2-. DDS-Systematisierung	8
1.3-. Polymermizellen	12
1.3.1-. Allgemeine Grundlagen	12
1.3.2-. Polymermizellen als DDS	14
1.3.3-. Charakterisierung	17
1.3.4-. Polymere	18
1.3.5-. Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-block-Poly(2-n-Propyl-2-Oxazin)-block-Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-Polymer (PMeOx-PPrOzi-PMeOx) und heutiges Strukturmodell	18
2-. Ziel dieser Arbeit	21
2.1-. Überblick	21
2.2-. Vermutungen in Bezug auf die funktionellen Gruppen	22
3-. Ergebnisse und Diskussion	25
3.1-. NMR-Spektroskopie-Charakterisierung der einzelnen Molekülen	25
3.1.1-. Charakterisierung von Gamavuton-0	26
➤ <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum in Lösung (DMSO-d <sub>6</sub> )	27
➤ <sup>13</sup> C-NMR-Spektrum in Lösung (DMSO-d <sub>6</sub> )	29
➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster	30
➤ <sup>13</sup> C-Festkörper-NMR-Spektrum (amorphe Probe)	31
3.1.2-. Charakterisierung von Dimethoxycurcumin	32
➤ <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum in Lösung (DMSO-d <sub>6</sub> )	33
➤ <sup>13</sup> C-NMR-Spektrum in Lösung (DMSO-d <sub>6</sub> )	35
➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster	37
➤ <sup>13</sup> C-Festkörper-NMR-Spektrum (krystalline Probe)	38
3.1.3-. Charakterisierung des Curcuminaminoderivats	41
➤ <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum in Lösung (CDCl <sub>3</sub> )	42
➤ <sup>13</sup> C-NMR-Spektrum in Lösung (DMSO-d <sub>6</sub> )	44
➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster	45
➤ <sup>13</sup> C-Festkörper-NMR-Spektrum (teilkristalline Probe)	46
3.1.4-. Dehydrozingeron	48
➤ <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum in Lösung (CDCl <sub>3</sub> )	49
➤ <sup>13</sup> C-NMR-Spektrum in Lösung (CDCl <sub>3</sub> )	50

➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster -----	51
➤ <sup>13</sup> C-Festkörper-NMR-Spektrum (kristalline Probe)-----	52
3.1.5-. Bisdemethoxycurcumin -----	53
➤ <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum in Lösung (DMSO-d <sub>6</sub> ) -----	54
➤ <sup>13</sup> C-NMR-Spektrum in Lösung (DMSO-d <sub>6</sub> ) -----	55
➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster -----	56
➤ <sup>13</sup> C-Festkörper-NMR-Spektrum (kristalline Probe)-----	57
3.2-. <sup>13</sup> C-Festkörper-NMR-Spektrum des PMeOx-PPrOzi-PMeOx-Polymers -----	60
3.3-. Festkörper-NMR-Spektroskopie-Charakterisierung der Gamavuton-0-PMeOx-PPrOzi-PMeOx-Mizellen (12.3 und 18.4 mmol) -----	60
3.3.1-. Ansatz-----	60
3.3.2-. Ergebnisse und Diskussion-----	61
4-. Experimenteller Teil -----	70
4.1-. Curcuminderivate-----	70
4.2-. PMeOx-PPrOzi-PMeOx -----	70
4.3-. Formulierungen -----	70
4.4-. NMR-Messungen in Lösung -----	70
4.5-. Festkörper-NMR-Messungen -----	71
4.6-. Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster-----	71
5-. Ausblick -----	72
Literaturverzeichnis -----	VII

# Abkürzungen

DDS	Drug Delivery Systems
NIBIB	National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering
EPR	Enhanced Permeability and Retention
ABC	ATP-binding cassette
PM	Polymermizelle
CAC	Critical Aggregation Concentration
CMC	Critical Micellar Concentration
HLB	Hydrophilic-lipophilic balance
N	Aggregationsanzahl
PTX	Paclitaxel
CUR	Curcumin (1E,6E)-1,7-bis(4-Hydroxy-3-Methoxyphenyl)-Hepta-1,6-Dien-3,5-Dion
B	Hydrophober Teil eines allgemeinen Blockcopolymers
A	Hydrophiler Teil eines allgemeinen Blockcopolymers
PMeOx	Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)
PPrOzi	Poly(2-n-Propyl-2-Oxazin)
TsO <sup>-</sup>	p-Toluolsulfonat
PROx	Poly(2-R-Oxazolin)
PROzi	Poly(2-R-Oxazin)
P	PMeOx-PPrOzi-PMeOx
GVT-0	Gamavuton-0 (1E,4E)-1,5-bis(4-Hydroxy-3-Methoxyphenyl)-Penta-1,4-Dien-3-On
CUR-M4	Dimethoxycurcumin (1E,6E)-1,7-bis(3,4-Dimethoxyphenyl)-Hepta-1,6-Dien-3,5-Dion
CUR-NH <sub>2</sub>	Curcuminaminoderivat (1E,6E)-1,7-bis(4-amino-3-methoxyphenyl)-Hepta-1,6-Dien-3,5-Dion

BDMC	Bisdemethoxycurcumin (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxyphenyl)-Hepta-1,6-Dien-3,5-Dion
HALBESCUR	Dehydrozingeron Vanillylidenaceton 4-(4-Hydroxy-3-Methoxyphenyl)-3-Buten-2-On
PXRD	Powder X-Ray Diffraction
HETCOR	Heteronuclear Correlation
FAO	Food and Agriculture Organisation of the United States
MAS	Magic Angle Spinning
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
±R	±Resonanzeffekt
±I	±induktiver Effekt
OMe	Methoxy
COSY	Correlated Spectroscopy
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HPDEC	High Power Decoupling

# Zusammenfassung

Die isolierten Wirkstoffmoleküle zeigen meist geringe Wirkung und müssen mit passenden Co-substanzen oder durch geeignete Gabe aufgenommen werden. Wirkstofftransportsysteme sind hier eine vielversprechende Möglichkeit. Diese Strukturen oder Methoden zu „[...] gezielter Abgabe und/oder kontrollierter Freisetzung von therapeutischen Mitteln“ laut des National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering (NIBIB)<sup>[1]</sup> können so die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften verbessern. Parenterale Gabe, Antigen-orientierte Strategien, Liposomen, magnetische Nanopartikel oder sogar Stammzellen zeigen die abwechslungsreichen Möglichkeiten.

Zu der vielseitigen Gruppe von Abgabehikeln gehören auch Polymermizellen (PM). Diese sind Nanostrukturen von amphiphilen Polymeren, die sich selbst unter den passenden Bedingungen aufgrund von hydrophilen und hydrophoben Wechselwirkungen zu Aggregaten organisieren, welche Fremdstoffe einkapseln können. Das Polymer, das in dieser Arbeit behandelt wird, nimmt eine sphärische Kern-Schale-Struktur an. In wässrigen Lösungen ist der Kern eine hydrophobe Umgebung, die im Gegensatz zu der hydrophilen Schale ist. Diese Strukturen haben ein vielversprechendes Potenzial als DDS, weil die hydrophoben Arzneimittelmoleküle umschlossen werden können und die hydrophile Schale polare Interaktionen mit der Umgebung schafft, den Wirkstoff gegen die teils harschen Bedingungen im Organismus schützt<sup>[2]</sup> und die Zellerkennung vereinfachen kann.<sup>[3]</sup> Poly(2-Oxazolin)(POx)- und Poly(2-Oxazin)(POzi)-Polymere stellen eine wichtige Möglichkeit dar. Das für diese Arbeit zentrale Polymer ist ein Triblockcopolymer, mit einem mittleren hydrophoben Teil bestehend aus Poly(2-n-Propyl-2-Oxazin)(PPrOzi) und zwei äußerlichen hydrophilen Ketten von Poly(2-Methyl-Oxazolin)(PMeOx). Die Haupteigenschaft ist die Biokompatibilität mit dem Organismus,<sup>[4]</sup> die mit der Fähigkeit zur Bildung von selbst-assemblierenden PM in wässrigen Lösungen<sup>[5-8]</sup> die Anwendung als DDS erlauben. Die PPrOzi-Fragmente befinden sich im hydrophoben Kern, wogegen die PMeOx-Fragmente in der polaren Umgebung liegen. Diese Strukturen können Wirkstoffmoleküle einkapseln. MENKE und LUXENHOFER *et al.* überprüften die hervorragende Löslichkeit und Beladungskapazität.<sup>[7-8]</sup> Durch Festkörper-NMR-Spektroskopie waren PÖPPLER *et al.*<sup>[5]</sup> dazu in der Lage, ein erstes Strukturmodell für mit Curcumin beladene Mizellen vorzuschlagen. Bei einer niedrigen Konzentration des Wirkstoffs wird nur der Kern besetzt und die Moleküle nehmen eine relativ planare Konformation an. Dabei gibt es Nahordnung wegen der H-Brücken zwischen der OH-Gruppe von Curcumin und dem Amid von dem hydrophoben Block des Polymers. Mit steigender Beladung verringert sich die kurzreichweitige

Ordnung, die Mizelle wird größer und es gibt eine Wechselwirkung mit der Schale. Bei der höchsten Beladung befinden sich die Schaleketten näher beieinander, was eine Vernetzung der Schale mit den Curcuminmolekülen als Linker verursacht.

In dieser Arbeit wird die Forschung von PÖPPLER et. al.<sup>[5]</sup> fortgesetzt: Mizellen aus PMeOx-PPrOzi-PMeOx werden mit verschiedenen Wirkstoffmolekülen mit unterschiedlichen Anteilen und Konzentrationen beladen und solche Formulierungen durch Festkörper-NMR-Spektroskopie charakterisiert, um das Strukturmodell mithilfe unterschiedlicher Gastmoleküle zu verbessern.

Nach der NMR-Messung der einzelnen Molekülen wurden die Spektren prozessiert und ausgewertet; die chemischen Verschiebungen von den Gastmolekülen wurden zugeordnet. Die Proben wurden außerdem mittels der Pulverröntgendiffraktometrie vor und nach Drehung im magischen Winkel während der NMR-Messung untersucht, um zu überprüfen, ob die Rotation die Probe beeinflusst und um die Kristallinität bzw. Amorphizität der Probe festzustellen.

Als letztes wurden zwei Formulierungen von Gamavuton-0 (GVT-0) ausgewertet. In den Mizellen befinden sich die GVT-0-Moleküle sowohl im Kern als auch in der Schale und die C-OH-Gruppen bilden H-Brücken mit den Amidfragmenten von den Polymerketten. Die Amide sind mit höherer Beladung an zusätzlichen Wechselwirkungen beteiligt, die höchstwahrscheinlich an Polymer-GVT-0-Polymer-Interaktionen liegen.

# 1-. Einleitung

## 1.1-. Wirkstoff-Transport-Systeme

Die Arzneimittelentwicklung steht häufig einem Problem gegenüber: die isolierten Wirkstoffmoleküle zeigen meist geringe Wirkung, es sei denn, dass sie die Form einer Formulierung mit passenden Cosubstanzen annehmen oder durch geeignete Gabe aufgenommen werden. Isolierte Wirkstoffmoleküle zeigen niedrige Wasserlöslichkeit und Aufnahme, kürzere Halbwertszeit, ungenügende Spezifität<sup>[9-11]</sup>, Eliminierungsprozesse (Erste-Passage-Effekt<sup>[12]</sup> -**Abbildung 2-**, usw.) neben weiteren Problemen. Ein Beispiel dafür ist Ibuprofen: die erforderliche Dosis beträgt ca. 20 mg für erwachsene Patienten, um einen therapeutischen Effekt zu erzielen.<sup>[13]</sup> Diese Menge zeigt in Form von reinem Ibuprofen aber keine beobachtbare Wirkung wegen des Erste-Passage-Effekt-Metabolismus und der niedrigen Wasserlöslichkeit.<sup>[13]</sup> Deswegen muss man entweder die Dosis um einen Faktor 10 erhöhen oder z.B. den Aufnahmeweg verändern.<sup>[13]</sup> Diese Voraussetzungen für ein passendes Medikament hat in den letzten Dekaden an Bedeutung zugenommen. Dieser Trend hat allerdings nicht im heutigen Jahrhundert begonnen, sondern ist seit Mitte des 20. Jahrhunderts ständig gestiegen.<sup>[14]</sup> Die Entwicklung und Anwendung von komplett neuen Wirkstoffmolekülen umfasst einen niedrigen Anteil sowohl der entsprechenden Forschungsarbeit, die Pharmaunternehmen durchführen, als auch ihres Marktwertes.<sup>[14]</sup> Der Grund dafür liegt an den wirtschaftlichen Aussichten: steigende Forschungskosten, eine Beschränkung der Patentprofitabilität wegen längerer Entwicklungszeit und eines geringeren Erfolges (weniger als 1% der Kandidatenwirkstoffe können letztendlich vertrieben werden) stehen einem kostspieligen Entwicklungsprozess gegenüber,<sup>[15]</sup> der heutzutage mehr als \$120M für die Entdeckung, klinische Überprüfung, usw. betragen kann.<sup>[14]</sup>

Eine vielseitige Möglichkeit sind die sogenannten Wirkstofftransportsysteme bzw. Arzneimittelabgabesysteme (engl. Drug Delivery Systems -DDS-). Diese Strukturen oder Methoden zu „[...] gezielter Abgabe und/oder kontrollierter Freisetzung von therapeutischen Mitteln“ laut des National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering (NIBIB)<sup>[1]</sup> erlauben „[...] den Abbau von Wirkstoffzersetzung, das Verhindern von Nebenwirkungen, die Verbesserung der Bioverfügbarkeit und die Erhöhung der Konzentration der Verbindung in gezielten Geweben“.<sup>[2]</sup> Darüber hinaus berichten einige Autoren von einer „einzigsten Abgaberoute, Verlängerung der Verbindung-Gewebe-Interaktion und der infolge gezielter Konzentration sowie einer konstanten Konzentration im Zielgewebe, einer geeigneten Freisetzungsgeschwindigkeit und Verringerung der erforderlichen Dosis“<sup>[9-11]</sup>; somit im Großen und Ganzen bessere pharmako-

kinetische und pharmakodynamische Eigenschaften.<sup>[11]</sup> Die Tatsache, dass im Jahr 2000 die DDS-Wirkstoff-Formulierungen in den USA 40% der vertriebenen Arzneimittel ausmachten,<sup>[14]</sup> unterstreicht die Bedeutung dieser Systeme.

Dabei ist es wichtig zu bedenken, dass die oben genannten Systeme meist nicht inert sind. Deshalb scheint es angemessen, gezielte Richtlinien aufzustellen. DDS sollten vor allem (1) neutral gegenüber dem Immunsystem, (2) nicht toxisch, (3) stabil in den passenden Bedingungen und (4) biologisch abbaubar sein sowie (5) kompatible Abbauprodukte, (6) eine passende Abgabegeschwindigkeit, (7) eine möglichst geringe Abgabe während des Transports aufweisen und darüber hinaus (8) günstig sein.<sup>[11, 16-17]</sup> Besonders erwähnenswert ist die Arzneimittelfreisetzungsrates, da dieser Wert eine entscheidende Wirkung auf den Organismus haben kann. Dafür gilt das Verhältnis: je vorzeitiger die Abgabe, desto verbreiteter die Wirkung; je langsamer die Rate, desto mehr Arzneimittelresistenz.<sup>[18]</sup>

## 1.2-. DDS-Systematisierung

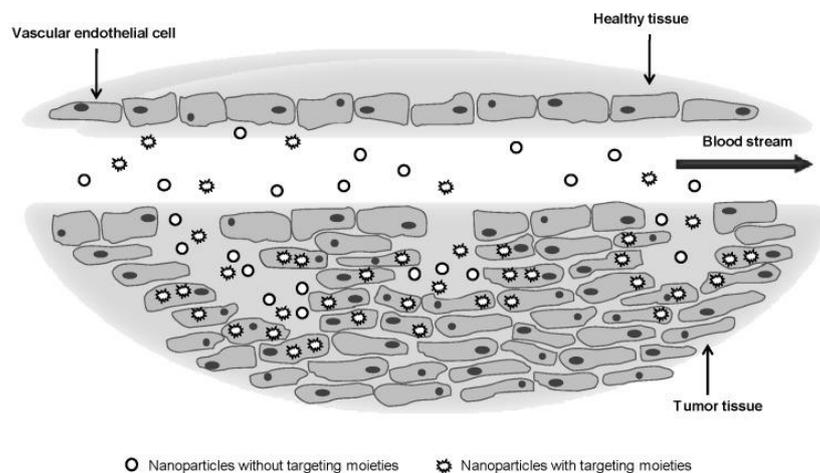
Verschiedene Merkmale und Eigenschaften sollten berücksichtigt werden, wenn ein geeignetes System für den Wirkstofftransport untersucht wird. SALTZMAN *et al.* schlugen eine Fünf-Punkt-Methode vor, um den Designprozess zu systematisieren: (1) Wirkstoffeigenschaften, (2) Nebenwirkungen, (3) Abgaberouten, (4) Zielgewebe und (5) Krankheit.<sup>[10]</sup>

NIBIB<sup>[11]</sup> stellt ebenso eine Systematisierung in Bezug auf die Forschungsbereiche dar: (1) Fracht, (2) Zielorientierte Strategien, (3) Abgabewege und (4) Abgabevehikel. Da diese Systematisierung allgemeiner als die von SALTZMAN *et al.* ist, wird diese im Folgenden näher erläutert.

1. Die Beladung bezieht sich auf das Molekül bzw. die Verbindung oder den Wirkstoff, dessen Eigenschaft eine Wirkung auf den Organismus auslöst, wie beispielsweise einzelne Moleküle, Gene, Eiweiße, Zellen, Nukleinsäuren, Enzyme, usw.<sup>[19]</sup>
2. Zielorientierte Strategien sollen die Konzentration der Verbindung im Zielgewebe erhöhen, wogegen die in den gesunden reduziert werden soll. Es gibt mehrere Ansätze dazu, die hiernach kurz behandelt werden<sup>[18]</sup>:
  - Passives System. Die Akkumulation und Retention des Arzneimittels wird durch die Eigenschaften des kranken Gewebes vermittelt, vor allem bei makromolekularen Komplexen (engl. Enhanced Permeability and Retention -EPR-). Ein

Beispiel dazu ist das lückenhafte Gefäßsystem von Tumoren, wodurch die Permeabilität erhöht wird (**Abbildung 1**). Dadurch kann die Konzentration der eingekapselten Wirkstoffe in Tumoren um einen Faktor 10 bis 100 verbessert werden.<sup>[20]</sup>

- Aktives System. Die Bindung zwischen Ligand und Rezeptor erlaubt eine Wirkstoff-Arzneimittelträger-Zell-Interaktion.<sup>[21]</sup> Dabei muss Extravasation vom ganzen Komplex stattfinden, damit die Bindung sich entwickeln kann (**Abbildung 1**). Die sogenannten Antigen-orientierten Strategien benutzen die folgende Methode: die Tumorzellen überexprimieren die Antigene und deshalb werden Systeme mit passenden Rezeptoren an der Oberfläche durch Endozytose in größerer Menge aufgenommen. Die G-Protein-gekoppelten-Rezeptor-Methoden benutzen Proteine, an die Antikörper gerichtet werden können. Seit dem 20. Jahrhundert gehören etwa 30% der vertriebenen kleinen einzelnen Moleküle zu diesem Wirkmechanismus.<sup>[21]</sup>

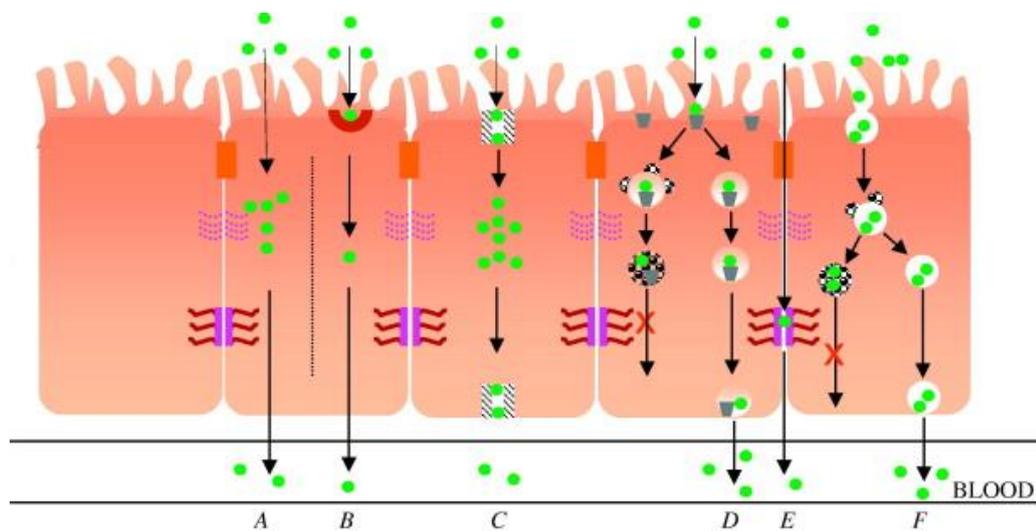


**Abbildung 1.**<sup>[22]</sup> Darstellung von einem passiven System durch die Permeabilität eines lückenhaften Gefäßsystems in Tumoren und von einem aktiven System (z.B. Antikörper). Über die Blutgefäße gelangt die Mehrheit der aufgenommenen Nanopartikel ins Tumorgewebe wegen des EPR-Effektes und die Akkumulation und Resorption wird durch die zielorientierten Fragmente erhöht. Abbildung nachgedruckt/veröffentlicht mit Genehmigung von C. Gonçalves, P. Pereira, M. Gama, *Materials* (Basel) **2010**, 3, 1420-1460. Copyright (2010) die Autoren.

- Doppelte zielorientierte Systeme. Strukturelle Veränderungen werden durch Stimuli gefördert und auf diese Weise wird der Komplex aktiviert. Ein Beispiel dafür sind pH-sensitive Poly( $\beta$ -amino ester)-Nanopartikel, die in Tumoren oder innerhalb der Zelle von Endosomen und Lysosomen mit einem pH-Wert von ca. 5 verändert werden können, sodass der Wirkstoff freigesetzt werden kann.<sup>[23]</sup>

- Umgekehrte zielorientierte Systeme. Das retikuloendotheliale System besteht aus Zellen meist aus der Leber, die fremde Stoffe phagozytieren.<sup>[24]</sup> Durch eine erhebliche Aufnahme von Kolloidalträgern kann das System überfordert werden, sodass die Zielzellen ungeschützt sind, wie zum Beispiel DEOL et al. bewiesen, die in der Lage waren, den oben genannten Effekt mit Phosphatidylcolin, Cholesterol und Dicetylphosphat, neben weiteren Molekülen, umzusetzen.<sup>[25]</sup>
3. Abgabewege beantworten die Frage: Wie können die Medikamente der Person verabreicht werden? Es gibt zahlreiche bestehende Möglichkeiten, z.B.: Inhalation, parenterale Gabe, über die Haut, oder durch orale Aufnahme. Alle sind charakterisiert durch die dazugehörigen Vorteile und Nachteile, aber für die Patienten ist wegen ihrer Einfachheit und Patientenakzeptanz die orale Verabreichungsform von zentraler Bedeutung.<sup>[26-28]</sup> Repräsentativ dafür ist die Anzahl der derzeit vertriebenen oralen Arzneimittel, die 60% der Gesamtzahl der Medikamente beträgt.<sup>[29]</sup> Dabei treten aber bestimmte charakteristische Probleme auf, die überwunden werden müssen. Vor allem die sauren Bedingungen des Gastrointestinaltrakts, die Absorption durch die Enterozyten<sup>[2]</sup> und der bereits erwähnte intestinale Erste-Passage-Effekt (engl. First-Pass-Effekt) **-Abbildung 2-** sind hier zu nennen.

Drei bestimmte Probleme stehen hier in Fokus: Löslichkeit, Permeabilität und First-Pass-Effekt. (1) 40% der zurzeit verfügbaren Arzneimittel sind als „unlöslich in Wasser“ (weniger als 1 µg/mL) klassifiziert<sup>[30-31]</sup>, was niedrige Bioverfügbarkeit<sup>[32]</sup> und infolge Dosissteigerungen<sup>[33-34]</sup> verursachen kann. (2) Permeabilität bezeichnet „den Fluss einer Substanz durch eine Membran pro Zeiteinheit“<sup>[35]</sup> und bei oraler Aufnahme stellt der Dünndarm (**Abbildung 2**) den Ort der größten Permeabilität dar.<sup>[29]</sup> Die Resorption von Wirkstoffmolekülen in Enterozyten findet überwiegend durch den parazellulären (**Abbildung 2E**) und transzellulären Transport (**Abbildung 2A**) statt.<sup>[36]</sup> ABC-Efflux-Transporter können aber die resorbierten Fremdstoffe zurück in den Darm transportieren.



**Abbildung 2.** Darstellung der verschiedenen Mechanismen der Absorption von Fremdstoffen (grüne Punkte) im Dünndarm. Beim parazellulären Transport (E) werden Fremdstoffe zwischen Zellen transportiert; beim transzellulären Transport (A) können niedermolekulare Moleküle allein oder durch einen Membranrezeptor (erleichterte Diffusion, C) diffundieren; beim aktiven Transport (B) tritt das Molekül mithilfe eines Membranproteins unter Energieverbrauch durch. Bei rezeptorvermittelter Endozytose (D) und Pinozytose (F) können die Blasen mit Wirkstoffmolekülen drin Lysosomen mit Enzymen begegnen, welche die Fremdstoffe abbauen können.<sup>[36]</sup> Allgemein können Moleküle beim Durchtritt metabolisiert werden (intestinaler First-Pass-Effekt). Nicht dargestellte ABC-Efflux-Transporter können die resorbierten Fremdstoffe zurück in den Darm transportieren. Abbildung nachgedruckt/veröffentlicht mit Genehmigungsnummer 4982961157557 von G. Gaucher, P. Satturwar, M.-C. Jones, A. Furtos, J.-C. Leroux, Eur. J. Pharm. Biopharm. 2010, 76, 147-158. Copyright (2010) Elsevier B.V..

Gleichzeitig muss allerdings berücksichtigt werden, dass die beiden Phänomene (Löslichkeit und Permeabilität) nicht getrennt voneinander wirken. Eines beeinflusst das andere. Die Diffusion eines hydrophoben Wirkstoffs durch eine zelluläre Membran spielt, wie bereits erwähnt, eine wichtige Rolle für die Permeabilität und hängt stark von dem Verteilungskoeffizienten ab: je höher dieser Wert ist, desto permeabler ist die Zelle für das Wirkstoffmolekül. Die Systeme, welche die Löslichkeit verbessern, verursachen auch eine Verringerung des Koeffizienten und infolgedessen der Permeabilität. Deswegen muss die Löslichkeitssteigerung die Permeabilitätssenkung kompensieren.<sup>[35]</sup>

(3) Der First-Pass-Effekt besteht aus zwei Prozessen: dem intestinalen und dem hepatischen. (a) Der erste Prozess findet bei oraler Aufnahme statt und bezeichnet die Metabolisierung der Fremdstoffe durch die Dünndarmzellen (**Abbildung 2**). (b) Der zweite Prozess wird von der Leber durchgeführt und hat das gleiche Ergebnis. Die Bedeutung dieser zwei Prozesse hängt von der Art der Gabe ab: z.B. durch Inhalation des Wirkstoffes können diese zwei Vorgänge umgangen werden. Bei oraler Aufnahme ist die

Mehrheit des aufgenommenen Medikaments nur nach beiden Prozessen bioverfügbar. Vor diesem Hintergrund stellen die Polymermizellen eine vielversprechende Möglichkeit dar (siehe Kapitel 1.3). Es gibt aber manche Medikamente, die metabolisiert werden müssen, sodass ihre Bioverfügbarkeit steigt.

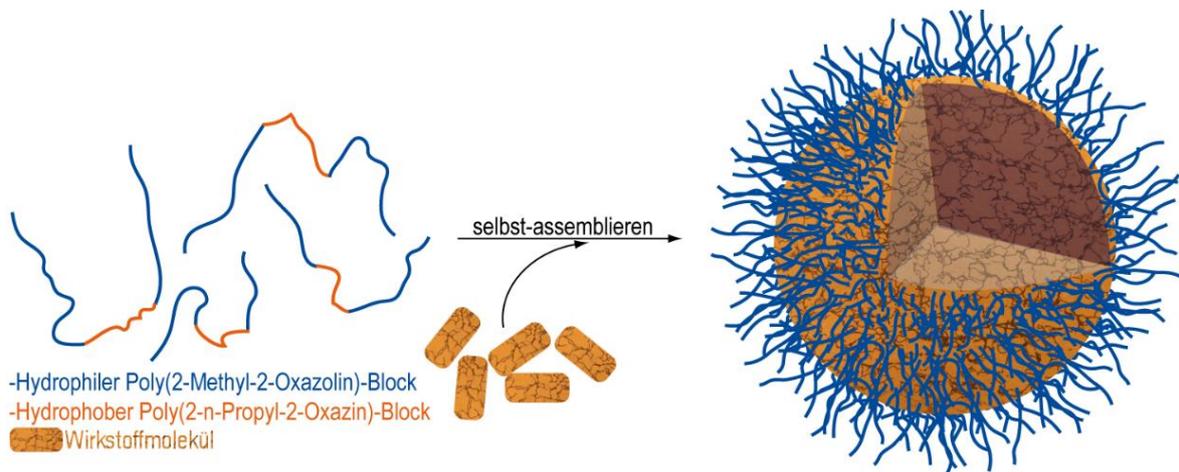
4. Die Abgabevehikel können als das wichtigste bestimmende Kriterium und geeignete Mittel für ein erfolgreiches und passendes DDS bezeichnet werden.<sup>[12]</sup> Liposomen, magnetische Nanopartikel oder sogar Stammzellen zeigen die abwechslungsreichen Möglichkeiten. Zu dieser vielseitigen Gruppe von Abgabevehikeln gehören auch Polymermizellen, welche im Folgenden detaillierter behandelt werden.

## 1.3-. Polymermizellen

### 1.3.1-. Allgemeine Grundlagen

Die Forschung von Polymermizellen (PM) als DDS ist kein neuer Trend. Diese wurden schon im 20. Jahrhundert untersucht<sup>[37]</sup> und im Jahr 2013 berichteten MATSUMURA *et al.* von 23 polymeren Nanopartikeln in klinischen Studien.<sup>[38]</sup>

PM sind Nanostrukturen von amphiphilen Molekülen, die sich selbst unter den passenden Bedingungen aufgrund von hydrophilen und hydrophoben Wechselwirkungen zu Komplexen organisieren, welche Fremdstoffe einkapseln können. Tenside oder amphiphile Diblock- bzw. Triblockcopolymerer zählen sich zu dieser Kategorie.<sup>[28]</sup> Es gibt mehrere Modelle. Für das Polymer, das in dieser Arbeit behandelt wird, wird eine Kern-Schale-Struktur angenommen. In wässrigen Lösungen ist der Kern eine hydrophobe Umgebung, die im Gegensatz zu der hydrophilen Schale ist. Die Morphologien, die diese Strukturen annehmen, sind vielfältig, z.B.: Stränge, Blätter, wurmartig, usw. Sphären<sup>[39]</sup> sind aber die Form dieses Polymers (**Abbildung 3**).



**Abbildung 3.** Darstellung des Bildungsprozesses in wässriger Lösung einer Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-block-Poly(2-n-Propyl-2-Oxazolin)-block-Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-Polymermizelle, die einen allgemeinen Wirkstoff einkapselt. Die Polymermoleküle selbst-assemblieren und der hydrophobe Poly(2-n-Propyl-2-Oxazolin)-Block bildet mit den lipophilen Wirkstoffmolekülen den Kern bei niedriger Beladung. Der hydrophile Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-Block liegt außerhalb in der polaren Umgebung.

Der Formationsprozess stellt drei Schritte mit einer steigenden Polymerkonzentration dar. (1) Wenn die Anzahl der gelösten Polymermoleküle niedrig genug ist, befinden diese sich in der einzelnen Form als Unimere. Die Mizellen bzw. die Polymere sind beeinflusst von der Konzentration: die Kritische Mizellenkonzentration (engl. Critical Aggregation Concentration - CAC- bzw. Critical Micellar Concentration -CMC-). (2) Wenn dieser Wert erreicht und (3) überstiegen wird, selbst-assembliert die Mehrheit der Moleküle zu Mizellen deren Konzentration mit mehr hinzugefügten Polymermolekülen steigt, wogegen die der Unimere gleich bleibt.

Aus physikalischer Sicht werden Mizellen durch zwei Parameter gekennzeichnet: die thermodynamische und die kinetische Stabilität. (1) Die Thermodynamik zeigt, dass der Gibbsenergieabbau die Mizellenbildung erlaubt. (a) Die Enthalpieänderung entspricht einem exothermen Prozess ( $\Delta H < 0$ ): hydrophobe Moleküle werden vom Wasser entfernt, das H-Brückennetz wird wieder hergestellt<sup>[28]</sup> und neue hydrophobe bzw. hydrophile Wechselwirkungen werden geschaffen. (b) Die Entropieänderung wird erhöht ( $\Delta S > 0$ ): die Wassermoleküle der Solvationssphäre der Unimere und der Wirkstoffmoleküle werden entfernt. Die Thermodynamik zeigt ebenso, dass die Konzentration höher als die CMC sein muss, damit die Mizelle thermodynamisch stabil ist. Die kritische Mizellenbildungskonzentration hängt von mehreren Faktoren wie der Temperatur, der Ionenstärke oder dem Lösungsmittel aber überwiegend vom hydrophilen-lipophilen Gleichgewicht (engl. hydrophilic-lipophilic balance -HLB-) ab.<sup>[40]</sup> HLB bezieht sich auf das folgende Verhältnis: je stärker die Hydrophobizität des Kernes, desto niedriger die CMC

(konstanter hydrophiler Anteil vorausgesetzt).<sup>[41]</sup> Deswegen haben niedermolekulare Tenside eine höhere CMC als PM ausgestattet mit einer längeren hydrophoben Kette ( $10^{-4}$  vs.  $10^{-7}$  (M) in wässrigen Lösungen).<sup>[28]</sup> Das heißt, dass Polymermizellen theoretisch die hohe Verdünnung in einem Organismus besser aushalten können.<sup>[27]</sup> (2) Die Kinetik erlaubt zwei Bemerkungen zu machen. (a) Erstens, dass Mizellen, Nanopartikel und Aggregate unterschiedlich sind. Der Ausdruck „Mizelle“ bezeichnet dynamische Strukturen, in denen die Monomere leicht zwischen Aggregaten austauschen können (dynamische Mizellen). Ein Beispiel dafür sind die Mizellen von Tensiden. Wenn die Unimere sich nicht schnell im Vergleich zu Mizellen zwischen Aggregaten bewegen können (kinetisch gefangen), spricht man von Nanopartikeln. Copolymermizellen entsprechen dieser Kategorie. Das Wort „Aggregat“ gilt für beide. Die verbreitete Bezeichnung ist es, Nanopartikel auch Mizellen zu nennen (kinetisch gefrorene Mizellen).<sup>[39, 42-43]</sup> In dieser Arbeit werden aber alle drei Bezeichnungen (Mizelle, Aggregat und Nanopartikel) als Synonyme benutzt. (b) Zweitens, dass die kinetischen Eigenschaften vor allem unterhalb der CMC ins Spiel kommen, wenn diese wichtiger als die thermodynamischen Merkmale sind. PM sind kinetisch stabil. Das heißt, dass sie länger unterhalb der CMC-Bedingungen erhalten bleiben,<sup>[28]</sup> sodass der Wirkstoff den Transport vom Aufnahmeort bis ins Zielgewebe aushält.

