

# Abschlußbericht

**Zuwendungsempfänger:** Philipps-Universität Marburg, Renthof 7, 35032 Marburg

**Förderkennzeichen:** 03X0091F

**Teilvorhabenbeschreibung:** Herstellung, chemische Charakterisierung, Verhalten und Wirkung von Ag NP mit spezifischen Eigenschaften

**Laufzeit des Vorhabens:** 01.05.2013 – 30.04.2013

**Vorhabenbezeichnung:** Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt (UMSICHT)

**Berichtzeitraum:** gesamte Laufzeit des Vorhabens

**Autoren:** Christian Pfeiffer, Wolfgang Parak

# **I Kurze Darstellung wissenschaftlicher Aspekte**

## **I.1 Aufgabenstellung**

Da die Verwendung von Nanopartikeln und insbesondere von Silber Nanopartikeln (Ag-NP) in verschiedensten Gebrauchsgegenständen des alltäglichen Lebens vom Deodorant bis zur Socke immer weiter Einzug nimmt, ist die Untersuchung dieser Partikel und die Abschätzung der Umweltgefährdung dieser Partikel von größter Wichtigkeit. Daher steigt auch in der Wissenschaft der Drang dies zu untersuchen. Die heutzutage verwendeten Nanopartikel in alltäglichen Produkten sind zumeist kaum bis gar nicht charakterisiert was eine Abschätzung ihrer Gefährdung für die Umwelt bedeutend erschwert. Um eine Abschätzung liefern zu können, müssen zunächst Partikel mit definierten Eigenschaften synthetisiert werden, um grundlegende Aussagen leisten zu können. Daher ist die Synthese von spezifischen Silber Nanopartikeln (Ag-NP) eine der Grundaufgabenstellungen in diesem Projekt. Diese Partikel müssen charakterisiert werden, um die Wirkung und deren Verhalten genauestens zu untersuchen.

## **I.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde**

Bereits vor Beginn des Projektes wurde die Synthese von spezifischen Nanopartikeln und deren Auswirkung auf Zellkulturen in der Arbeitsgruppe Parak untersucht. Im Laufe dieses Projektes wurde die Verwendung von Ag-NP als weitere Klasse von Nanopartikeln in der Gruppe eingeführt und etabliert. Die synthetisierten Partikel konnten nach ihrer Synthese bei Bedarf ebenfalls modifiziert werden, um diese beispielsweise mittels konfokaler Mikroskopie in Zellen zu untersuchen. Auch wurde die Aufnahme der Partikel in die Zellen aufgrund der veränderten Oberflächenchemie untersucht. Ebenso ist die chemische und physikalische Charakterisierung der synthetisierten Partikel seit jeher ein fester Bestandteil einer jeden Untersuchung wodurch hier auf ein bereits vorhandenes Wissen und technisches Know-how zurückgegriffen werden konnte. Dieses Know-how wurde auch an andere Projektpartner zur Verfügung gestellt. Zudem wurde die Auswirkung von verschiedenen Ag-NP auf unterschiedliche Zellkulturen untersucht und beispielsweise die Zytotoxizität der verschiedenen Partikel untersucht.

## **I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens**

Das Arbeitsprogramm unserer Arbeitsgruppe innerhalb des Projektes UMSICHT war in folgende Punkte und Meilensteine unterteilt:

<b>Arbeitspaket</b>	<b>Zeitraum (Monate)</b>	<b>Projekt</b>	<b>Beschreibung</b>
1.1.1	3 – 21	Herstellung und chemische Charakterisierung von Ag-NP mit spezifischen Eigenschaften	- Herstellung spezifischer NM
1.1.2	6 – 24	Herstellung und chemische Charakterisierung von Ag-NP mit spezifischen Eigenschaften	- Charakterisierung der NM
1.2.1	1 – 6	Verhalten und Wirkung von Ag-NP mit spezifischen Eigenschaften	- Erarbeitung / Empfehlung zur Herstellung stabiler Applikationslösungen

1.2.2	7 – 33	Verhalten und Wirkung von Ag-NP mit spezifischen Eigenschaften	- Begleitanalytik zu AP 1.2.3, 2.3.1 – 2.3.4
1.2.3	13 – 33	Verhalten und Wirkung von Ag-NP mit spezifischen Eigenschaften	- Wirkungsuntersuchungen mit Screening-Tests

Im Folgenden wird nun zu diesen Punkten berichtet:

### AP 1.1.1) Herstellung spezifischer Nanomaterialien (NM)

Das Ziel Ag-NP mit spezifischen Eigenschaften herzustellen wurde voll und ganz erreicht. Im Laufe des Projektes wurden diverse Ag-NP synthetisiert. Hierbei wurden die Eigenschaften (wie Größe, Oberflächenchemie o.ä.) der Partikel je nach Anwendung angepaßt. Die Resultate wurden in den folgenden Artikeln publiziert: S. Huang, C. Pfeiffer, J. Hollmann, S. Friede, J. J. C. Chen, A. Beyer, K. Volz, W. Heimbrodt, J. M. Montenegro Martos, W. Chang, W. J. Parak, "Synthesis and characterization of colloidal fluorescent silver nanoclusters", *Langmuir* 28, 8915-8918 (2012), S. Ashraf, A. Z. Abbasi, C. Pfeiffer, S. Z. Hussain, Z. M. Khalid, P. Rivera Gil, W. J. Parak, I. Hussain, "Protein-mediated synthesis, pH-induced reversible agglomeration, toxicity and cellular interaction of silver nanoparticles", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 102, 511-518 (2013), E. Caballero-Díaz, C. Pfeiffer, L. Kastl, P. Rivera-Gil, B. Simonet, M. Valcárcel, J. Jiménez-Lamana, F. Laborda, W. J. Parak, "The toxicity of silver nanoparticles depends on their uptake by cells and thus on their surface chemistry", *Particle and Particle systems characterization* accepted (2013).

### AP 1.1.2) Charakterisierung der NM

Alle im Laufe des Projektes synthetisierten Ag-NP wurden mit diversen Methoden aufgereinigt und charakterisiert. Hierzu gehörten: Gelelektrophorese, High Pressure Liquid Chromatography (HPLC), Transmissions Elektronen Mikroskopie (TEM), UV-Vis Spektroskopie, Fluoreszenzspektroskopie (falls fluoreszierend), Dynamic Light Scattering (DLS) und Laser Doppler Anemometrie (LDA). Nachfolgend werden die Ergebnisse am Beispiel der 4 nm großen Ag-NP beispielhaft dargestellt.

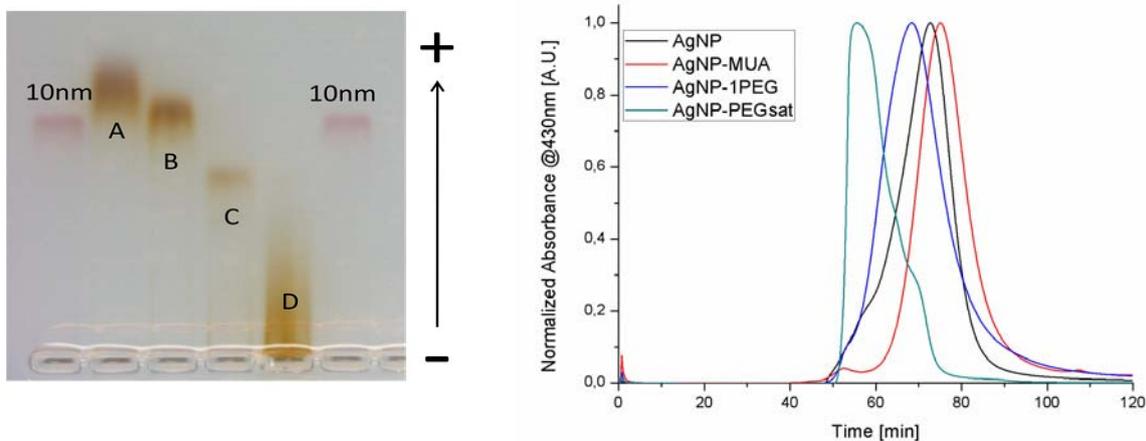


Abbildung 1: Gelelektrophorese und HPLC Chromatogramm von unterschiedlich stabilisierten Ag-NP.

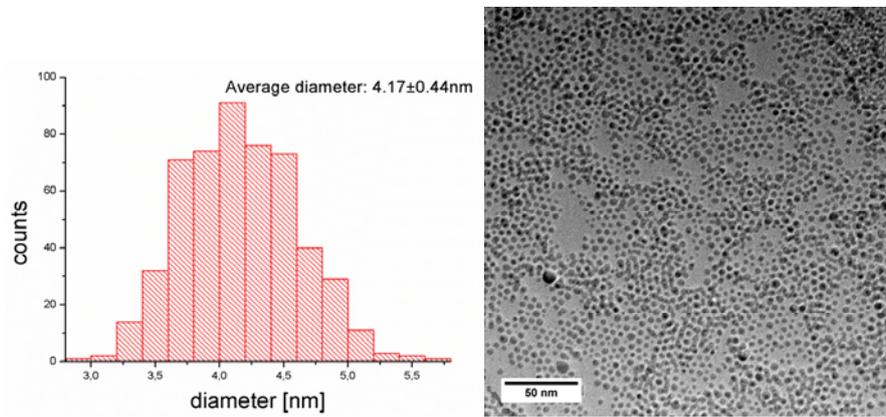


Abbildung 2: TEM Aufnahme von Ag-NP mit dazugehörigem Größenverteilungshistogramm.

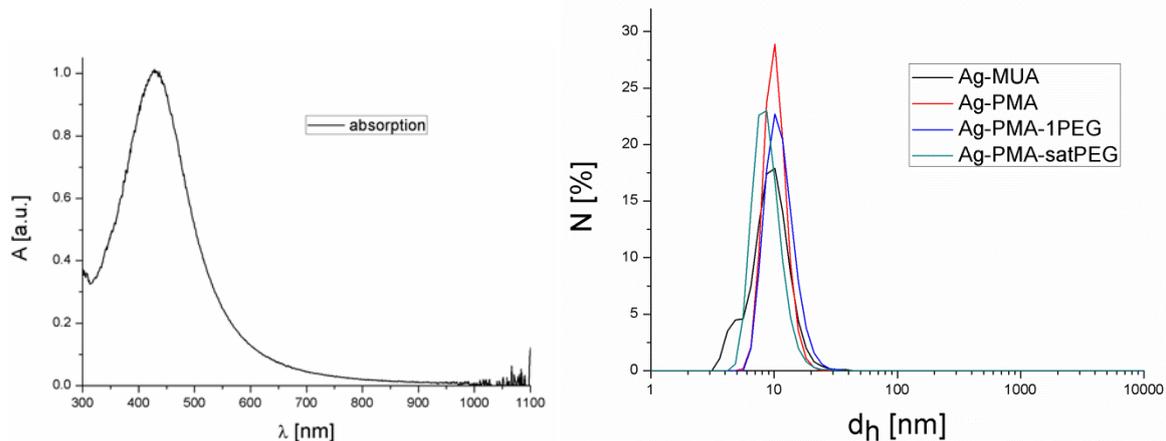


Abbildung 3: UV-Vis Absorptionsspektrum von Ag-NP mit dem typischen Plasmonen-Peak bei 430 nm und DLS Chromatogramm von unterschiedlich stabilisierten Ag-NP. Die Details der Charakterisierung dieser und allen anderen im Projekt dargestellten Ag-NP sind in den folgenden Artikeln nachzulesen: S. Huang, C. Pfeiffer, J. Hollmann, S. Friede, J. J. C. Chen, A. Beyer, K. Volz, W. Heimbrod, J. M. Montenegro Martos, W. Chang, W. J. Parak, "Synthesis and characterization of colloidal fluorescent silver nanoclusters", *Langmuir* 28, 8915-8918 (2012), S. Ashraf, A. Z. Abbasi, C. Pfeiffer, S. Z. Hussain, Z. M. Khalid, P. Rivera Gil, W. J. Parak, I. Hussain, "Protein-mediated synthesis, pH-induced reversible agglomeration, toxicity and cellular interaction of silver nanoparticles", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 102, 511-518 (2013), E. Caballero-Díaz, C. Pfeiffer, L. Kastl, P. Rivera-Gil, B. Simonet, M. Valcárcel, J. Jiménez-Lamana, F. Laborda, W. J. Parak, "The toxicity of silver nanoparticles depends on their uptake by cells and thus on their surface chemistry", *Particle and Particle systems characterization* accepted (2013).

### AP 1.2.1) Erarbeitung / Empfehlung zur Herstellung stabiler Applikationslösungen

Die in den AP 1.1.1 vorgestellten Suspensionen von Ag-NP wiesen eine mehrmonatige teilweise bis zu mehrjährige Stabilität auf insofern die Lagerung bei Raumtemperatur (RT) und ohne direkte Lichteinwirkung durchgeführt wurde. Bei Änderung der Bedingungen (z.B. pH-Wert) kann Aggregation der Partikel einsetzen. Diese kann, je nach Art der Stabilisierung, rückgängig gemacht werden (Abbildung 4). Dies stellt jedoch eine Ausnahme dar. Zumeist ist die Aggregation der Partikel nicht reversibel. Auch die Änderung der Salzkonzentration der Suspension kann zur Aggregation führen (Abbildung 5).

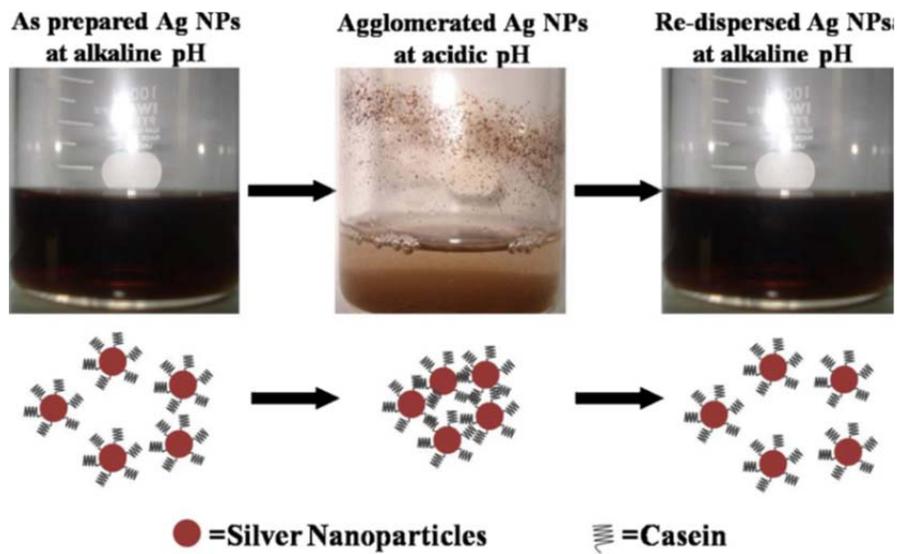


Abbildung 4: Änderung des Aggregationsgrades anhand der Änderung des pH-Wertes bei Casein stabilisierten Ag-NP.

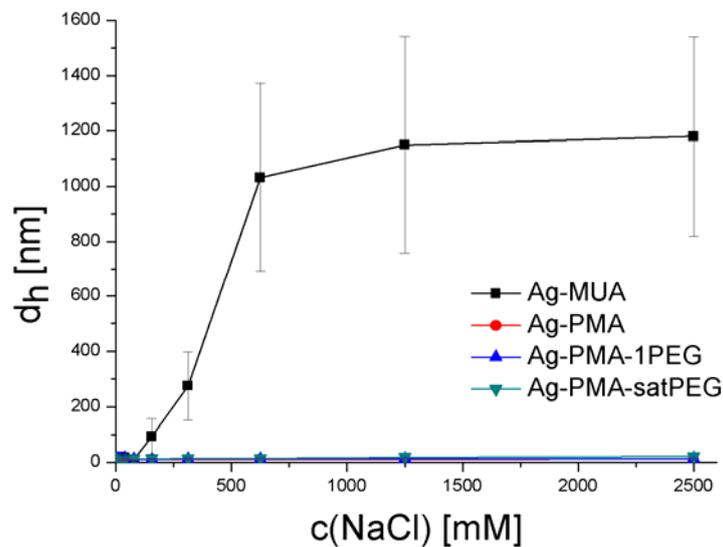


Abbildung 5: Änderung des hydrodynamischen Durchmessers von unterschiedlich stabilisierten Ag-NP in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration.

#### AP 1.2.2) Begleitanalytik zu AP 1.2.3, 2.3.1 – 2.3.4

Zur Begleitanalytik der Ag-NP gehörte unter anderem die Untersuchung der NP mittels konfokalem Laserscan-Mikroskop. Hierzu mußten die Partikel, falls sich von Natur aus nicht fluoreszieren, mit einem Farbstoff versehen werden, um sie im Mikroskop sichtbar zu machen. Im Falle der 4 nm großen Ag-NP wurde DY-636 verwendet. Hierdurch konnte sichtbar gemacht werden, daß die Aufnahme der Partikel in die Zellen von ihrer Oberflächenchemie beeinflusst wird (siehe Abbildung 6).

Ag-PMA

Ag-PMA-satPEG

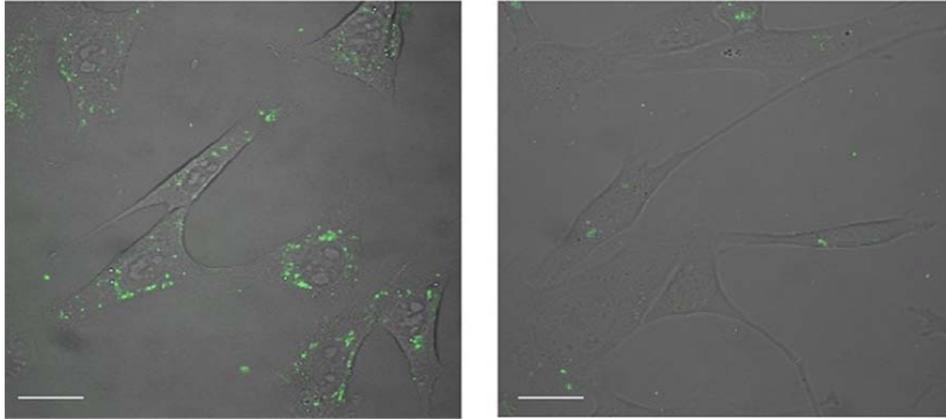


Abbildung 6: Aufnahme von unterschiedlich stabilisierten Ag-NP in NIH 3T3 Fibroblasten Zellen.

Auch Partikel andere Projektpartner wurden untersucht und die Ergebnisse entsprechend weitergeleitet. Diese werden an dieser Stelle nicht explizit aufgezeigt.

### AP 1.2.3) Wirkungsuntersuchungen mit Screening-Tests

Es wurden im Laufe des Projektes verschieden Arten von Ag-NP auf ihre Toxizität in unterschiedlichen Zelllinien untersucht. Die 4 nm großen Ag-NP beispielsweise wiesen bei der Toxizität eine Abhängigkeit von der Oberflächenchemie auf (siehe Abbildung 7). Im Vergleich der NP mit einem Silbersalz stellte sich zum einen heraus, daß die Partikel im Bezug auf den Gesamtgehalt an Silber eine geringere Toxizität aufwiesen als das Salz. Zum andern allerdings bei der Betrachtung der real gelösten Silberionen im Medium eine erhöhte Toxizität aufwiesen da diese die Ionen im Zellinneren freisetzen und nicht im außerezellulären Raum wie das Salz.

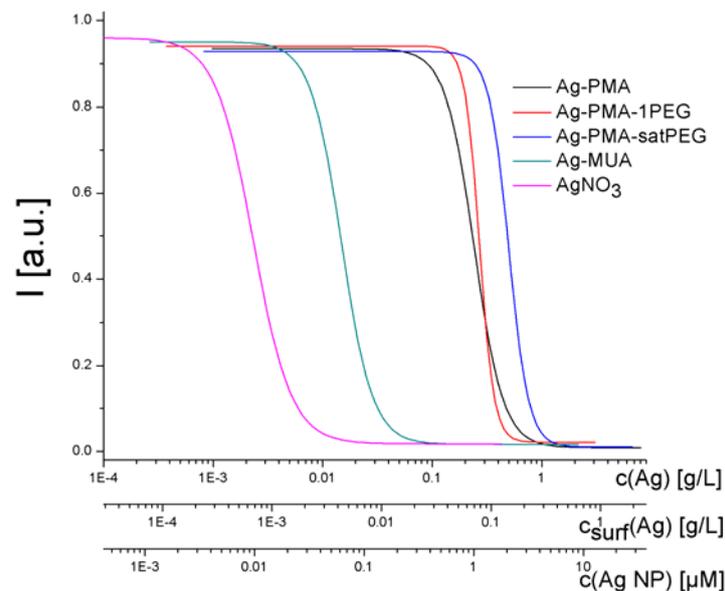


Abbildung 7: Toxizität von unterschiedlich stabilisierten Ag-NP auf NIH 3T3 Fibroblasten Zellen.

Die Details zu diesen und weiteren Untersuchungen sind in den folgenden Artikeln nachzulesen: M. J. Hajipour, K. M. Fromm, A. A. Ashkarran, D. Jimenez de Aberasturi, I. Ruiz de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W. J. Parak, M. Mahmoudi, "Antibacterial

properties of Nanoparticles", Trends in Biotechnology 30, 499 - 511 (2012), R. di Corato, D. Palumberi, R. Marotta, M. Scotto, S. Carregal-Romero, P. Rivera Gil, W. J. Parak, T. Pellegrino, "Magnetic nanobeads decorated with silver nanoparticles as cytotoxic agents and photothermal probes", SMALL 8, 2731-2742 (2012), S. Huang, C. Pfeiffer, J. Hollmann, S. Friede, J. J. C. Chen, A. Beyer, K. Volz, W. Heimbrod, J. M. Montenegro Martos, W. Chang, W. J. Parak, "Synthesis and characterization of colloidal fluorescent silver nanoclusters", Langmuir 28, 8915-8918 (2012), S. Ashraf, A. Z. Abbasi, C. Pfeiffer, S. Z. Hussain, Z. M. Khalid, P. Rivera Gil, W. J. Parak, I. Hussain, "Protein-mediated synthesis, pH-induced reversible agglomeration, toxicity and cellular interaction of silver nanoparticles", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 102, 511-518 (2013), E. Caballero-Díaz, C. Pfeiffer, L. Kastl, P. Rivera-Gil, B. Simonet, M. Valcárcel, J. Jiménez-Lamana, F. Laborda, W. J. Parak, "The toxicity of silver nanoparticles depends on their uptake by cells and thus on their surface chemistry", Particle and Particle systems characterization accepted (2013).

#### **I.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde**

Der wissenschaftliche und technische Stand zu Beginn des Projektes entspricht dem, der in der Antragstellung bereits beschrieben worden ist. Es haben sich keine Änderungen ergeben. Daher kann der wissenschaftliche und technische Stand vor Beginn des Projektes direkt in der Antragstellung nachgelesen werden.

#### **I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen**

Wie bereits im Antrag dargestellt bestand eine enge Zusammenarbeit mit den Partnern IWT, VdW und TUDr. Von der TUDr wurden verschieden Proben an uns und andere Partner versendet zur Validierung der verschiedenen Meßapparaturen untereinander. Des Weiteren wurden Kooperationen mit den Gruppen von Prof. Chang (Chung Yuan Christian University, Chungli, Taiwan), Prof. Valcárcel (University of Cordoba, Spanien) und Prof. Laborda (University of Zaragoza, Spanien) Kooperationen begonnen da auch diese langjährige Erfahrungen in der Synthese bzw. Charakterisierung von NP besitzen.

## **II Eingehende Darstellung des administrativen Bereichs**

### **II.1 Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen**

Um diese Ergebnisse zu erreichen hat eine Vielzahl von Personen an dem Projekt mitgearbeitet, die teilweise auch durch das Projekt finanziert waren. Frau Jana Hollmann hat ihrer Bachelorarbeit, welche zu 100% auf das BMBF Projekt bezogen war, im Februar 2011 erfolgreich beendet. Frau Sherry Huang hat im Rahmen ihrer Dissertation die Zytotoxizität von rot fluoreszierenden Silbernanoclustern (Ag NC) auf Zellkulturen untersucht. Frau Encarnación Caballero-Díaz hat im Rahmen ihrer Dissertation die Untersuchungen der Zytotoxizität von Ag NP auf Zellkulturen begonnen, welche von Frau Lena Kastl im Rahmen ihrer Masterarbeit beendet wurden. Frau Kastl beendete ihre Masterarbeit im August 2012 erfolgreich. Herr Christian Pfeiffer hat im Rahmen seiner Dissertation über den gesamten Zeitverlauf des Projektes die Synthese und Charakterisierung von Ag NP und Ag NC durchgeführt und somit einen maßgeblichen Teil zu diesem Projekt geleistet. Frau Dr. Pilar Rivera Gil und Herr Dr. José Maria Montengro Martos waren die Betreuer einiger der am Projekt beteiligten Studenten. Herr Prof. Dr. Wolfgang Parak hat das Projekt koordiniert.

Aufgrund der im Projekt UMSICHT geleisteten Arbeiten konnten weitreichende wissenschaftliche Erkenntnisse erlangt werden. Nachfolgend die während des Projektes erzielten Ergebnisse zu einigen der Teilbereiche. Für die gesamten Ergebnisse verweisen wir auf Kapitel I.3.

#### **AP 1.1.1 „Herstellung spezifischer NM“**

Da zunächst eine gut funktionierende Synthese für Silber Nanopartikel (Ag NP) gefunden werden mußte wurden zunächst Gold Nanopartikel (Au NP) synthetisiert. Hierzu wurde eine bereits bekannte und bewährte Methode verwendet [1]. Nach längerer Suche und mehreren gescheiterten Versuchen der Synthese unimodaler Ag NP wurden letztlich Ag NP in Ethanol synthetisiert [2]. Die NP, welche als Pulver vorlagen, wurden in Chloroform dispergiert und die Konzentration in mol/L mittels UV/vis Spektroskopie bestimmt. Anschließend wurden die Partikel mit einer definierten Menge eines amphiphilen Polymers überzogen. Mit Hilfe dieses so genannten „coating“ Prozesses wird die Dispergierbarkeit der Partikel in wäßrigem Medium gewährleistet [1]. Die Ag NP wurden mit Polyethylenglykol (PEG) modifiziert, um Unterschiede in der Toxizität der Partikel zu untersuchen. Hierbei wurden die Partikel sowohl mit nur einem PEG-Molekül als auch die Oberfläche komplett saturiert. Das Molekulargewicht der PEG Moleküle betrug jeweils 10 kDa. Um die Aufnahme der unterschiedlichen Partikel in Zellen zu untersuchen, wurden die Ag NP zusätzlich mit dem Farbstoff DY-636 von Dyomics modifiziert. Für die Modifikation der Ag NP wurde die aus der Literatur bekannte EDC-Kopplungschemie verwendet. Für weitere Vergleiche zwischen gecoateten und ungecoateten Partikeln wurden die Ag NP einem Ligandenaustausch unterzogen. Dieser erfolgte vor dem coating-Prozeß. Hierfür wurden die Partikel, welche in Chloroform dispergiert waren, mit einem Überschuß von in Tris-Borat-EDTA gelösten 11-Mercaptoundecansäure für mehrere Minuten bei RT geschüttelt. Im Laufe dieses Austausches begingen die Ag NP einen Phasentransfer hin in die wäßrige Phase. Dieses Vorgehen hat den Vorteil, daß die Unterschiede in der Toxizität oder anderer Eigenschaften wie der Stabilität lediglich aufgrund der Stabilisierung herrühren da alle Ag NP den gleichen Kern besitzen. Zudem wurden fluoreszierende, in Wasser dispergierbare Silber Nanocluster (Ag NC) in Toluol synthetisiert. Für die Synthese wurde eine bereits bekannte Variante zur Synthese von fluoreszierenden Gold Nanoclustern (Au NC) [3] leicht verändert. Hierzu werden zunächst hydrophobe Nanopartikel (NP), welche noch eine hohe Polydispersität zeigen, durch die

Zugabe weiteres Silber Precursors auf eine Größe von  $4,8 \pm 0,8$  nm geätzt. Durch einen Ligandenaustausch mit dihydrogenierter Liponsäure (engl. Dihydrolipoic acid, DHLA) wird schließlich die Größe auf  $2,2 \pm 0,4$  nm gebracht und die Dispergierbarkeit in wäßrigem Medium gewährleistet.

### **AP 1.1.2 „Charakterisierung der NM“**

Alle in AP1.1.1 synthetisierten Partikel wurden zunächst mittels Gelelektrophorese von überschüssigem Polymer und größeren Agglomeraten befreit. Überschüssiges Polymer läuft aufgrund der geringeren Größe und der in Relation zur Größe größeren Ladung schneller durch die Agarosematrix als die Ag NP. Die größeren Agglomerate hingegen laufen langsamer bzw. gar nicht durch die Matrix. Somit können die Ag NP durch ausschneiden der entsprechenden Bande und anschließende Extraktion gereinigt werden. Da während dieser Aufreinigung auch Referenzpartikel (10 nm Au NP der Firma British Biocell International) zugegen sind, konnte eine erste Abschätzung der Größe der Partikel gemacht werden. Vergleich der verschiedenen Partikel siehe Abbildung 8. Anschließend wurden die Partikel mittels HPLC von letzten Resten überschüssigem Polymer und größeren Agglomeraten befreit. Chromatogramm siehe Abbildung 17. Auch eine weitere Größenabschätzung kann aufgrund einer Kalibration der verwendeten Trennsäule vorgenommen werden. Als Trennsäule wurde eine selbst gepackte Sephacryl S300HR Säule verwendet. Als Eluent wurde SBBS 9 (50 mM Natriumborat Puffer mit 100 mM Natriumchlorid und einem pH-Wert von 9) verwendet bei einem Durchfluß von 1 mL/min. Zur weiteren Charakterisierung der Partikel wurde zusätzlich ein Absorptionsspektrum im Bereich von 300 bis 1000 nm aufgenommen. Hierbei ist bei den Au NP der typische Plasmonresonanzspeak bei 520 nm zu erkennen während die Ag NP diesen bei 430 nm aufweisen, siehe Abbildung 10. Der hydrodynamische Durchmesser und das Zeta Potential der Partikel wurde mit einem Zetasizer Nano der Firma Malvern bestimmt. Bezüglich der Spektren wird auf Abbildung 11 verwiesen. Für eine genaue Abschätzung des metallischen Kerns der Partikel wurden von allen Partikeln Aufnahmen mittels TEM gemacht. Die Auswertung der Bilder zur Bestimmung der Größe wurde die Software ImageJ 1.42q verwendet. Aufnahmen der Partikel und dazugehöriges Größenhistogramm sind in Abbildung 12 zu finden. Die Ergebnisse aller Untersuchungsmethoden sind in insofern übereinstimmend, daß die Au NP und Ag NP eine sehr ähnliche Größe besitzen, die Ag NP allerdings ein wenig kleiner sind. Auch die synthetisierten Nanocluster wurden zunächst mittels Gelelektrophorese von überschüssigem Ligand und größeren Agglomeraten befreit. Die Ag NC können durch ausschneiden der entsprechenden Bande und anschließende Extraktion gereinigt werden. Da während dieser Aufreinigung auch Referenzpartikel (10 nm Au NP der Firma British Biocell International) zugegen sind, konnte eine erste Abschätzung der Größe der Partikel gemacht werden. Vergleich der verschiedenen Partikel siehe Abbildung 12. Anschließend wurden die Partikel mittels HPLC von noch eventuell vorhandenen Liganden oder größeren Agglomeraten befreit. Chromatogramm siehe Abbildung 13. Als Trennsäule wurde auch hier eine selbst gepackte Sephacryl S300HR Säule verwendet. Als Eluent wurde SBBS 9 (50 mM Natriumborat Puffer mit 100 mM Natriumchlorid und einem pH-Wert von 9) verwendet bei einem Durchfluß von 1 mL/min. Zur weiteren Charakterisierung der Partikel wurde zusätzlich ein Absorptionsspektrum im Bereich von 300 bis 1000 nm aufgenommen. Hierbei ist bei den Ag NP noch die typische Plasmonabsorptionsbande bei 430 nm zu erkennen. Während des Ätzvorgangs nimmt die Intensität dieser Bande stetig ab bis sie schließlich nach Beendigung des Ligandenaustausches schließlich vollkommen verschwunden ist, siehe Abbildung 14.