### 1.3.2-. Polymermizellen als DDS

Anhang dieser physiko-chemischen Eigenschaften kann man sehen, welches Potenzial als DDS davon ausgeht; nicht nur hervorragende Stabilität sondern auch weitere Merkmale werden hier zusammenfassend behandelt.

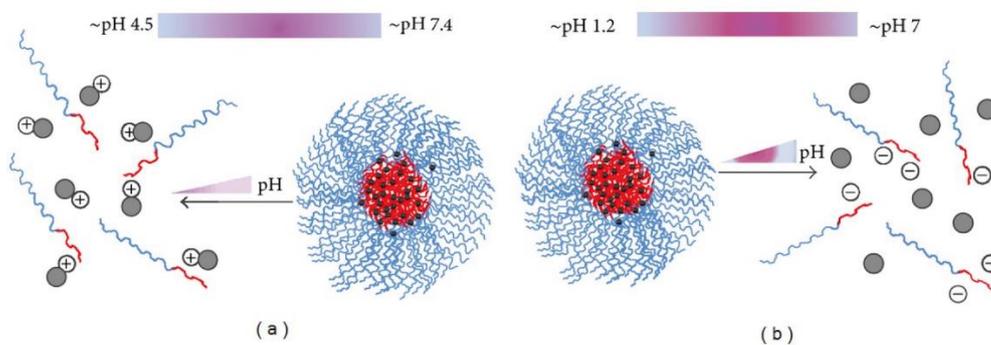
Die Kern-Schale-Struktur stellt den Hauptgrund dafür dar. Die hydrophoben Arzneimittel-moleküle können umschlossen werden und die hydrophile Schale schafft polare Interaktionen mit der Umgebung, schützt den Wirkstoff gegen die teils harschen Bedingungen im Organismus<sup>[2]</sup> und kann die Zellerkennung vereinfachen.<sup>[3]</sup>

Mit solchen Eigenschaften ist es nicht verwunderlich, dass PM bereits angewandt worden sind, z.B. um die oben genannten Probleme der oralen Aufnahme zu verbessern: Schutz gegen den gastrointestinalen Trakt, Verringerung der Eliminierung durch Adhäsion vom Endothelium<sup>[44]</sup> sowie relatives Vermeiden vom First-Pass-Effekt.

Eine längere Kreislaufzeit ist fast immer eine Voraussetzung, um die gezielte Wirkung umzusetzen. Diese Bedingung ist besonders wichtig bei passiven zielorientierten Systemen und

Tumoren wegen der charakteristischen Eigenschaften (siehe Kapitel 1.2). PM haben eine hervorragende Stabilität und können länger die Organismusbedingungen aushalten<sup>[2, 45-46]</sup>, was mehr Akkumulation bedeutet. Außerdem sind die Größe und das Molekulargewicht dafür aus zwei Gründen passend. (1) Der EPR-Effekt ist wichtiger bei Makromolekülen im Bereich von 10-200 nm, genau dort wo die Größe von PM im Durchschnitt liegt.<sup>[2]</sup> (2) Die Grenze für die Renalausscheidung von Nanopartikeln liegt bei 5.5 nm<sup>[47]</sup> und 450 Da unter dem Größen- und Molekulargewichtsdurchschnitt von PM. Deswegen können diese mehrere Stunden im Kreislauf verbleiben.<sup>[48-49]</sup> Infolge dieser Merkmale können Mizellen durch passive zielorientierte Systeme verstärkt nur auf gezielte Gewebe wirken und daher ermöglichen, dass eine höhere Dosis als die toxische Konzentration für das einzelne Molekül aufgenommen werden kann.<sup>[2]</sup>

PM können allerdings nicht nur als passive zielorientierte Systeme angewandt werden, sondern auch als aktive Systeme durch Antikörper, Zuckermoleküle, Eiweiße, usw. oder auch als doppelte zielorientierte Systeme durch z.B. pH-sensitive Moleküle. Man spricht allgemein von einer Aktivierung des passiven Systems<sup>[2]</sup> (**Abbildung 4**).<sup>[50-52]</sup> Ein Beispiel dafür sind Polymere, die eine Amid- oder Esterbindung enthalten. Bei Hydrolyse der Bindung wird die selbe Reaktion von den saureren Produkten selbst-katalysiert.<sup>[53]</sup> Die oben genannte hervorragende Stabilität von PM hat aber den Nachteil, dass die Abgaberate zu niedrig ist und vor diesem Hintergrund spielen doppelte zielorientierte Systeme eine bestimmende Rolle.

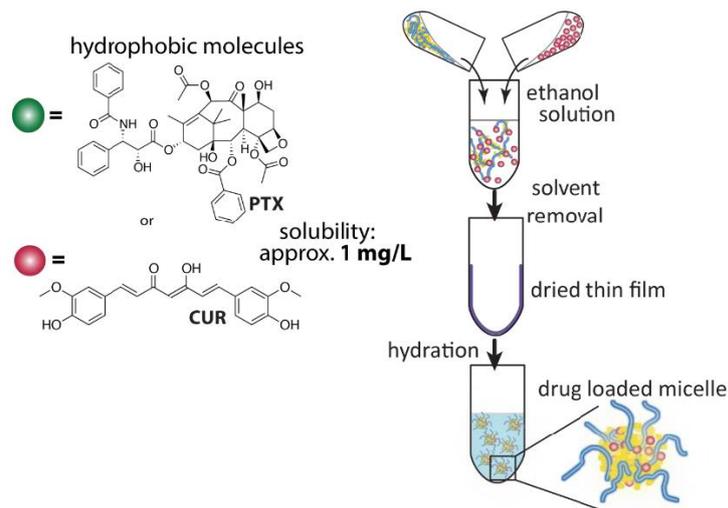


**Abbildung 4.** Darstellung von einem pH-aktivierten Polymermizellesystem durch (a) basische und (b) saurere hydrophobe Kernkette eines Diblockcopolymers. Bei einer Veränderung des pH-Wertes werden die Mizellen zerstört und der Wirkstoff wird abgegeben.<sup>[28]</sup> In Tumoren ist der pH-Wert etwas saurer (6.8) als mit 7.23 in gesunden Geweben<sup>[54]</sup>. Wenn die hydrophobe Kernkette nicht pH-sensitiv wäre, hätte diesen Unterschied keine Bedeutung (passives System aktiviert durch aktives System).<sup>[27]</sup> Abbildung nachgedruckt/veröffentlicht und angepasst mit Genehmigung von W. Xu, P. Ling, T. Zhang, J. Drug Delivery **2013**, 2013, 340315-340315. Copyright (2013) Wei Xu et al..

Das Löslichkeitsproblem von Arzneimittelmolekülen kann teilweise durch PM wegen ihrer hervorragenden Auflösungseigenschaften gelöst werden. PÖPPLER *et al.* berichteten von einer bis um einen Faktor 6000 höheren Auflösungsrate von Curcumin durch solche Aggregate.<sup>[5]</sup>

PM zeigen auch eine hohe Beladungskapazität. Es gibt zwei entscheidende Parameter dazu: die Aggregationsanzahl (N) und der hydrophobe Anteil des Polymers.<sup>[2]</sup> (1) N bezeichnet den Durchschnitt von Unimere pro Mizelle und dabei berichteten manche Autoren von dem Zusammenhang, dass mit höherem N die Eigenschaften besser sind.<sup>[55-59]</sup> (2) Das Polymer hat einen bestimmenden Einfluss, da der hydrophobe Anteil Wechselwirkungen mit dem Wirkstoff bildet, was der Hauptvorteil im Vergleich zu Tensiden ist (siehe Kapitel 1.3.1). MOLAVI *et al.* stellten die Bedeutung der Kette fest, indem sie Poly(ethylen-oxid)-block-poly( $\epsilon$ -caprolacton)-Polymermizellen mit eingekapseltem Cucubarticin erforschten und die Mizellen mit einem hydrophoberen Poly( $\epsilon$ -caprolacton)-Block eine höhere Beladungskapazität erreichen konnten (um einen Faktor 3 erhöht).<sup>[59]</sup>

Um die Arzneimittelmoleküle in Mizellen einzukapseln, gibt es zahlreiche verfügbare Methoden<sup>[60-64]</sup>. Tensidmizellen können leicht Moleküle wegen des konstanten Austausches auflösen; dieses Verhalten ist aber nicht beobachtbar in PM wegen der kinetisch gefangenen Unimere und es erschwert den Beladungsprozess der Aggregate. Die verschiedenen Möglichkeiten werden hier nicht alle behandelt; es gibt aber eine, die wegen der Anwendung in dieser Arbeit erklärt wird: die Dünnschichtmethode (**Abbildung 5**). Eine bestimmte Konzentration von Polymeren und Wirkstoffmoleküle werden aufgelöst. Das Lösemittel muss daher sowohl die Wirkstoff- als auch die Polymermoleküle auflösen und darüber hinaus leicht entfernbar sein. Ethanol eignet sich für die Verbindungen, die in dieser Arbeit behandelt werden. Wenn das Lösemittel entfernt wird, entsteht ein Dünnschicht, in dem noch keine beladenen Nanopartikel vorliegen. Höchstwahrscheinlich löst Ethanol das Polymer so gut auf, dass die kritische Konzentration relativ hoch ist und wenn diese überschritten wird, nicht genug Lösemittel übrig bleibt, damit der Bildungsprozess stattfinden kann. Deshalb wird angenommen, dass die verschiedenen Komponenten im Dünnschicht vororientiert sind, sodass sich die Mizellen dann einfacher formen, als in der ungeordneten Lösung. Wenn ein geeignetes Lösemittel wie Wasser hinzugefügt wird, in dem das Polymer eine niedrige CMC hat (also welches das Polymer nicht extrem gut auflöst), werden die Mizellen gebildet. Von hier an kann in Lösung oder im Festkörper gearbeitet werden, indem das Lösemittel mithilfe einer Gefriertrocknungsanlage entfernt wird.



**Abbildung 5.** Darstellung der Dünnschichtmethode von beladenen Polymermizellen. Die Wirkstoffmoleküle von Paclitaxel (grün) oder Curcumin (rot) werden zu einer Probe mit einem aufgelösten Polymer in einem entfernbaren Lösungsmittel hinzugefügt. Durch verschiedene Techniken wie Erwärmen, wird das Lösemittel entfernt. Mit dem Zusatz von Wasser zum getrockneten Film werden die Mizellen geschaffen und aufgelöst.<sup>[6]</sup> Abbildung nachgedruckt-/veröffentlicht mit Genehmigung von M. M. Lübtow, L. Hahn, M. S. Haider, R. Luxenhofer, J. Am. Chem. Soc. **2017**, 139, 10980-10983. Copyright (2017) American Chemical Society.

Die Wirkstoffmoleküle werden überwiegend durch zwei Abgabemechanismen freigesetzt. (a) Diffusionkontrollierter Mechanismus: Auflösung der Wirkstoff-Polymer-Wechselwirkung und anschließende Diffusion des Moleküls aus der Mizelle. (b) Quellungskontrollierter Mechanismus: Dissoziation der Mizelle und folgende Auflösung der Wirkstoff-Polymer-Wechselwirkung. Wenn ein Aggregat einen anderen Mechanismus darstellt, spricht man von einem ungewöhnlichen Transport.<sup>[45, 56]</sup>

### 1.3.3-. Charakterisierung

Mizellen werden durch drei Parameter charakterisiert: Trübung, CMC und Größe. Zusätzliche Techniken wie Fluoreszenz, dynamische Lichtstreuung, Grenzflächenspannung, usw. können angewandt werden.<sup>[2]</sup>

Festkörper-NMR-Spektroskopie verdient eine besondere Erwähnung, da sie auch zur Strukturauflösung benutzt werden kann. Mehrere Autoren haben das Potenzial dieser Technik für die Untersuchung von Mizellen für den Wirkstofftransport herausgestellt.<sup>[5, 65]</sup>

### 1.3.4-. Polymere

Diblock- bzw. Triblockcopolymere sind von großem Interesse als DDS. Diese besitzen einen hydrophoben (B) und einen hydrophilen (A) Teil (Diblockcopolymere, AB, und Triblockcopolymere, z.B. ABA).<sup>[7]</sup>

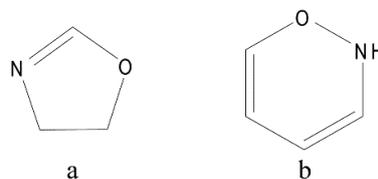
Normalerweise kontrolliert der B-Anteil bzw. das Kernfragment durch Polymer-Wirkstoff-Interaktionen die Auflösung und Abgabe des Wirkstoffs.<sup>[45]</sup> Je stabiler diese sind, desto näher zum Kern befindet sich die Mehrheit der Arzneimittelmoleküle<sup>[2]</sup> (obwohl die Beladung auch berücksichtigt werden soll<sup>[5]</sup>).

Die Blocklänge hat auch einen Einfluss auf die Eigenschaften. Mizellen mit höherer Größe können mehr Wirkstoffmoleküle beladen. Was man davon erwarten kann ist, dass Mizellen mit zunehmender Beladung größer werden. Die Tatsache ist nicht immer so und manche Autoren haben von einer Beschränkung berichtet.<sup>[2, 66-68]</sup>

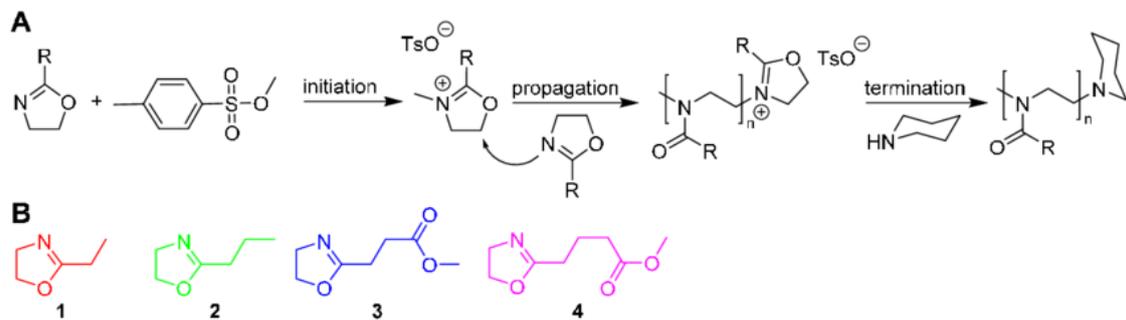
Mit Biopolymeren, Pluronic, Polyethylenglycol, usw. gibt es zahlreiche und vielfältige passende Polymere. In dieser Arbeit werden nur Polymere mit Amidbindungen und auf Basis von Oxazolinen und Oxazinen behandelt.

### 1.3.5-. Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-block-Poly(2-n-Propyl-2-Oxazin)-block-Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-Polymer (PMeOx-PPrOzi-PMeOx) und heutiges Strukturmodell

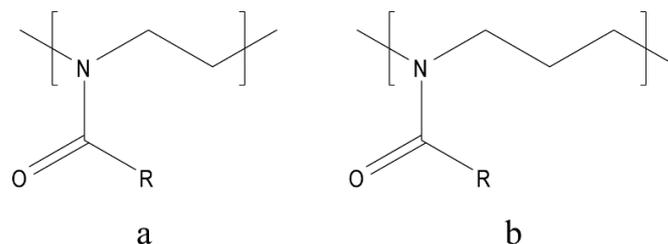
Poly(2-Oxazolin) (POx) und Poly(2-Oxazin) (POzi) sind Polymere, die durch aktive kationische Ringöffnungspolymerisation aus 2-Oxazolinen hergestellt werden. (**Abbildung 6, 7, 8**)



**Abbildung 6.** Chemische Struktur von (a) 2-Oxazolin und (b) 2-Oxazin.

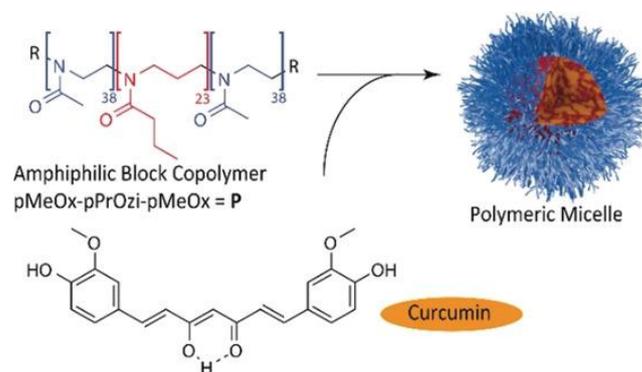


**Abbildung 7.** Aktive kationische Ringöffnungspolymerisation von verschiedenen 2-Oxazolinen mit p-Toluolsulfonat als Initiator und Piperidin als Terminator.<sup>[69]</sup> Abbildung nachgedruckt/veröffentlicht mit Genehmigung von P. Bouten, K. Lava, J. Hest, H. Richard, *Polymers* **2015**, *7*, 1998-2008. Copyright (2015) die Autoren.



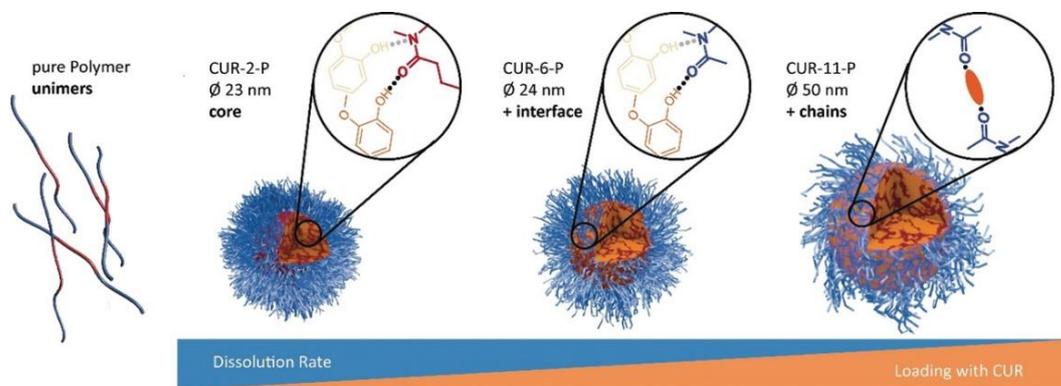
**Abbildung 8.** Chemische Struktur von (a) Poly(2-R-Oxazolin) (PROx) und (b) Poly(2-R-Oxazin) (PROzi).

Die Haupteigenschaft ist die Biokompatibilität mit dem Organismus,<sup>[4]</sup> die mit der Fähigkeit zur Bildung von selbst-assemblierenden PM in wässrigen Lösungen<sup>[5-8]</sup> die Anwendung als DDS erlauben (**Abbildung 9**). MENKE und LUXENHOFER *et al.* überprüften die hervorragende Löslichkeit und Beladungskapazität.<sup>[7-8]</sup> Wegen dieser Eigenschaften, der bestehenden Forschung im AK Pöppler und die Herstellung von Robert Luxenhofer und Sönke Menke sowohl des Polymers als auch der Formulierungen, werden diese Moleküle weiter untersucht.



**Abbildung 9.** Das oben genannte Polymer und hydrophobes Curcumin als Wirkstoffbeispiel können in einem wässrigen Medium Mizellen bilden. Die PPrOzi-Fragmente und der Wirkstoff befinden sich bei geringer Beladung vorwiegend im hydrophoben Kern, wogegen die PMeOx-Fragmente in der polaren Umgebung liegen.<sup>[5]</sup> Abbildung nachgedruckt/veröffentlicht mit Genehmigungsnummer 4982990213-199 von A. C. Poppler, M. M. Lubtow, J. Schlauersbach, J. Wiest, L. Meinel, R. Luxenhofer, *Angew. Chem.* **2019**, *58*, 18540-18546. Copyright (2019) die Autoren.

Diese und auch PM allgemein zeigen ein umgekehrtes Verhältnis zwischen Beladung und Löslichkeit sowie Abgabe.<sup>[65]</sup> CALLARI *et al.* wandten Festkörper-NMR-Spektroskopie an und stellten fest, dass die Beladung die Mobilität und die Größe der Nanopartikel beeinflusst<sup>[65]</sup>. Aber die wichtigste Arbeit für diese Thesis ist die, die von PÖPPLER *et al.*<sup>[5]</sup> durchgeführt wurde. Durch Festkörper-NMR-Spektroskopie waren sie in der Lage, ein erstes Strukturmodell für mit Curcumin beladene Polymernizellen vorzuschlagen. Bei einer geringen Beladung (CUR-2-P) wird nur der Kern besetzt und nehmen die Curcuminmoleküle eine relativ planare Konformation an. Dabei gibt es Nahordnung wegen der H-Brücken zwischen den OH-Gruppen von Curcumin und den Amidgruppen des PPrOzi-Fragments. Wenn die Beladung hoch genug ist (CUR-6-P) werden diese Orte gesättigt und die Curcuminmoleküle beginnen mit der mehr hydrophilen Kette bzw. Amidgruppe des PMeOx-Fragments zu interagieren. Diese polaren funktionellen Gruppen, die normalerweise mit der Umgebung Interaktionen bilden, sind nun besetzt und infolge sinkt die Auflösungsrate wegen der Hydratisierung und die oben genannte kurzreichweitige Ordnung verringert sich. Bei der höchsten Beladung (CUR-11-P) sind auch die hydrophilen Amide gesättigt und die Schaleketten befinden sich näher beieinander, was eine Vernetzung der Schale mit den Curcuminmolekülen als Linker verursacht. Infolgedessen werden die Hydratisierung und die Auflösungsrate noch stärker beeinflusst, da die polaren Gruppen besetzt sind. Allgemein führt es zu einer größeren und starrereren Struktur (**Abbildung 10**).



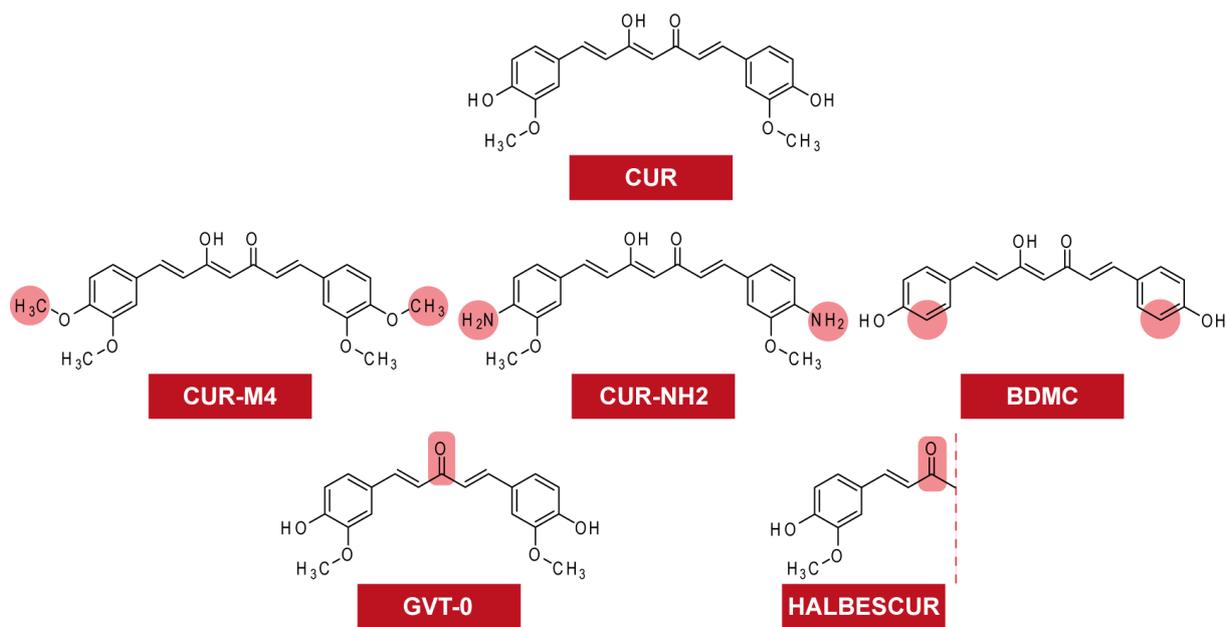
**Abbildung 10.** Darstellung des Strukturmodells. CUR-2,6,11-P entsprechen Formulierungen von Curcumin und PMeOx-PPrOzi-PMeOx mit steigender Konzentration bzw. Beladung. Mit einer niedrigen Konzentration des Wirkstoffs (CUR-2-P) wird vorwiegend der Kern besetzt. Dabei gibt es Nahordnung wegen der H-Brücken zwischen der OH-Gruppe von Curcumin und dem Amid von dem hydrophoben Block des Polymers. Mit steigender Beladung (CUR-6-P) verringert sich die kurzreichweitige Ordnung, die Mizelle wird größer und es gibt auch eine Wechselwirkung mit der Schale. Bei der höchsten Beladung (CUR-11-P) befinden sich die Schaleketten näher beieinander, was eine Vernetzung der Schale mit den Curcuminmolekülen als Linker verursacht.<sup>[5]</sup> Abbildung nachgedruckt/veröffentlicht mit Genehmigungsnummer 498299021319-9 von A. C. Poppler, M. M. Lubtow, J. Schlauersbach, J. Wiest, L. Meinel, R. Luxenhofer, *Angew. Chem.* **2019**, 58, 18540-18546. Copyright (2019) die Autoren.

## 2-. Ziel dieser Arbeit

### 2.1-. Überblick

Wegen der Wichtigkeit von DDS und insbesondere der Polymermizellen ist es nicht verwunderlich, dass PM umfassend untersucht werden. Ein Forschungsfeld dazu ist die Strukturbestimmung. Mehrere Methoden sind daran angewandt worden<sup>[2]</sup> und Festkörper-NMR-Spektroskopie stellt eine sehr potente Strukturaufklärungstechnik dar.<sup>[5, 65]</sup>

In dieser Arbeit wird die Forschung von PÖPPLER *et al.*<sup>[5]</sup> fortgesetzt: Mizellen vom PMeOx-PPrOzi-PMeOx werden mit verschiedenen Gastmolekülen mit unterschiedlichen Anteilen (**Abbildung 11**) und Konzentrationen beladen und solche Formulierungen durch Festkörper-NMR-Spektroskopie gemessen, um das heutige Strukturmodell von diesen Polymermizellen zu verbessern.



**Abbildung 11.** Chemische Struktur der einzelnen Moleküle: Curcumin (CUR), Gamavuton-0 (GVT-0), Dimethoxycurcumin (CUR-M4), Curcuminaminoderivat (CUR-NH<sub>2</sub>), Bisdemethoxycurcumin (BDMC) und Dehydrozingeron (HALBESCUR). Die in roter Farbe hinterlegten Bereiche zeigen die strukturellen Veränderungen verglichen mit Curcumin.

CUR hat bestimmte Eigenschaften, sodass es als Modellverbindung geeignet ist.<sup>[5]</sup> Für diese Arbeit ist sowohl die niedrige Wasserlöslichkeit (0.6 µg/mL)<sup>[70]</sup> wichtig, welche die Herstellung von den Formulierungen beeinflusst und deren Vergleich zu einem allgemeinen Arzneimittel erlaubt als auch dass die Signale von CUR und dem Polymer in unterschiedlichen Bereichen der Festkörper-NMR-Spektren auftreten.<sup>[5]</sup>

Heutzutage gibt es noch keinen verfügbaren systematischen Ansatz, um das Design eines Polymer-Wirkstoff-Systems zu optimieren. Das in dieser Arbeit untersuchte Polymer weist hervorragende Eigenschaften<sup>[4-8]</sup> auf und seine Struktur muss daher weiter erforscht werden, sodass man in der Lage ist, aufzuklären, für welche Wirkstoffe sich diese Polymerart eignet. Deswegen werden gezielt verschiedene Derivate von Curcumin untersucht, das sehr günstig in Mizellen vom oben genannten Polymer eingekapselt werden kann und dazu bereits ein strukturelles Modell vorhanden ist.<sup>[5]</sup> Solche Derivate zeigen vergleichbare Eigenschaften und darüber hinaus können die neuen Interaktionen und Einflüsse der verschiedenen Gruppen gezeigt werden.

## 2.2-. Vermutungen in Bezug auf die funktionellen Gruppen

Vier Endpunkte der Mizelle von PMeOx-PPrOzi-PMeOx müssen berücksichtigt werden: die Größe, die Nahordnung, die Schalebesetzungskonzentration und die Beladungskapazität. Die Größe kann aber nicht vorhergesagt werden, da häufig gegenteilige Verhalten stattfinden.

Wie bereits erwähnt bilden sich die Nanopartikel mithilfe von hydrophoben und hydrophilen Wechselwirkungen. Beim heutigen Strukturmodell<sup>[5]</sup> (siehe Kapitel 1.3.5) kann es aber auch beobachtet werden, dass die polaren Interaktionen bzw. die H-Brücken zusätzlich eine bestimmende Rolle spielen. Solche Wechselwirkungen finden zwischen den Sauerstoffatomen der Hydroxygruppen von CUR und den Amidfragmenten des Polymers statt. Da asymmetrische Wasserstoffbrücken wesentliche Van-der-Waals-Kräfte von der Dipol-Dipol-Art sind, liegt es beim H-Donor-Atom nahe, dass weniger elektronegative Atome wie Stickstoff bei CUR-NH<sub>2</sub> schwächere H-Brücken im Gegensatz zu Sauerstoff bzw. Curcumin bilden, weil der Dipol nicht so stark ist. Das könnte drei Auswirkungen haben. (a) Die Senkung der Nahordnung im Kern bei niedrigen Beladungen: die Energiedifferenz zwischen einer Position, in der die zwei anilinschen Wasserstoffatome H-Brücken bilden, und einer, in der z.B. keine gebildet werden, sollte niedriger sein. Das heißt, dass das Vorherrschen der Konfiguration mit H-Brücken nicht so eindeutig wie beim CUR sein sollte. In Festkörper-NMR-Spektroskopie würde es verursachen, dass die entsprechenden Peaks beim <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum der Formulierungen von CUR-NH<sub>2</sub> schärfer als die von der reinen amorphen Probe wären<sup>[5]</sup> aber würden nicht so stark wie bei CUR ändern. (b) Infolge dieser ungünstigeren Packung sollte die Schale bei einer niedrigeren Beladung in Molekülanzahl im Vergleich zu Curcumin besetzt werden. Mithilfe Festkörper-NMR-Spektroskopie könnte diese Vermutung bewiesen werden, da die <sup>13</sup>C-chemischen Verschiebungen und Breite von den PMeOx-Fragmenten sich dann verändern würden.<sup>[5]</sup> (c) Die Beladungskapazität in Molekülanzahl (also die mögliche höchste eingekapselte Konzentration)

sollte ebenso niedriger sein, da die Packungsdichte, wie bereits erwähnt, geringer ist. Die Stärke dieser drei Veränderungen sollte eindeutig sein. Sönke Menke berichtete im Rahmen seiner Bachelorarbeit von einer sehr deutlichen Reduktion der Löslichkeit von CUR-NH<sub>2</sub> in Wasser und Ethanol im Vergleich zu CUR,<sup>[7]</sup> was bedeuten könnte, dass der Einfluss von der Aminogruppe und der Hydroxygruppe doch unterschiedlich ist und infolge stärke Veränderungen erwartet würden. Das steht in Einklang mit der Einteilung von Gautam R. Desiraju<sup>[71]</sup>, der die OH---O=C- stärker als die NH---O=C- Wechselwirkung ordnet.

CUR-M4 weist vier Methoxygruppen statt der Hydroxyfragmente auf. Bei diesem Molekül sind theoretisch keine H-Donor-Atome für die Bildung der H-Brücke verfügbar und die Beteiligung der Methoxygruppen in dipolaren Wechselwirkungen<sup>[5]</sup> (höchstwahrscheinlich senkrechte Wechselwirkungen mit dem aromatischen Ring) hat vermutlich einen geringeren Einfluss in der Packung als die H-Brücke in CUR oder CUR-NH<sub>2</sub>. Darüber hinaus könnten diese Gruppe sterische Hinderungen darstellen. Das heißt, dass die oben genannten Auswirkungen bezüglich des Aminoderivats deutlicher sein sollten. Wie bei CUR-NH<sub>2</sub>, ist dieses Molekül sehr unlöslich in Wasser und Ethanol und zeigt außerdem eine bis zu sechsfach niedrigere Beladung in Masseinheiten im Vergleich zu CUR.<sup>[7]</sup> Die oben genannten Veränderungen von CUR-NH<sub>2</sub> sollten daher in Festkörper-NMR-Spektroskopie eindeutig erkannt werden.

BDMC weist keine OMe-Gruppen auf. Diese Methoxygruppen könnten potentiell eine sterische Hinderung darstellen, die wichtiger als die möglichen intermolekularen Interaktionen sein könnten. Eventuell könnte die Packung dichter sein, was zu höherer Beladungskapazität in Molekülanzahl führen würde. In Festkörper-NMR-Spektroskopie würde es eine Veränderung im <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum der Schalepeaks bei höherer Konzentration in Molekülanzahl im Vergleich zu CUR verursachen.