Der hydrodynamische Durchmesser und das Zeta Potential der Partikel wurde mit einem Zetasizer Nano der Firma Malvern bestimmt. Spektren siehe Abbildung 15. Für eine genaue Abschätzung des Durchmessers der Ag NC wurden Aufnahmen mittels TEM gemacht. Die Auswertung der Bilder zur Bestimmung der Größe wurde die Software ImageJ 1.42q verwendet. Aufnahmen der Partikel und dazugehöriges Größenhistogramm sind in Abbildung 14 zu finden. Die Fluoreszenz wurde mit eine Horiba Fluorolog Spektrometer untersucht. Hierzu wurden ein Extinktionsspektrum bei einer Fluoreszenzwellenlänge von 625 nm und einer Anregungswellenlänge von 200-600 nm und ein Emissionsspektrum bei einer Anregungswellenlänge von 415 nm und einem Fluoreszenzbereich von 500-800 nm aufgenommen. Die Spektren sind in Abbildung 15 zu sehen. Zur Bestimmung der Quantenausbeute wurde die Methode von Lakowicz verwendet [4]. Als Vergleichsfarbstoff wurde Chininsulfat in 0,1 M Schwefelsäure verwendet. Es wurde ein Ausbeute von 0,024% ermittelt. Die entsprechenden Graphen sind in Abbildung 16 zu finden. Die mit PEG modifizierten Ag NP wurden mit den erwähnten Verfahren gereinigt und charakterisiert. Beispielhaft hierfür stehen die Abbildungen 16 und 17. Die Stabilität der vier verschiedenen Silbernanopartikel (Ag NP) wurde gegenüber Natriumchlorid überprüft. Hierzu wurde der hydrodynamische Durchmesser der Partikel in unterschiedlichen Natriumchlorid (NaCl) Konzentrationen gemessen. Um eine Aussage über die Stabilität machen zu können, wurde die Messung nach 24 Stunden wiederholt und die Ergebnisse verglichen. Die Ergebnisse sind im Anhang in Abbildungen 28, 29, 30, 31 und Tabelle 2 dargestellt. Die drei Proben welche durch das „polymer coating“ stabilisiert werden zeigten hierbei keinerlei relevante Veränderung. Die Ergebnisse der Ag NP, welche durch 11-Mercaptooundecansäure (MUA) stabilisiert werden, weichen allerdings von den restlichen Partikeln ab. Bereits ab einer Konzentration von 160 mM NaCl besitzen diese einen erhöhten hydrodynamischen Durchmesser. Bis zu dieser Konzentration bleiben die Partikel auch für 24 Stunden stabil. Bei einer Erhöhung der Salzkonzentration ist eine deutliche Agglomeration der Partikel nach 24 Stunden zu erkennen und die Partikel sammeln sich als Bodensatz am Boden des Gefäßes. Zusätzlich wurde das Zetapotential der verschiedenen Partikel in Wasser gemessen. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt. Hierbei zeigen zwei der polymer gecoateten Partikel und die MUA stabilisierten Partikel ein deutlich negatives Potential. Die Probe von Ag NP welche mit PEG saturiert wurde hingegen zeigt mit -10 mV ein annähernd neutrales Potential. Auch wurde die Freisetzung von  $\text{Ag}^+$  Ionen aus drei der vier unterschiedlichen Partikeln untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 4 dargestellt. Hierbei wurde die Freisetzung in Wasser und bei einem pH-Wert von 3 nach definierten Zeitpunkten untersucht. Hierzu wurden die Partikel mittels Ultrazentrifugation von den sich in Lösung befindlichen Ionen getrennt und der Gehalt an Silberionen im Zentrifugat mittels ICP-MS gemessen. Die Freisetzung von  $\text{Ag}^+$  Ionen in Wasser der unterschiedlichen Proben ist vernachlässigbar. Bei einem pH-Wert von 3 ist festzustellen, daß es annähernd keinen Unterschied zwischen den Polymer gecoateten und den MUA stabilisierten Partikeln gibt. Die Partikel, die zusätzlich noch mit PEG saturiert wurden hingegen weisen eine geringere Freisetzung auf. Um die Konzentration der Ag NP Suspensionen nicht nur mittels ICP-MS ermittelt zu können sondern auch mittels UV/Vis Spektroskopie, wurde der Extinktionskoeffizient experimentell ermittelt. Hierzu wurde zunächst die Konzentration einer Probe mittels ICP-MS ermittelt. Von dieser Probe wurden anschließend Absorptionsspektren einer Verdünnungsreihe aufgenommen. Mit Hilfe der Größenverteilung der Partikel und der Dichte von Silber konnte das Gewicht eines einzelnen Kerns bzw. Nanopartikels errechnet werden. Mit diesem konnte die Konzentration der Lösungen von  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  in  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  umgerechnet werden. Anschließend wurden die gemessenen Absorptionswerte am Maximum

des Plasmonpeaks (430 nm) gegen die jeweilige Konzentration aufgetragen, siehe Abbildung 29. Der Extinktionskoeffizient ergibt sich aus der Steigung der Ausgleichsgeraden und hat einen Wert von  $1,68 \cdot 10^7 \text{ L} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

### **AP 1.2.3 „Wirkstoffuntersuchungen mit Screening-Test“**

Kultivierung für Tests mit Ag NC: Für die Zellversuche wurden MCF-7 Humane Brustkrebszellen verwendet. Diese wurden in Eagle's minimum essential medium (EMEM) mit Zusatz von 10% fetal bovine serum (FBS), 100 IU  $\text{mL}^{-1}$  Penicillin, 100 IU  $\text{mL}^{-1}$  Streptomycin und 0.01 mg  $\text{mL}^{-1}$  bovine Insulin bei 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$  und 95% relativer Luftfeuchtigkeit kultiviert. Für die eigentlichen Versuche wurden die Zellen mit einer 0,025%igen Trypsin/EDTA Lösung trypsiniert.

Zytotoxizitäts Untersuchungen mit Ag NC: Für die Untersuchung der Zytotoxizität wurden die MCF-7 Zellen in 96-Well-Platten mit einer Dichte von  $10^4$  Zellen/Well ausgesät und für 24 Stunden inkubiert. Das Wachstumsmedium wurde hierbei anschließend durch ein Medium ersetzt, welches die Ag NC enthält. Danach wurden die Zellen erneut für 6 oder 24 Stunden bei 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  und 95% Luftfeuchtigkeit inkubiert. Für die Untersuchungen wurde der „CellTiter-Blue cell viability assay“ verwendet. Für die Auswertung wurde die Absorbance bei 570 nm gemessen (siehe Abbildung 17). Aufgrund der Daten läßt sich nur eine geringe Toxizität der Ag NC über den betrachteten Zeitraum feststellen.

Aufnahme der Ag NC von den Zellen: Für die Untersuchung der Aufnahme der Ag NC durch die Zellen wurde zunächst genauso vorgegangen wie bei der Untersuchung der Toxizität. Allerdings wurden die Zellen in 8-well coverglass chamber slides vereinzelt und nur für 6 Stunden inkubiert mit dem Ag NC Zellmedium. Die Zellen wurden anschließend mit Hoechst 33342 für 30 min angefärbt und zweimal mit PBS gewaschen. Das PBS wurde mit Phenolrot freiem EMEM mit Zusatz von 10% FBS, 100 IU  $\text{mL}^{-1}$  Penicillin, 100 IU  $\text{mL}^{-1}$  Streptomycin und 0.01 mg  $\text{mL}^{-1}$  bovine Insulin ersetzt. Die Fluoreszenzbilder sind in den Abbildungen 14 und 15 zu sehen. Es ist deutlich zu erkennen, daß die rote Fluoreszenz von den Ag NC stammt. Allerdings ist aufgrund der geringen Intensität keine eindeutige Lokalisation der Ag NC in intrazellulären vesikulären Strukturen auszumachen. Im Gegensatz hierzu ist das bei Au NC, welche auf die gleiche Weise synthetisiert wurden, auszumachen.[5]

Kultivierung für Tests mit Ag NP: Zur Kultivierung von Maus Fibroblasten der Linie NIH 3T3 wurde DMEM/F12 verwendet, das mit 10 % FBS, 1 % L-Glutamine und 1 % P/S versetzt war. Dieses supplementierte Medium wird im Folgenden als Kulturmedium bezeichnet. Die Kulturen wurden bei 37 °C und 5 %  $\text{CO}_2$  inkubiert.

Zytotoxizitäts Untersuchungen mit Ag NP: Die Zytotoxizitätstests wurden in einer 96-Well Platte mit durchsichtigem Boden durchgeführt. Dazu wurden 3T3-Zellen in einer Dichte von 30.000 Zellen/well in je 100  $\mu\text{L}$  Kulturmedium ausgesät. Am nächsten Tag wurde das Medium der ersten beiden Wells durch 150  $\mu\text{L}$  einer Lösung von Partikeln oder  $\text{AgNO}_3$  in PBS ersetzt. Nach 24 h bei 37 °C und 5 %  $\text{CO}_2$  wurde die Partikel-Lösung abgenommen und die Zellen mit je 150  $\mu\text{L}$  PBS gewaschen. Anschließend wurden je 100  $\mu\text{L}$  einer in Kulturmedium angesetzten 10 %igen Resazurin-Lösung auf die Zellen gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 2-3 Stunden bei 37 °C und 5 %  $\text{CO}_2$  wurde die Fluoreszenz in einem Fluoreszenzspektrometer gemessen (Absorption: 560 nm, Emission: 572-700 nm).

Aufnahme der Ag NP von den Zellen: Es wurden 10.000 bis 20.000 Zellen pro Well in je 300  $\mu\text{L}$  Kulturmedium auf einem 8-Well Objektträger mit einem extra dünnen Boden (speziell für Untersuchungen mit dem Konfokales Laser Scanning Mikroskop (KLSM)) ausgesät. Am nächsten Tag wurde das Medium abgenommen und durch je 200  $\mu\text{L}$  der, in Kulturmedium

angesetzten, 10 nM Partikel-Lösungen ersetzt. Die Proben wurden bis zur KLSM-Analyse bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert.

Literatur:

[1] Cheng-An J. L., et al.; *Design of an amphiphilic polymer for nanoparticle coating and functionalization*; *Small*, **2008**, 4(3), 334-341.

[2] Mari A., et al.; *High yield synthesis of pure alkanethiolate-capped silver nanoparticles*; *Langmuir*, **2010**, 26(19), 15561-15566.

[3] Cheng-An J. L. et al.; *Synthesis, Characterization, and Bioconjugation of Fluorescent Gold Nanoclusters toward Biological Labeling Applications*; *ACS Nano*, **2009**, 3 (2), 395-401.

[4] J. R. Lakowicz; *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Springer Verlag, **2006**, dritte Auflage.

[5] Parak, W. J.; Boudreau, R.; Gros, M. L.; Gerion, D.; Zanchet, D.; Micheel, C. M.; Williams, S. C.; Alivisatos, A. P.; Larabell, C. A., Cell Motility and Metastatic Potential Studies Based on Quantum Dot Imaging of Phagokinetic Tracks. *Advanced Materials* **2002**, 14, (12), 882-885.

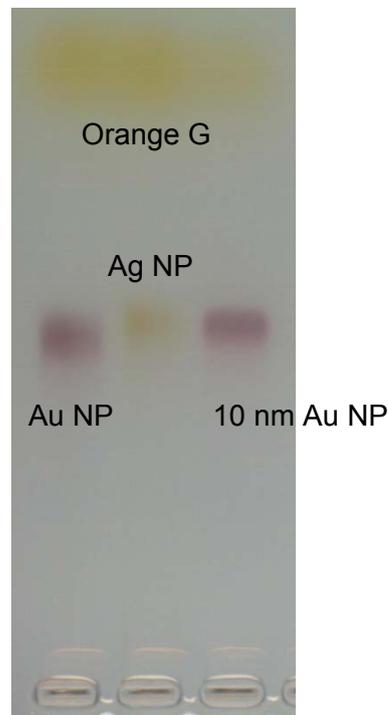


Abbildung 8: Vergleich von Gold und Silber Nanopartikeln mit industriellen 10 nm großen Gold Nanopartikeln.

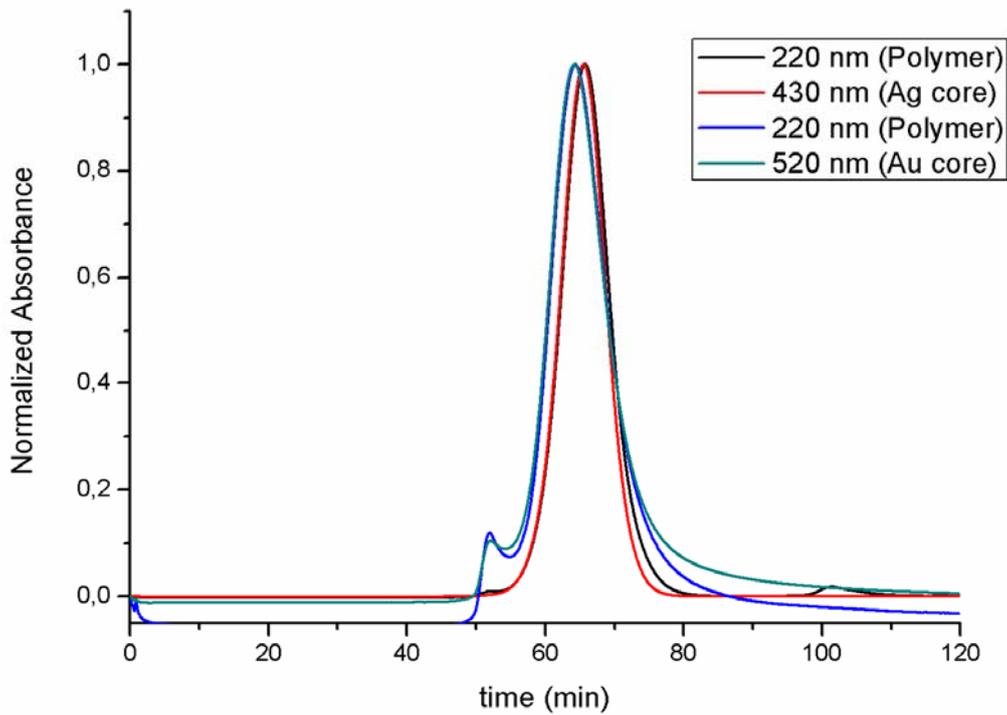


Abbildung 9: HPLC Chromatogramm von Silber bzw. Gold Nanopartikeln. Als Laufmittel wurde ein 50 mM Natriumborat Puffer mit 100 mM NaCl und einem pH Wert von 9 bei einem Durchfluß von 1 mL/min verwendet. Das verwendete Säulenmaterial war Sephacryl S300HR.