Laut PÖPPLER *et al.* ist das Enolfragment von CUR überwiegend an intramolekularen Wechselwirkungen beteiligt.<sup>[5]</sup> Die Carbonylgruppe in GVT-0 könnte nicht das gleiche Verhalten aufweisen und z.B. intermolekulare H-Brücken mit den phenolischen Wasserstoffatomen bilden, da das Sauerstoffatom zwei freie Elektronenpaare hat. Die Signale vom Carbonyl im <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum sollten sich in der chemischen Verschiebung stark verändern. Die Beladungskapazität könnte auch höher im Vergleich zu CUR sein, da das Molekül kleiner ist und daher besser in Zwischenräumen passt. Darüber hinaus weist GVT-0 die wichtigen bildenden H-Brücken-Atome auf. Wenn die Beladungsmessungen von Sönke Menke<sup>[7]</sup> in mmol statistisch verglichen werden, ist der Trend der Beladung in mmol zwischen CUR und GVT-0 gleich. Das deutet darauf hin, dass es ein zusätzliches Parameter gibt, das die oben genannten Annahmen beeinflusst.

Ein weiteres Derivat ist HALBESCUR. Das  $\pi$ -System ist genau die Hälfte von CUR. Die Elektronendichte in diesem System ist viel diffuser als die von den  $\sigma$ -Bindungen. In den hydrophoben Wechselwirkungen mit einem dauerhaften Dipol bzw. spontanen Dipol sind diese Elektronen besonders wichtig, weil eine asymmetrische Ladung geschaffen werden muss, damit die oben genannten Interaktionen stattfinden können. Da das  $\pi$ -System kleiner als das von Curcumin ist, können diese Wechselwirkungen nicht so günstig gebildet werden und infolgedessen sollte nicht nur der Kern in der Mizelle sondern auch die Schale bei geringer Beladung vorherrschend besetzt sein. Ein anderes Argument im Zusammenhang damit ist die Wasserlöslichkeit. Das Food and Agriculture Organization of the United States (FAO) beschreibt diese Verbindung als „schwach wasserlöslich“<sup>[72]</sup>, wogegen alle die anderen Derivate nicht wasserlöslich sind.<sup>[7]</sup> Im <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum könnte es durch Veränderungen der Peaks der PMeOxi-Fragmente bei niedrigeren Konzentrationen bewiesen werden. Die Beladungskapazität in Molekülanzahl sollte höher sein, da die HALBESCUR-Moleküle besser in Zwischenräumen passen. Die Carbonylgruppe könnte auch einen Einfluss ähnlich zu GVT-0 haben. Außerdem kann mit diesem Molekül die Hypothese untersucht werden, dass bei sehr hoher Beladung CUR-Moleküle als Linker zwischen zwei Polymersträngen fungieren können, da HALBESCUR nicht über die OH-/OMe-Funktionalitäten auf der Gegenseite verfügt.

Die hypothetische Beladungskapazität (in Molekülanzahl) kann in folgender Reihenfolge gebracht werden: HALBESCUR > BDMC > GVT-0  $\approx$  CUR > CUR-NH<sub>2</sub> > CUR-M4. Die HALBESCUR-Moleküle sind kleiner als die BDMC-Moleküle (die Hälfte) und können daher besser in Zwischenräumen passen. BDMC stellt OH-Gruppen wie CUR, die an H-Brücken beteiligt sind aber hat keine sterischen Methoxygruppen. Das heißt, dass der Einfluss der Größe des Moleküls geringer als die sterischen Hinderungen von den Methoxygruppen sein könnte und so BDMC in zweiter Position der Reihenfolge vor GVT-0 und CUR steht. CUR-NH<sub>2</sub> kann schwächere H-Brücken bilden. CUR-M4 weist keine H-Donor-Atome auf und die sterische Hinderung wird deutlich wichtiger, was einen größeren Einfluss als die möglichen intermolekularen Wechselwirkungen, an denen diese Gruppen beteiligt sind, haben könnte.

Die anderen Endpunkte können nicht für alle die Moleküle vorhergesagt werden. Deswegen ist der intermolekulare Vergleich nicht möglich.

## 3-. Ergebnisse und Diskussion

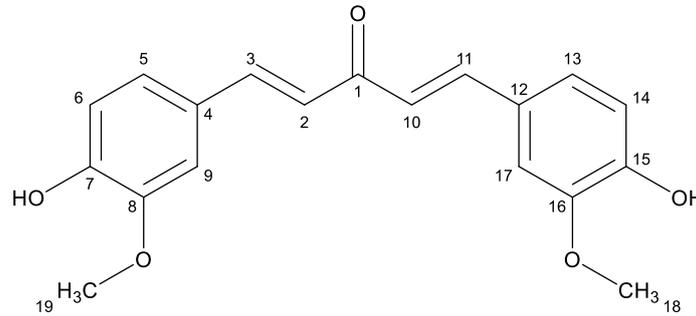
### 3.1-. NMR-Spektroskopie-Charakterisierung der einzelnen Molekülen

In einem ersten Schritt müssen zunächst die individuellen Gastmoleküle untersucht und eine vollständige Zuordnung der Signale in den NMR-Spektren erreicht werden. Nach der NMR-Messung wurden die Spektren prozessiert und ausgewertet; die NMR-Daten sowie die chemischen Verschiebungen der einzelnen Moleküle werden hiernach erklärt. Die Proben wurden mittels Pulverröntgendiffraktometrie (engl. Powder X-Ray Diffraction) vor und nach Drehung im magischen Winkel (engl. magic angle spinning -MAS-) während der NMR-Messung charakterisiert. Die PXRD-Beugungsmuster werden ebenso dargestellt, um zu überprüfen, ob MAS die Probe beeinflusst und um die Kristallinität bzw. die Amorphizität der Probe festzustellen.

Die folgenden Schritte wurden für jedes Molekül befolgt, um in der Lage zu sein, die  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR- und  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren auszuwerten, da die Veränderungen infolge der Polymerwechselwirkungen bei den entsprechenden Formulierungen in diesen beobachtet und interpretieren werden müssen. Als erstes wurden die Signale des  $^1\text{H}$ -Spektrums in Lösung zugeordnet, weil diese von zentraler Bedeutung bei der Auswertung der  $^{13}\text{C}$ -Daten in Lösung mithilfe eines  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrums sind. Nach der Zuordnung der Signale in Lösung wurden dann die Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster dargestellt. Der Vergleich der Festkörper-NMR-Daten zu den Lösungssignalen kann nicht immer als zuverlässig betrachtet werden. Während für die chemische Verschiebung der exponierteren Wasserstoffatome generell ein starker Unterschied zwischen Festkörper und Lösung beobachtet wird, verändern sich die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale im Vergleich dazu nicht so stark. Wenn ein  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum analysiert werden musste, gab es dann drei Quellen von Information: das  $^1\text{H}$ - und das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung, um die  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren auszuwerten. Wegen der eingeschränkten Anwendbarkeit, wurde erstens die  $^{13}\text{C}$ -Dimension eines  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrums mit einer Kontaktzeit von 50  $\mu\text{s}$  analysiert. Das kann als zuverlässiger Anfangspunkt benutzt werden. Mit dieser ersten Auswertung wurde dann beurteilt, ob die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Festkörper-Peaks sich im Vergleich zum  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung verschoben haben, um diese als zweite Bestätigung zu benutzen. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Daten wurden nur für bestimmte eindeutige Kreuzpeaks angewandt.  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren mit längeren Kontaktzeiten waren die letzte Möglichkeit, da zusätzliche Kontakte mit anderen Molekülen in der Packung ins Spiel kommen können.

### 3.1.1-. Charakterisierung von Gamavuton-0

**Abbildung 12** zeigt die chemische Strukturformel von Gamavuton-0 (GVT-0) mit nummerierten Positionen zur Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale.



**Abbildung 12.** Chemische Struktur und Nummerierung von Gamavuton-0.

Die gleiche Probe wurde von Sönke Menke im Rahmen seiner Bachelorarbeit synthetisiert und untersucht. Er charakterisierte das einzelne Molekül in Lösung sowie in Festkörper. Die dargestellte Auswertung stimmt mit den Daten von Sönke Menke überein (**Tabelle 1**).<sup>[7]</sup>

**Tabelle 1.** Tabellarische Darstellung der Auswertung von Gamavuton-0. Die chemisch äquivalenten Atome in Lösung werden nur einmal dargestellt und alle für die amorphe Probe, da die Anzahl der Signale im Festkörper vom  $Z'$ -Wert abhängt.

	NMR in Lösung (DMSO- $d_6$ )			Festkörper-NMR (amorphe Probe)	
	Chemische Verschiebung (ppm)	Multiplizität	Kopplung (Hz)	Chemische Verschiebung (ppm)	
<b>C1</b>	188.4			<b>C1</b>	190.3
<b>C2</b>	123.2			<b>C2,10</b>	120.0
<b>C3</b>	143.1			<b>C3,11</b>	143.1
<b>C4</b>	126.5			<b>C4,12</b>	127.5
<b>C5</b>	123.6			<b>C5,13</b>	120.0
<b>C6</b>	115.9			<b>C6,14</b>	115.1
<b>C7</b>	149.6			<b>C7,15</b>	148.0
<b>C8</b>	148.2			<b>C8,16</b>	148.0
<b>C9</b>	111.6			<b>C9,17</b>	108.1
<b>C18</b>	55.9			<b>C18,19</b>	55.5
<b>H2</b>	6.87	d	$^3 J_{HH} = 15.8$		
<b>H3</b>	7.55	d	$^3 J_{HH} = 15.9$		
<b>H5</b>	7.03	dd	$^3 J_{HH} = 8.2; ^4 J_{HH} = 1.9$		
<b>H6</b>	6.80	d	$^3 J_{HH} = 8.1$		
<b>H7</b>	9.04	s			
<b>H9</b>	7.08	d	$^4 J_{HH} = 1.9$		
<b>H18</b>	3.84	s			

➤  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Lösung ( $\text{DMSO-d}_6$ )

Abbildung 13 zeigt das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.

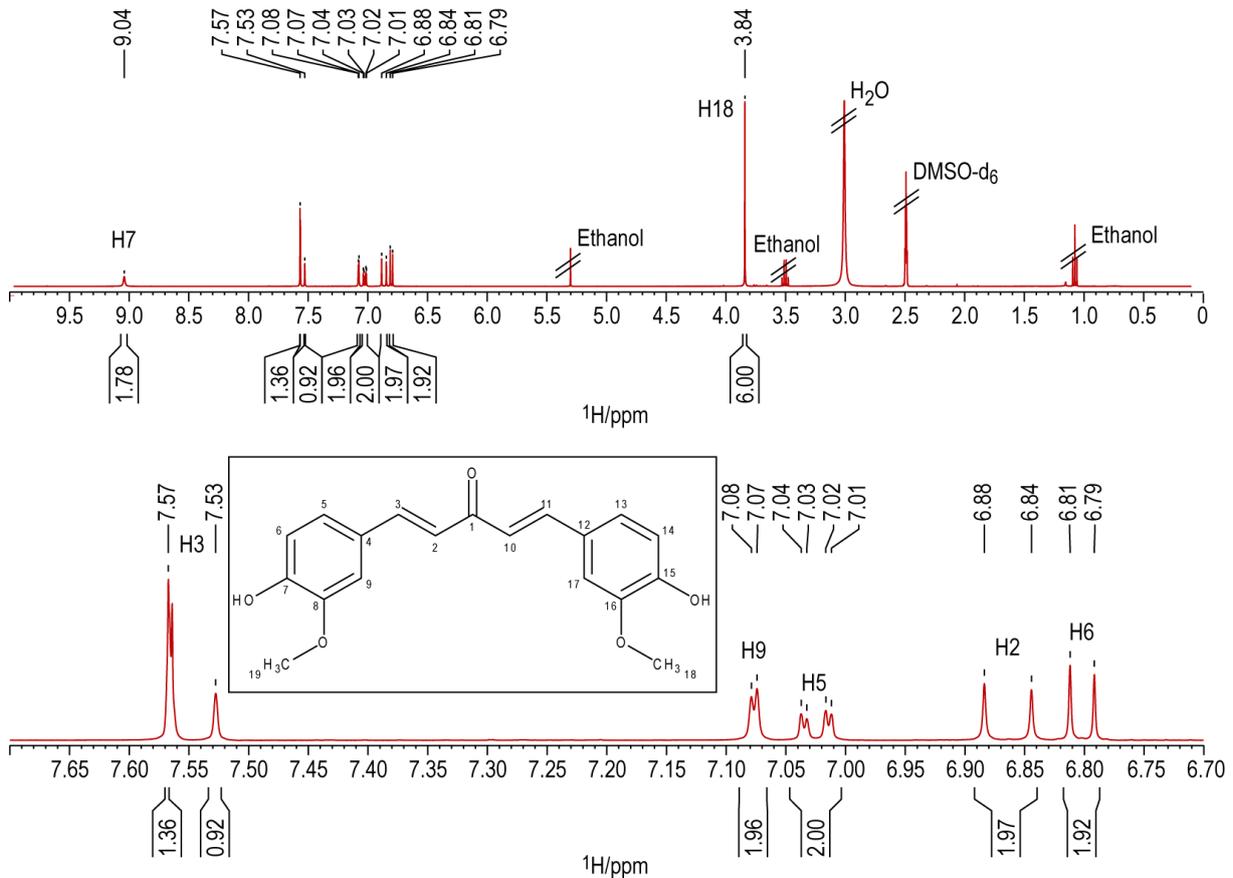


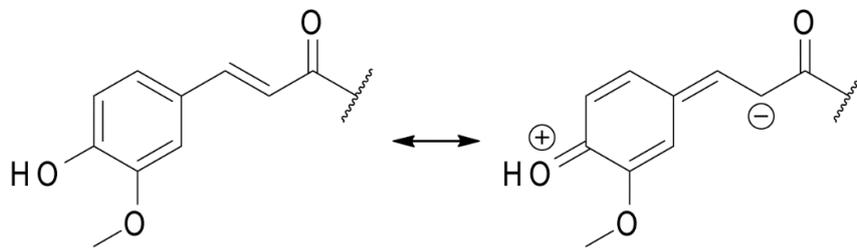
Abbildung 13.  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Lösung von Gamavuton-0 gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 298 K mit 64 Scans und dem zg30-Pulsprogramm. Oben ist der Bereich von 0.00 bis 10.00 ppm dargestellt, im unteren Bereich der Abbildung wurde der Bereich von 6.70 bis 7.70 ppm vergrößert.

Da GVT-0 eine Symmetrieebene durch Kohlenstoffatom 1 (C1) darstellt, gibt es nur sieben Signale.

Die erste Auswertung wurde mithilfe allgemeiner Tabellen von  $^1\text{H}$ -chemischen Verschiebungen durchgeführt. Die deutlich entschirmtesten und abgeschirmtesten Signale konnten eindeutig zugeordnet werden. Das Signal bei 3.84 ppm entspricht H18 und das bei 9.04 ppm dem Wasserstoffatom 7. Obwohl ArOH-Wasserstoffatome normalerweise bei 5-8 ppm auftreten, wird das oben genannte Signal der phenolischen Gruppe zugeordnet, weil der entschirmteste Peak in Einklang mit dem -I-Effekt des Bindungspartners ist.

Im Bereich von 5 bis 8 ppm liegen die Signale der Ar-H und  $-\text{C}=\text{C}-\text{H}$  Wasserstoffatome. Auf einen ersten Überblick kann man beobachten, dass es sechs  $J$ -Kopplungen gibt: 15.8, 15.9, 8.2, 8.1, 1.9 und 1.9 (Hz). Wenn die gewöhnlichen  $J$ -Werte und das Molekül berücksichtigt werden, entsprechen 15.8 und 15.9 (Hz) den Alkenwasserstoffen (trans-Kopplung) und 8.2 und

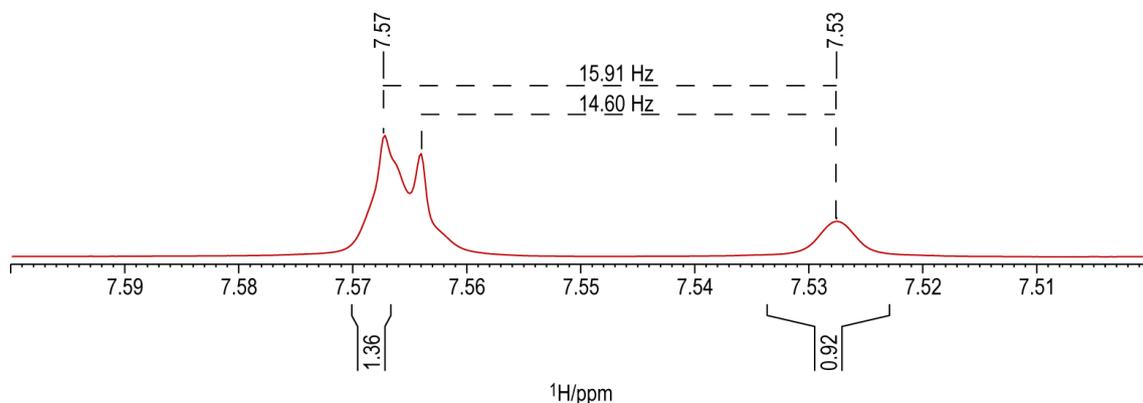
8.1 (Hz) den Ar-H. Eine niedrige 1.9 Hz Kopplung kann einer  $^4J$ -Kopplung wie in ungesättigten W-Systemen zugeordnet werden. Das heißt, dass der Peak bei 7.08 ppm dem Wasserstoffatom 9 entspricht. Der Kopplungspartner dazu muss H5 sein, der wegen der oben genannten  $J$ -Werte auch  $^3J$ -gekoppelt zu H6 ist; d.h. ein Dublett von Dubletts, welches im Spektrum bei 7.03 ppm liegt. Das Signal bei 7.03 ppm kann so dem aromatischen Wasserstoffatom 5 zugeordnet werden. Wasserstoffatom 5 ist zu H6 skalar gekoppelt. Das einzige Signal mit einer  $J$ -Kopplung von 8.1 Hz ist das bei 6.80 ppm, das so zur Zuordnung dieses Peaks dem Wasserstoffatom 6 führt. Der Unterschied zwischen H3 und H2 kann mit Resonanzstrukturen erklärt werden (**Abbildung 14**). Auf diese Weise wird das Signal bei 7.55 ppm dem Wasserstoffatom 3 und das bei 6.87 ppm dem Wasserstoffatom 2 zugeordnet.



**Abbildung 14.** Darstellung von zwei Resonanzstrukturen zu Gamavuton-0. Der +R-Effekt der OH-Gruppe erhöht die Elektronendichte in C2 bzw. H2 und infolgedessen treten die abgeschirmter im Vergleich zu C3 bzw. H3 auf.

Das Signal vom Wasserstoffatom 3 im Bereich zwischen 7.56 und 7.57 (ppm) ist kein Dublett (**Abbildung 15**). Der Peak mit höherer chemischer Verschiebung wurde zugeordnet, weil die  $J$ -Kopplung ungefähr 16.0 Hz ist. Außerdem gibt es im  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrum (**Abbildung 17**) nur zwei Kreuzpeaks in diesem Bereich, die zu den zugeordneten Signalen gehören.

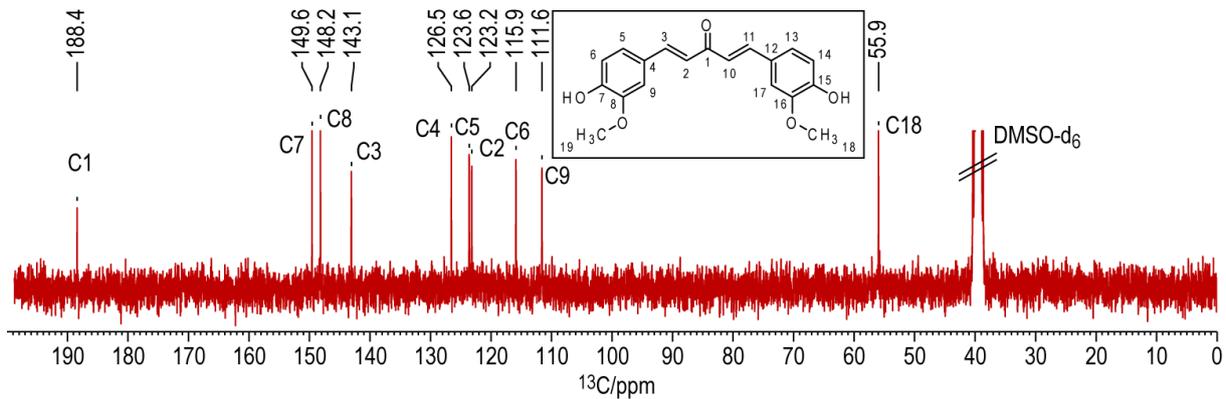
Die Integralsumme stellt auch die Auswertung fest: 18 Wasserstoffatome.



**Abbildung 15.**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrumdublett bei 7.55 ppm von Gamavuton-0. Wegen der passenden Distanz wird nur der linke Peak dem Wasserstoffatom 3 zugeordnet.

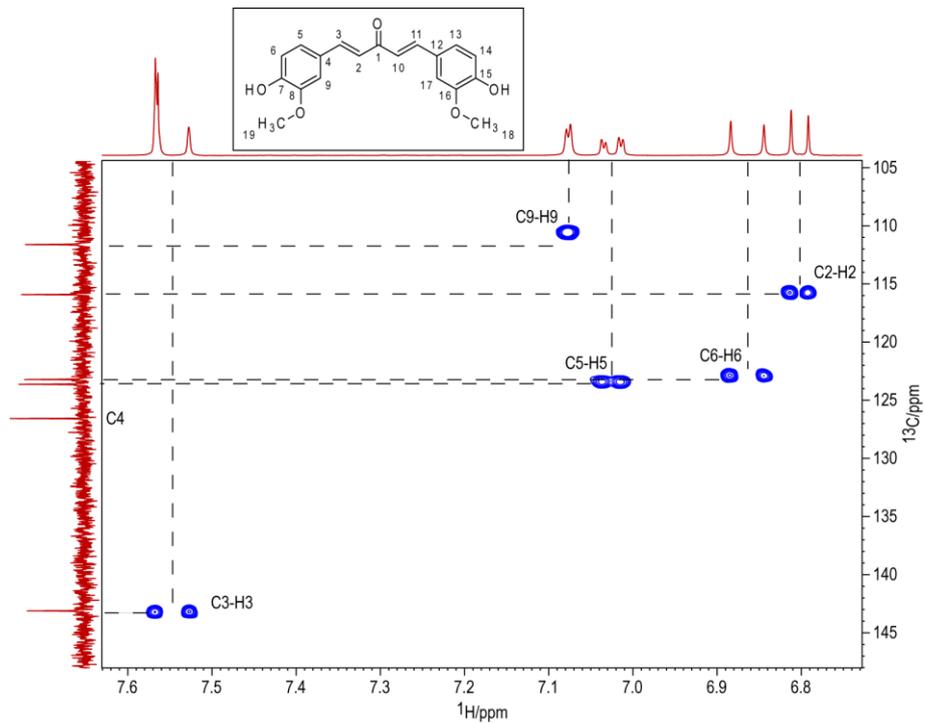
➤  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung (DMSO- $d_6$ )

**Abbildung 16** zeigt das  $^{13}\text{C}$ -Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.



**Abbildung 16.**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung mit  $^1\text{H}$ -Entkopplung von Gamavuton-0 gelöst in DMSO- $d_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 7.1 T und 300 K mit 2048 Scans und dem zgpg30-Pulsprogramm.

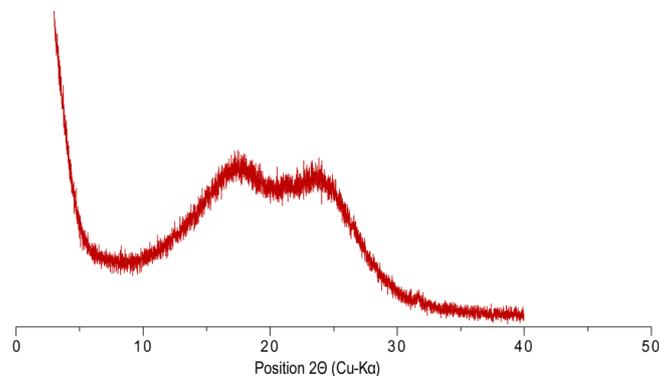
Die Signale von den Carbonyl- und OMe-Gruppen können eindeutig zugeordnet werden. Einerseits ist C1 das Kohlenstoffatom vom Carbonylfragment, das häufig sehr entschirmt wegen des -I und -R-Effekts des Sauerstoffatoms auftritt. Das heißt, dass der Peak bei 188.4 ppm als C1 ausgewertet werden kann. Andererseits kann das Signal bei 55.9 ppm der OMe-Gruppe mithilfe der allgemeinen Tabellen von  $^{13}\text{C}$ -chemischen Verschiebungen zugeordnet werden, da keines der anderen Kohlenstoffatome in diesem Bereich auftritt. Dieses Kohlenstoffatom liegt abgeschirmt, weil die abschirmenden Effekte der  $\pi$ -Elektronendichte nicht daran beteiligt sind. Die anderen Peaks wurden mithilfe des  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrums ausgewertet (**Abbildung 17**). C9, C2, C6, C5 und C3 weisen Kreuzpeaks auf, die eine eindeutige Zuordnung erlauben. Darüber hinaus gibt es ein Signal bei 126.5 ppm, das keinen Kreuzpeak hat. Das heißt, dass dieses Kohlenstoffatom nicht direkt an einem Wasserstoffatom gebunden ist. Dieses Signal kann so dem Kohlenstoffatom 4 zugeordnet werden.



**Abbildung 17.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrum von Gamavuton-0 gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 1 Scan und dem hsqcetgp-Pulsprogramm. Die gestrichelten Linien stellen die Korrelationen dar. Für die Kalibrierung wurde der entsprechende Methoxypeak statt des  $\text{DMSO-d}_6$ -Peaks benutzt.

### ➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster

Zur Überprüfung der Kristallinität bzw. der Amorphizität wurde dann ein Beugungsmuster von Sönke Menke im Rahmen seiner Bachelorarbeit<sup>[7]</sup> mit PXRD gemessen (**Abbildung 18**). Keine schmalen Peaks können beobachtet werden, sodass die Probe als amorph charakterisiert werden kann. Ein Beugungsmuster nach MAS wurde nicht gemessen, weshalb der Vergleich von vor und nach der Festkörper-NMR-Messung nicht möglich ist.



**Abbildung 18.** Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster von Gamavuton-0 vor Festkörper-NMR-MAS-Messung aufgenommen an einem Bruker Discover D8 Diffraktometer mit  $\text{Cu-K}\alpha$  Radiation ( $\lambda = 154.10$  nm, 40 kV Spannung und 40 mA Intensität), Slit mit 1.2 mm und  $0.025^\circ/0.55$  s per Schritt.

➤ <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum (amorphe Probe)

Abbildung 19 zeigt das <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum und die Zuordnung der Signale.

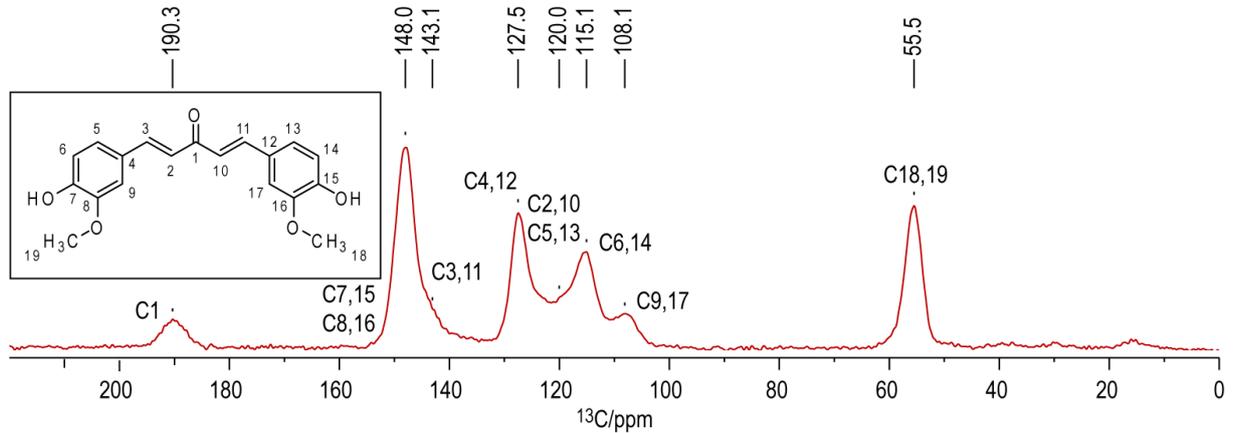


Abbildung 19. <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum von Gamavuton-0 aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 14.1 T, 20-kHz-MAS und 303 K mit 12288 Scans und dem cp-Pulsprogramm. Die Acquisitionszeit/d1 war 0.0225280/6 (s).

Im Folgenden werden alle Signale der Kohlenstoffatome zugeordnet (Abbildung 20).

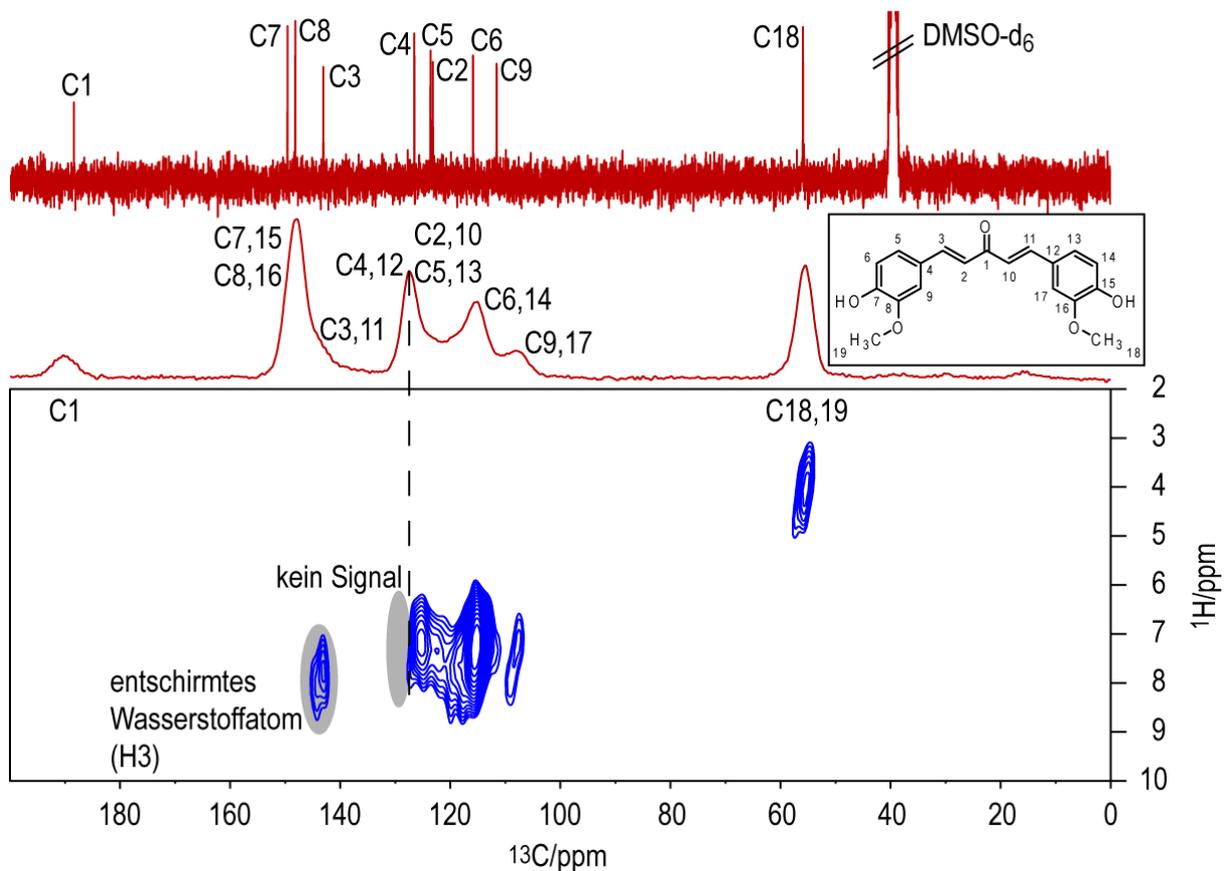


Abbildung 20. <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HETCOR-Spektrum von Gamavuton-0 aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 14.1 T, 20-kHz-MAS und 303 K mit 64 Scans und dem lghetfq-Pulsprogramm. Die Kontaktzeit ist 50  $\mu$ s und die Acquisitionszeit/d1 war 0.0299376 (f2);0.0010296 (f1)/2.799999952 (s). Das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum in Lösung wird ebenso dargestellt. Weder die Projektion noch das <sup>1</sup>H-Festkörper-NMR-Spektrum werden abgebildet, da die Auflösung für beide gering ist.

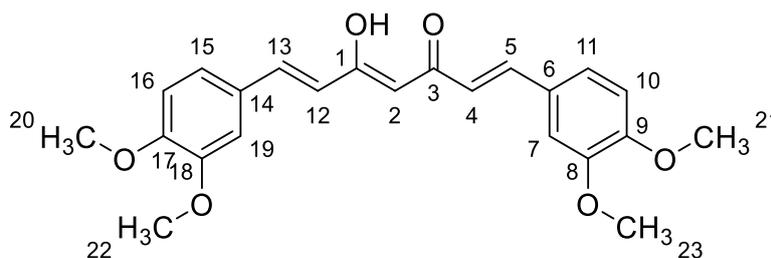
Die Carbonyl- und Methoxysignale können direkt und eindeutig ausgewertet werden. Die Methoxygruppe zeigt ein großes Signal und das Carbonylfragment keines, da es keine direkt gebundenen Wasserstoffatome aufweist. Auf diese Weise können ebenso die Kohlenstoffatome 7,15 und 8,16 dem Peak bei  $\delta(^{13}\text{C-1D}) = 148.0$  ppm zugeordnet werden. Das gleiche kann an C4,12 angewandt werden.

Alle weiteren Kohlenstoffatome weisen ein direkt gebundenes Wasserstoffatom auf und deswegen muss ein Signal in einem  $^1\text{H-}^{13}\text{C-HETCOR}$  mit einer Kontaktzeit von  $50 \mu\text{s}$  auftreten. Wenn die Form des  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrums mit dem Spektrum in Lösung verglichen wird, liegt es nahe, die Daten zuverlässig zu benutzen. So können die Signale den aromatischen Kohlenstoffatomen zugeordnet werden und die Auswertung der quartären Kohlenstoffatome wird bestätigt.

Die  $^1\text{H-NMR}$ -Daten in Lösung wurden nur verglichen, um die Zuordnung vom Signal bei  $\delta(^{13}\text{C-1D}) = 143.1$  ppm zu bestätigen. In diesem Bereich liegt ein entschirmter Peak in der  $^1\text{H}$ -Dimension, der laut der chemische Verschiebung in Lösung dem Wasserstoffatom 3 (C3,11) entspricht.

### 3.1.2-. Charakterisierung von Dimethoxycurcumin

**Abbildung 21** zeigt die chemische Strukturformel von Dimethoxycurcumin (CUR-M4) mit nummerierten Positionen zur Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale.



**Abbildung 21.** Chemische Struktur und Nummerierung von Dimethoxycurcumin.

Im Folgenden wird die Auswertung von dem einzelnen Molekül dargestellt (**Tabelle 2**).

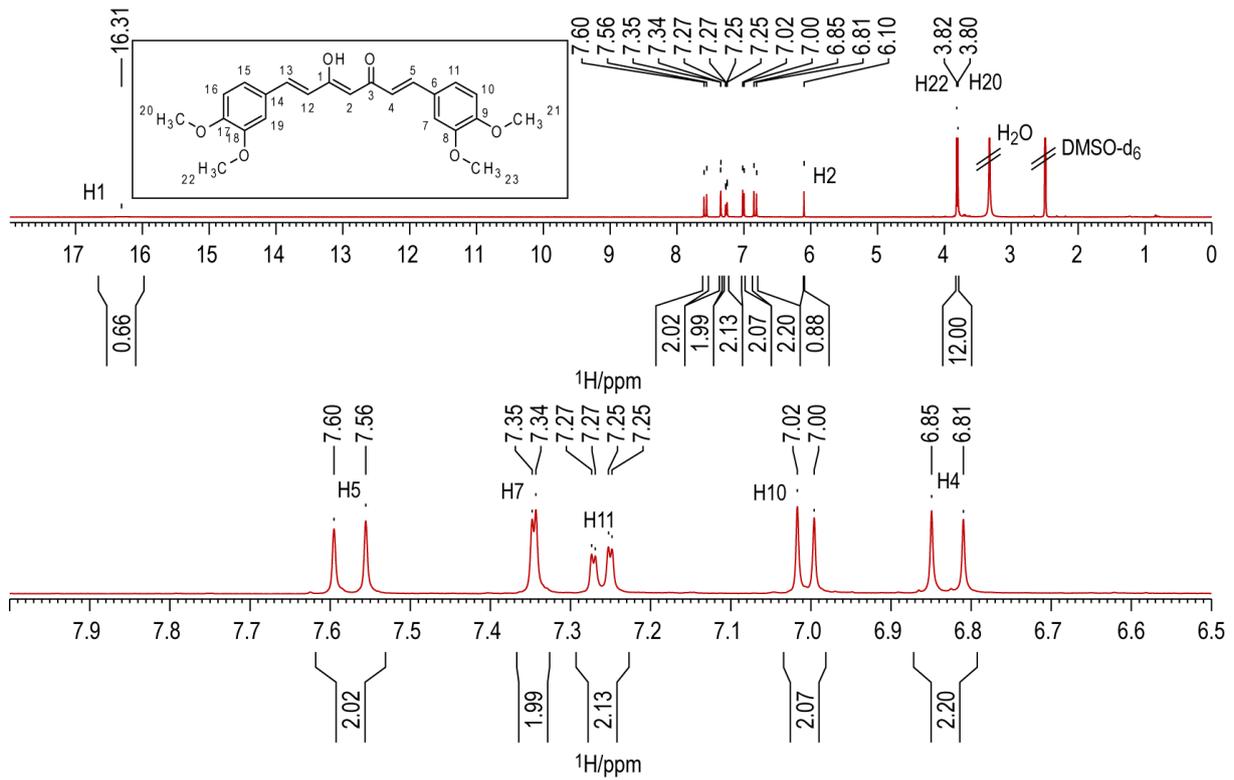
**Tabelle 2.** Tabellarische Darstellung der Auswertung von Dimethoxycurcumin. Die chemisch äquivalenten Atome in Lösung werden nur einmal dargestellt und alle für die kristalline Probe, da die Anzahl der Signale im Festkörper vom  $Z'$ -Wert abhängt.

	NMR in Lösung (DMSO- $d_6$ )			Festkörper-NMR (kristalline Probe)	
	Chemische Verschiebung (ppm)	Multiplizität	Kopplung (Hz)	Chemische Verschiebung (ppm)	
C1	183.2			C1,3	185.6;180.2
C2	101.1			C2	79.8
C4	122.1			C4,12	122.4;120.1
C5	140.5			C5,13	141.6;135.6
C6	127.6			C6,14	128.2
C7	110.4			C7,19	110.2;106.6;105.7
C8	149.0			C8,18	151.6;150.3;149.1
C9	151.0			C9,17	151.6;150.3;149.1
C10	111.7			C10,16	110.2;106.6;105.7
C11	123.0			C11,15	125.7
C20,22	55.6			C20,21/C22,23	57.6;55.0;54.1
H1	16.31	s (breit)			
H2	6.10	s			
H4	6.83	d	${}^3J_{HH} = 15.9$		
H5	7.58	d	${}^3J_{HH} = 15.9$		
H7	7.35	d	${}^4J_{HH} = 1.9$		
H10	7.01	d	${}^3J_{HH} = 8.4$		
H11	7.26	dd	${}^3J_{HH} = 8.4; {}^4J_{HH} = 1.9$		
H20	3.80	s			
H22	3.82	s			

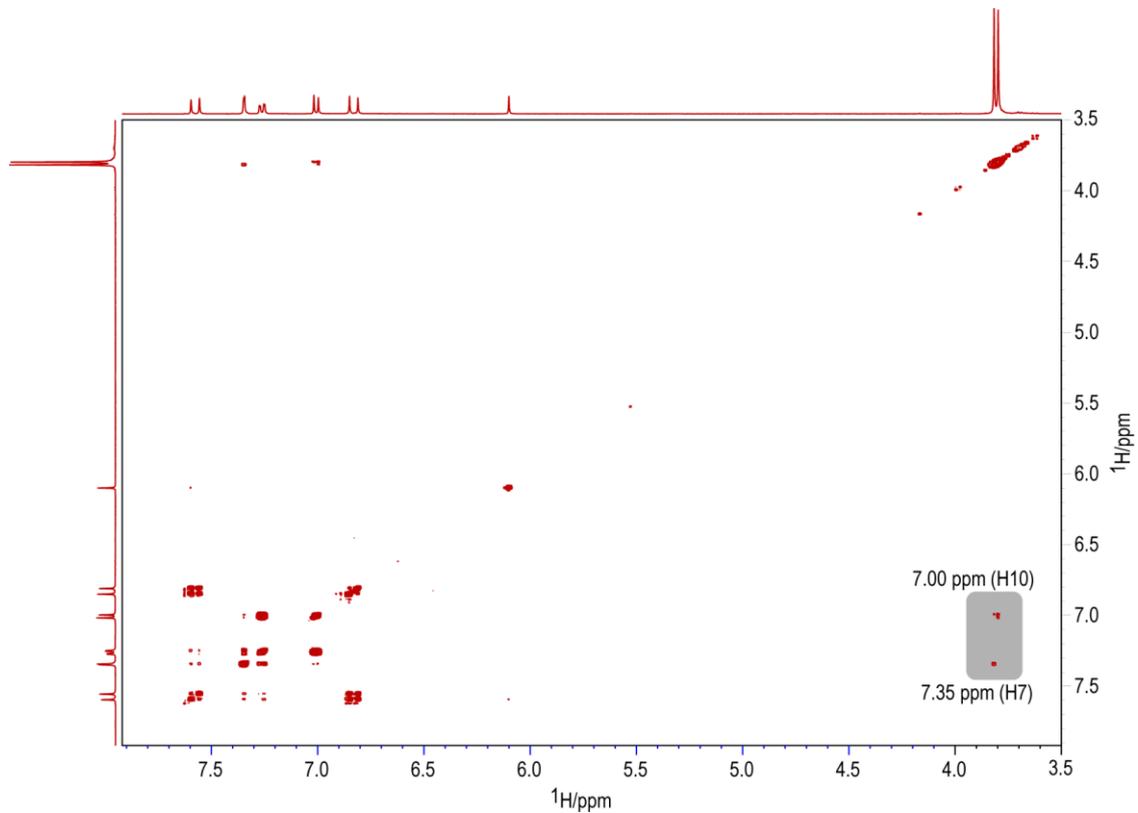
➤  ${}^1\text{H}$ -NMR-Spektrum in Lösung (DMSO- $d_6$ )

**Abbildung 22** zeigt das  ${}^1\text{H}$ -NMR-Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.

Das Molekül ist ähnlich zu GVT-0: die Multiplizität, chemische Verschiebungen und  $J$ -Kopplungen können dazu verglichen werden. Das zusätzliche Signal vom Enolfragment (H1) wurde dem Peak bei 16.31 ppm zugeordnet, da die H-Brücke mit dem Sauerstoffatom des Kohlenstoffatoms 3 und der -I und -R-Effekt von dem des Kohlenstoffatoms 1 das oben genannte Atom entschirmen. H2 wurde dem letzten nicht ausgewerteten Signal zugeordnet. Der Unterschied in der Abschirmung zwischen den Methoxygruppen ist sehr gering und deswegen wurde das  ${}^1\text{H}$ - ${}^1\text{H}$ -COSY-Spektrum analysiert: eine  ${}^5J$ -Kopplung zwischen den OMe-Gruppen und H7/H10 ist beobachtbar, was erlaubt, die beiden Wasserstoffatome eindeutig zu unterscheiden (**Abbildung 23**).



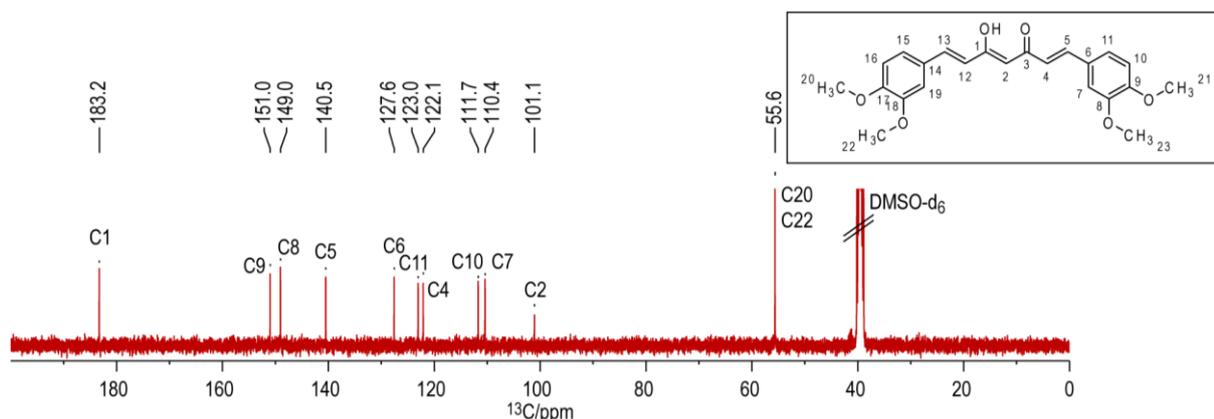
**Abbildung 22.**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Lösung von Dimethoxycurcumin gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 298 K mit 16 Scans und dem zg30-Pulsprogramm. Oben ist der Bereich von 0.00 bis 18.00 ppm dargestellt, im unteren Bereich der Abbildung wurde der Bereich von 6.50 bis 8.00 ppm vergrößert.



**Abbildung 23.**  $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$  Spektrum von Dimethoxycurcumin gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 1 Scans und dem 1cosy45gpppqf-Pulsprogramm. Die Korrelationsignale von den Methoxygruppen und H7/H10 sind mit einem grauen Quadrat betont. Der aromatische Bereich von 6.50 bis 8.00 ppm wurde nicht verwendet.

➤  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung (DMSO- $d_6$ )

**Abbildung 24** zeigt das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.

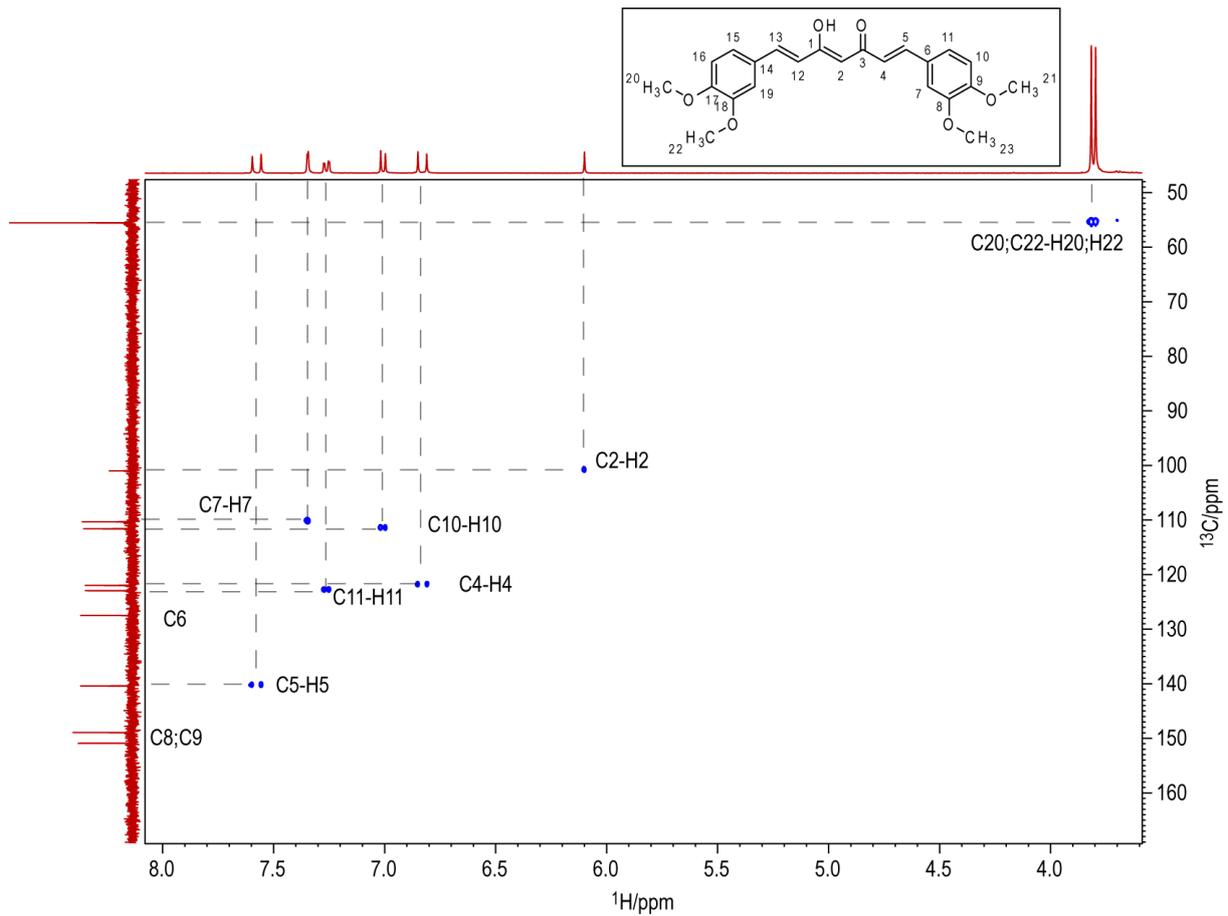


**Abbildung 24.**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung mit  $^1\text{H}$ -Entkopplung von Dimethoxycurcumin gelöst in DMSO- $d_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 4096 Scans und dem zgpg30-Pulsprogramm.

Der Einfluss des Enolfragments auf das gebundene Kohlenstoffatom wird als erstes berücksichtigt. Das Sauerstoffatom weist einen sehr starken -R- und -I-Effekt auf. Deshalb muss das gebundene Kohlenstoffatom bei tiefem Feld auftreten. Da keines von den anderen Atomen dieses Verhalten zeigt, kann das Signal bei 183.2 ppm dem Kohlenstoffatom 1 zugeordnet werden. C8 und C9 haben ebenso ein direkt gebundenes Sauerstoffatom, das an Induktiv- aber nicht an -R-Effekten beteiligt ist, das zur Zuordnung der Signale bei 150 ppm und nicht bei 183.2 ppm führt. Der Peak bei 55.6 ppm muss den Methoxygruppen entsprechen, analog zum  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung (DMSO- $d_6$ ) von GVT-0 (siehe Kapitel 3.1.1).

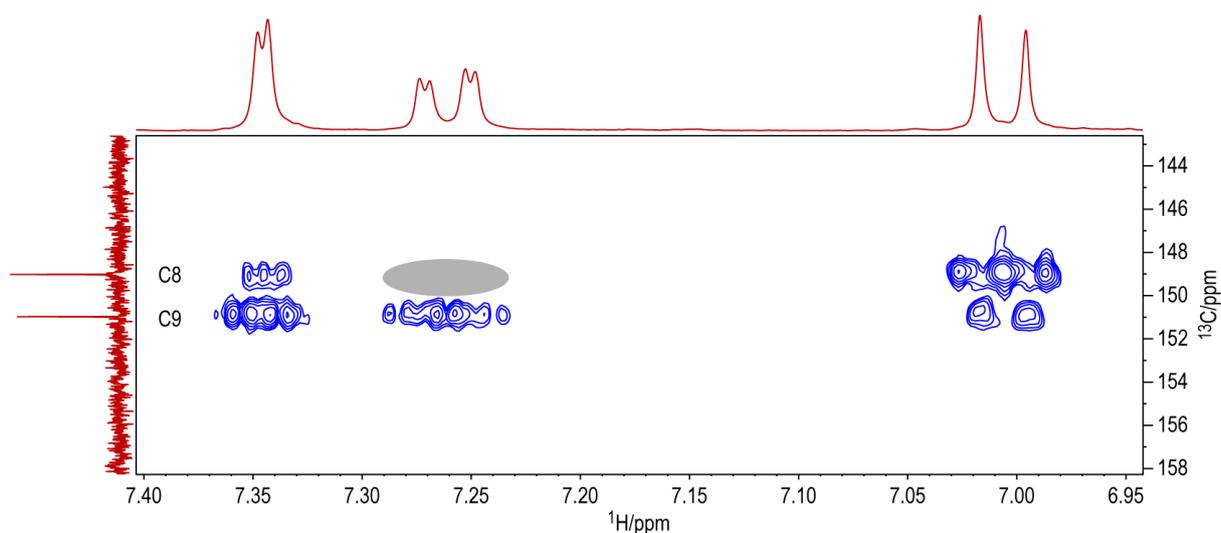
In diesem Spektrum ist zudem die Anzahl der Signale auffällig. Theoretisch sollten insgesamt zwölf Peaks auftreten, aber nur elf können tatsächlich beobachtet werden. Wenn man das  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrum analysiert (**Abbildung 25**), gehören alle Methoxygruppen zum gleichen  $^{13}\text{C}$ -Signal bei 55.6 ppm.

Der Bereich von 105 bis 155 ppm wird mithilfe des  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrums ausgewertet (**Abbildung 25**). Die  $^{13}\text{C}$ -Signale mit einem Kreuzpeak können eindeutig mithilfe der  $^1\text{H}$ -NMR-Auswertung in Lösung zugeordnet werden. Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Peaks ohne einen Kreuzpeak müssen dann zu den Kohlenstoffatomen ohne ein Wasserstoffatom also C6, C8 und C9 gehören. Diese zwei letzten treten bei tieferem Feld wegen der Elektronegativität des Bindungspartners (-I-Effekt) auf.



**Abbildung 25.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrum von Dimethoxycurcumin gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 1 Scans und dem hsqcetgp-Pulsprogramm. Die gestrichelten Linien stellen die Korrelationen dar.

Um Kohlenstoffatome 8 und 9 zu unterscheiden, kann ein  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HMBC-Spektrum analysiert werden (**Abbildung 26**). Bei diesem Spektrum weisen die Kohlenstoffatome, an die ein Wasserstoffatom gebunden ist, nicht ein Signal auf, sondern welche die zwei oder mehr Bindungen von einem Wasserstoffatom entfernt sind. Obwohl die zwei Kohlenstoffatome Kontakt mit allen aromatischen Wasserstoffatomen haben, zeigt das abgeschirmtere Signal keinen Kreuzpeak mit H11. Kohlenstoffatom 9 ist drei Bindungen entfernt wegen es bei C8 vier Bindungen sind. Auf diese Weise wird das Signal bei 151.0 ppm dem Kohlenstoffatom 9 und das bei 149.0 ppm C8 zugeordnet.



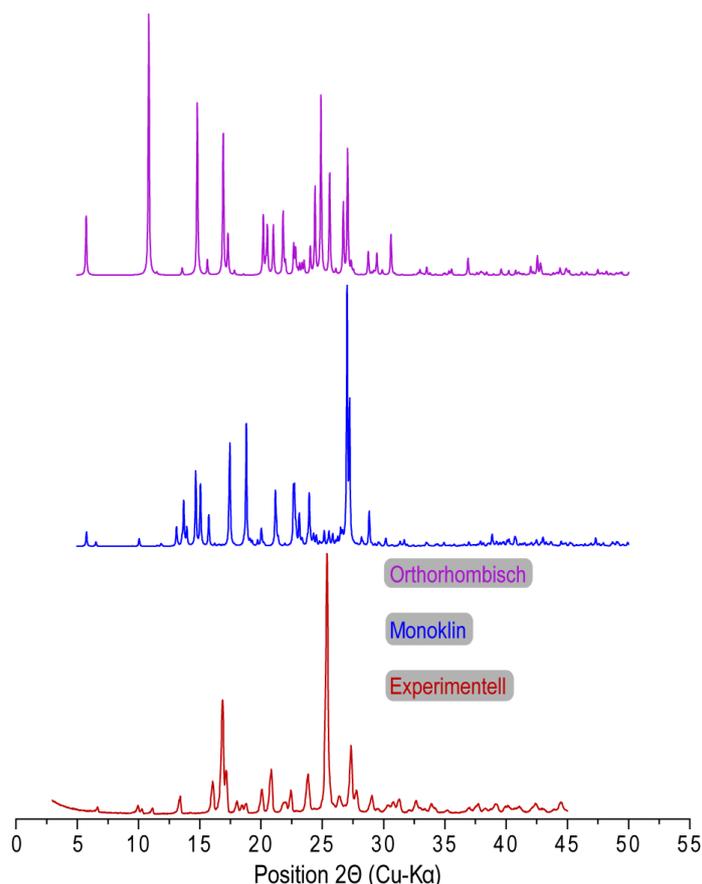
**Abbildung 26.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HMBC-Spektrum von Dimethoxycurcumin gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 2 Scans und dem hmbcglpndqf-Pulsprogramm. Der graue Kreis betont den Bereich, wo das Kohlenstoffatom 8 keinen Kontakt mit H11 hat. Nur der Bereich von den zwei noch nicht zugeordneten  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale und von den aromatischen Wasserstoffatomen wird dargestellt.

### ➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster

Zur Überprüfung der Kristallinität bzw. der Amorphizität wurde dann ein Beugungsmuster von Sönke Menke<sup>[7]</sup> im Rahmen seiner Bachelorarbeit mit PXRD gemessen (**Abbildung 27**). Schmale Peaks können beobachtet werden, sodass die Probe als kristallin charakterisiert werden kann. Ein Beugungsmuster nach MAS wurde nicht gemessen, deshalb ist der Vergleich von vor und nach der Festkörper-NMR-Messung nicht möglich. Die kristallographische Strukturen der zwei bekannten Polymorphe in The Cambridge Crystallographic Data Centre<sup>[73]</sup> wurden außerdem mit Mercury<sup>[74]</sup> prozessiert und die theoretischen Beugungsmuster berechnet. Die zwei Muster sind verschieden im Vergleich zu den experimentellen Daten. Das heißt, dass entweder die Probe aus mehreren Phasen besteht oder, dass das experimentelle Beugungsmuster einem neuen Polymorph entspricht. Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale von z.B. C1,3; C5,13 oder C2 (**Abbildung 28**) könnten zu einem Polymorph mit  $Z'=1$  gehören und so würde die Probe aus einer einzelnen Phase bestehen. Das muss mithilfe der Röntgendiffraktometrie weiter untersucht werden, um die kristallographische Struktur zu bestimmen.

**Tabelle 3.** Tabellarische Darstellung der Parameter der Elementarzelle von den zwei bekannten Polymorphen von Dimethoxycurcumin.<sup>[73]</sup>

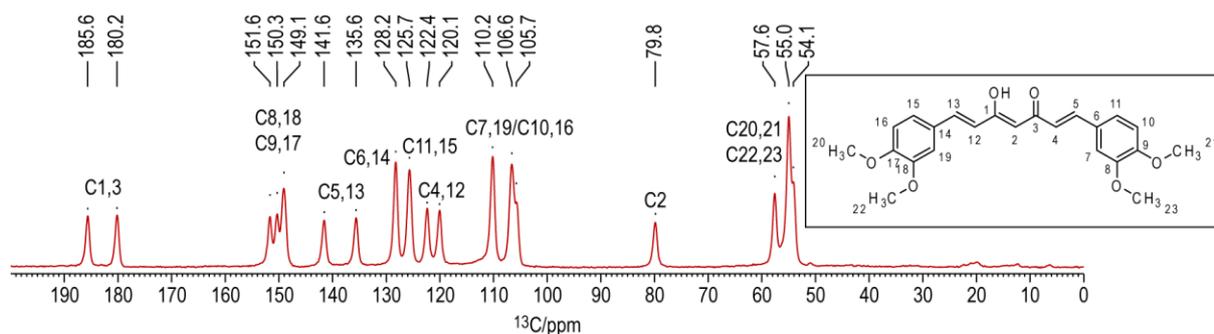
CCDC Kode	OPOKOV	PAZXUM
Kristallsystem	Monoklin	Orthorhombisch
Raumgruppe	P 2 <sub>1</sub> /n	P b c n
T <sub>Messung</sub> [K]	125	293
a [Å]	7.8984	30.699
b [Å]	26.9720	8.444
c [Å]	18.8836	8.788
α [°]	90	90.000
β [°]	100.846	90.000
γ [°]	90	90.000
Z	8	4



**Abbildung 27.** Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster von Dimethoxycurcumin vor Festkörper-NMR-MAS-Messung aufgenommen an einem Bruker Discover D8 Diffraktometer mit Cu-K $\alpha$  Radiation ( $\lambda = 154.10$  nm, 40 kV Spannung und 40 mA Intensität), Slit mit 1.2 mm und 0.025°/0.55 (s) per Schritt (rotes Muster). Die berechneten Beugungsmuster der zwei bekannten Polymorphen werden auch abgebildet.<sup>[73-74]</sup>

### ➤ <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum (krystalline Probe)

Bei diesem <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum (**Abbildung 28**) ist die Anzahl der Signale auffällig, die höher als die vermutete ist, also ein Peak für jede zwei chemisch äquivalente Atome (11 Signale insgesamt). Das kann durch den Z'-Wert verursacht sein, der gleich eins sein könnte (siehe C1,3; C5,13 oder C2).



**Abbildung 28.**  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum von Dimethoxycurcumin aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T, 13-kHz-MAS und 298 K mit 10240 Scans und dem cp-Pulsprogramm. Die Acquisitionszeit/d1 war 0.0499992/3 (s).

Die Auswertung wird mithilfe von zwei  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren und den NMR-Daten in Lösung durchgeführt (**Abbildung 29**).

Bei einer Kontaktzeit von 50  $\mu\text{s}$  weisen die Enol- und C-OMe-Gruppen kein Kreuzsignal auf und die Kreuzpeaks von den Methoxygruppen stark und abgeschirmt sind. C6,14 sollte kein Kreuzsignal aufweisen, aber wenn alle die Peaks übrig analysiert werden, haben alle eines. Der Peak bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 128.2$  ppm kann den Kohlenstoffatomen 6,14 zugeordnet werden, wenn die folgenden zwei Beobachtungen berücksichtigt werden. a) Die Intensität des Kreuzsignals ist gering. Die quartären Kohlenstoffatome haben normalerweise keinen Kreuzpeak wegen der langsameren Relaxation. Das oben genannte Signal weist zwar einen Kreuzpeak auf, aber die Intensität ist relativ gering, was an einer schnelleren Relaxationszeit liegen könnte. b) Die Höhe der Signale des  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums. Falls die Probe nur aus einem Polymorph mit  $Z'=1$  besteht, gehören die zwei Peaks von dem Enolfragment zu zwei Kohlenstoffatomen. Das heißt, dass die dazugehörige Intensität eines Signals einem Kohlenstoffatom entspricht (gestrichelte schwarze Linie). Die Höhe von C6,14 ist ungefähr doppelt, was in Einklang mit einem Peak steht, der zu zwei Kohlenstoffatomen gehört.

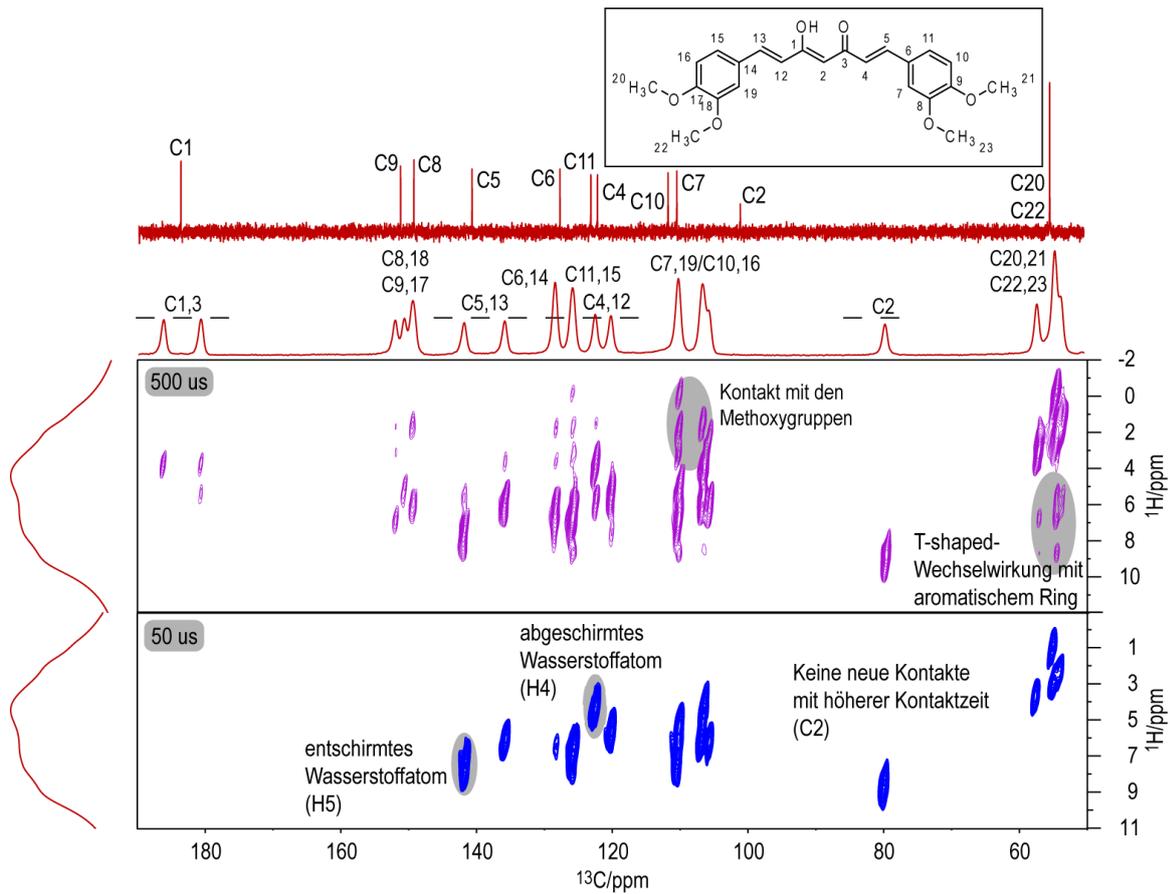
Mit der Anwendung von den  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signalen in Lösung können bestimmte Bereiche ausgewertet werden. Die zwei Peaks bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 139.0$  ppm werden den Kohlenstoffatomen 5 und 13 zugeordnet. Die zwei Signale beim  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von 50  $\mu\text{s}$  sind zwar allzu unterschiedlich, aber die Intensität der  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Signale steht in Einklang mit zwei Kohlenstoffatomen eines für jeden Peak, was die oben genannte Zuordnung bestätigt. Für C4,12 und C11,15 gestaltet es sich wegen der Nähe der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale in Lösung als schwierig, die Daten zu vergleichen. Das gleiche Problem gilt für C7,19; C10,16 und C2.

Wenn die  $^1\text{H}$ -NMR-Signale in Lösung berücksichtigt werden, können zwei Peaks zuverlässig analysiert werden. Der Peak der Kohlenstoffatomen 5 und 13 bei  $\delta(^{13}\text{C-1D}) = 141.6$  ppm liegt relativ entschirmt in der  $^1\text{H}$ -Dimension in Einklang mit der  $^1\text{H}$ -chemischen Verschiebung in Lösung. Im Gegensatz dazu tritt das Wasserstoffatom 4 in Lösung sehr abgeschirmt auf und so kann das Signal bei  $\delta(^{13}\text{C-1D}) = 122.4$  ppm den Kohlenstoffatomen 4 und 12 zugeordnet werden. Bei  $\delta(^{13}\text{C-1D}) = 120.1$  ppm gibt es einen Peak mit der gleichen Intensität, die darüber hinaus ähnlich zu C1,3 oder C5,13 ist. Das liegt an der Anwesenheit von zwei Kohlenstoffatomen eines für jeden Peak. So können diese zwei Signale den Kohlenstoffatomen 4 und 12 zugeordnet werden.

Da der Bereich von 130.0 bis 120.0 ppm ist nun deutlicher, kann der Peak bei  $\delta(^{13}\text{C-1D}) = 125.7$  ppm wegen der Intensität und des  $^{13}\text{C}$ -NMR-Lösungspeaks den zwei Kohlenstoffatomen 11 und 15 zugeordnet wird.