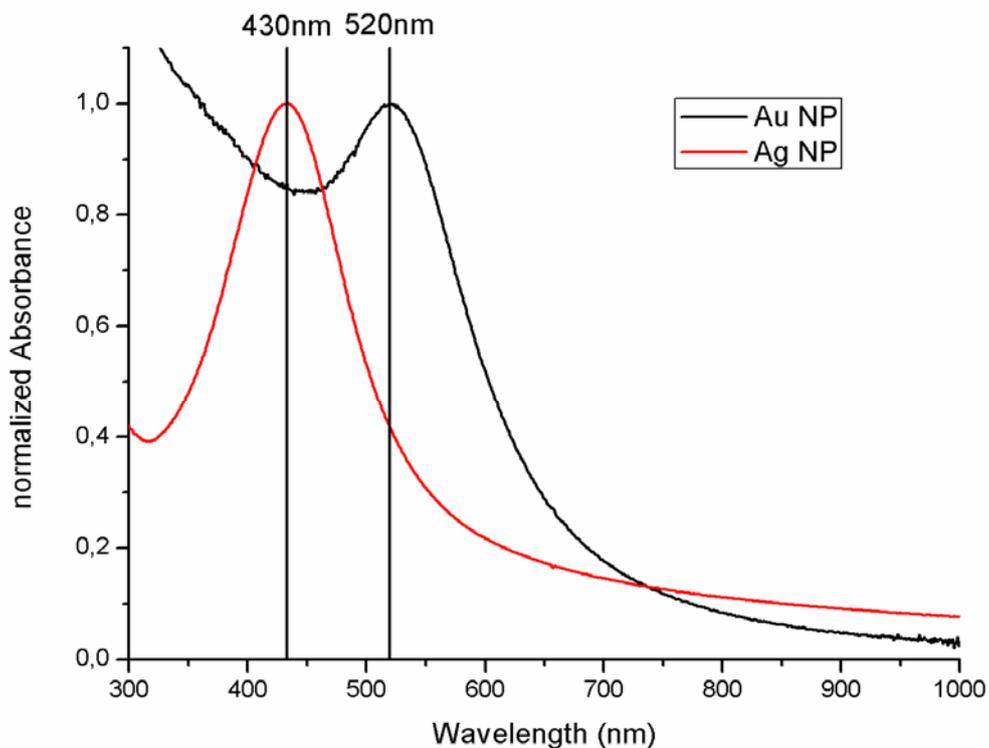


Abbildung 10: Normiertes Absorptionsspektrum von Gold und Silber Nanopartikeln im Wellenlängenbereich von 300 nm bis 1000 nm. Das Maximum des Plasmonabsorptionspeaks der Silber Partikel liegt bei 430 nm. Das Maximum der Absorption der Gold Partikel bei 520 nm.

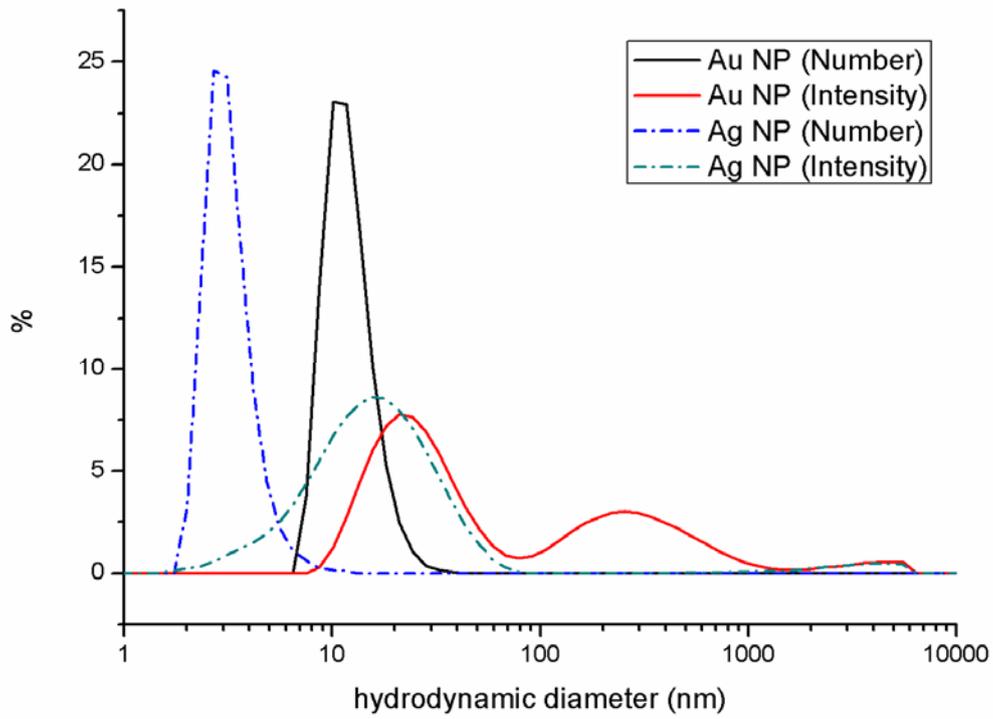
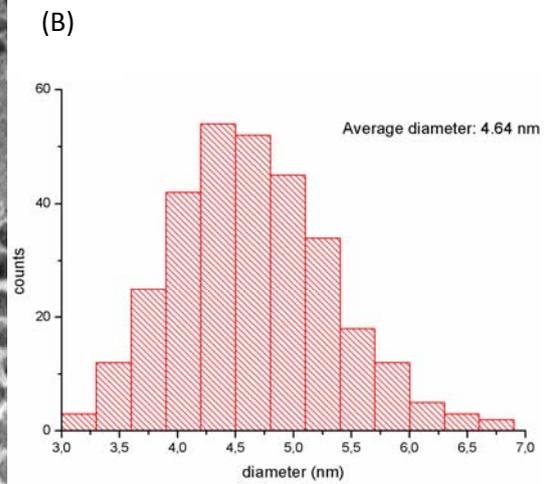
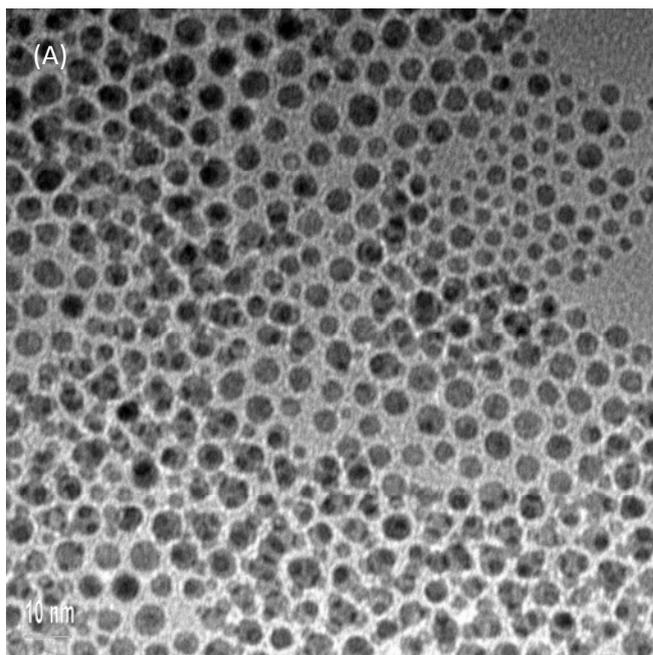
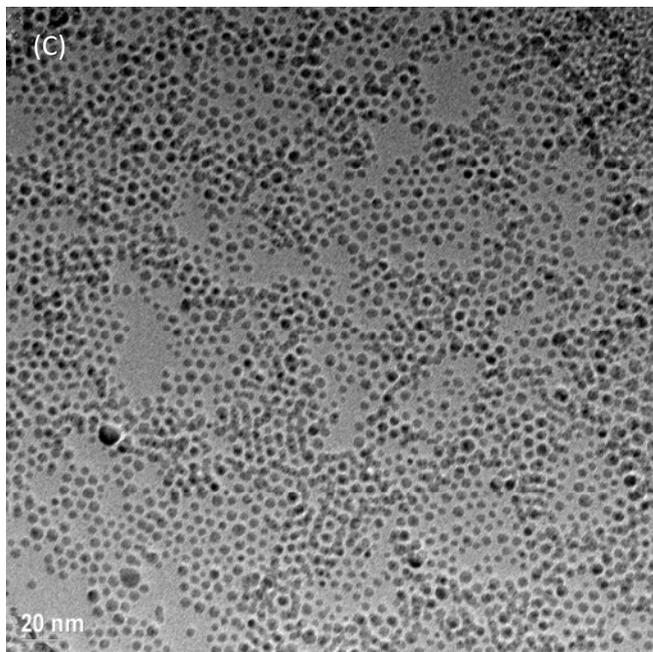


Abbildung 11: Hydrodynamische Durchmesser von Gold und Silber Nanopartikeln mittels DLS bestimmt.





(D)

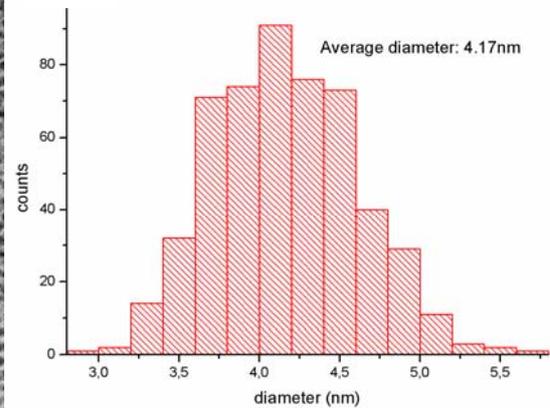


Abbildung 12: TEM Aufnahmen von Gold Nanopartikeln (A) und Silber Nanopartikeln (C) mit den dazugehörigen Größenverteilungen (Gold (B) bzw. Silber (D)). Die Goldpartikel haben einen durchschnittlichen Durchmesser von 4,64 nm. Der durchschnittliche Durchmesser der Silberpartikel beträgt 4,17 nm.

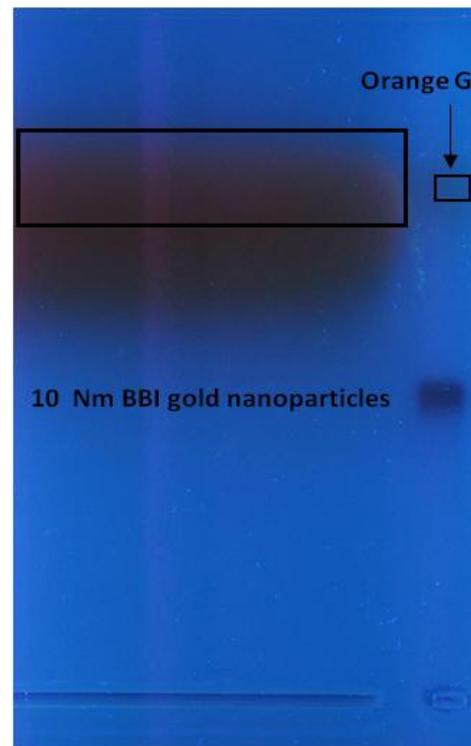
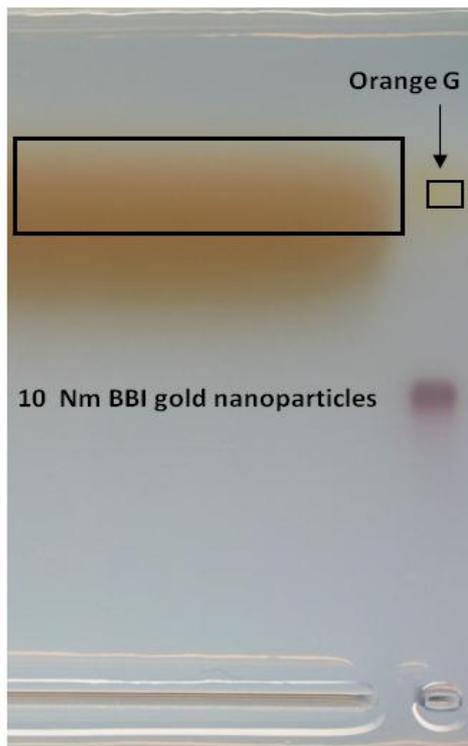


Abbildung 12: Vergleich von Silber Nanoclustern mit industriellen 10 nm großen Gold Nanopartikeln (2% Agarose,  $10 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ , 1 h).

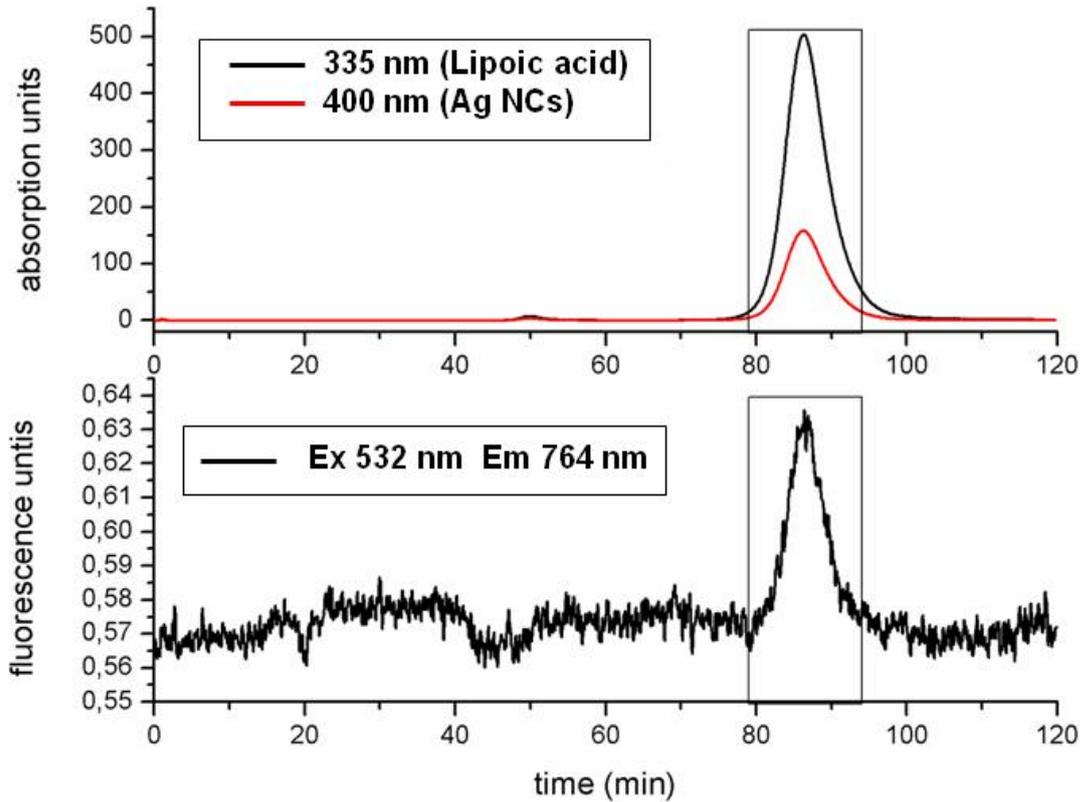


Abbildung 13: HPLC Chromatogramm von Silber Nanoclustern. Als Laufmittel wurde ein 50 mM Natriumborat Puffer mit 100 mM NaCl und einem pH Wert von 9 bei einem Durchfluß von 1 mL/min verwendet. Das verwendete Säulenmaterial war Sephacryl S300HR.