Ein  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von 500  $\mu\text{s}$  wird nun analysiert. Das Signal bei  $\delta(^{13}\text{C-1D}) = 79.8$  ppm kann dem Kohlenstoffatom 2 zugeordnet werden. Dieses Atom liegt im Rückgrat des Moleküls quasi geschützt von der Umgebung in einer Gruppe, die überwiegend an intramolekularen Wechselwirkungen beteiligt ist.<sup>[5]</sup> Das Signal verändert sich nicht mit steigender Kontaktzeit in Einklang mit dieser Erklärung. Eine andere Beobachtung ist der Kontakt zwischen den Methoxygruppen und den aromatischen Atomen. Das liegt wahrscheinlich an T-shaped-Interaktionen, wo die OMe senkrecht zum aromatischen Ring wechselwirken. Es sollte auch berücksichtigt werden, dass dieses Signal auch von einem intramolekularen Prozess stammen könnte, wodurch die Magnetisierung sich innerhalb des Moleküls bewegen kann (engl. spin diffusion). Daher könnten diese Kreuzpeaks z.B. an dem Kontakt C21-H10 liegen. Dies sollte genauer betrachtet und durch zusätzliche Messungen überprüft werden.

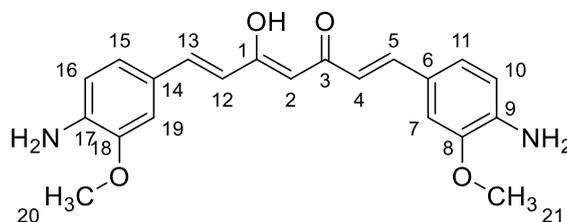
Diese Auswertung kann ebenso mithilfe von quantenmechanischen Berechnungen nach der Aufklärung der kristallographischen Struktur der Probe verbessert werden.



**Abbildung 29.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren von Dimethoxycurcumin aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T, 13-kHz-MAS und 303 K mit 24 Scans und dem Ighetfq-Pulsprogramm. Die Kontaktzeit war 50  $\mu\text{s}$  (blaue Signale)/500  $\mu\text{s}$  (lilafarbene-orchidee Signale) und die Acquisitionszeit/d1 war 0.0299880 (f2);0.0099967 (f1)/3 (s) bei 50  $\mu\text{s}$  und 0.0299880 (f2);0.0149950 (f1)/3 (s) bei 500  $\mu\text{s}$ . Das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung wird ebenso dargestellt.

### 3.1.3-. Charakterisierung des Curcuminaminoderivats

**Abbildung 30** zeigt die chemische Strukturformel des Curcuminaminoderivats mit nummerierten Positionen zur Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale.



**Abbildung 30.** Chemische Struktur und Nummerierung des Curcuminaminoderivats.

Im Folgenden wird die Auswertung von dem einzelnen Molekül dargestellt (**Tabelle 4**).

**Tabelle 4.** Tabellarische Darstellung der Auswertung des Curcuminaminoderivats. Die chemisch äquivalenten Atome in Lösung werden nur einmal dargestellt und alle für die teilmorphe Probe, da in Festkörper die Anzahl der Signale vom Z'-Wert abhängt.

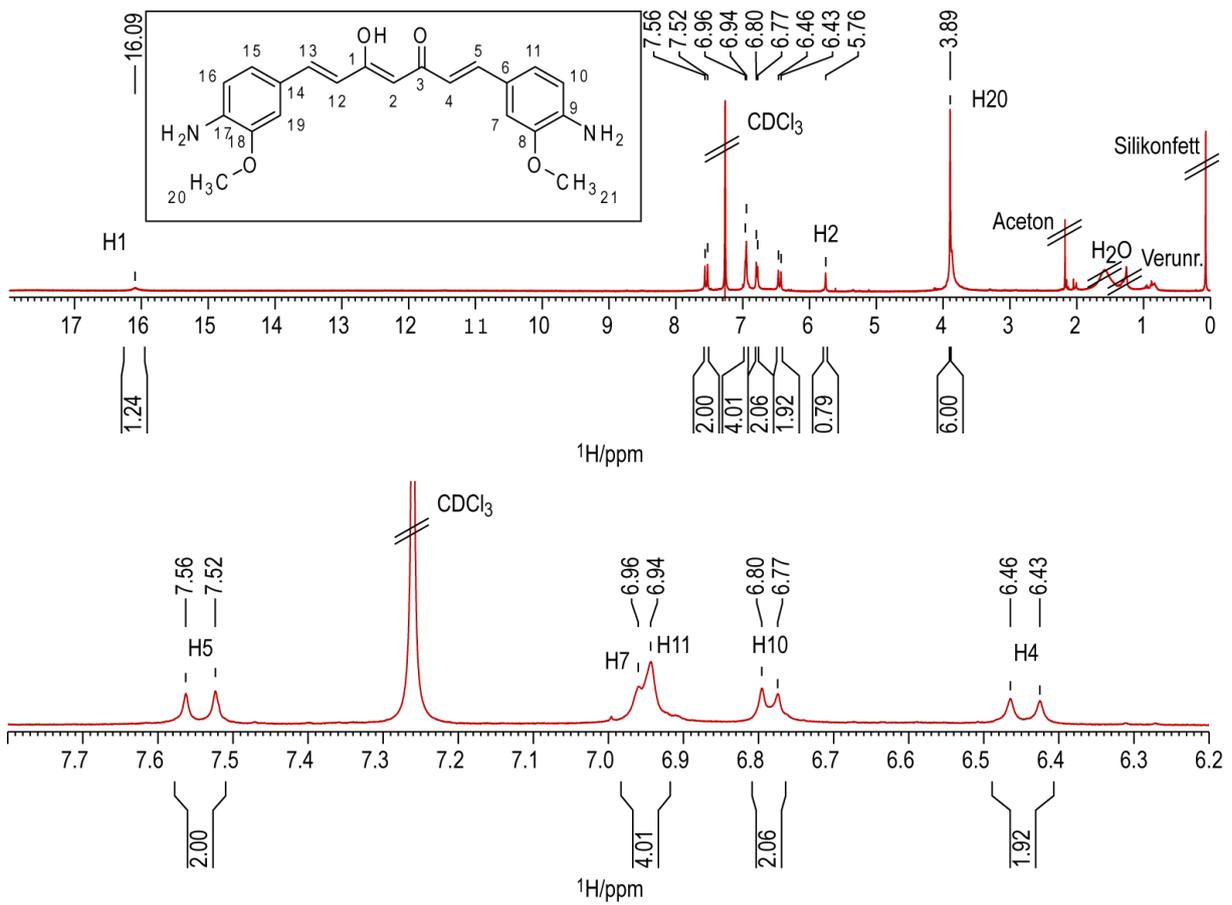
	NMR in Lösung ( <sup>1</sup> H: CDCl <sub>3</sub> / <sup>13</sup> C: DMSO-d <sub>6</sub> )			Festkörper-NMR (teilmorphe Probe)	
	Chemische Verschiebung (ppm)	Multiplizität	Kopplung (Hz)	Chemische Verschiebung (ppm)	
C1	183.1			C1,3	189.0;178.8
C2	100.9			C2	103.7
C4	120.9			C4,12	123.1;121.4
C5	141.1			C5,13	142.0
C6	127.4			C6,14	127.7
C7	111.7			C7,19	111.6;110.7
C8	148.8			C8,18	149.3
C9	138.1			C9,17	137.0
C10	110.5			C10,16	111.6;110.7
C11	118.8			C11,15	119.2
C20	55.4			C20,21	55.1
H1	16.09	s		Nicht zugeordnetes Signal: 115.4 ppm	
H2	5.76	s			
H4	6.45	d	<sup>3</sup> J <sub>HH</sub> = 15.8		
H5	7.55	d	<sup>3</sup> J <sub>HH</sub> = 15.7		
H7	6.96	-	-		
H9	-	-			
H10	6.79	d	<sup>3</sup> J <sub>HH</sub> = 8.5		
H11	6.94	-	-		
H20	3.89	s			

### ➤ <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in Lösung (CDCl<sub>3</sub>)

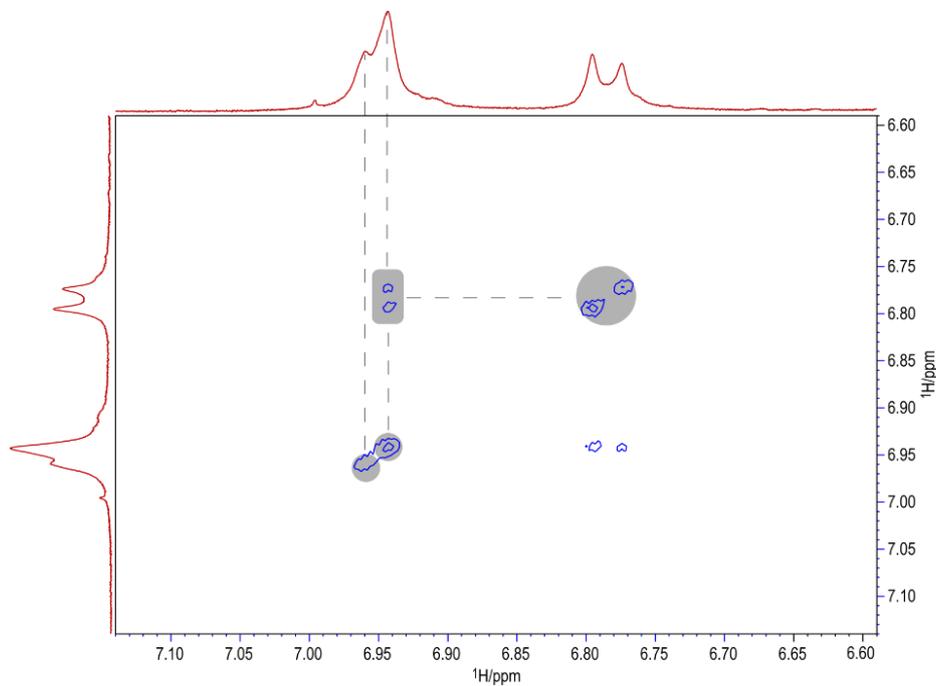
**Abbildung 31** zeigt das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.

Da die Signalstruktur des Spektrums die gleiche ist wie die von CUR-M4 bzw. GVT-0, konnten alle Wasserstoffatome bis auf eines zugeordnet werden.

Zwei Signale sind erwähnenswert: das bei 5.76 ppm und das bei ca. 6.95 ppm. Der Peak bei 5.76 ppm wird dem Wasserstoffatom 2 zugeordnet. Die Integralsumme beträgt ca. den theoretischen Wert 1. Mithilfe eines <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HSQC-Spektrum (**Abbildung 33**) kann bestätigt werden, dass ein Peak bei 6.10 ppm auftritt, dessen Kohlenstoffatom eine chemische Verschiebung von 100.9 ppm darstellt, genau wo C2 liegt. Das Signal hat sich 0.34 ppm im Vergleich zum 1D-Spektrum verschoben, weil die Lösungsmittel unterschiedlich sind. Das Signal bei 5.76 ppm könnte auch der Aminogruppe zugeordnet werden, aber der Peak ist zu scharf und abgeschirmt, da diese Gruppe in CDCl<sub>3</sub> höchstwahrscheinlich an H-Brücken und Austauschprozessen beteiligt ist, die ein breites und entschirmtes Signal verursachen. Das heißt, dass die Aminogruppe vermutlich wegen der starken Austauschprozesse kein Signal im 1D-Spektrum aufweist.



**Abbildung 31.**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Lösung des Curcuminaminoderivats gelöst in  $\text{CDCl}_3$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 298 K mit 128 Scans und dem zg30-Pulsprogramm. Oben ist der Bereich von 0.00 bis 18.00 ppm dargestellt, im unteren Bereich der Abbildung wurde der Bereich von 6.20 bis 7.80 ppm vergrößert.



**Abbildung 32.**  $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$  Spektrum des Curcuminaminoderivats gelöst in  $\text{CDCl}_3$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 2 Scans und dem Icosy45gpppqf-Pulsprogramm. Die Korrelationen werden mit grauen Kreisen, Quadraten und gestrichelten Linien dargestellt.

Wenn alle die Signale berücksichtigt werden, gehört das gegen 6.95 ppm sowohl H7 als auch H11. Die Integralsumme beträgt vier Wasserstoffe. Die feine Aufspaltung und Multiplizität kann nicht bestimmt werden. Zum Unterscheiden, welcher Peak welchem Wasserstoffatom entspricht, kann ein  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY-Spektrum analysiert werden (**Abbildung 32**). Der Kreuzpeak hat ein Signal, das mit H10 korreliert ist. Daher wird der abgeschirmtere Peak dem Wasserstoffatom 11 zugeordnet.

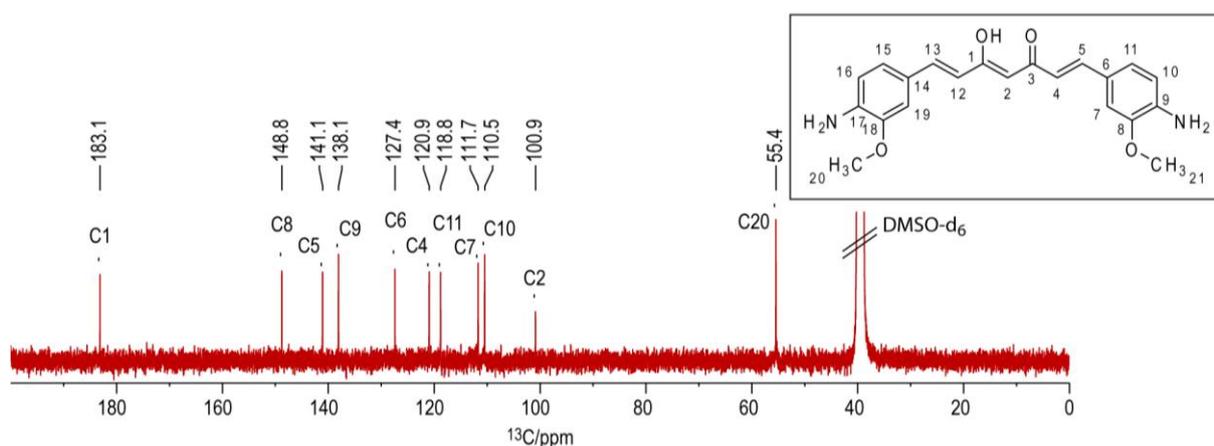
➤  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung (DMSO- $d_6$ )

**Abbildung 33** zeigt das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.

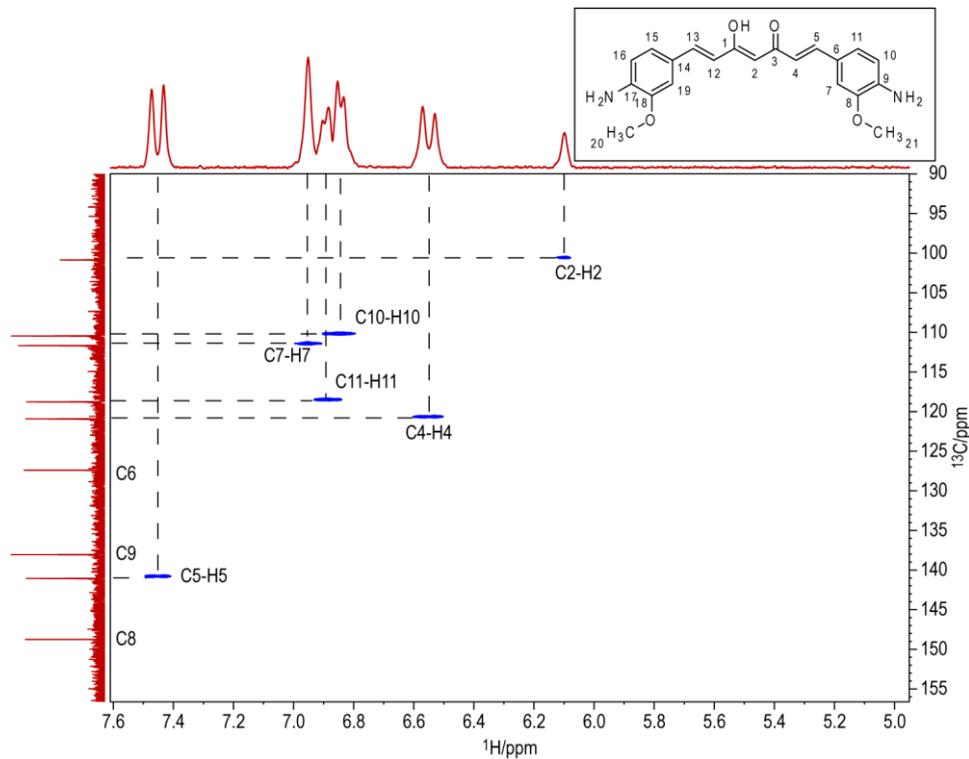
Da die Struktur des Spektrums ähnlich zu den bereits analysierten Molekülen ist, können so die Methoxy-, Enol- und C2-Peaks eindeutig zugeordnet werden.

Die anderen können mithilfe eines  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrums ausgewertet werden (**Abbildung 34**). Erwähnenswert ist die Zuordnung der aromatischen Wasserstoffe. C10/H10 hat sich im Vergleich zum Protonenspektrum wegen des Unterschieds vom Lösemittel verschoben und tritt teilweise mit C11/H11 auf. Da der +R-Effekt der Aminogruppe wichtiger in der ortho-Position ist, muss C10 abgeschirmt als C11 liegen.

Der Hauptunterschied zwischen C8 und C9 ist die Elektronegativität des Bindungspartners:  $\chi(\text{O}) > \chi(\text{N})$ ; infolgedessen zieht Sauerstoff mehr Elektronendichte als Stickstoff aus dem entsprechenden gebundenen Kohlenstoffatom heraus. Daher tritt C8 entschirmt auf und kann so das Signal bei 148.8 ppm dem Atom 8 zugeordnet werden.



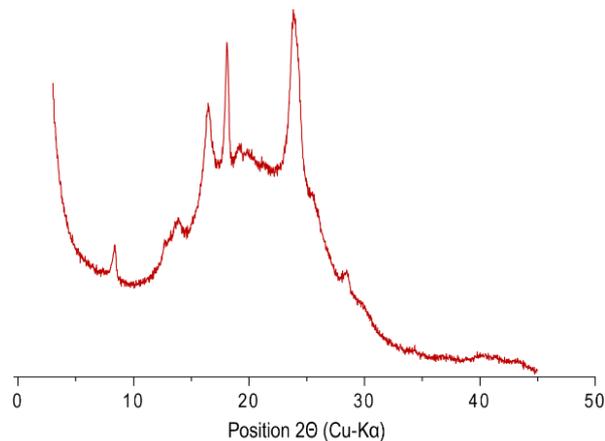
**Abbildung 33.**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung mit  $^1\text{H}$ -Entkopplung des Curcuminaminoderivats gelöst in DMSO- $d_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 6144 Scans und dem zgpg30-Pulsprogramm.



**Abbildung 34.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrum des Curcuminaminoderivats gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 4 Scans und dem hsqcedetgpsisp2.2-Pulsprogramm. Die Projektion der  $^1\text{H}$ -Dimension wird abgebildet. Die gestrichelten Linien stellen die Korrelationen dar.

### ➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster

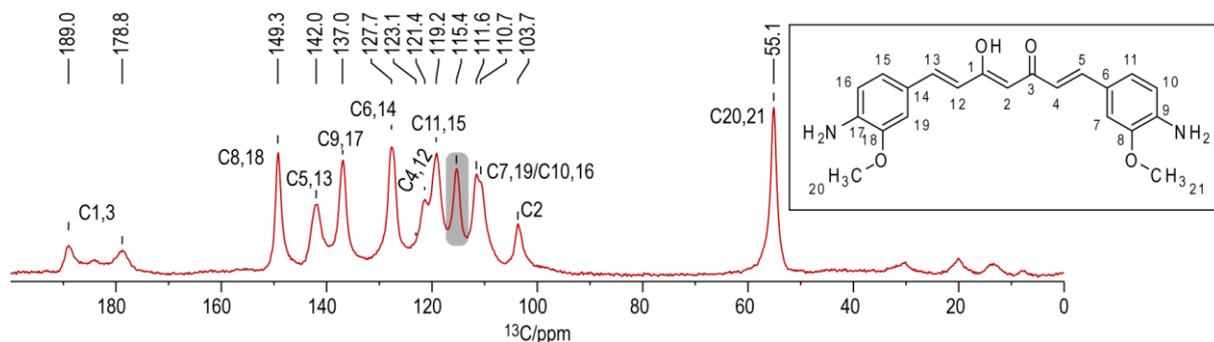
Zur Überprüfung der Kristallinität bzw. der Amorphizität wurde dann ein Beugungsmuster von Sönke Menke<sup>[7]</sup> im Rahmen seiner Bachelorarbeit mit PXRD gemessen (**Abbildung 35**). Sowohl schmale Peaks als auch breite Bereiche können beobachtet werden, sodass die Probe als teilmorph charakterisiert werden kann. Ein Muster nach MAS wurde nicht gemessen, deshalb ist der Vergleich von vor und nach der Festkörper-NMR-Messung nicht möglich.



**Abbildung 35.** Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster des Curcuminaminoderivats vor Festkörper-NMR-MAS-Messung aufgenommen an einem Bruker Discover D8 Diffraktometer mit  $\text{Cu-K}\alpha$  Radiation ( $\lambda = 154.10 \text{ nm}$ , 40 kV Spannung und 40 mA Intensität), Slit mit 1.2 mm und  $0.025^\circ/0.55 \text{ (s)}$  per Schritt.

➤  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum (teilkristalline Probe)

Abbildung 36 zeigt das  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum und die Zuordnung der Signale.



**Abbildung 36.**  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum des Curcuminaminoderivats aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T, 13-kHz-MAS und 298 K mit 10240 Scans und dem cp-Pulsprogramm. Die Acquisitionszeit/d1 war 0.0499992/2 (s). Das Signal bei ca. 185 ppm entspricht einem Spinningsideband der Methoxygruppe (Distanz 12943.9 Hz). In einem grauen Quadrat steht das Signal, das nicht zugeordnet werden kann.

Da die Struktur des Spektrums ähnlich zu den bereits analysierten Molekülen ist, können die Methoxy- und Enolsignale eindeutig zugeordnet werden. Der Bereich von 160 bis 90 (ppm) wird mithilfe der  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren und der Lösungsdaten ausgewertet (**Abbildung 37**).

Bei der Analyse vom  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von 50  $\mu\text{s}$  haben manche Signale vom  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum keinen Kreuzpeak. Diese gehören zu den quartären Kohlenstoffatomen und so können diese Signale den C8,18, C9,17 und C6,14 zugeordnet werden. Die starke Intensität bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-HETCOR}) = 123.0$  ppm gehört zu keinem hohem Peak im  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum. Deswegen wird dieses Signal zur allgemeinen Auswertung hinzugefügt.

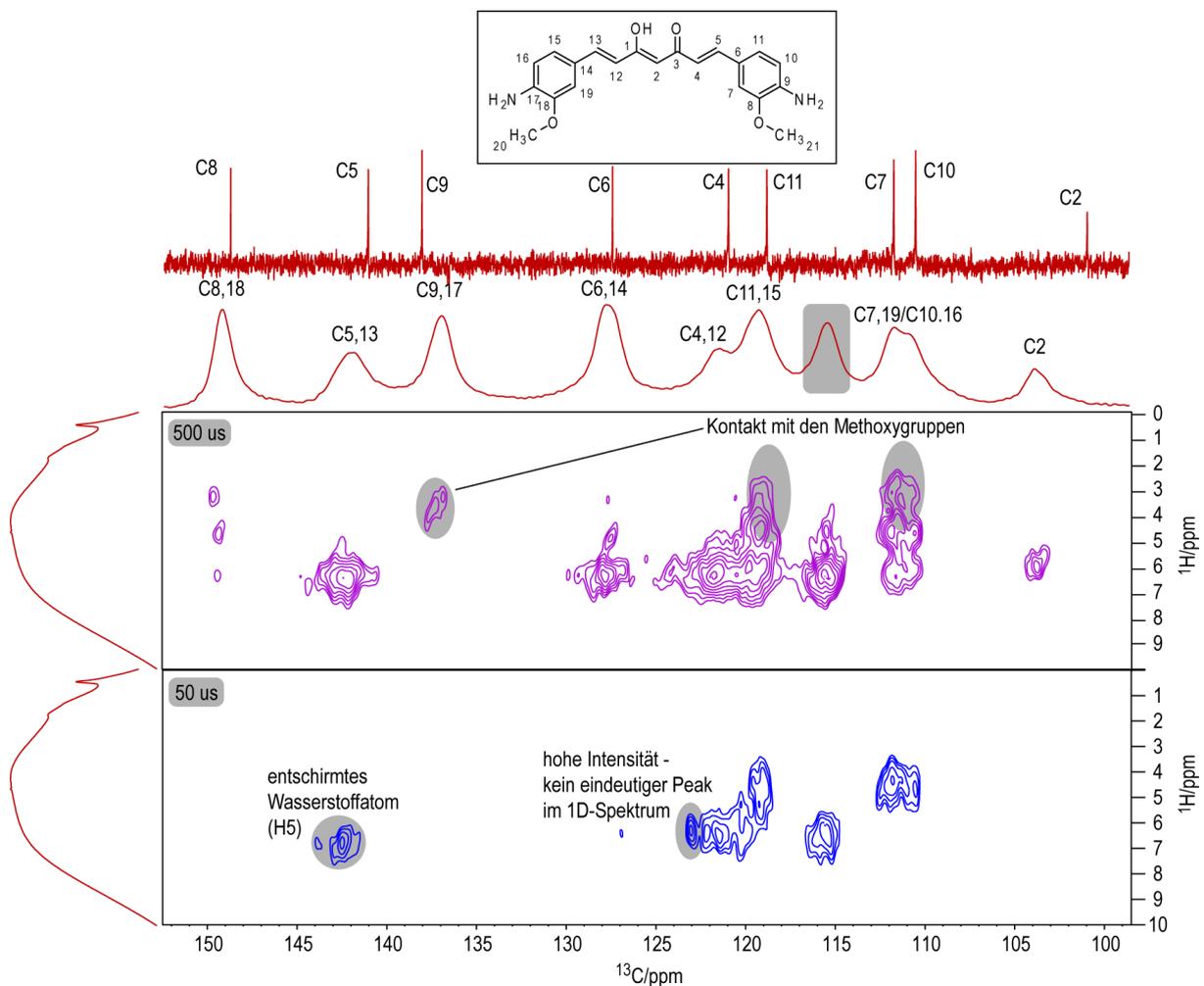
Wenn man die Form des  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrums mit der von dem in Lösung vergleicht, sieht es so, dass die  $^{13}\text{C}$ -Lösungsdaten zuverlässig benutzt werden können. So ist man in der Lage, die Auswertung der quartären Kohlenstoffatome zu bestätigen, C8,18 und C9,17 zu unterscheiden und die übrigen Signale zuzuordnen. C7,19 und C10,16 können aber nicht getrennt werden, weil die Signale sowohl in Lösung als auch in Festkörper zu nah zueinander auftreten. Der Peak bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 115.4$  ppm kann nicht zugeordnet werden, da der in der Mitte von zwei Bereichen von Kohlenstoffatomen auftritt.

Um die Auswertung zu verbessern, wird die  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebung im  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von 50  $\mu\text{s}$  analysiert. Der Wert vom Wasserstoffatom 5 steht in Einklang mit dem  $^1\text{H}$ -Lösungspeak aber im Bereich von C4,12 und C11,15 gibt es einen Widerspruch. H11 tritt im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum in Lösung entschirmter als H4 auf; in diesem

Spektrum ist das aber nicht der Fall. Da man von den  $^{13}\text{C}$ -Signalen erwarten könnte, dass sie sich nicht stark verschieben oder mindestens nicht so viel wie die Protonen, wird diese Beobachtung nicht berücksichtigt. Da die  $^1\text{H}$ -Dimension nicht zuverlässig analysiert werden kann, bleibt das Signal bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 115.4$  ppm nicht zugeordnet.

Beim  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von  $500\ \mu\text{s}$  kann das Signal für das Kohlenstoffatom 2 beobachtet werden. Wahrscheinlich tritt kein Kreuzpeak mit  $50\ \mu\text{s}$  auf, weil die Anzahl von Scans niedrig ist. Außerdem kann man bestätigen, dass Wechselwirkungen zwischen den Methoxygruppen und dem aromatischen Ring stattfinden (siehe Kapitel 3.1.2).

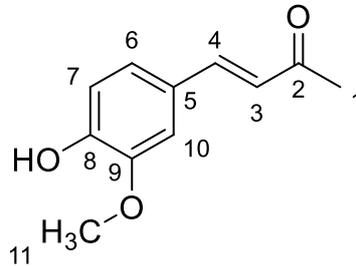
Es ist erwähnenswert, dass die Referenzierung und Skalierung der  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren schwierig war, weil die Auflösung des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums klein ist. Auffällig ist es, dass die Kreuzpeaks der Kohlenstoffatome 7, 19, 10 und 16 sehr abgeschirmt auftreten. Dies sollte genauer betrachtet und durch zusätzliche Messungen überprüft werden.



**Abbildung 37.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum des Curcuminaminoderivats aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T, 13-kHz-MAS und 303 K und dem Ighetf<sub>q</sub>-Pulsprogramm mit 64 Scans für  $50\ \mu\text{s}$  und 80 Scans für  $500\ \mu\text{s}$ . Die Kontaktzeit war  $50\ \mu\text{s}$  (blaue Signale)/ $500\ \mu\text{s}$  (lilafarbene-orchidee Signale) und die Acquisitionszeit/d1 war 0.0299880 (f2);0.0099967 (f1)/ 2 (s) bei  $50\ \mu\text{s}$  und 0.0299880 (f2);0.0112463 (f1)/2 (s) bei  $500\ \mu\text{s}$ . In einem grauen Quadrat steht das Signal, das nicht zugeordnet werden kann.

### 3.1.4-. Dehydrozingeron

**Abbildung 38** zeigt die chemische Strukturformel von Dehydrozingeron (HALBESCUR) mit nummerierten Positionen zur Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale.



**Abbildung 38.** Chemische Struktur und Nummerierung von Dehydrozingeron.

Im Folgenden wird die Auswertung des einzelnen Moleküls dargestellt (**Tabelle 5**).

**Tabelle 5.** Tabellarische Darstellung der Auswertung von Dehydrozingeron. Die chemisch äquivalenten Atome in Lösung werden nur einmal dargestellt und alle für die amorphe Probe, da in Festkörper die Anzahl der Signale vom Z'-Wert abhängt.

	NMR in Lösung ( $\text{CDCl}_3$ )			Festkörper-NMR (kristalline Probe)	
	Chemische Verschiebung (ppm)	Multiplizität	Kopplung (Hz)	Chemische Verschiebung (ppm)	
<b>C1</b>	27.3			<b>C1</b>	25.6
<b>C2</b>	198.5			<b>C2</b>	203.6
<b>C3</b>	125.0			<b>C3</b>	124.6
<b>C4</b>	143.8			<b>C4</b>	148.7
<b>C5</b>	126.9			<b>C5</b>	127.1
<b>C6</b>	123.6			<b>C6</b>	122.4
<b>C7</b>	114.8			<b>C7</b>	117.3;115.4
<b>C8</b>	148.3			<b>C8</b>	150.2
<b>C9</b>	146.9			<b>C9</b>	147.0
<b>C10</b>	109.3			<b>C10</b>	117.3;115.4
<b>C11</b>	56.0			<b>C11</b>	56.7
<b>H1</b>	2.37	s			
<b>H3</b>	6.58	d	$^3 J_{HH} = 16.3$		
<b>H4</b>	7.45	d	$^3 J_{HH} = 16.3$		
<b>H6</b>	7.09	dd	$^3 J_{HH} = 8.1; ^4 J_{HH} = 1.9$		
<b>H7</b>	6.93	d	$^3 J_{HH} = 8.2$		
<b>H8</b>	5.96	s			
<b>H10</b>	7.05	d	$^4 J_{HH} = 1.9$		
<b>H11</b>	3.93	s			

➤ <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in Lösung (CDCl<sub>3</sub>)

Abbildung 39 zeigt das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.