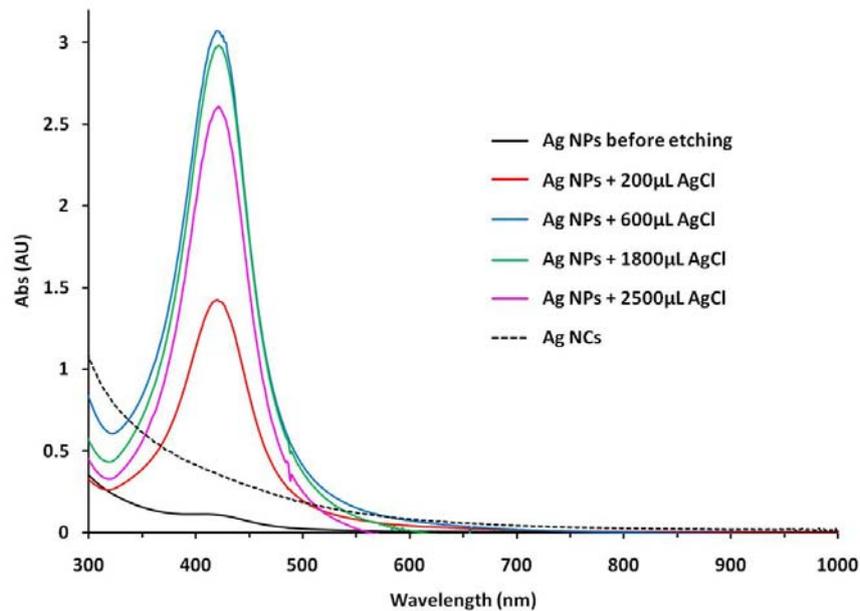


Abbildung 14: UV-Vis Spektren während des Ätzzvorganges (durchgezogene Linien) und nach dem Ligandenaustausch mit DHLA (gestrichelte Linie).

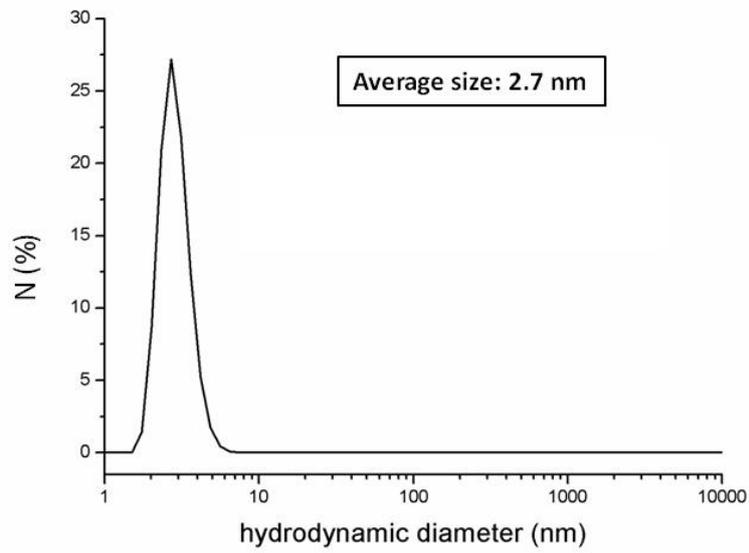


Abbildung 15: Hydrodynamische Durchmesser von Silber Nanoclustern mittels DLS bestimmt. Das Zetapotential wurde auf  $30\pm 2$  mV bestimmt.

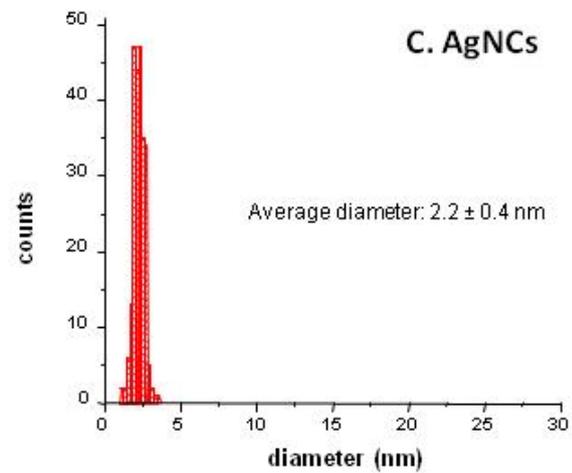
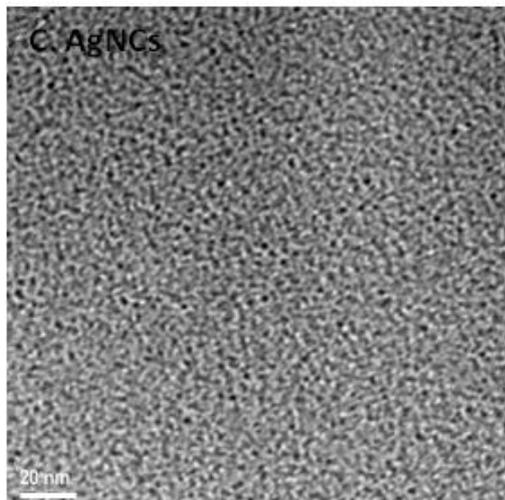
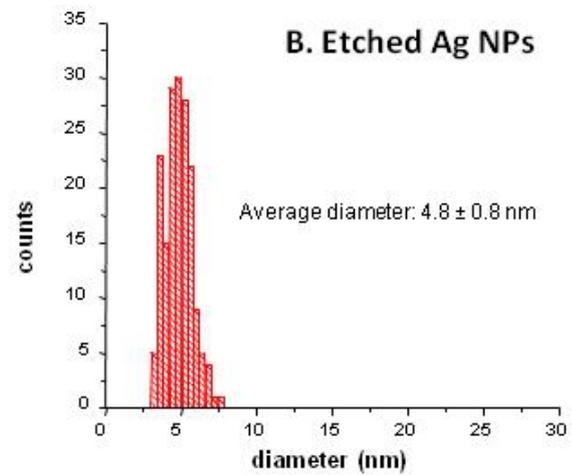
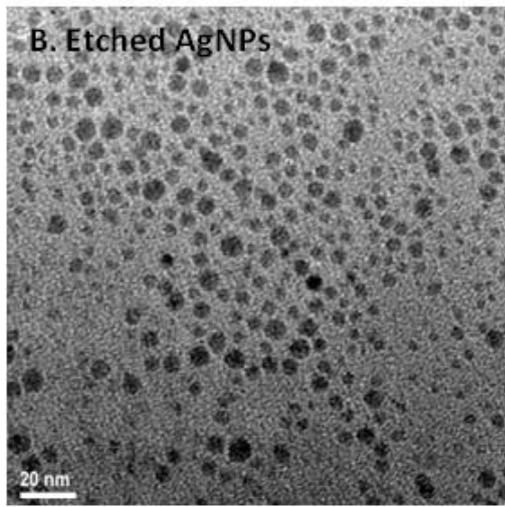
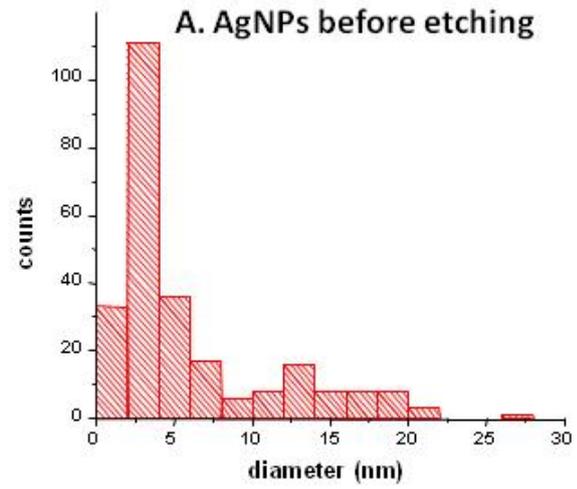
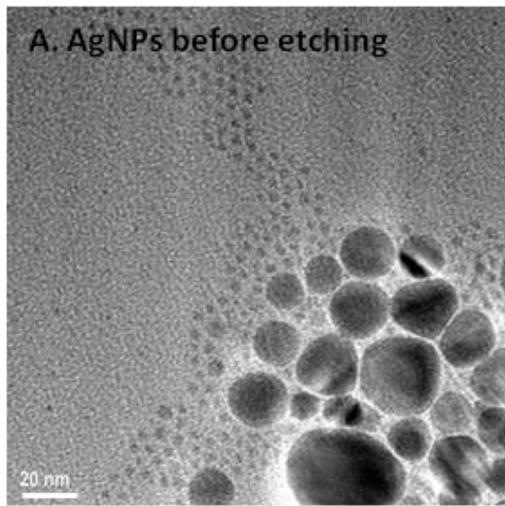


Abbildung 14: TEM Aufnahmen von Silber Nanopartikeln (A) und geätzten Silber Nanopartikeln (B) mit den dazugehörigen Größenverteilungen.

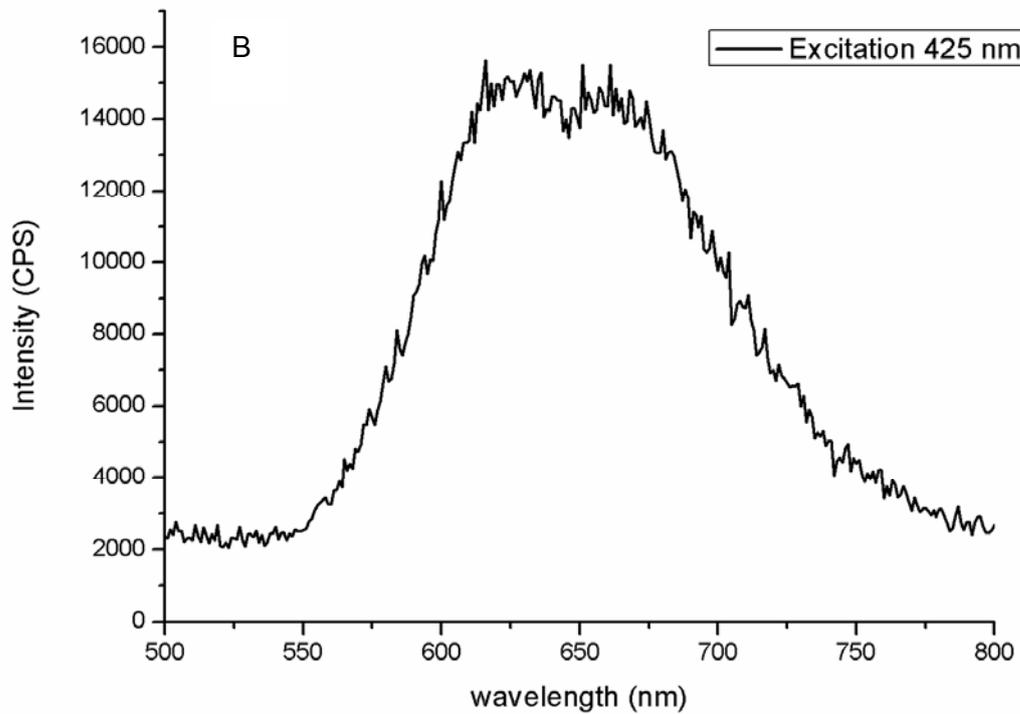
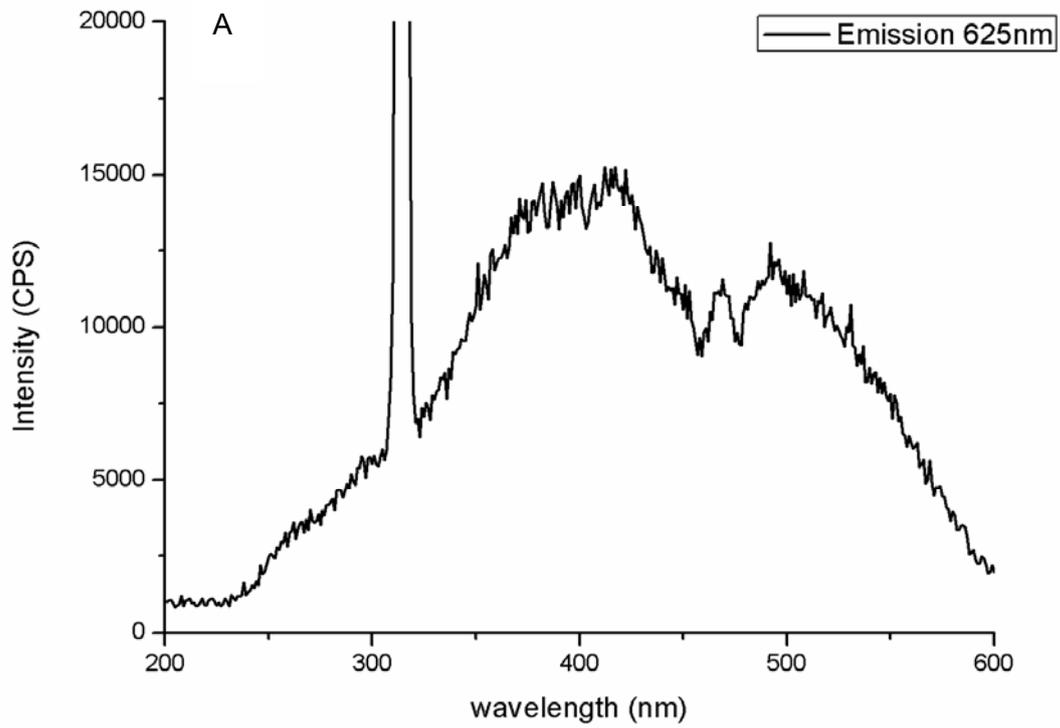


Abbildung 15: Extinktionsspektrum bei einer Emission von 625 nm (A) und Emissionsspektrum bei einer Anregungswellenlänge von 425 nm (B).