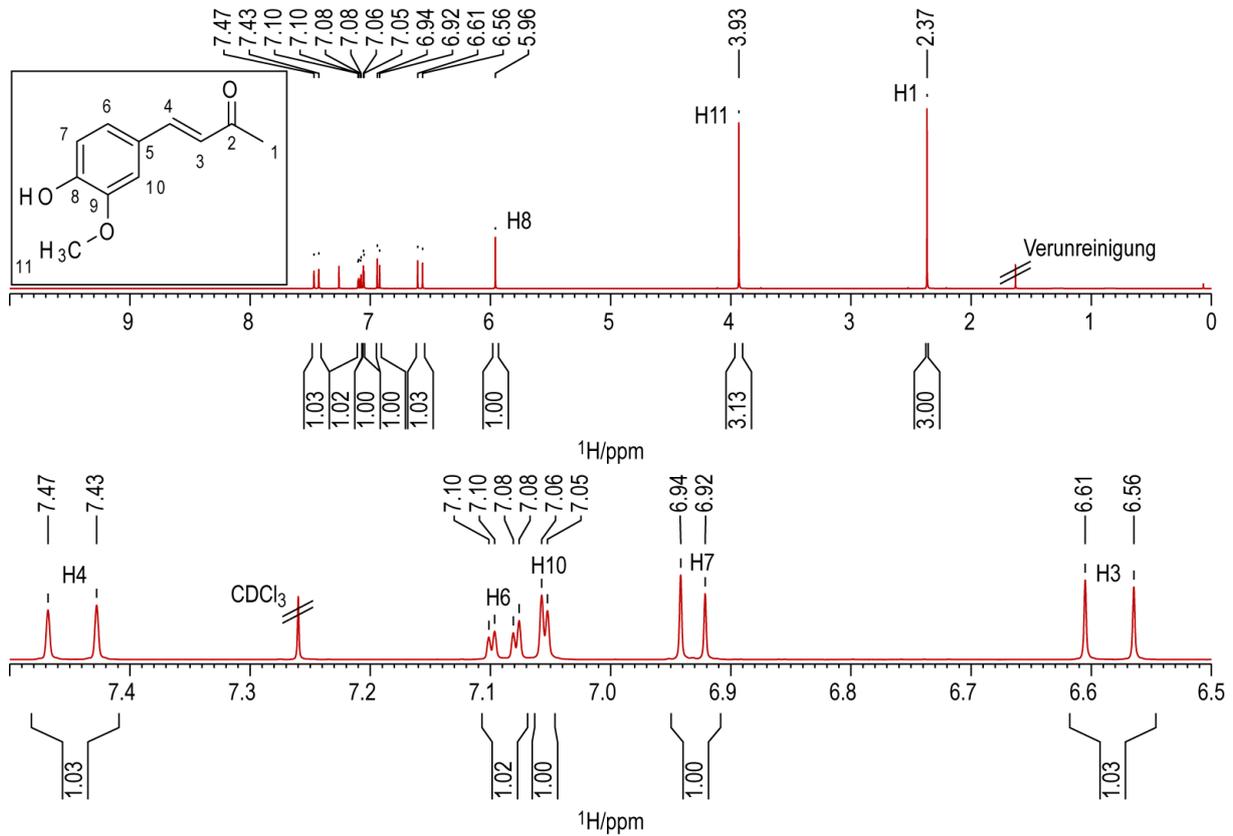


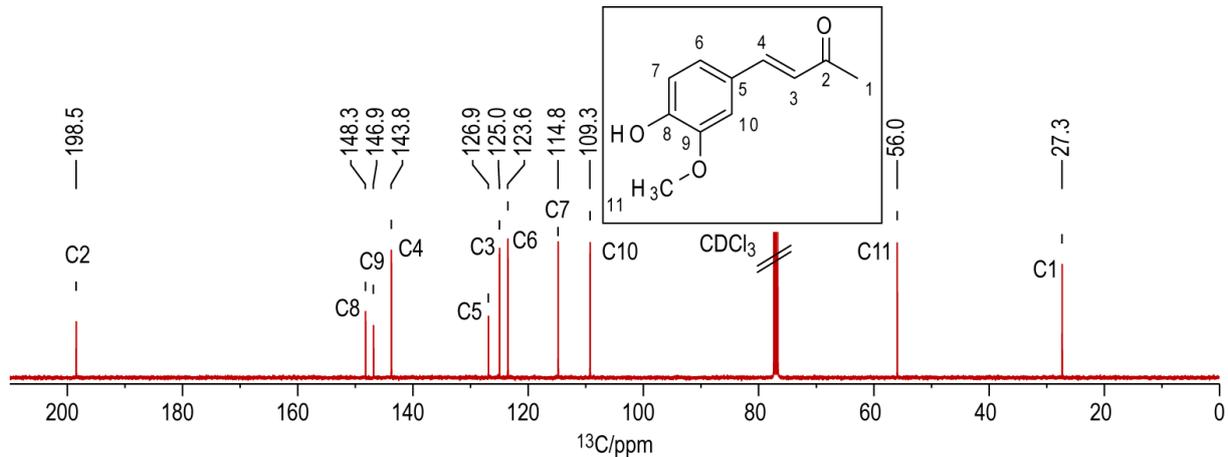
Abbildung 39. <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in Lösung von Dehydrozingeron gelöst in CDCl<sub>3</sub> aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 298 K mit 128 Scans und dem zg30-Pulsprogramm. Oben ist der Bereich von 0.00 bis 10.00 ppm dargestellt, im unteren Bereich der Abbildung wurde der Bereich von 6.50 bis 7.50 ppm vergrößert.

Die Struktur der Protonensignale ist ähnlich zu GVT-0. Daher können alle Peaks eindeutig zugeordnet werden.

Von der OH-Gruppe in CDCl<sub>3</sub> wurde erwartet, dass das dazugehörige Signal beim tiefen Feld auftritt. Bei diesem Spektrum kann aber kein Peak in diesem Bereich beobachtet werden. Daher wird das Signal bei 5.96 ppm dem Wasserstoffatom 8 zugeordnet. Es ist doch so, dass der Peak scharf ist, was wegen der Austauschprozesse, an denen dieses Wasserstoffatom höchstwahrscheinlich beteiligt ist, nicht sein sollte. Die allgemeinen Tabellen von chemischen Verschiebungen der Protonen stellen die OH-Ar gegen 5-8 ppm und darüber hinaus beträgt das Integral den theoretischen Wert 1. Außerdem zeigt dieses Signal keinen Kreuzpeak im abgebildeten Bereich des <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HSQC-Spektrums (Abbildung 41). Daher wird dieses Signal so zugeordnet.

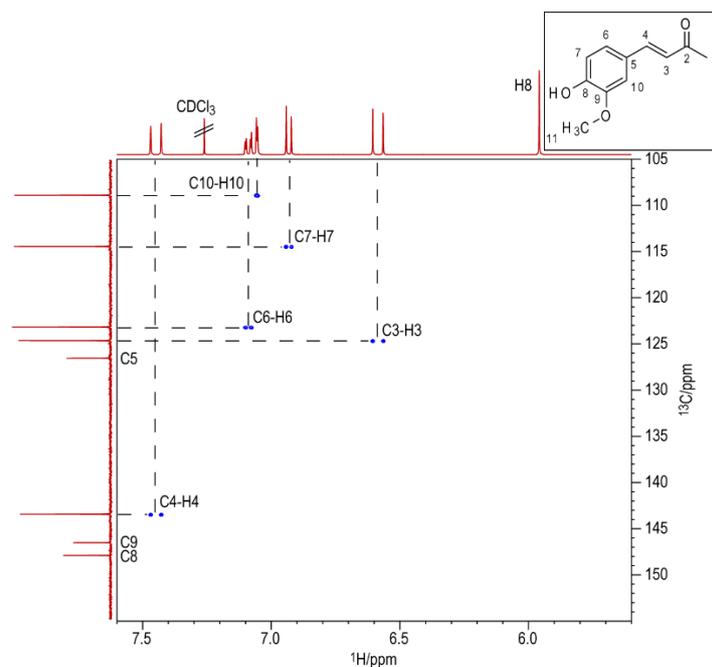
➤  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung ( $\text{CDCl}_3$ )

**Abbildung 40** zeigt das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.



**Abbildung 40.**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum in Lösung mit  $^1\text{H}$ -Entkopplung von Dehydrozingeron gelöst in  $\text{CDCl}_3$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 2048 Scans und dem zgpg30-Pulsprogramm.

Da die Struktur des Spektrums ähnlich zu der von GVT-0 ist, können so die Methoxy- und Carbonylpeaks eindeutig zugeordnet werden. Um das Signal bei 27.3 ppm der Methylgruppe zuzuordnen, wurden die allgemeinen Tabellen von  $^{13}\text{C}$ -chemischen Verschiebungen angewandt. Die anderen Signalen können mithilfe eines  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrums ausgewertet werden (**Abbildung 41**). Mithilfe der  $^1\text{H}$ -chemischen Verschiebungen ist die Zuordnung eindeutig. Die quartären Kohlenstoffatome zeigen keinen Kreuzpeak.



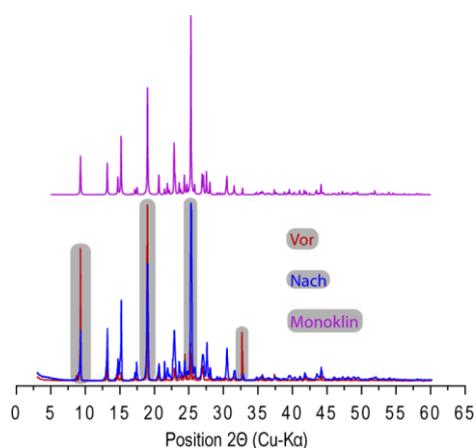
**Abbildung 41.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrum von Dehydrozingeron gelöst in  $\text{CDCl}_3$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 300 K mit 2 Scans und dem hsqcedetgpsi2.2-Pulsprogramm. Die gestrichelten Linien stellen die Korrelationen dar.

### ➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster

Zur Überprüfung der Kristallinität bzw. der Amorphizität wurde dann ein Beugungsmuster mit PXRD gemessen (**Abbildung 42**). Schmale Peaks können beobachtet werden, sodass die Probe als kristallin charakterisiert werden kann. Ein Muster nach MAS wurde ebenso aufgenommen, wo kann beobachtet werden, dass bestimmte Signale intensitätsweise verschieden sind (die stärksten in grauen Quadraten). Man geht davon aus, dass die Drehung während der NMR-Messung den Zustand der Probe beeinflusst hat. Die kristallographische Struktur des bekannten Polymorphs in The Cambridge Crystallographic Data Centre<sup>[73]</sup> wurde außerdem mit Mercury<sup>[74]</sup> prozessiert und das theoretische Beugungsmuster berechnet. Die zwei experimentellen Muster weisen die gleichen Signale wie das der kristallographischen Struktur auf. Die Anzahl der Moleküle in der asymmetrischen Einheit des Polymorphs ist 1 und wenn die Signale des <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrums analysiert werden, kann davon ausgegangen werden, dass die Probe überwiegend aus diesem monoklinischen Polymorph besteht. Diese Beobachtung kann mithilfe der Röntgendiffraktometrie erklärt werden, indem die kristallographische Struktur bestimmt wird.

**Tabelle 6.** Tabellarische Darstellung der Parameter der Elementarzelle von dem bekannten Polymorph von Dehydrozingeron.<sup>[73-74]</sup>

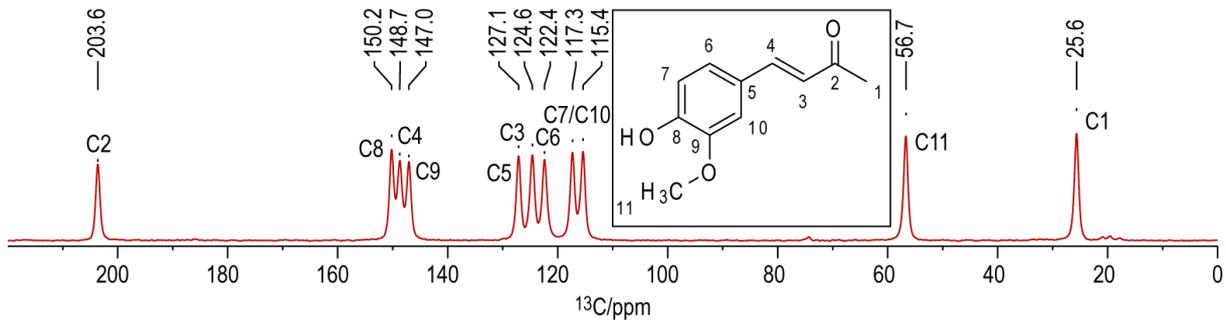
CCDC Kode	PEGHEP
Kristallsystem	Monoklin
Raumgruppe	P 2 <sub>1</sub> /c
T <sub>Messung</sub> [K]	293
a [Å]	9.602
b [Å]	7.780
c [Å]	13.478
α [°]	90.000
β [°]	97.466
γ [°]	90.000
Z	4



**Abbildung 42.** Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster von Dehydrozingeron von vor (rot) und nach (blau) der Festkörper-NMR-MAS-Messung aufgenommen an einem Bruker Discover D8 Diffraktometer mit Cu-K $\alpha$  Radiation ( $\lambda = 154.10$  nm, 40 kV Spannung und 40 mA Intensität), Slit mit 1.2 mm und 0.025°/0.55 (s) per Schritt.

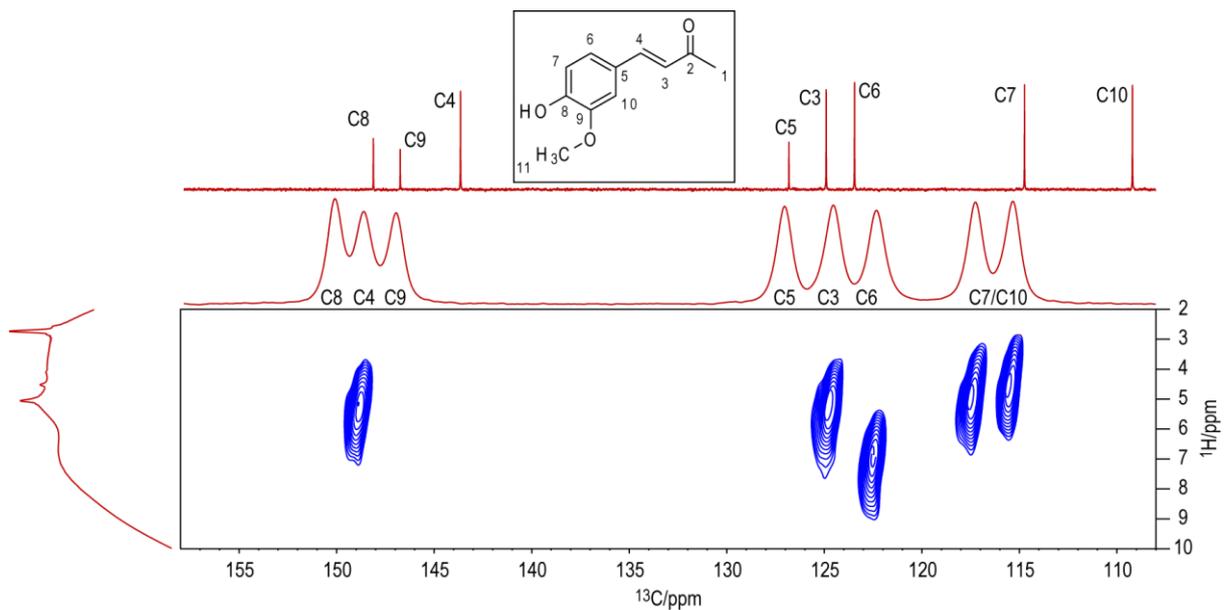
➤  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum (kristalline Probe)

**Abbildung 43** zeigt das  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum und die Zuordnung der Signale.



**Abbildung 43.**  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum von Dehydrozingeron aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T, 13-kHz-MAS und 298 K mit 10240 Scans und dem cp-Pulsprogramm. Die Acquisitionszeit/d1 war 0.0499992/14 (s).

Die Peaks von den Methyl-, Methoxy- und Carbonylgruppen können eindeutig zugeordnet werden. Der Bereich von 110 bis 160 ppm kann mithilfe eines  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrums und der Lösungsdaten ausgewertet werden (**Abbildung 44**).



**Abbildung 44.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum von Dehydrozingeron aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T, 13-kHz-MAS und 303 K mit 16 Scans und dem Ighetfj-Pulsprogramm. Die Kontaktzeit war 50  $\mu\text{s}$  und die Acquisitionszeit/d1 war 0.0299880 (f2); 0.0099967 (f1)/10 (s).

Durch ein  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von 50  $\mu\text{s}$  können eindeutig die quartären Kohlenstoffatome zugeordnet werden, da diese keinen Kreuzpeak aufweisen.

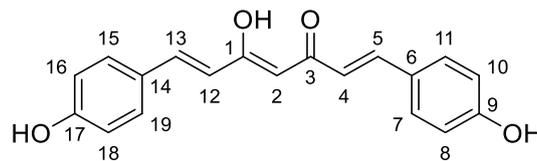
Die  $^{13}\text{C}$ -Lösungsdaten können ebenso angewandt werden, um die Auswertung durchzuführen. So können die quartären Kohlenstoffatome bestätigt und alle die Signale bis auf die Kohlenstoffatome C7 und C10 zugeordnet werden.

Die Protonen haben sich stark verschoben und daher fehlt diese Information. Das kann beim Wasserstoffatom 4 beobachtet werden, der bei tiefem Feld im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum in Lösung auftritt.

Diese Auswertung kann mithilfe von quantenmechanischen Berechnungen für die monoklinische Struktur verbessert werden.

### 3.1.5-. Bisdemethoxycurcumin

**Abbildung 45** zeigt die chemische Strukturformel von Bisdemethoxycurcumin (BDMC) mit nummerierten Positionen zur Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale.



**Abbildung 45.** Chemische Struktur und Nummerierung von Bisdemethoxycurcumin.

Im Folgenden wird die Auswertung des einzelnen Moleküls dargestellt (**Tabelle 7**).

**Tabelle 7.** Tabellarische Darstellung der Auswertung von Bisdemethoxycurcumin. Die chemisch äquivalenten Atome in Lösung werden nur einmal dargestellt und alle für die amorphe Probe, da im Festkörper die Anzahl der Signale vom  $Z'$ -Wert abhängt.

	NMR in Lösung (DMSO- $d_6$ )			Festkörper-NMR (kristalline Probe)	
	Chemische Verschiebung (ppm)	Multiplizität	Kopplung (Hz)	Chemische Verschiebung (ppm)	
<b>C1</b>	183.2			<b>C1,3</b>	192.6;188.3;179.1;178.5;178.0;175.2;174.8
<b>C2</b>	101.0			<b>C2</b>	106.3;105.9;98.0
<b>C4</b>	120.8			<b>C4,12</b>	121.2;120.7;119.3
<b>C5</b>	140.4			<b>C5,13</b>	141.8;139.9;139.3;138.7
<b>C6</b>	125.8			<b>C6,14</b>	128.8
<b>C7</b>	130.3			<b>C7,19,11,15</b>	129.5;127.5;127.0;124.9
<b>C8</b>	115.9			<b>C8,18,10,16</b>	119.3;117.5;116.9;115.0
<b>C9</b>	159.8			<b>C9,17</b>	161.4;160.2;159.4
<b>H1</b>	16.39	s (breit)		Nicht zugeordnetes Signal: 134.7 ppm	
<b>H2</b>	6.02	s			
<b>H4</b>	6.68	d	$^3J_{HH} = 16.0$		
<b>H5</b>	7.53	d	$^3J_{HH} = 15.9$		
<b>H7</b>	7.55	m	-		
<b>H8</b>	6.81	m	-		
<b>H9</b>	10.05	s (breit)			

➤  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Lösung ( $\text{DMSO-d}_6$ )

Abbildung 46 zeigt das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.

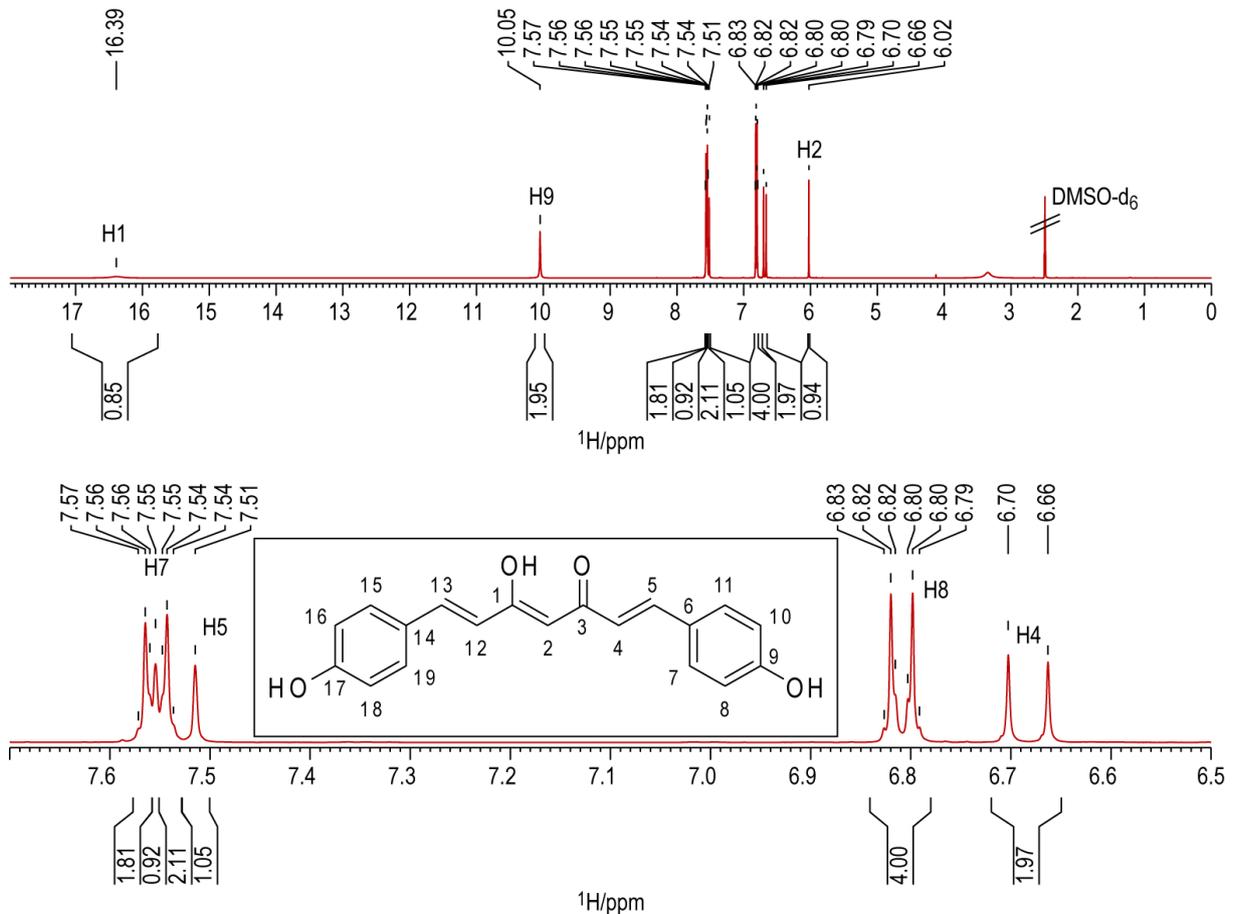


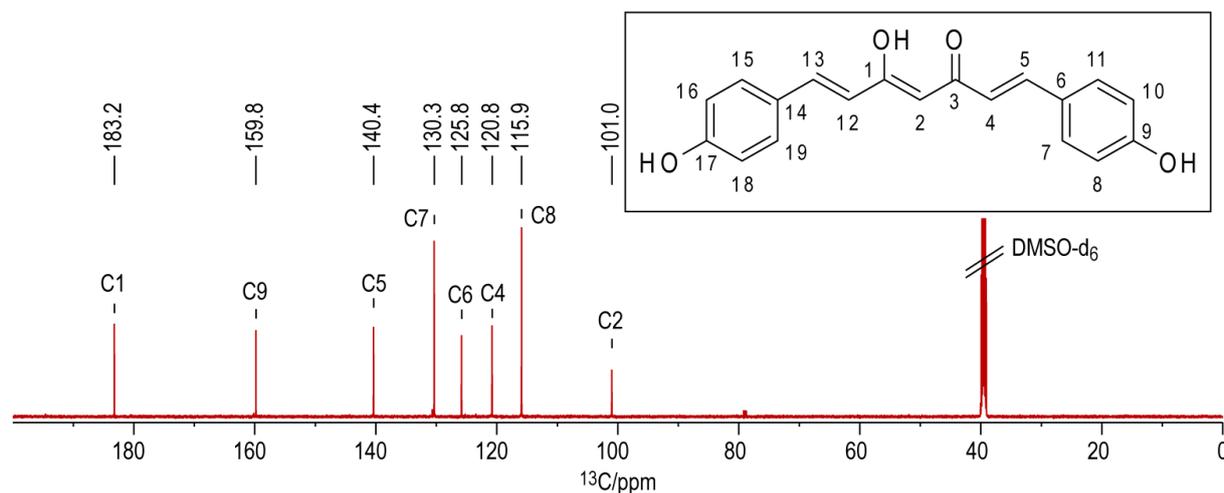
Abbildung 46.  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Lösung von Bisdemethoxycurcumin gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T und 298 K mit 64 Scans und dem zg30-Pulsprogramm. Oben ist der Bereich von 0.00 bis 18.00 ppm dargestellt, im unteren Bereich der Abbildung wurde der Bereich von 6.50 bis 7.70 ppm vergrößert.

Dieses Molekül weist zwei Symmetrieebenen durch C2 und durch die 1,6-Positionen des Benzols auf. Daher werden nur sieben Signale erwartet. Durch den Vergleich zu den bereits ausgewerteten Molekülen können so die Protonen der Enol-, H2- und Hydroxygruppen zugeordnet werden. Zwei Dubletts mit hohen  $J$ -Kopplungen von ca. 15 Hz sind charakteristisch für trans-Alkene und können beobachtet werden. Diese können so den Alkenwasserstoffen zugeordnet werden. Der entschirmtere Peak stellt eine Überlappung mit einem Multipllett dar, der trotzdem mit dem Integral bestimmt werden kann, welches insgesamt der theoretische Wert von zwei beträgt. Darüber hinaus kann die oben genannte Überlappung beim  $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrum deutlich aufgeklärt werden, da die Signale in der  $^1\text{H}$ -Dimension übereinander liegen aber in der  $^{13}\text{C}$ -Dimension getrennt voneinander auftreten (Abbildung 48).

Zwei Peaks können nicht eindeutig ausgewertet werden: der Peak bei 7.55 ppm und der Peak bei 6.81 ppm. Da die aromatischen Wasserstoffe nicht magnetisch äquivalent sind (AA'BB'-System<sup>[75]</sup>), ist infolgedessen das Spektrum nicht „first order“ und die dazugehörigen Signale treten nicht als zwei Dubletts wie in symmetrisch substituierten p-Benzolsystemen auf. Die Peaks wurden mithilfe der Integralssumme zugeordnet, die vier für jedes Multipllett betragen muss. Um H7 und H8 zu unterscheiden, muss der +R-Effekt der OH-Gruppe in ortho-Position berücksichtigt werden: diese besitzen höhere Elektronendichte als die meta-Positionen und werden daher abgeschirmt. Infolgedessen treten Protonen in ortho-Position bei höherem Feld (6.81 ppm) auf.

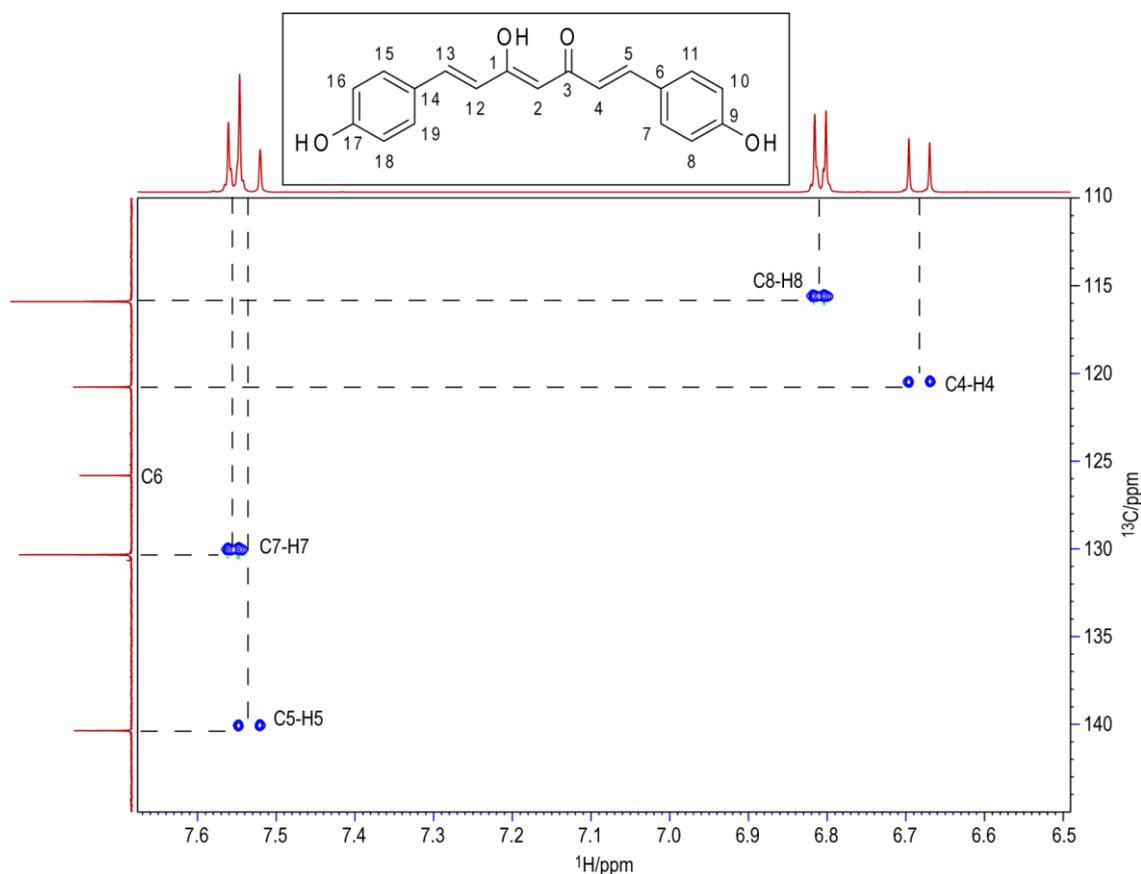
➤ <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum in Lösung (DMSO-d<sub>6</sub>)

**Abbildung 47** zeigt das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum in Lösung und die Zuordnung der Signale.



**Abbildung 47.** <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum in Lösung mit <sup>1</sup>H-Entkopplung von Bisdemethoxycurcumin gelöst in DMSO-d<sub>6</sub> aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 14.1 T und 295 K mit 2048 Scans und dem zgpg30-Pulsprogramm.

Nur acht Signale treten bei diesem Spektrum wegen der zwei oben genannten Symmetrieebenen auf. Sowohl Kohlenstoffatome 1 und 9 als auch 2 können mithilfe des Vergleiches zu den anderen ausgewerteten Molekülen eindeutig zugeordnet werden. Der Bereich von 150 bis 110 ppm wird durch ein <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HSQC-Spektrum analysiert (**Abbildung 48**). Mithilfe der chemischen Verschiebungen von den Protonen in Lösung können so eindeutig alle Kreuzpeaks zugeordnet werden. Außerdem weist das quartäre Kohlenstoffatom 6 kein Kreuzsignal auf.



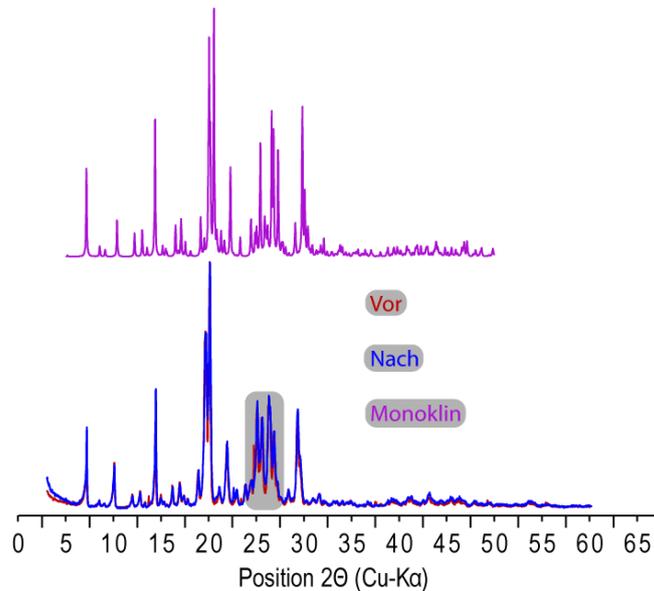
**Abbildung 48.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Spektrum von Bisdemethoxycurcumin gelöst in  $\text{DMSO-d}_6$  aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 14.1 T und 295 K mit 2 Scans und dem hsqcedetgpcisp2.2.2-Pulsprogramm. Die gestrichelten Linien stellen die Korrelationen dar. Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum ist nicht das gleiche wie das Spektrum in der **Abbildung 46**. Dieses wurde bei 14.1 T aufgenommen und die H7- und H5-Signale treten überlappt auf.

### ➤ Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster

Zur Überprüfung der Kristallinität bzw. der Amorphizität wurde dann ein Beugungsmuster mit PXRD gemessen (**Abbildung 49**). Schmale Peaks können beobachtet werden, sodass die Probe als kristallin charakterisiert werden kann. Ein Muster nach MAS wurde ebenso aufgenommen, das ähnlich ist. Man geht davon aus, dass die Drehung während der NMR-Messung den Zustand der Probe nicht beeinflusst hat. Da die Probe kein Lösungsmittel enthält, wurde die kristallographische Struktur, welche kein Colösemittel hat, in The Cambridge Crystallographic Data Centre<sup>[73]</sup> mit Mercury<sup>[74]</sup> prozessiert und das dazugehörige Beugungsmuster berechnet. Das theoretische Muster weist die gleichen Signale wie die experimentellen auf und so kann bestätigt werden, dass die Probe aus diesem Polymorph besteht. Darüber hinaus ist der  $Z'$ -Wert zwei und so steht die Anzahl bestimmter Signale des  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrums (z.B.: C1,3; C2 oder C5,13) in Einklang damit (**Abbildung 50**). Dieses sieht aber nicht kristallin aus, was an dem betonten Bereich in der **Abbildung 49** liegen könnte: es gibt kleine amorphe Phasen in der Probe.

**Tabelle 8.** Tabellarische Darstellung der Parameter der Elementarzelle eines Polymorphs von Bisdemethoxycurcumin.<sup>[73-74]</sup>

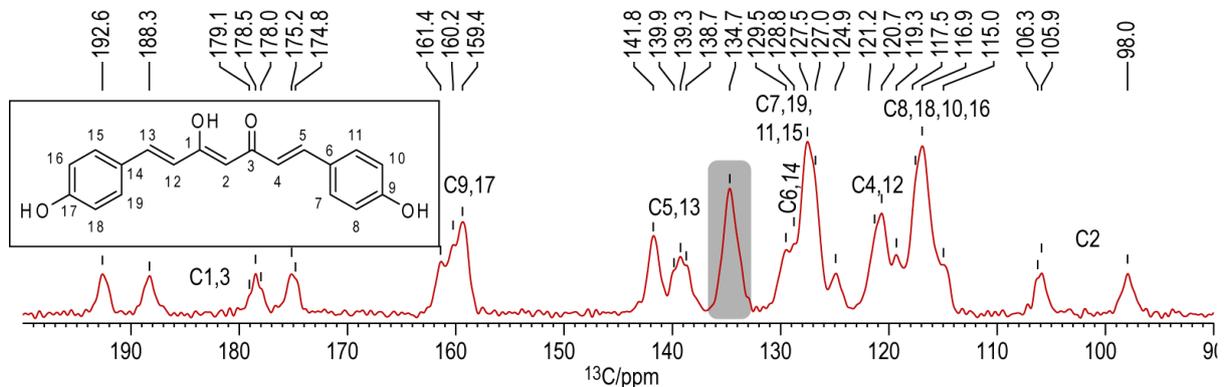
CCDC Kode	XIWUJUE
Kristallsystem	Monoklin
Raumgruppe	P 2/c
T <sub>Messung</sub> [K]	100
a [Å]	17.059
b [Å]	7.072
c [Å]	24.690
α [°]	90.00
β [°]	93.89
γ [°]	90.00
Z	8



**Abbildung 49.** Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster von Bisdemethoxycurcumin von vor (blau) und nach (blau) der Festkörper-NMR-MAS-Messung aufgenommen an einem Bruker Discover D8 Diffraktometer mit Cu-K $\alpha$  Radiation ( $\lambda = 154.10$  nm, 40 kV Spannung und 40 mA Intensität), Slit mit 1.2 mm und 0.025°/0.55 (s) per Schritt. Das berechnete Beugungsmuster eines Polymorphs wird ebenso abgebildet (lilafarbene-orquidee).<sup>[73-74]</sup>

➤ <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum (kristalline Probe)

**Abbildung 50** zeigt das <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum und die Zuordnung der Signale.



**Abbildung 50.** <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Spektrum von Bisdemethoxycurcumin aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.1 T, 13-kHz-MAS und 298 K mit 10240 Scans und dem cp-Pulsprogramm. Die Acquisitionszeit/d1 war 0.0499992/45 (s). Der Bereich von 90 bis 0 (ppm) wird nicht dargestellt, da keine Signale auftreten. In einem grauen Quadrat steht das Signal, das nicht zugeordnet werden kann.

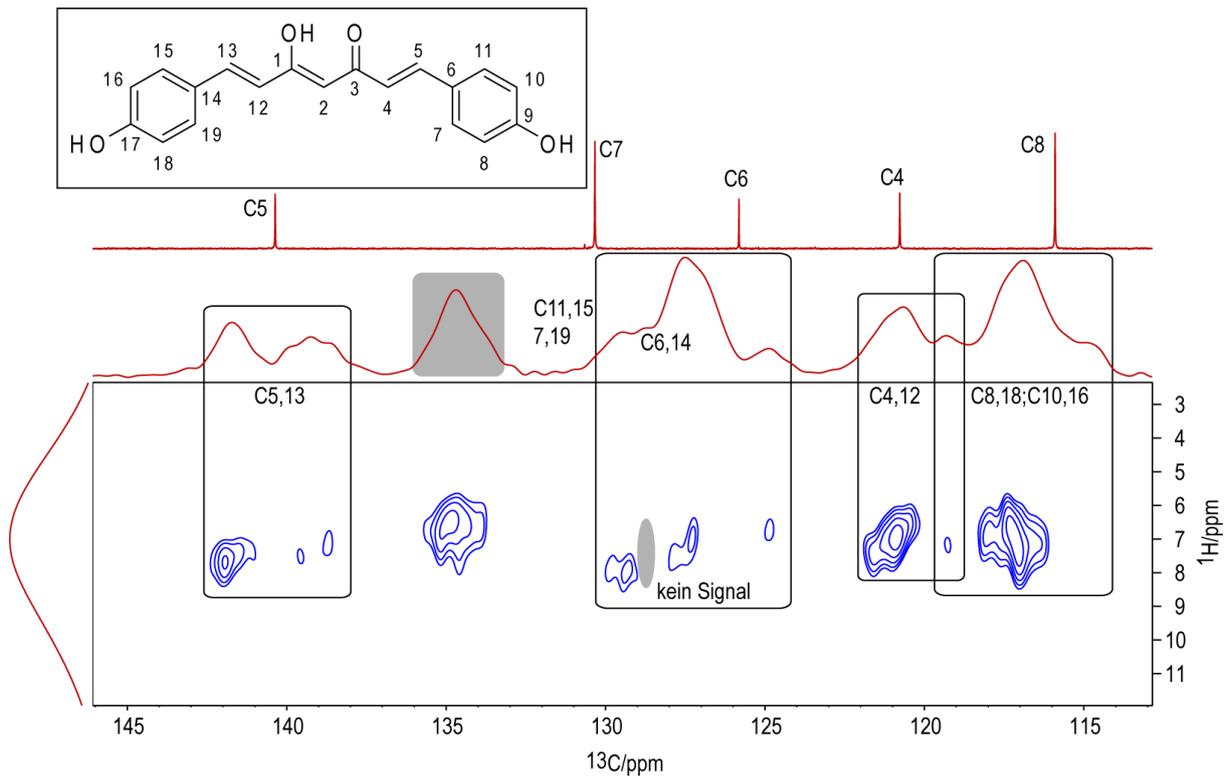
Bei diesem Spektrum ist die Anzahl der Signale besonders auffällig. Sowohl Kohlenstoffatome 1, 3, 9, und 17 als auch C2 können mit dem Vergleich zu den anderen ausgewerteten Molekülen eindeutig zugeordnet werden. Der mittlere Bereich wurde mithilfe eines  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrums mit einer Kontaktzeit von 50  $\mu\text{s}$  und der Lösungsdaten ausgewertet.

Durch die  $^{13}\text{C}$ -Analyse vom  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum kann ein Bereich ohne Signale bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-HETCOR}) = 128.5$  ppm beobachtet werden. Das heißt, dass der dazugehörige Peak im  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum den Kohlenstoffatomen 6 und 14 entspricht.

Durch die  $^{13}\text{C}$ -chemischen Verschiebungen in Lösung können eindeutig die vier Peaks bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 141.0$  ppm den Kohlenstoffatomen 5 und 13 zugeordnet werden. Auf diese Weise kann das Signal bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 129.5$  ppm ebenso den Kohlenstoffatomen 7, 19, 11 und 15 zugeordnet werden. Laut des  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums in Lösung tritt C7 im Bereich von 130.0 bis 125.0 ppm. Da das andere Kohlenstoffatom in diesem Bereich ist C6 und dieses weist keinen Kreuzpeak im  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum auf, können so die vier Signale den Kohlenstoffatomen 11, 15, 7 und 19 zugeordnet werden. Die Signale bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 121.2$  ppm kann auch als 4,12 eindeutig ausgewertet werden. Der Peak bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 119.3$  ppm wurde den Kohlenstoffatomen links und rechts zugeordnet, da er genau in der Mitte auftritt. Das Signal bei  $\delta(^{13}\text{C}\text{-1D}) = 134.7$  ppm kann nicht ausgewertet, da er zwischen zwei verschiedenen Bereichen und getrennt von den beiden liegt.

Die  $^1\text{H}$ -Dimension kann nicht ausgewertet werden: z.B. tritt das Wasserstoffatom 5 relativ abgeschirmt als in Lösung auf. Daher fehlt diese Information und die Auswertung kann nicht weiter bestätigt werden.

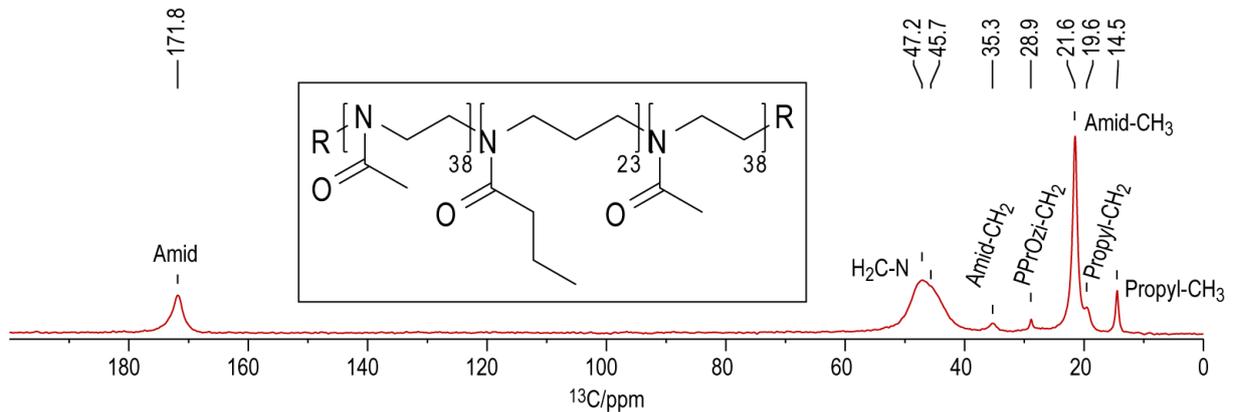
Quantenmechanische Berechnungen für die monoklinische Struktur könnten die Auswertung verbessern.



**Abbildung 51.**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum von Bisdemethoxycurcumin aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 9.4 T, 13-kHz-MAS und 303 K mit 8 Scans und dem Ighetfq-Pulsprogramm. Die Kontaktzeit war 50  $\mu\text{s}$  und die Acquisitionszeit/d1 zwischen Scans war 0.0299880 (f2);0.0099967 (f1)/35 (s).

## 3.2-. $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum des PMeOx-PPrOzi-PMeOx-Polymers

Die Zuordnung der  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-Signale des Polymers wurde mithilfe der bereits von PÖPPLER *et al.* durchgeführten Auswertung<sup>[7]</sup> erledigt. Im Folgenden wird das Spektrum dargestellt (**Abbildung 52**).



**Abbildung 52.**  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-Spektrum vom PMeOx-PPrOzi-PMeOx-Polymer aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 14.1 T, 24-kHz-MAS und 303 K mit 8192 Scans und dem cp-Pulsprogramm. Die Aquisitionszeit/d1 war 0.0225280/3 (s).

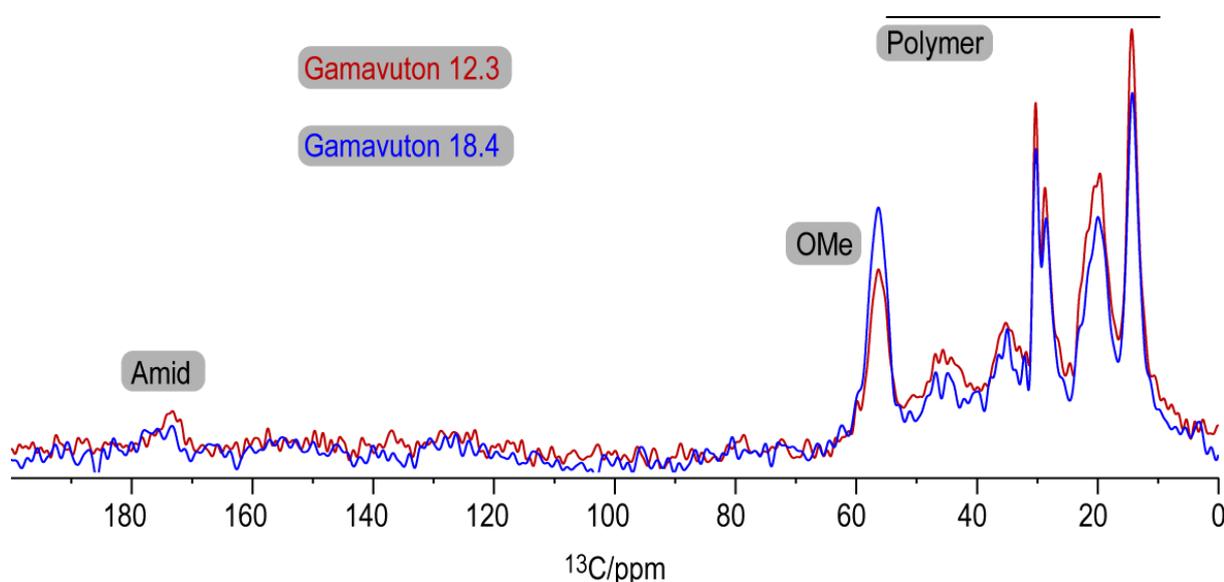
## 3.3-. Festkörper-NMR-Spektroskopie-Charakterisierung der Gamavuton-0-PMeOx-PPrOzi-PMeOx-Mizellen (12.3 und 18.4 mmol)

### 3.3.1-. Ansatz

Die Konzentration des Polymers bleibt immer bei 10 g/L und die des Wirkstoffes verändert sich (in mmol gegeben).

Um die Auswertung durchzuführen, können drei Endpunkte berücksichtigt werden: die Intensität, die Breite und die chemische Verschiebung eines Signals. Die Stärke wurde nicht zwischen Spektren der verschiedenen Proben verglichen, da die Masse im Rotor nicht gleich ist, neben anderen Parametern wie dem magnetischen Feld oder der Rotationsfrequenz. Daher wurden die Intensitäten in den im Folgenden dargestellten Spektren so skaliert, dass die Signale eine ähnliche Höhe haben. Die Breite eines Signals hängt wesentlich von zwei instrumentellen Parametern ab: die Stärke des magnetischen Feldes und die Frequenz der Drehung unter MAS-Bedingungen. Wenn diese zwischen den Proben unverändert bleiben, kann die Breite verglichen werden. Zwei chemische Parameter haben einen Einfluss darauf: die dynamischen Prozesse bzw. die Mobilität und die Ordnung der Probe, sodass beide eine Verringerung der Breite

verursachen. Wenn die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren mit direkter Anregung der Formulierungen (**Abbildung 53**) analysiert werden, kann bestätigt werden, ob die Mobilität der Gruppen unterschiedlich ist. Die Spektren wurden auf die Scanzahl skaliert. Die Signale verändern sich nicht stark mit der Beladung und so kann eine Veränderung der Mobilität ausgeschlossen werden. Das heißt, dass ein Zusammenhang zwischen der Breite und der Nahordnung vorgeschlagen werden kann. Mit steigender Beladung enthält die Probe mehr Gamavuton-0 und weniger Polymer, da das Gewicht im Rotor bei ca. 18 mg bleibt. Daher wird die Intensität des OMe-Signals höher und die der Polymerketten niedriger. Die chemischen Verschiebungen sind nicht so stark abhängig von den Messungsbedingungen und können eindeutig und zuverlässig ausgewertet bzw. verglichen werden. Veränderungen von ca. 1 ppm werden erwartet.<sup>[5]</sup>



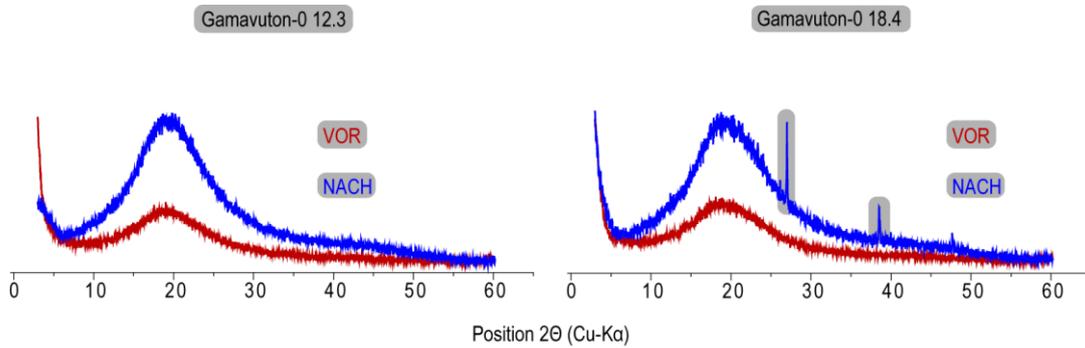
**Abbildung 53.**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren mit direkter Anregung von den Formulierungen (rot und blau mit steigender Beladung). Die zwei Spektren wurden bei 14.1 T und 20-kHz-MAS mit 6144 Scans für 12.3 mmol und 4096 Scans für 18.4 mmol aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer mit dem hpdec-Pulsprogramm. Die Aquisitionszeit/d1 war 0.0499400/1 (s) für 12.3 mmol und 0.0499400/1 (s) für 18.4 mmol. Die Spektren wurden auf die Scanzahl skaliert. Der lb-Faktor ist 50 Hz für beide Spektren.

Erstens werden die  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektren analysiert und falls Veränderungen zwischen reinen Proben und Formulierungen beobachtet werden können, werden die  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren ausgewertet, um zusätzliche Information herauszuziehen.

### 3.3.2-. Ergebnisse und Diskussion

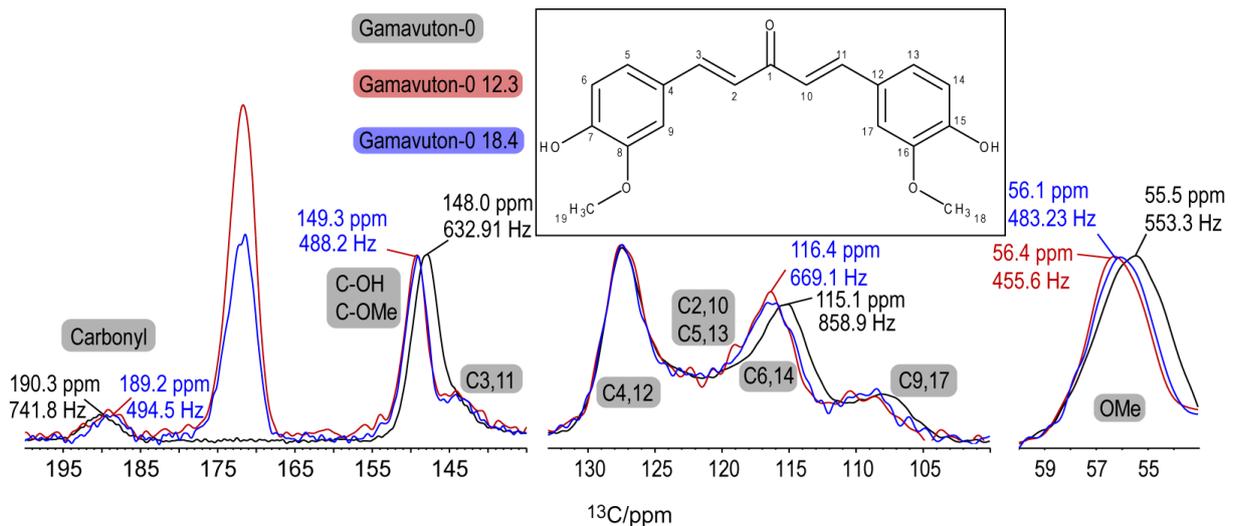
Die Amorphizität kann mithilfe der PXRD-Beugungsmuster bestätigt werden (**Abbildung 54**). Keine schmalen Peaks können beobachtet werden, sodass die Proben vor der NMR-Messung als amorph charakterisiert werden können. Das heißt, dass sowohl das reine Polymer und das

einzelne Molekül (**Abbildung 18**) als auch die Formulierungen keine langreichweitige Ordnung aufweisen. PXRD-Beugungsmuster wurden ebenso nach der Festkörper-NMR-MAS-Messung aufgenommen. Das von Gamavuton-0 12.3 bleibt ähnlich, aber für die Formulierung mit höherer Beladung können schmale Peaks und infolge kristalline Bereiche beobachtet werden (graue Quadrate). Dies sollte genauer betrachtet und durch zusätzliche Messungen überprüft werden.



**Abbildung 54.** Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster von den Formulierungen Gamavuton-0 12.3 (links) und Gamavuton-0 18.4 (rechts) von vor (rot) und nach (blau) der Festkörper-NMR-MAS-Messung aufgenommen an einem Bruker Discover D8 Diffraktometer mit Cu-K $\alpha$  Radiation ( $\lambda = 154.10$  nm, 40 kV Spannung und 40 mA Intensität), Slit mit 1.2 mm und 0.025°/0.55 (s) per Schritt. Die grauen Quadrate stellen kristalline Bereiche dar.

Im Folgenden werden die Spektren von den dazugehörigen Signalen des einzelnen Moleküls in den Formulierungen dargestellt. Die drei Proben wurden bei 14.1 T und 20-kHz-Drehung gemessen. Daher kann die Breite zwischen reiner Probe und den Mizellen verglichen werden.



**Abbildung 55.**  $^{13}\text{C}$ -CP/MAS-NMR-Spektren von Gamavuton-0 (schwarz) und den zwei Formulierungen (rot und blau mit steigender Beladung). Die drei Spektren wurden bei 303 k, 14.1 T und 20-kHz-MAS an einem Bruker Avance III HD Spektrometer aufgenommen mit dem cp-Pulsprogramm, 12288 Scans für Gamavuton-0 und 6144 Scans für die Formulierungen. Die Aquisitionszeit/d1 war 0.0225280/3 (s) für Gamavuton-0 und 0.0225280/2 (s) für die Formulierungen. Die Intensitäten wurden so skaliert, dass die Signale eine ähnliche Höhe haben. Der lb-Faktor ist 40 Hz für Gamavuton-0 und 20 Hz für die Mizellen.

Ein allgemeiner Trend kann beobachtet werden, und zwar, dass die Peaks der Formulierungen schmaler werden. Das zeigt, dass die Moleküle in der Mizellen sich geordneter als in reiner Form befinden. Da die Kristallinität mithilfe der PXRD-Beugungsmuster ausgeschlossen werden kann, kann so eine kurzreichweitige Ordnung in Einklang mit den bereits veröffentlichten Daten<sup>[5]</sup> vorgeschlagen werden. Darüber hinaus wird keine Veränderung in der Breite mit steigender Beladung bis auf eine kleine Verringerung bei der OMe-Gruppe (ca. 33 Hz) beobachtet. Wenn das heutige Strukturmodell für eingekapseltes Curcumin berücksichtigt wird,<sup>[5]</sup> kann man von dieser Anmerkung ausgehen, dass die Umgebungen bzw. die Ordnung sich nicht stark verändert und infolge liegt die Schalebesetzungskonzentration nicht zwischen den zwei Beladungswerten: entweder ist die Schale bereits bei 12.3 mmol oder noch nicht bei 18.4 mmol besetzt (es wird später behandelt). Die gleiche Beobachtung gilt für die chemischen Verschiebungen, die mit steigender Beladung bei selbem Feld auftreten, noch bis auf die OMe-Gruppe mit einer sehr geringen Differenz von 0.3 ppm. Das heißt, dass die selbe Wechselwirkungen, an denen GVT-0-Moleküle beteiligt sind, vorherrschend bleiben. Das würde in Einklang damit stehen, dass keine starken Veränderungen in der Ordnung stattfinden.

Die Signale der Kohlenstoffatome 2, 10, 5 und 13 können nicht analysiert werden, weil das Rauschen die Auswertung beeinträchtigt. Bei C9,17 kann erkannt werden, dass der Peak sich bei den Formulierungen verschoben hat. Diese Beobachtung ist aber nicht eindeutig und wird daher nicht berücksichtigt.

Manche Kohlenstoffatome vom Rückgrat (also 3,11; 4,12) weisen die gleiche chemische Verschiebung als in reiner Form auf, was zeigt, dass diese an keinen zusätzlichen Interaktionen beteiligt sind.

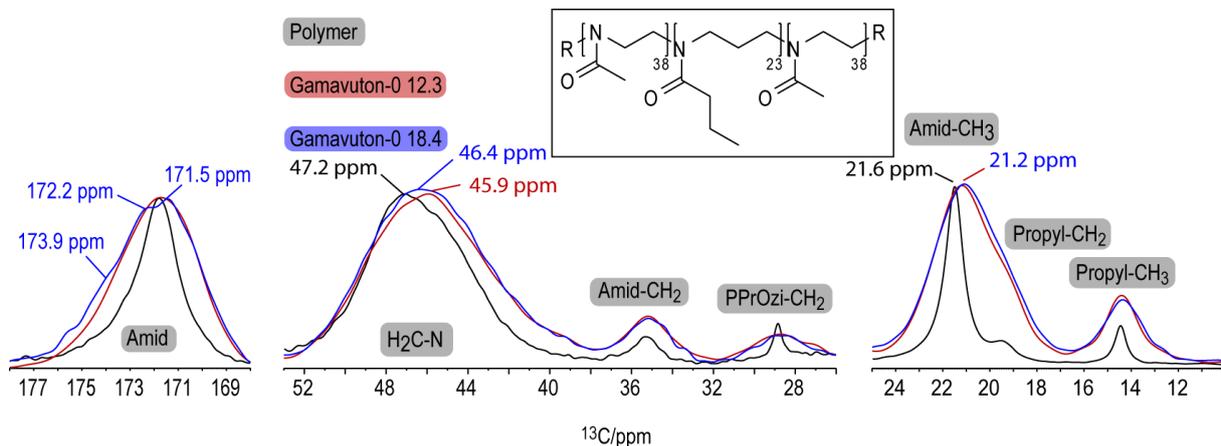
Bei der Carbonylgruppe kann eine Verschiebung des Signals eindeutig erkannt werden. Dies deutet darauf hin, dass dieses Fragment an zusätzlichen Wechselwirkungen im Vergleich zur reinen Form beteiligt ist. Die Natur solcher Interaktionen kann nicht bestätigt werden, aber höchstwahrscheinlich sind diese H-Brücken mit den Hydroxygruppen, die in reiner Form nicht auftreten, weil die Packung ungeordneter ist. Quantenmechanische Berechnungen für den ganzen Kristall und das Molekül könnten die Beteiligung aufklären.<sup>[5]</sup> Es sollte auch berücksichtigt werden, dass diese Beobachtung wegen des Rauschens nicht eindeutig ist.

Die Verschiebung der Signale von der OMe-Gruppen der Formulierungen im Vergleich zur reinen Probe zeigt, dass dieses Fragment an neuen Interaktionen beteiligt ist. Diese sind höchstwahrscheinlich T-shaped-Wechselwirkungen, wodurch die Methoxygruppen senkrecht zum aromatischen Ring des GVT-0-Moleküls wechselwirken. Diese sind in reiner Form nicht oder nicht stark ausgeprägt, weil die Packung ungeordneter ist.

Aus den Änderungen der chemischen Verschiebungen der Signale der C-OH-Kohlenstoffatome (1.3 ppm) kann abgelesen werden, dass diese an starken Wechselwirkungen beteiligt sind. Dieser Peak gehört ebenso den C-OMe-Kohlenstoffatomen, die wie bereits erwähnt neue Interaktionen bilden. Es könnte sein, dass die Verschiebung der Signale bei 149.3 ppm an diesen Wechselwirkungen liegt und daher muss diskutiert werden, ob die Hydroxygruppe ebenfalls an starken Interaktionen beteiligt ist. Drei Argumente sprechen dagegen, dass nur die Methoxygruppe für die Verschiebung verantwortlich ist, und stattdessen für eine Beteiligung der OH-Gruppen. a) Wenn das der Fall wäre, könnten zwei Peaks höchstwahrscheinlich erkannt werden, was nicht auftritt. b) PÖPLER *et al.* bewiesen, dass diese Gruppe starke H-Brücken mit dem Polymer bilden.<sup>[51]</sup> c) Beim  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum (**Abbildung 57**) mit einer Kontaktzeit von 2 ms treten Kreuzpeaks mit dem Polymer auf, die vermutlich an den H-Brücken mit der Amidgruppe liegen. Ein breites und entschirmtes Band im  $^1\text{H}$ -Festkörper-NMR-Spektrum würde diese Wechselwirkung bestätigen. Dieses kann aber nicht beobachtet werden und daher sieht es angemessen aus, ein  $^1\text{H}$ -Festkörper-NMR-Spektrum mit schnellerer Rotation zu messen.

Die starke Verschiebung der Kohlenstoffatome 6 und 14 könnte ebenso daran liegen: da die Hydroxygruppe stark mit der Polymerkette wechselwirkt, befinden C6,14 sich relativ nah zum Polymer und bilden starke Van-der-Waals-Kräfte.

Im Folgenden werden die  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektren von den dazugehörigen Signalen des Polymers in den Formulierungen dargestellt (**Abbildung 55**).



**Abbildung 56.**  $^{13}\text{C}$ -CP/MAS-NMR-Spektren vom Polymer (schwarz) und den zwei Formulierungen (rot und blau mit steigender Beladung). Die drei Spektren wurden bei 14.1 T und 303 K an einem Bruker Avance Spektrometer aufgenommen mit dem cp-Pulsprogramm. Das Spektrum vom Polymer wurde bei 24-kHz-MAS aufgenommen mit 8192 Scans und die von den Formulierungen wurden bei 20-kHz-MAS aufgenommen mit 6144 Scans. Die Acquisitionszeit/d1 war 0.0225280/3 (s) für das Polymer und 0.0225280/2 (s) für die Formulierungen. Die Intensitäten wurden so skaliert, dass die Signale eine ähnliche Höhe haben. Der lb-Faktor ist 50 Hz für das Polymer und 20 Hz für die Mizellen.

Die drei Proben wurden bei 14.1 T aber mit 24-kHz-MAS für das Polymer und 20-kHz-MAS für die Formulierungen aufgenommen. Daher kann die Breite zwischen reiner Probe und den Mizellen nur eingeschränkt verglichen werden. Was jedoch vergleichbar ist, sind die Breite der Formulierungen. Es wird beobachtet, dass diese mit steigender Beladung ähnlich bleiben. Das heißt, dass die bestehende relative Ordnung innerhalb der Mizelle sich nicht stark verändert. Wenn das bestehende strukturelle Modell berücksichtigt wird,<sup>[5]</sup> kann man davon ausgehen, dass die Schalebesetzungskonzentration nicht zwischen den zwei Beladungswerten liegt: entweder ist die Schale bereits bei 12.3 mmol oder noch nicht bei 18.4 mmol besetzt (es wird später behandelt). Das heißt, dass die gleiche Anmerkung wie für das GVT-0-Molekül gemacht werden kann. Dass die chemischen Verschiebungen mit steigender Beladung sich nicht verändern (bis auf die N-CH<sub>2</sub>-Gruppe, was später behandelt wird), steht in Einklang mit einer relativ unveränderten Ordnung. Im Folgenden werden die chemischen Verschiebungen analysiert.

Erstens kann beobachtet werden, dass die Peaks der Kernketten (also Amid-CH<sub>2</sub>, Propyl-CH<sub>3</sub> und PPrOzi-CH<sub>2</sub>) beim gleichen ppm-Wert bleiben. Das könnte heißen, dass der Kern bei diesen Beladungen nicht besetzt ist. Man muss aber berücksichtigen, dass die Wechselwirkungen, an denen diese Gruppen beteiligt sind, hydrophobe Interaktionen darstellen, die höchstwahrscheinlich schwach ausgeprägt sind und ein Nebeneffekt der H-Brückenbildung sind, also keine direkte Wechselwirkung. Das heißt, dass diese nicht eine wichtige Veränderung der Abschirmung verursachen und daher bei der gleichen chemischen Verschiebung auftreten. Darüber hinaus wurde der schwache Einfluss solcher Wechselwirkung auf den ppm-Wert in bereits veröffentlichten Arbeiten gezeigt.<sup>[5]</sup> Deshalb kann die Anwesenheit von Gamavuton-0 im Kern nicht ausgeschlossen werden. Dass die Amid-CH<sub>2</sub>-Gruppe sich nicht verschiebt, muss ausführlicher diskutiert werden, weil dieses Kohlenstoffatom an das -C=O-Fragment gebunden ist, das höchstwahrscheinlich H-Brücken bildet. Das könnte heißen, dass die Amide im Kern nicht an Wasserstoffbrücken beteiligt sind. Zwei Argumente sprechen dagegen und stattdessen für eine Beteiligung dieser Fragmente. a) Die chemische Verschiebung von dieser Gruppe im mit Curcumin beladenen Mizellen Strukturmodell ist auch gering. b) Die Propylkette könnte die Effekte der H-Brücken auf die Abschirmung dieses Kohlenstoffatoms mildern.

Auffällig ist es auch, dass die Methylgruppe des Amids des PMeOx-Fragments sich schon bei diesen Beladungen verschoben hat und zwischen den Formulierungen ähnlich bleibt. Dieses Kohlenstoffatom ist an die -C=O-Gruppe gebunden, die wahrscheinlich an H-Brücken mit den GVT-0-Molekülen beteiligt ist.<sup>[5]</sup> Das würde ein breites Band bei tiefem Feld im <sup>1</sup>H-Festkörper-NMR-Spektrum verursachen, aber die Amorphizität erschwert die Analyse und kann daher nicht bestätigt werden. Deswegen sollte die Messung mit schnellerer Rotation erneut durchge-

führt werden. Da die Veränderung dieses Signals nicht so stark erwartet wird, wenn das Molekül vorherrschend im Kern liegt,<sup>[5]</sup> deutet das darauf hin, dass die Schale bereits bei 12.3 mmol besetzt wird. Im  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektrum können Kontakte mit den GVT-0-Molekülen beobachtet werden (**Abbildung 57**).

Der Trend bei der Propyl-CH<sub>2</sub>-Gruppe kann nicht gut analysiert werden, da der Peak überlappt auftritt.

Die -N-CH<sub>2</sub>-Gruppen werden auch beeinflusst. Interessanterweise ist der Unterschied zum reinen Polymer bei 12.3 mmol Beladung höher als bei 18.4. Das heißt, dass die Umgebung von diesen Fragmenten ähnlicher zur reinen Form mit steigender Beladung wird. Laut PÖPPLER *et al.*<sup>[5]</sup> könnte es sein, dass die GVT-0-Moleküle die hydrophilen Ketten der Schale vernetzen und diese daher näher zu einander liegen. Wenn das Amidsignal im  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum mit direkter Anregung (**Abbildung 53**) analysiert wird, tritt kein Peak bei 18.4 mmol auf. Diese Beobachtung ist aber nicht eindeutig wegen des Rauschens. Die Veränderung deutet darauf hin, dass die GVT-0-Moleküle die Polymerketten vernetzen und diese quasi festhalten. Sowohl eine starke Senkung der Hydratisierung und infolge der Auflösungsrate zwischen 12.3 und 18.4 mmol als auch eine erhebliche Steigerung der Größe der Mizelle könnten diese Annahme bestätigen.<sup>[5]</sup>

Beim Kohlenstoffatom der Amide können keine eindeutigen Veränderungen in den chemischen Verschiebungen bei 12.3 mmol Beladung erkannt werden. Der Widerspruch zur H-Brückenbildung von diesem Fragment kann mithilfe der bestehenden Forschung im AK Pöppler ausgeschlossen werden.<sup>[5]</sup> Außerdem gibt es drei Peaks im Amidbereich bei 171.5 und 172.2 ppm bei 18.4 mmol Beladung. Diese Beobachtung muss ausführlicher diskutiert werden. Von den oben genannten Beobachtungen kann die Folgenden Punkte ausgegangen wird. a) Da die Veränderung sowohl der chemischen Verschiebungen als auch der Breite mit steigender Beladung gering ist, kann kein erheblicher Unterschied in der Ordnung zwischen Konzentrationen stattfinden. b) Der Amidpeak im  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum mit direkter Anregung tritt nicht bei 18.4 mmol Beladung auf, weil diese Gruppen quasi festgehalten sind. c) Obwohl die Ordnung sich nicht stark verändert, manche Gruppen wie die H<sub>2</sub>C-N-Fragmente eine ähnlichere Umgebung als die von der reinen Form aufweisen und daher kann eine Vernetzung der Schale vorgeschlagen werden. Diese Vernetzung findet bei 18.4 mmol Beladung nicht in allen den Ketten statt, weil dann die Breite bzw. die chemische Verschiebung sich stark verändern würden, da die Veränderung der Ordnung erheblich wäre. Daraus stammen die drei Peaks der Amidgruppe: bestimmte Amide sind gesättigt mit GVT-0-Molekülen, andere sind noch frei (höchstwahrscheinlich die äußerlichen) und anderen werden vernetzt. HALBESCUR könnte

die Vernetzung bestätigen, da dieses Molekül nicht über die OH-/OMe-Funktionalitäten auf der Gegenseite verfügt.