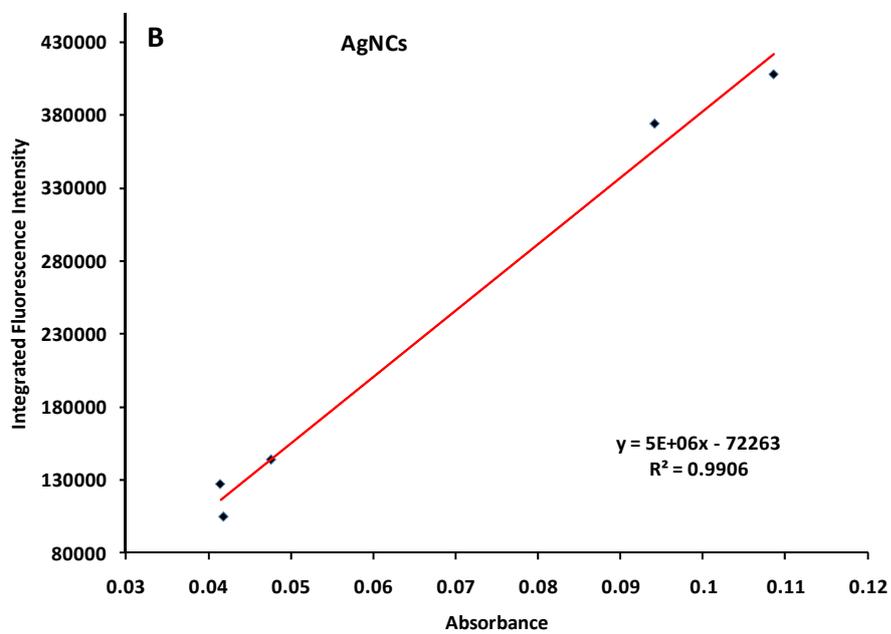
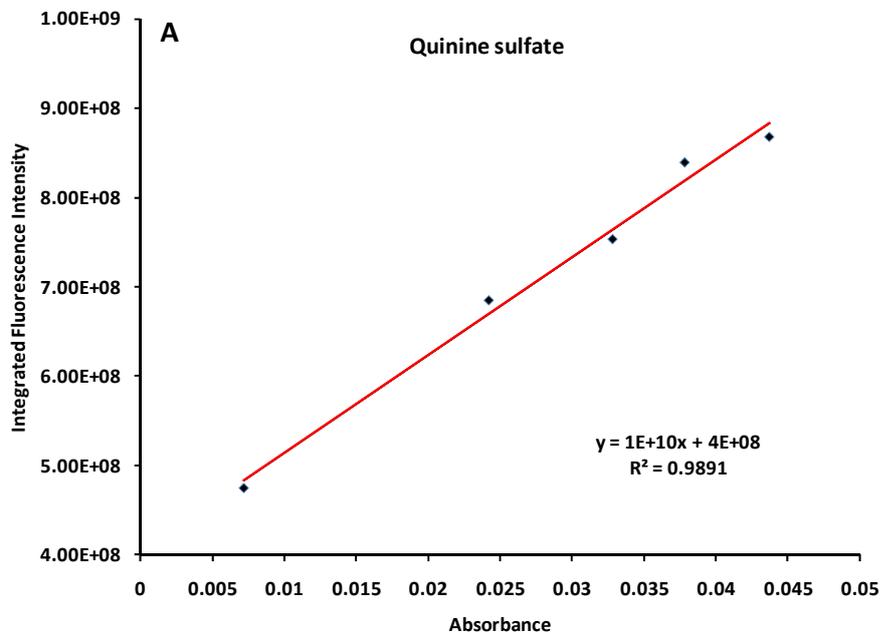


Abbildung 16: Fluoreszenz bei 410 nm gegen Absorption bei 410 nm zur Bestimmung der Quantenausbeute.

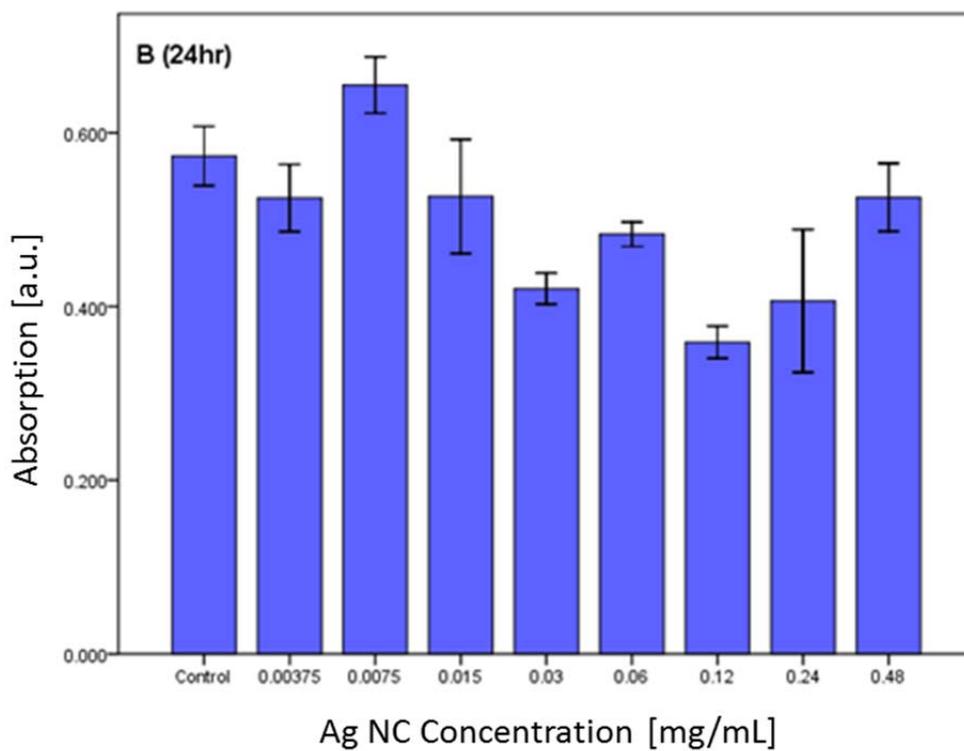
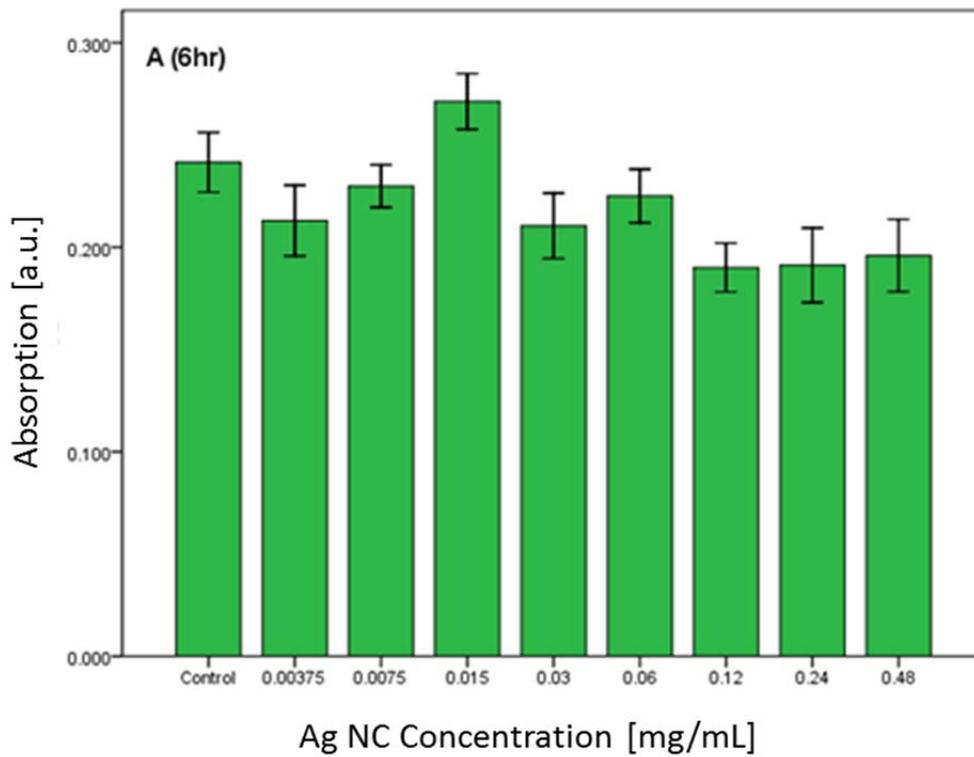


Abbildung 17: Cell viability assay using the CellTiter-Blue reagent with MCF-7 cells exposed to Ag NCs with serial dilutions for (A) 6 or (B) 24 hours. As read-out the OD at 570 nm is displayed. The results are represented as mean values  $\pm$  standard error of the mean and were analyzed statistically using one-way ANOVA followed by Scheffé's test using SPSS version 17.0 to establish the significance of any differences. The level of statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

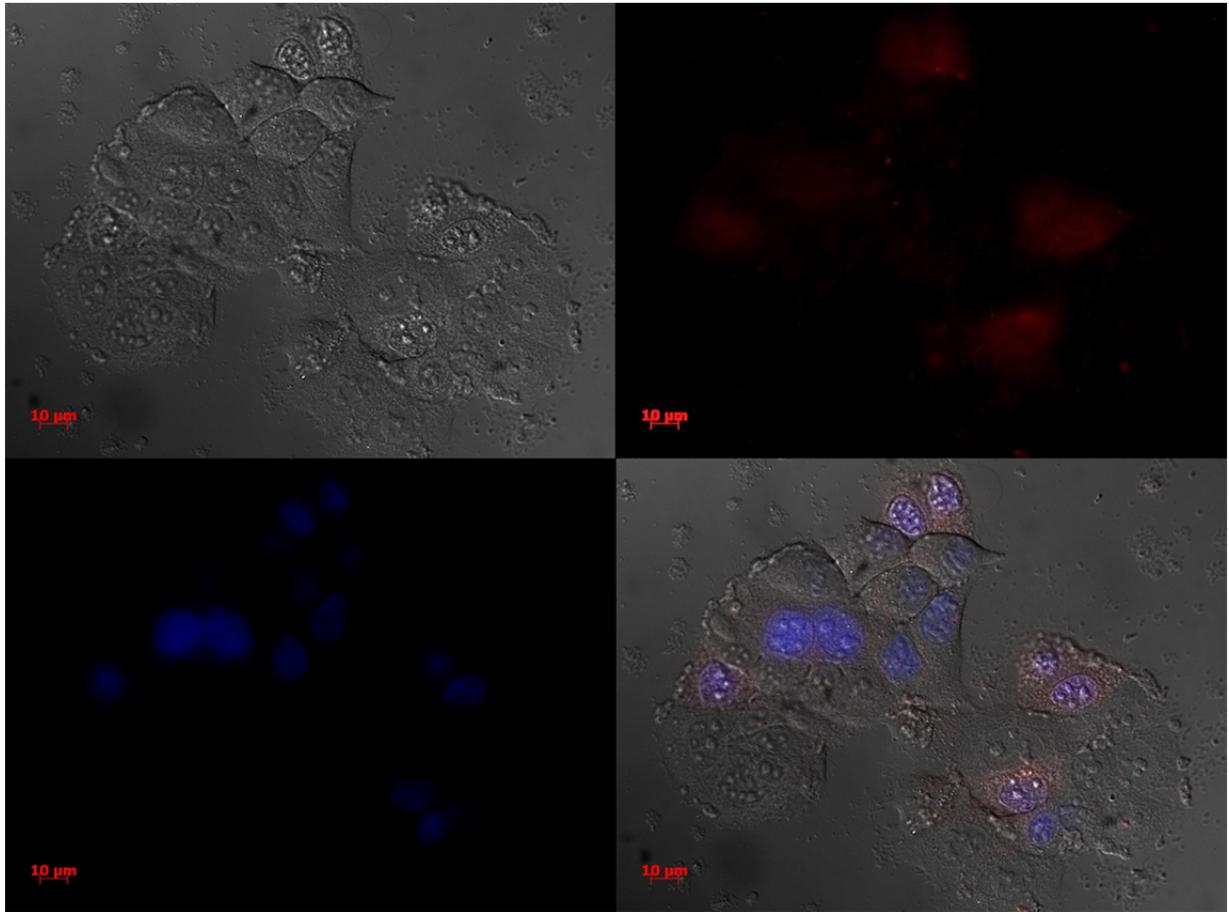


Abbildung 18: Fluorescence microscopy image of live MCF-7 cells after 6 hours of incubation with Ag NCs. (A) Differential interference contrast (DIC) image, (B) red fluorescence signal of Ag NCs, (C) blue fluorescence signal of Hoechst 33342, (D) merged picture of A, B, and C. Scale bars represent 10 µm.

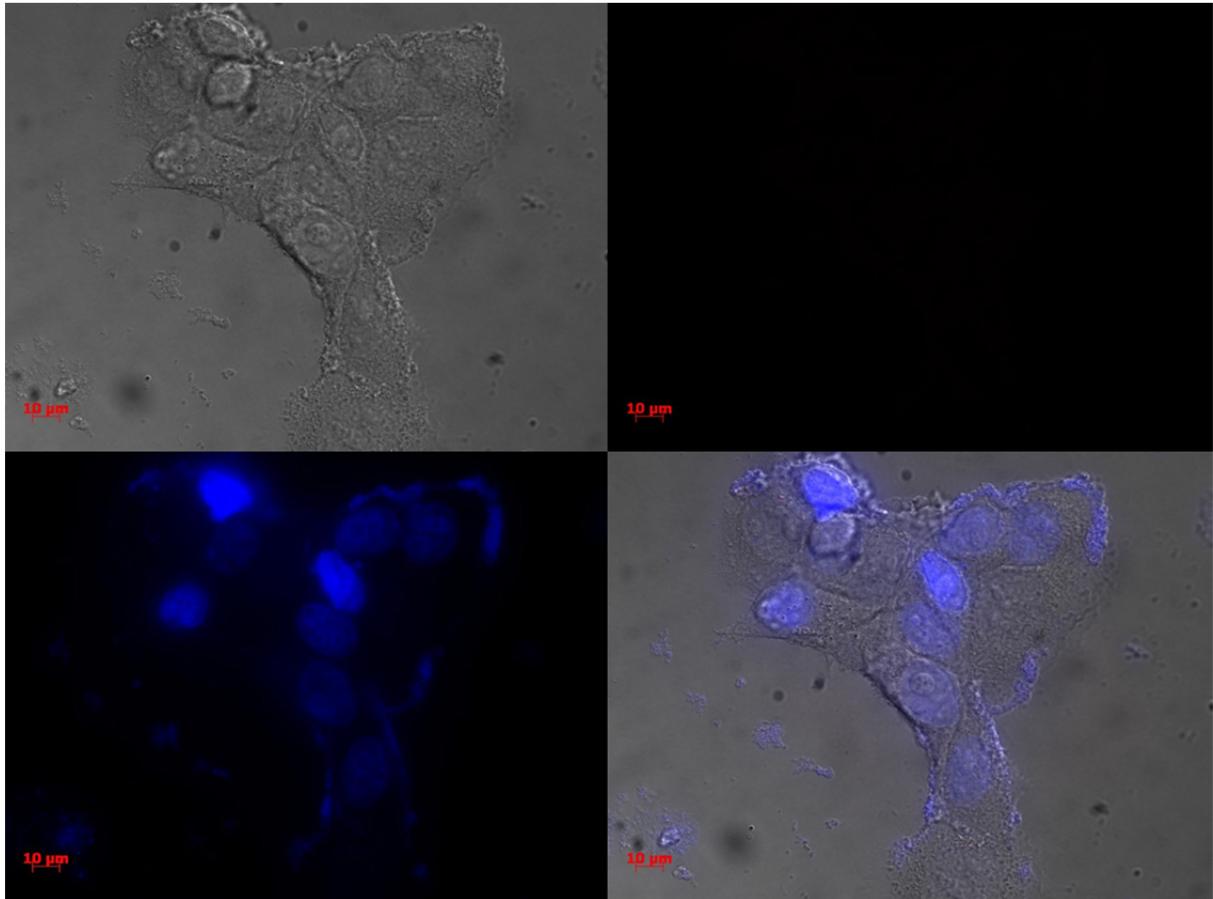


Abbildung 19: Fluorescence microscopy image of live MCF-7 cells without added Ag NCs as control. (A) Differential interference contrast (DIC) image, (B) red fluorescence signal, (C) blue fluorescence signal of Hoechst 33342, (D) merged picture of A, B, and C. Scale bars represent 10  $\mu\text{m}$ .

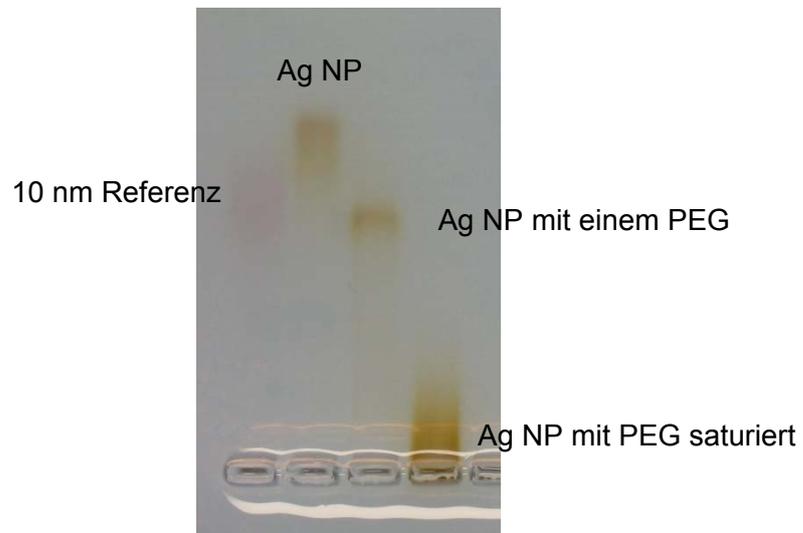


Abbildung 20: Vergleich der unterschiedliche Ag NP im Agarosegel.

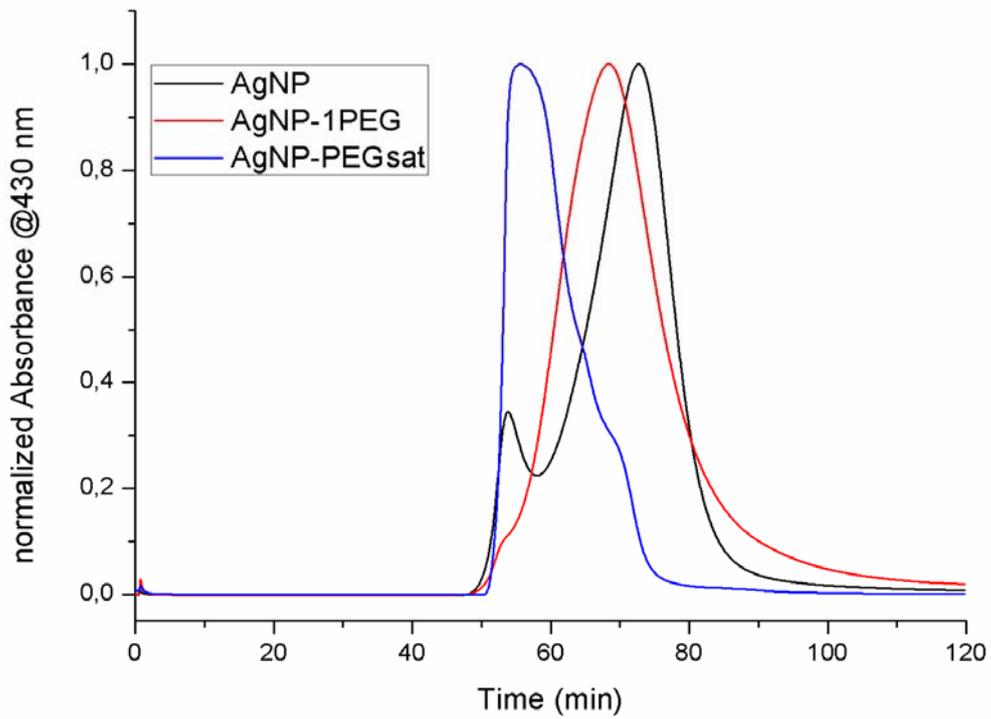


Abbildung 21: Vergleich der unterschiedlichen Ag NP bei der Aufreinigung mittels HPLC.

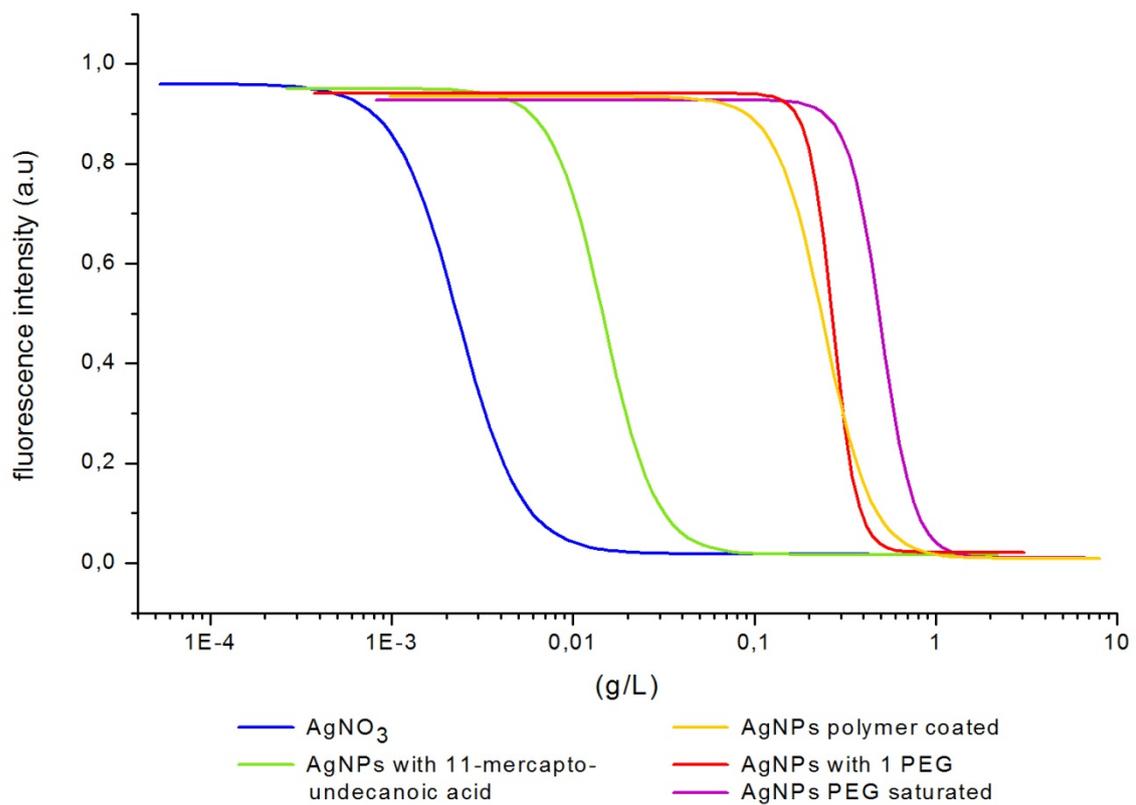


Abbildung 22: Toxizität der unterschiedlich modifizierten Ag NP.

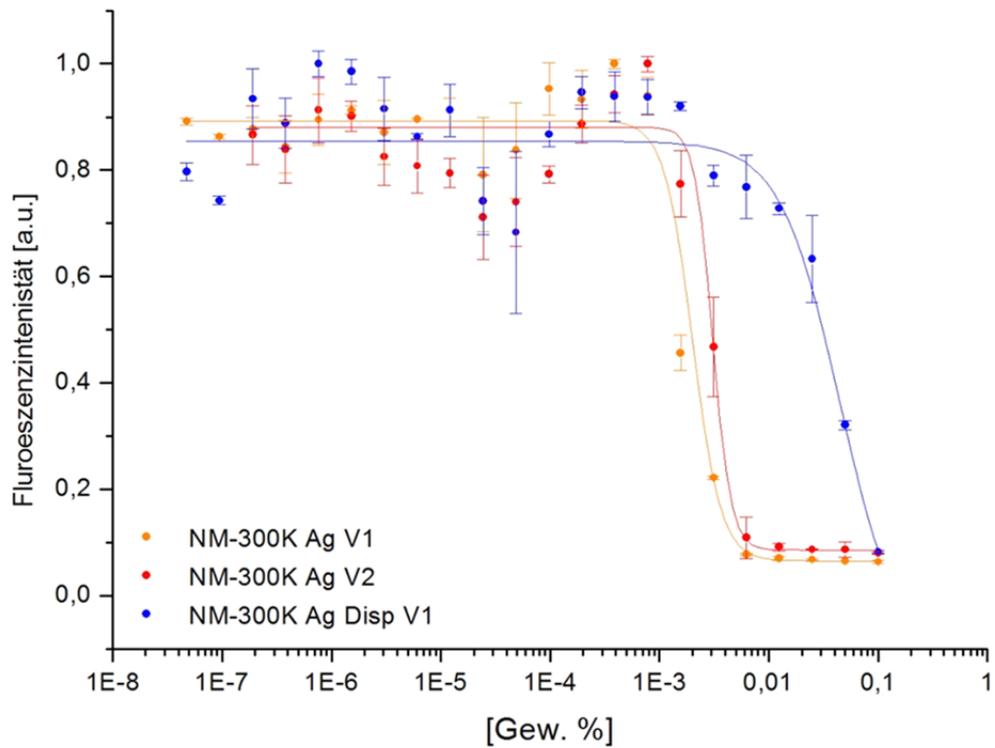


Abbildung 23: Ergebnis des Toxizitätstest von NM-300K. Der LC50 Wert für NM-300K liegt bei ca. 0,0025 gew.%. Der LC50 Wert des Dispersionsmediums liegt beica. 0,045 gew%.

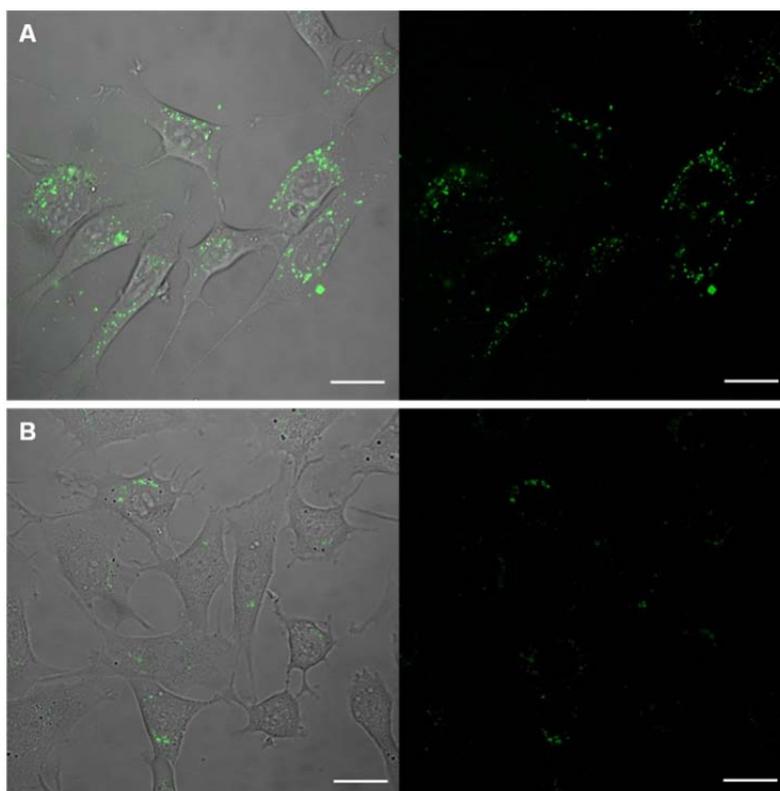


Abbildung 24: Aufnahme von Dy636-konjugierten Partikeln in 3T3-Zellen nach 15 Stunden. A) Polymer-beschichtete AgNP B) Polymer-beschichtete AgNP saturiert mit PEG. Der Balken entspricht 20  $\mu\text{m}$ .

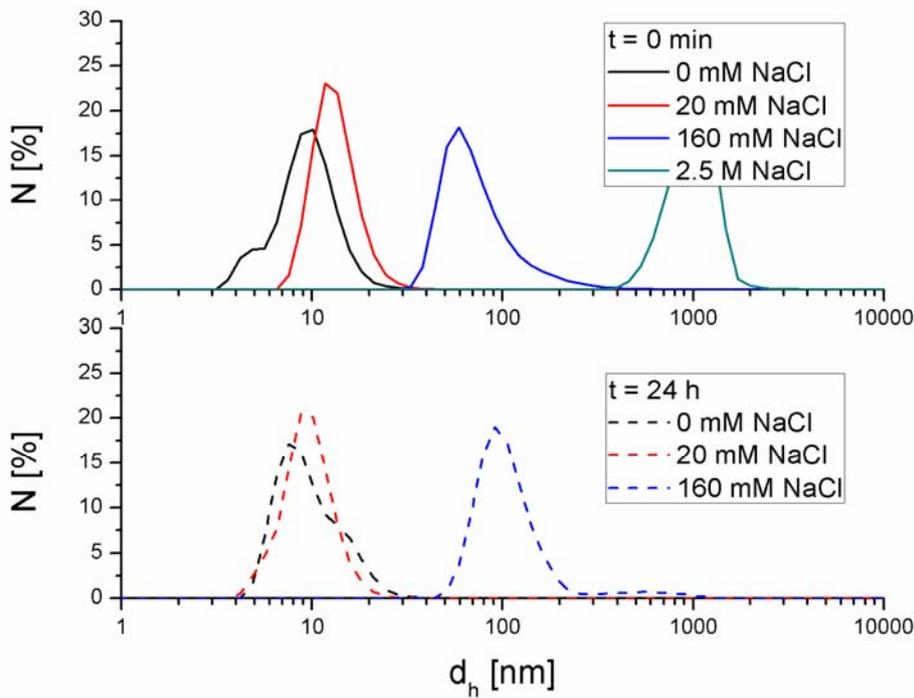


Abbildung 25: Probing of the colloidal stability of Ag-MUA NPs in solutions with different NaCl concentration via DLS. The number distribution  $N$  of the hydrodynamic diameter  $d_h$  is plotted after 1 h and 24 h exposure time. After 24 h the NPs which had been mixed with 2.5 M NaCl were completely agglomerated and precipitated.

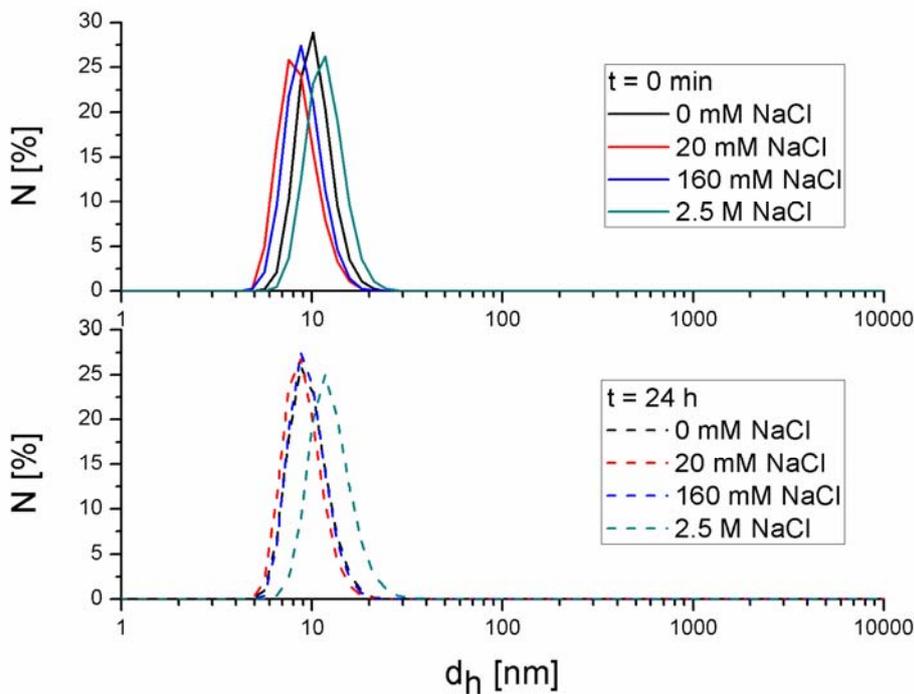


Abbildung 26: Probing of the colloidal stability of Ag-PMA NPs in solutions with different NaCl concentration via DLS. The number distribution  $N$  of the hydrodynamic diameter  $d_h$  is plotted after 1 h and 24 h exposure time.