Die  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HETCOR-Spektren können eindeutig ausgewertet werden, da die Signale von GVT-0 und dem Polymer sowohl in der  $^{13}\text{C}$ - als auch in der  $^1\text{H}$ -Dimension getrennt voneinander auftreten.

Wenn der Bereich des Carbonylfragments analysiert wird, treten keine Kreuzpeaks auf. Da im  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum (**Abbildung 55**) eine Veränderung der chemischen Verschiebung beobachtet werden kann, ist diese Gruppe an zusätzlichen Wechselwirkungen im Vergleich zur reinen Form beteiligt. Darüber hinaus ist die Kontaktzeit 2 ms, bei der zumindest Kontakte mit den Kohlenstoffatomen des GVT-0-Moleküls sich entwickeln sollten. Daher gilt der folgende Satz für diese Spektren: “the absence of evidence is not the evidence of absence” (AEEA).

Für die Amide gibt es drei Bereiche bei 18.4 mmol Beladung: zwei gehören zu den bereits beobachteten Peaks im  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektrum (**Abbildung 56**) und der zusätzliche entschirmtere Peak bestätigt die Beteiligung dieser Gruppe an Wechselwirkungen mit den GVT-0-Molekülen. Dass bei 12.3 mmol Beladung kein entschirmter Peak auftritt, widerspricht es nicht dieser Beobachtung wegen AEEA. Es muss auch berücksichtigt werden, dass die Intensität gering ist und könnte am Rauschen liegen.

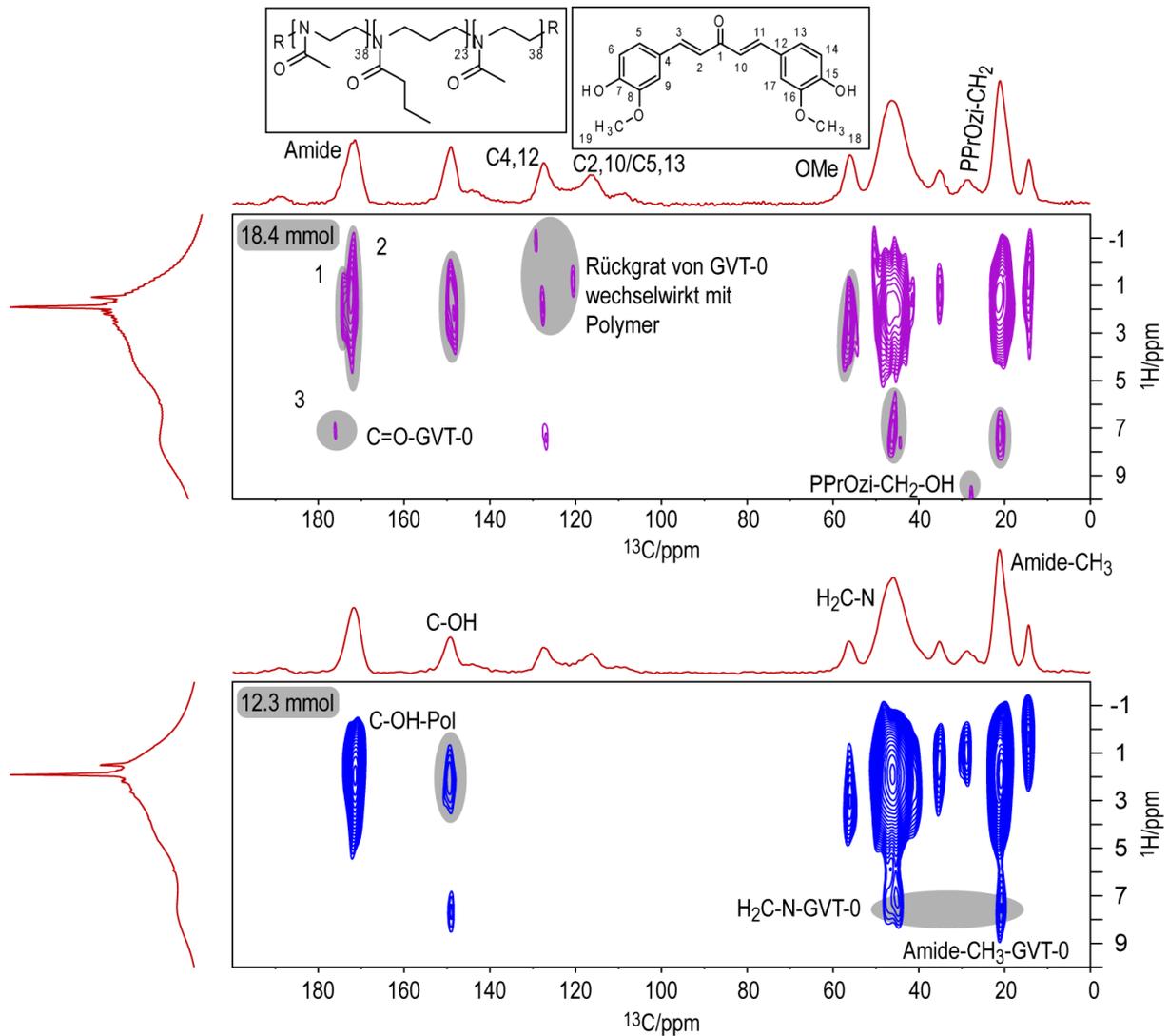
Wie bereits erwähnt, steht der Kreuzpeak von der C-OH-Gruppe in Einklang mit der starken Verschiebung des Signals im  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-Spektrum (**Abbildung 55**) wegen der H-Brücken. Das Signal vom C-OH-Fragment tritt nicht bei 18.4 mmol Beladung auf, aber das kann an der Scanzahl liegen.

Im aromatischen Bereich bei 18.4 mmol können Kontakte zwischen dem Rückgrat von GVT-0 und dem Polymer beobachtet werden. Diese treten nicht bei 12.3 mmol Beladung auf aber das muss wegen AEEA nicht berücksichtigt werden.

Das Signal der Methoxygruppe sieht bei 18.4 mmol Beladung so aus, dass es einen neuen Bereich links aufweist. Das könnte darauf hindeuten, dass es neue Umgebungen bzw. Wechselwirkungen gibt, die nicht bei 12.3 mmol Beladung auftreten.

Die  $\text{H}_2\text{C}$ -N- und Amide- $\text{CH}_3$ -Kohlenstoffatome weisen starke Kontakte mit den GVT-0-Molekülen auf. Diese Gruppen haben die Gastmoleküle in der Nähe wegen der Amidfragmente, die H-Brücken bilden und werden daher stark beeinflusst.

Das PPrOzi-CH<sub>2</sub>-Fragment weist keinen Kreuzpeak mit dem Polymer bei 18.4 mmol auf aber das kann an der Scanzahl liegen. Interessanterweise gibt es ein sehr entschirmtes Signal bei dieser Beladung, das mit der C-OH-Gruppe in Einklang steht. Das hat zwei Folgen. (a) Dieses Fragment des Polymers hat in der Nähe die Hydroxygruppen und/oder wechselwirkt mit diesen. (b) Der entschirmte Kreuzpeak der Amidgruppe bei 18.4 mmol gehört nicht zu den OH-Gruppen und so können nicht die H-Brücken mit diesem Fragment eindeutig bestätigt werden.

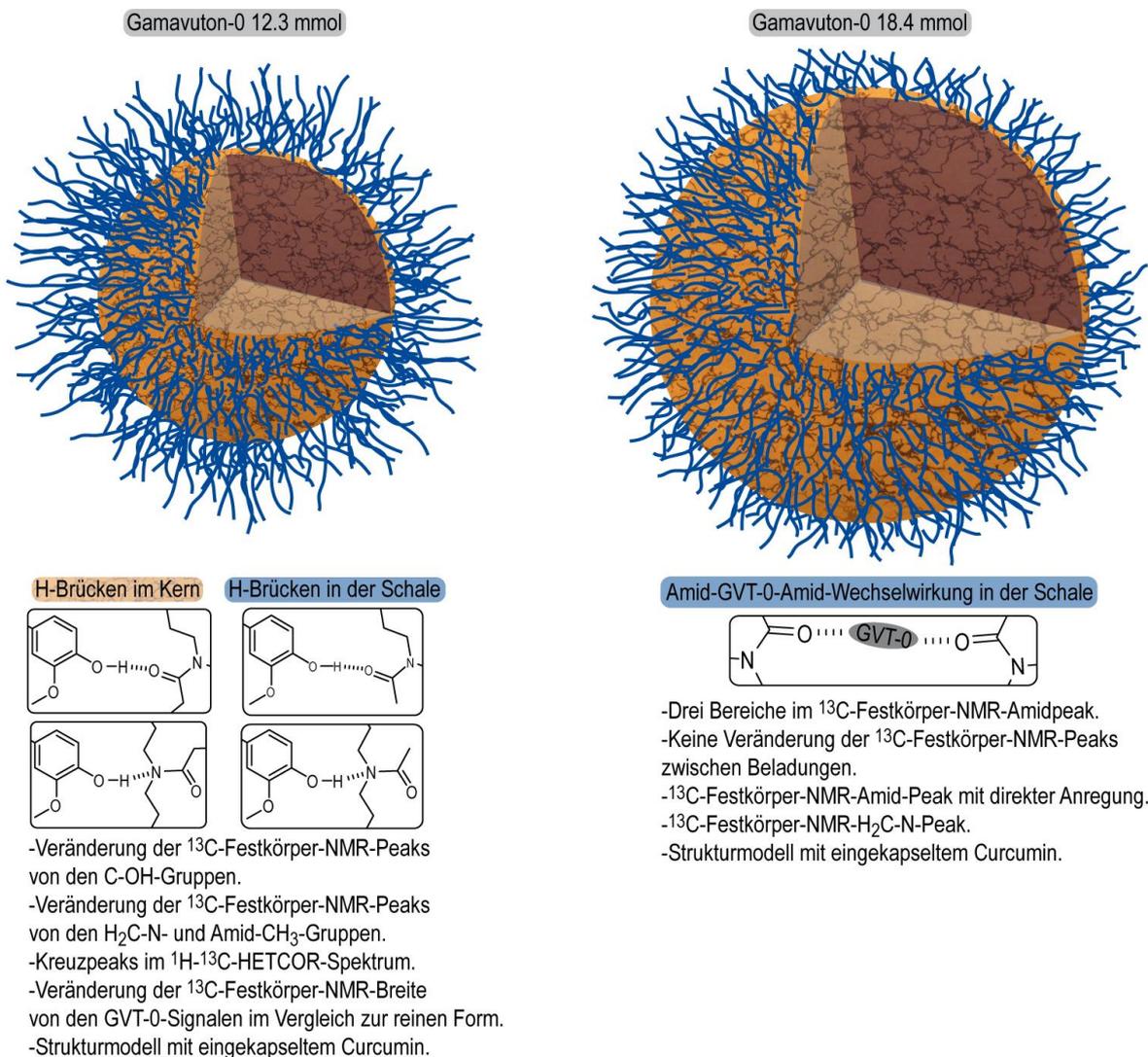


**Abbildung 57.** <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HETCOR-Spektren von Gamavuton-0-Formulierungen mit 12.3 (blau) und 18.4 (lilafarbene-orchidee) (mmol) aufgenommen an einem Bruker Avance III HD Spektrometer bei 14.1 T, 20-kHz-MAS und 303 K und dem Ighetf<sub>q</sub>-Pulsprogramm mit 320 Scans für 12.3 mmol und 100 Scans für 18.4 mmol. Die Kontaktzeit war 2 ms für beide Spektren und die Acquisitionszeit/d1 zwischen Scans war 0.0299376 (f2); 0.0006006 (f1)/1 (s) für 12.3 mmol und 0.0299376 (f2); 0.0014586 (f1)/1 (s) für 18.4 mmol.

Der allgemeine Vergleich mit den Curcuminformulierungen ist nicht eindeutig, weil die Beladungen unterschiedlich sind. z.B. wird die Schale im Strukturmodell mit eingekapseltem Curcumin bei 16.3 mmol besetzt. In der Formulierung von GVT-0 mit einer 12.3 mmol Beladung

ist das auch der Fall aber es kann nicht zuverlässig bestätigt werden, dass Curcumin auch oder nicht bei 12.3 mmol die Schale benutzt. Deswegen sieht es angemessen aus, die zwei Systeme nicht zu vergleichen. Daher sollten die Formulierungen in der Zukunft wenn möglich mit der gleichen Beladung in mmol als die von Curcumin hergestellt werden. Wenn die Beladungsmessungen von Sönke Menke<sup>[7]</sup> in mmol statistisch verglichen werden, ist der Trend der Beladung in mmol zwischen CUR und GVT-0 gleich. Daher ist besonders bei diesem Molekül wichtig, beide Systeme vergleichen zu können.

Im Folgenden werden sowohl die vorherrschenden und wichtigsten Interaktionen mit steigender Beladung als auch die Beobachtungen zusammengefasst (**Abbildung 57**).



**Abbildung 57.** Darstellung von den Gamavuton-0-PMeOx-PPrOzi-PMeOx-Mizellen mit steigender Beladung. Die vorherrschenden und wichtigsten Wechselwirkungen und Beobachtungen für jede Konzentration werden ebenso zusammengefasst. Keine Größemessungen wurden durchgeführt, aber es wurde angenommen, dass mit steigender Beladung die Struktur größer wird.

## 4-. Experimenteller Teil

### 4.1-. Curcuminderivate

GVT-0 wurde von Sönke Menke im Rahmen seiner Bachelorarbeit synthetisiert.<sup>[7]</sup> CUR-M4 wurde von einem Praktikanten im AK Pöppler an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg synthetisiert. CUR-NH<sub>2</sub> wurde von dem Praktikanten Patrick synthetisiert.

Kommerziell erhältliches BDMC weist die folgenden Daten auf: AB 161311, lot. 1403069, CAS 24939-16-0. Die für HALBESCUR sind: AB 144384, lot. 1223931, CAS 1080-12-2.

### 4.2-. PMeOx-PPrOzi-PMeOx

Das Polymer wurde von Sönke Menke im Rahmen seiner Bachelorarbeit<sup>[7]</sup> am Campus-Röntgenring der Julius-Maximilians-Universität Würzburg durch aktive kationische Ringöffnungspolymerisation aus 2-Oxazolinen synthetisiert (siehe Kapitel 1.3.5).

### 4.3-. Formulierungen

Die Formulierungen wurden von Sönke Menke am Campus-Röntgenring der Julius-Maximilians-Universität Würzburg durch die Dünnschichtmethode hergestellt (siehe Kapitel 1.3.2).

### 4.4-. NMR-Messungen in Lösung

Die Spektren wurden an einem Bruker Avance III HD Spektrometer sowohl bei 9.4 T als auch bei 14.1 T am Institut für Organische Chemie am Campus-Hubland der Julius-Maximilians-Universität Würzburg aufgenommen. Die aufgelöste Masse wurde nicht gemessen. Die Lösungsmittel waren DMSO-d<sub>6</sub> oder CDCl<sub>3</sub>, wenn der Stoff nicht aufgelöst werden konnte. Das Signal des deuterierten Lösungsmittel wurde als Referenz benutzt. Standardpulsprogramme wurden angewandt. Die Spektren von GVT-0 und von CUR-M4 bis auf das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum waren vorhanden.

## 4.5-. Festkörper-NMR-Messungen

Die Spektren wurden an einem Bruker Avance III HD Spektrometer sowohl bei 9.4 T als auch 14.1 T am Institut für Organische und Anorganische Chemie am Campus-Hubland der Julius-Maximilians-Universität Würzburg aufgenommen. Die Spektren wurden an einem 3.2 mm Doppelkanal Probenkopf aufgenommen. Erstens wurde der magische Winkel mit einer Probe von KBr kalibriert ( $5.70^\circ$ ). Zweitens wurde die Rampenkreuzpolarisationsbedingungen mit einer Probe von  $\alpha$ -Glycin und einer Rampe von 90 bis 100 mit 100 Inkrementen optimiert. Die Länge des  $^1\text{H}_{90^\circ}$ -Pulses war  $2.5 \mu\text{s}$  in der  $^{13}\text{C}$  CP MAS Messung mit Rampenkreuzpolarisation. SPINAL-64<sup>[76]</sup> heteronukleare Entkopplung wurde während einer Erfassungsperiode von 23 ms und mit einer  $^1\text{H}$ -Nutationsintensität von 100 kHz sowie einer kalibrierten Pulslänge von  $5.0 \mu\text{s}$  angewandt. Drittens wurde das Methylensignal von Adamantan auf 38.48 ppm als Referenz für die  $^{13}\text{C}$ -chemischen Verschiebungen eingestellt.

Die Rotationsfrequenz wurde so eingestellt, dass Veränderungen zwischen MAS-Frequenzen im  $^1\text{H}$ -Festkörper-NMR-Spektrum nicht beobachtet werden konnten.

Nur die Spektren von HALBESCUR, BDMC und den Formulierungen wurden gemessen. Alle anderen waren vorhanden.

Die Masse im Rotor war: 17.3 mg (Gamavuton-0 12.3) und 17.95 mg (Gamavuton-0 18.4 mg). Für HALBESCUR und BDMC wurden keine Gewichtsmessungen durchgeführt.

## 4.6-. Pulverröntgendiffraktometriebeugungsmuster

Die Beugungsmuster wurden an einem Bruker Discover D8 Diffraktometer (Karlsruhe, Deutschland) mit Cu-K $\alpha$  Radiation ( $\lambda = 154.10 \text{ nm}$ , 40 kV Spannung und 40 mA Intensität), Slit mit 1.2 mm und  $0.025^\circ/0.55 \text{ s}$  per Schritt am Campus-Hubland der Julius-Maximilians-Universität Würzburg aufgenommen. Alle Beugungsmuster bis auf die von HALBESCUR, BDMC und den Formulierungen wurden von Sönke Menke im Rahmen seiner Bachelorarbeit<sup>[7]</sup> gemessen. Die berechneten Beugungsmuster wurden mit den kristallographischen Strukturen in The Cambridge Crystallographic Data Centre<sup>[73]</sup> und mit Mercury (Cambridge, England)<sup>[74]</sup> prosseziert und berechnet.

Alle die Beugungsdaten wurden mit Origin (OriginLab, Massachusetts, USA) bearbeitet.

## 5-. Ausblick

Heutzutage gibt es noch keinen verfügbaren systematischen Ansatz, um das Design eines Polymer-Wirkstoff-Systems zu optimieren. Diese Arbeit ist nur ein winziger Tropfen in einem Ozean. Deswegen sollten diese DDS-Systeme weiter untersucht werden.

Manche Signale der  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektren der Curcuminderivate konnten nicht eindeutig zugeordnet werden. Für diese wäre es angemessen, quantenmechanische Berechnungen durchzuführen, um eine zusätzliche Quelle für die Auswertung hinzuzufügen. Die Probe des Curcuminaminoderivats ist teilmorph (siehe Kapitel 3.1.2) und es gibt keine bekannte kristallographische Struktur dazu. Das heißt, dass ein aufwendiger Prozess von Kristallzucht und Strukturbestimmung durchgeführt werden muss. Die Probe von Dimethoxycurcumin besteht wahrscheinlich aus einem unbekanntem Polymorph (siehe Kapitel 3.1.3), dessen kristallographische Struktur mithilfe der Röntgendiffraktometrie bestimmt werden sollte. Die Proben von HALBESCUR und BDMC bestehen aus einem bekannten Polymorph (siehe Kapitel 3.1.4 und 3.1.5) und so könnten die quantenmechanischen Berechnungen direkt durchgeführt werden. Alle kristallinen Proben der Gastmoleküle sollten amorph gemacht werden und durch Festkörper-NMR-Spektroskopie charakterisiert werden, um die Amorphizität zu der von den entsprechenden Formulierungen zu vergleichen, die höchstwahrscheinlich auch amorph sein werden. Dazu können Beugungsmuster aufgenommen werden.

Die Beladungen sollten in mmol- statt Masseinheiten gegeben werden, weil (a) der Vergleich zwischen Derivaten eindeutiger ist und (b) höchstwahrscheinlich die gleiche Beladungen wie von Curcumin erreicht werden können. Das Strukturmodell vom eingekapselten Curcumin<sup>[5]</sup> ist heutzutage das detaillierteste für in-dieser-Arbeit-untersuchtes Polymer. Deswegen wäre es angemessen, einen ähnlichen Ansatz anzuwenden. Die Beladungen sollten wenn möglich gleich bleiben, also 5.4, 16.3 und 29.9 (mmol). Außerdem müssten die Messungsparameter analog sein, damit die Intensität und Breite berücksichtigt werden können und die Beobachtungen mit den Curcuminformulierungen verglichen werden können. Daher wäre es angebracht, die Formulierungen von GVT-0 erneut herzustellen oder zumindest eine andere Formulierung mit einer Beladung niedriger als 12.3 mmol zu untersuchen, sodass bestimmt werden kann, ab welcher Konzentration wird z.B. die Schale besetzt, neben anderen Wechselwirkungen. Die Spektren sollten mit schnellerer Rotation gemessen werden, sodass z.B. das breite und abgeschirmte Band der H-Brücken im  $^1\text{H}$ -Festkörper-NMR-Spektrum eindeutig beobachtet werden kann. In Einklang mit PÖPPLER et al.<sup>[5]</sup>, sollten auch die Größe und Auflösungsraten mit steigender Beladung charakterisiert werden. Diese Information kann zusätzliche Beobach-

tungen zu den Mizellen mit hohen Konzentrationen von eingekapseltem Wirkstoff beitragen. Quantenmechanische Berechnungen für die Formulierungen für den ganzen Kristall und das Molekül der Gastmoleküle könnten auch die Beteiligung bestimmter Gruppen an den möglichen Interaktionen aufklären.<sup>[5]</sup>

Wie bereits erklärt im Kapitel 1.2 verursacht die Steigerung der Löslichkeit eine Verringerung der Permeabilität. Vor diesem Hintergrund sind die aktiven Systemen eine vielversprechende Möglichkeit, da die Veränderung des Verteilungskoeffizienten und der Diffusion durch erleichterte Diffusion oder aktiven Transport umgegangen werden kann. Ein Polymer mit den Eigenschaften von dem in-dieser-Arbeit-untersuchten Polymer und Fragmenten, die eine Zelle-Mizelle-Bindung schaffen können, könnte den oben genannten Nachteil verbessern. Beispielsweise könnten die aktiven Systeme mit doppelten zielorientierten Strategien eine passende Anwendung sein, da die hervorragende Stabilität der Polymermizelle die Abgabe des eingekapselten Wirkstoffs beeinträchtigt (siehe Kapitel 1.2).

Viel Erfolg!

# Literaturverzeichnis

- [1] <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/drug-delivery-systems-getting-drugs-their-targets-controlled-manner>, **2016**.
- [2] Z. Ahmad, A. Shah, M. Siddiq, H.-B. Kraatz, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 17028-17038.
- [3] K. Yoncheva, P. Calleja, M. Agüeros, P. Petrov, I. Miladinova, C. Tsvetanov, J. M. Irache, *Int. J. Pharm.* **2012**, *436*, 258-264.
- [4] Z. He, X. Wan, A. Schulz, H. Bludau, M. A. Dobrovolskaia, S. T. Stern, S. A. Montgomery, H. Yuan, Z. Li, D. Alakhova, M. Sokolsky, D. B. Darr, C. M. Perou, R. Jordan, R. Luxenhofer, A. V. Kabanov, *Biomaterials* **2016**, *101*, 296-309.
- [5] A. C. Pöppler, M. M. Lübtow, J. Schlauersbach, J. Wiest, L. Meinel, R. Luxenhofer, *Angew. Chem.* **2019**, *58*, 18540-18546.
- [6] M. M. Lübtow, L. Hahn, M. S. Haider, R. Luxenhofer, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 10980-10983.
- [7] S. Menke, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Bachelorarbeit **2020**.
- [8] R. Luxenhofer, A. Schulz, C. Roques, S. Li, T. K. Bronich, E. V. Batrakova, R. Jordan, A. V. Kabanov, *Biomaterials* **2010**, *31*, 4972-4979.
- [9] R. H. Muller, C. M. Keck, *J. Biotechnol.* **2004**, *113*, 151-170.
- [10] W. M. Saltzman, V. P. Torchilin, *AccessScience* **2020**.
- [11] S. P. Vyas, R. K. Khar, *Basis of targeted Drug Delivery. In Targeted and controlled Drug Delivery*, CBS Publishers and Distributors, **2008**.
- [12] A. Kumar, U. Nautiyal, C. Kaur, V. Goel, N. Piarcharnd, *Int. J. Pharm. Med. Res.* **2017**, *5* (2), 448-454.
- [13] J. Irvine, A. Afrose, N. Islam, *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2018**, *44*, 173-183.
- [14] G. Tiwari, R. Tiwari, B. Sriwastawa, L. Bhati, S. Pandey, P. Pandey, S. K. Bannerjee, *Int. J. Pharm. Invest.* **2012**, *2*, 2-11.
- [15] D. Taylor, in *Pharmaceuticals in the Environment*, **2015**, pp. 1-33.
- [16] S. Dineshmohan, V. Gupta, *Am. J. PharmTech Res.* **2018**, *8*, 356-370.
- [17] E. Mastrobattista, G. A. Koning, G. Storm, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1999**, *40*, 103-127.
- [18] S. Dhanasekaran, S. Chopra, in *Smart Drug Delivery System*, **2016**.
- [19] B. A. Wilson, M. Ho, *Curr. Top. Med. Chem.* **2014**, *14*, 2081-2093.
- [20] H. Maeda, Y. Matsumura, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **1989**, *6*, 193-210.
- [21] C. J. Hutchings, M. Koglin, F. H. Marshall, *MAbs* **2010**, *2*, 594-606.
- [22] C. Gonçalves, P. Pereira, M. Gama, *Materials (Basel)* **2010**, *3*, 1420-1460.
- [23] Y. Shen, H. Tang, Y. Zhan, E. A. Van Kirk, W. J. Murdoch, *Nanomedicine* **2009**, *5*, 192-201.
- [24] J. Baas, N. Senninger, H. Elser, *Z Gastroenterol.* **1994**, *32*, 117-123.
- [25] P. Deol, G. K. Khuller, *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, *1334*, 161-172.
- [26] V. P. Sant, D. Smith, J. C. Leroux, *J. Controlled Release* **2005**, *104*, 289-300.
- [27] L. Bromberg, *J. Controlled Release* **2008**, *128*, 99-112.
- [28] W. Xu, P. Ling, T. Zhang, *J. Drug Delivery* **2013**, *2013*, 340315-340315.
- [29] Y. Masaoka, Y. Tanaka, M. Kataoka, S. Sakuma, S. Yamashita, *Eur. J. Pharm. Sci.* **2006**, *29*, 240-250.
- [30] C. A. Lipinski, *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **2000**, *44*, 235-249.
- [31] E. M. Merisko-Liversidge, G. G. Liversidge, *Toxicol. Pathol.* **2008**, *36*, 43-48.
- [32] Y. K. Choi, B. K. Poudel, N. Marasini, K. Y. Yang, J. W. Kim, J. O. Kim, H. G. Choi, C. S. Yong, *Int. J. Pharm.* **2012**, *434*, 264-271.
- [33] A. M. Monjazebe, D. Ayala, C. Jensen, L. D. Case, J. D. Bourland, T. L. Ellis, K. P. McMullen, M. D. Chan, S. B. Tatter, G. J. Lesser, E. G. Shaw, *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.* **2012**, *82*, 743-748.
- [34] S. Gillessen, U. S. Gnad-Vogt, E. Gallerani, J. Beck, C. Sessa, A. Omlin, M. R. Mattiacci, B. Liedert, D. Kramer, J. Laurent, D. E. Speiser, R. Stupp, *Eur. J. Cancer* **2013**, *49*, 35-44.
- [35] A. Dahan, J. M. Miller, *AAPS J.* **2012**, *14*, 244-251.

- [36] G. Gaucher, P. Satturwar, M.-C. Jones, A. Furtos, J.-C. Leroux, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2010**, *76*, 147-158.
- [37] M. Emmelius, G. Hörpel, H. Ringsdorf, B. Schmidt, *Polym. Sci. Technol. (Plenum)* **1986**, *34*.
- [38] Y. Matsumura, K. Kataoka, *Cancer Sci.* **2009**, *100*, 572-579.
- [39] T. Nicolai, O. Colombani, C. Chassenieux, *Soft Matter* **2010**, *6*.
- [40] N. Wiradharma, Y. Zhang, S. Venkataraman, J. L. Hedrick, Y. Y. Yang, *Nano Today* **2009**, *4*, 302-317.
- [41] A. B. E. Attia, Z. Y. Ong, J. L. Hedrick, P. P. Lee, P. L. R. Ee, P. T. Hammond, Y.-Y. Yang, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2011**, *16*, 182-194.
- [42] K. Letchford, H. Burt, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2007**, *65*, 259-269.
- [43] B. K. Johnson, R. K. Prud'homme, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *91*, 118302.
- [44] A. des Rieux, V. Fievez, M. Garinot, Y. J. Schneider, V. Préat, *J. Controlled Release* **2006**, *116*, 1-27.
- [45] H. M. Aliabadi, A. Lavasanifar, *Expert Opin. Drug Delivery* **2006**, *3*, 139-162.
- [46] K. Kazunori, K. Glenn S, Y. Masayuki, O. Teruo, S. Yasuhisa, *J. Controlled Release* **1993**, *24*, 119-132.
- [47] H. S. Choi, B. I. Ipe, P. Misra, J. H. Lee, M. G. Bawendi, J. V. Frangioni, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 2354-2359.
- [48] G. Kwon, S. Suwa, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, *J. Controlled Release* **1994**, *29*, 17-23.
- [49] A. Rolland, J. O'Mullane, P. Goddard, L. Brookman, K. Petrak, *J. Appl. Polym. Sci.* **1992**, *44*, 1195-1203.
- [50] S. Cammas, K. Suzuki, C. Sone, Y. Sakurai, K. Kataoka, T. Okano, *J. Controlled Release* **1997**, *48*, 157-164.
- [51] J. E. Chung, M. Yokoyama, T. Aoyagi, Y. Sakurai, T. Okano, *J. Controlled Release* **1998**, *53*, 119-130.
- [52] O. Meyer, D. Papahadjopoulos, J.-C. Leroux, *FEBS Letters* **1998**, *421*, 61-64.
- [53] B. Bilgicer, *Biomedical Engineering, Class notes Biomolecular Topics in Engineering*, **2009**.
- [54] G. R. Martin, R. K. Jain, *Cancer Res.* **1994**, *54*, 5670-5674.
- [55] J. E. Chung, M. Yokoyama, K. Suzuki, T. Aoyagi, Y. Sakurai, T. Okano, *Colloids Surf., B* **1997**, *9*, 37-48.
- [56] A. Lavasanifar, J. Samuel, G. S. Kwon, *J. Controlled Release* **2002**, *79*, 165-172.
- [57] A. Falamarzian, A. Lavasanifar, *Macromol. Biosci.* **2010**, *10*, 648-656.
- [58] A. Kumari, S. K. Yadav, Y. B. Pakade, B. Singh, S. C. Yadav, *Colloids Surf., B* **2010**, *80*, 184-192.
- [59] O. Molavi, Z. Ma, A. Mahmud, A. Alshamsan, J. Samuel, R. Lai, G. S. Kwon, A. Lavasanifar, *Int. J. Pharm.* **2008**, *347*, 118-127.
- [60] K. van Butsele, P. Sibret, C.-A. Fustin, J. F. Gohy, C. Passirani, J.-P. Benoit, R. Jérôme, C. Jérôme, *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *329*, 235-243.
- [61] J. Taillefer, M.-C. Jones, N. Basseur, J. E. van Lier, J.-C. Leroux, *J. Pharm. Sci.* **2000**, *89*, 52-62.
- [62] V. Y. Alakhov, E. Y. Moskaleva, E. V. Batrakova, A. V. Kabanov, *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 209-216.
- [63] N. Nishiyama, K. Kataoka, *J. Controlled Release* **2001**, *74*, 83-94.
- [64] Y. Li, G. S. Kwon, *Pharm. Res.* **2000**, *17*, 607-611.
- [65] M. Callari, P. L. De Souza, A. Rawal, M. H. Stenzel, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2017**, *56*, 8441-8445.
- [66] P. K. Sharma, S. R. Bhatia, *Int. J. Pharm.* **2004**, *278*, 361-377.
- [67] R. Jalil, J. R. Nixon, *J. Microencapsulation* **1990**, *7*, 297-325.
- [68] R. Basak, R. Bandyopadhyay, *Langmuir* **2013**, *29*, 4350-4356.
- [69] P. Bouten, K. Lava, J. Hest, H. Richard, *Polymers* **2015**, *7*, 1998-2008.
- [70] G. H. Shin, J. Li, J. H. Cho, J. T. Kim, H. J. Park, *J. Food Sci.* **2016**, *81*, N494-N501.
- [71] G. R. Desiraju, *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 565-573.
- [72] <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-flav/details/en/c/709/>, **2001**.

- [73] C. R. Groom, I. J. Bruno, M. P. Lightfoot, S. C. Ward, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., Cryst. Eng. Mater.* **2016**, *72*, 171-179.
- [74] C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, J. van de Streek, *J. Appl. Crystallogr.* **2006**, *39*, 453-457.
- [75] <https://organicchemistrydata.org/hansreich/resources/nmr/?page=05-hmr-15-aabb%2F>, **2020**.
- [76] B. M. Fung, A. K. Khitrin, K. Ermolaev, *J. Magn. Reson.* **2000**, *142*, 97-101.



# Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die Bachelorarbeit

**„Festkörper-NMR-Charakterisierung von Curcuminderivaten und Gamavuton-0-Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-block-Poly(2-n-Propyl-2-Oxazin)-block-Poly(2-Methyl-2-Oxazolin)-Polymermizellen“**

selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Arbeit weder in gleicher oder anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsgesuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Würzburg, den 1. März 2021



---

Unterschrift  
(Lucas Ferrando Plo)