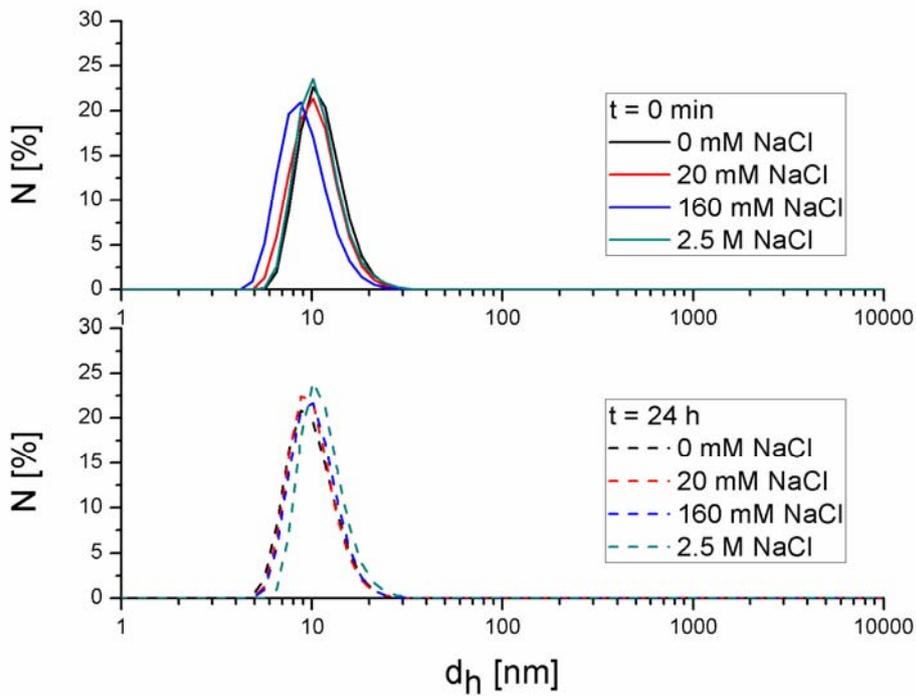


Abbildung 27: Probing of the colloidal stability of Ag-PMA-1PEG NPs in solutions with different NaCl concentration via DLS. The number distribution  $N$  of the hydrodynamic diameter  $d_h$  is plotted after 1 h and 24 h exposure time.

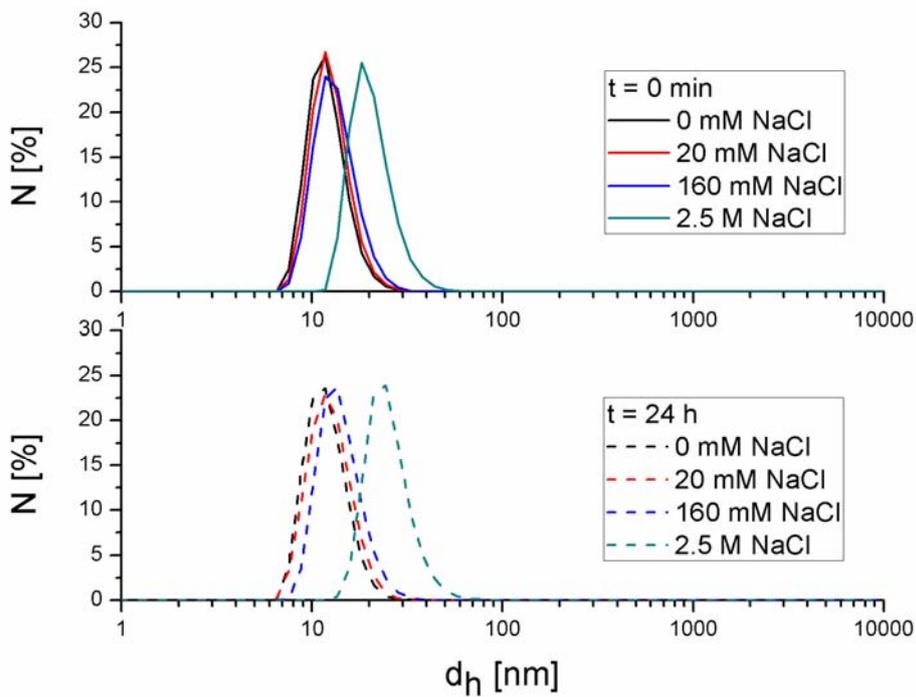


Abbildung 28: Probing of the colloidal stability of Ag-PMA-satPEG NPs in solutions with different NaCl concentration via DLS. The number distribution  $N$  of the hydrodynamic diameter  $d_h$  is plotted after 1 h and 24 h exposure time.

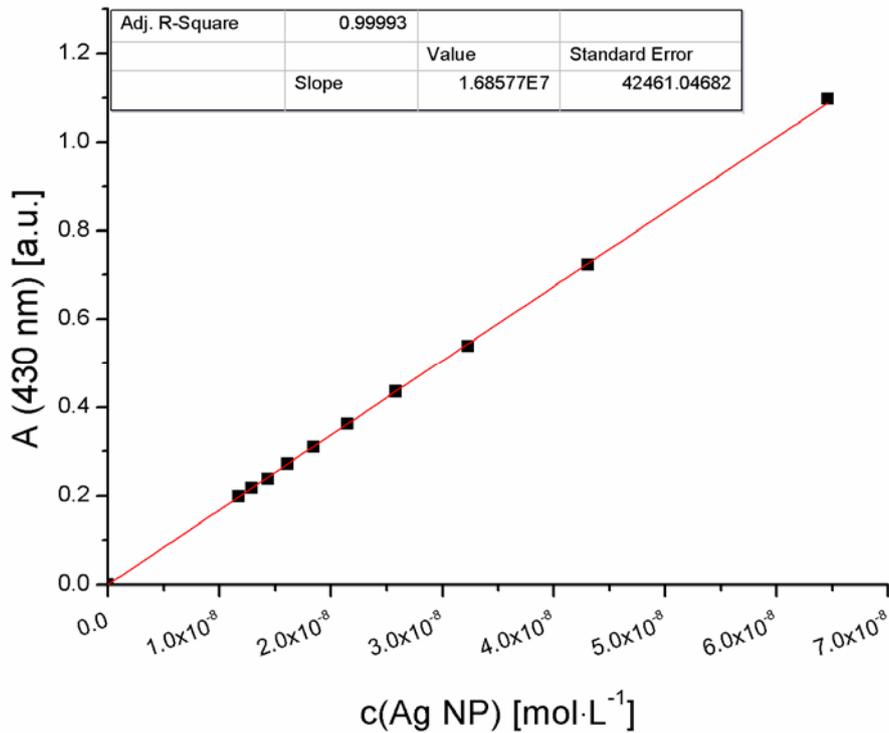


Abbildung 29: Absorption spectrum of Ag-PMA NPs plotted versus the concentration of Ag NPs  $c(\text{Ag NP})$ , which has been determined by ICP-MS.

Tabellen:

	LC <sub>50</sub> [mM]
AgNO <sub>3</sub>	0,022
AgNP mit 11-Mercapto-undecansäure	0,035
Polymer-beschichtete AgNP	0,568
Polymer-beschichtete AgNP mit einem 1 PEG	0,634
Polymer-beschichtete AgNP saturiert mit PEG	1,173

Tabelle 1: LC<sub>50</sub> Werte der unterschiedlichen Ag NP.

t = 0 h

$c(\text{NaCl})$	0 mM	20 mM	160 mM	2.5 M
<b>Ag-MUA</b>	11.23±4.4nm	13.54±4.2nm	93.48±63.9nm	1180±361nm
<b>Ag-PMA</b>	12.04±2.7nm	9.97±2.4nm	10.60±2.4nm	13.77±3.3nm
<b>Ag-PMA-IPEG</b>	13.22±3.8nm	12.36±3.8nm	10.87±3.5nm	12.88±3.9nm
<b>Ag-PMA-satPEG</b>	12.16±3.0nm	12.68±3.2nm	13.49±3.6nm	20.84±5.9nm

t = 24 h

$c(\text{NaCl})$	0 mM	20 mM	160 mM	2.5 M
<b>Ag-MUA</b>	11.91±5.2nm	11.46±3.9nm	122.3±42.1nm	→∞
<b>Ag-PMA</b>	11.27±2.8nm	10.52±2.5nm	11.19±2.6nm	14.82±4.1nm
<b>Ag-PMA-IPEG</b>	11.87±3.7nm	11.87±3.5nm	12.19±3.6nm	13.43±3.9nm
<b>Ag-PMA-satPEG</b>	12.09±3.2nm	12.67±3.4nm	14.26±3.9nm	25.64±7.6nm

Tabelle 2: Summary of mean hydrodynamic diameters  $d_h$  and their corresponding standard deviation, as derived from the data presented in Abbildungen 28, 29, 30, 31.

<i>Sample</i>	<i>Zeta potential [mV]</i>
<i>Ag-MUA</i>	-24.9
<i>Ag-PMA</i>	-31.0
<i>Ag-PMA-IPEG</i>	-41.1
<i>Ag-PMA-satPEG</i>	-10.9

Tabelle 3: Zeta potential values of the four different Ag NP samples

<b>Sample</b>	<b>released Ag (water): <math>c(\text{Ag}^+)/c_{\text{tot}}(\text{Ag})</math> [%]</b>		
	day 0	day 7	day 14
<b>Ag-MUA</b>	< 0.0015	< 0.0015	< 0.0015
<b>Ag-PMA</b>	< 0.0015	< 0.0015	$0.146 \pm 0.001$
<b>Ag-PMA-satPEG</b>	< 0.0015	< 0.0015	< 0.0015

<b>Sample</b>	<b>released Ag (pH 3): <math>c(\text{Ag}^+)/c_{\text{tot}}(\text{Ag})</math> [%]</b>	
	day 1	day 7
<b>Ag-MUA</b>	$0.781 \pm 0.002$	$1.316 \pm 0.002$
<b>Ag-PMA</b>	$1.120 \pm 0.004$	$1.390 \pm 0.003$
<b>Ag-PMA-satPEG</b>	$0.701 \pm 0.001$	$0.735 \pm 0.001$

Tabelle 4: The amount of released  $\text{Ag}^+$  ions  $c(\text{Ag}^+)/c_{\text{tot}}(\text{Ag})$ , in dependence on their exposure to water or acidic solution. At day 0 all residual  $\text{Ag}^+$  had been removed by ultrafiltration.

## II.2 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Alle Positionen sind in einem Beiblatt der Verwaltung des Fachbereichs Physik der Philipps Universität Marburg aufgelistet. Die wichtigste Position war eine Stelle für einen wissenschaftlichen Mitarbeiter. Die Arbeiten waren wie in Kapitel II.1 aufgelistet auf mehrere Personen verteilt. Die weitem Mittel wurden im wesentlichen für Verbrauchsmaterialien (Chemikalien, Zellkulturmedien) und Reisen zu Besprechungen und Konferenzen verwendet.

## II.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Das durchgeführte Forschungsvorhaben orientierte sich an dem im Antrag aufgeführten Arbeits-, Zeit- und Kostenplan. Das wissenschaftliche Risiko konnte eingegangen werden, da für dieses Forschungsvorhaben gezielt die Mittel seitens des BMBF zur Verfügung gestellt worden waren. Die im Antrag vorgegebenen Ziele (Vergleiche Kapitel I.3) wurden erreicht.

## II.4 Voraussichtlicher Nutzen im Sinne des Verwertungsplans

Diese Teilprojekt führte zu der wissenschaftlichen Aussage: Die gezielte Synthese und Charakterisierung von hoch definierten Nanopartikeln auch in unterschiedlichen Größen (insbesondere von Ag NP) kann durchgeführt werden. Die Toxizität dieser Partikel wiederum auf verschiedenste Zellkulturen läßt nur sehr bedingt eine allgemeine Aussage zu da diese sehr von verschiedensten Parametern (wie Material, Größe, Form) abhängig ist. Kolloidale Ag NP beispielsweise zeigten zwar eine geringere Toxizität als Silbersalze auf, erwiesen sich jedoch in Relation zu den real gelösten Silberionen als toxischer als die Silbersalze aufgrund der erhöhten Aufnahme von Zellen und der damit verbundenen Freisetzung der Ionen im Inneren der Zelle von Ag NP im Vergleich zu Silbersalzen. Die Aufnahme der Partikel

allerdings und somit auch die Toxizität der Partikel korreliert mit der Stabilität und der Oberflächenchemie der Partikel. Diese und weitere Aussagen und Erkenntnisse wurden in diversen Veröffentlichungen anderen Interessenten zur Verfügung gestellt (siehe Kapitel II.6).

## **II.5 Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt bei anderen Stellen**

Im Laufe des Projektzeitraums wurden mehrere interessante Artikel über Ag-NP und deren Toxikologischen Wirkungen veröffentlicht. Hierzu zählen unter anderem die Review Artikel von: Marambio-Jones C, Hoek "A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment" *Journal of Nanoparticle Research* 12, 1531-1551 (2010); Banerjee I., Pangule R.C., Kane R.S. "Antifouling coatings: Recent developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria and marine organisms" *Advanced Materials* 23, 690-718 (2011); Dastjerdi R., Montazer M. "A review of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: Focus on anti-microbial properties" *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces* 39, 3115-3141 (2010).

## **II.6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses**

Die Ergebnisse dieses Projektes wurden in verschiedener Weise veröffentlicht. Zum einen in Abschlußarbeiten. Dazu gehören

### **1 Bachelorarbeit:**

- Hollmann J. Comparison of Colloidal Silver Nanoparticles Under Two Different Syntheses im Fachbereich Physik, 2011, Philipps Universität Marburg

### **1 Masterarbeit:**

Kastl L. Wechselwirkung von kolloidalen Nano- und Mikrosystemen mit Säugerzellen im Fachbereich Biologie, 2012, Philipps Universität Marburg, 1 Dissertation: Pfeiffer C. Silver nanoparticles – From the synthesis to the biological application im Fachbereich Physik, 2013, Philipps Universität Marburg.

**1 Doktorarbeit:** Christian Pfeiffer, wird gerade eingereicht, die Prüfung hat noch nicht stattgefunden

Des Weiteren **10 Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Journalen:**

- i) S. J. Soenen, P. Rivera Gil, J.-M. Montenegro, W. J. Parak; S. C. De Smedt, K. Braeckmans, "Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation", *NanoToday* 6, 446-465 (2011)
- ii) S. Huang, C. Pfeiffer, J. Hollmann, S. Friede, J. J. C. Chen, A. Beyer, K. Volz, W. Heimbrodt, J. M. Montenegro Martos, W. Chang, W. J. Parak, "Synthesis and characterization of colloidal fluorescent silver nanoclusters", *Langmuir* 28, 8915-8918 (2012)
- iii) M. J. Hajipour, K. M. Fromm, A. A. Ashkarran, D. Jimenez de Aberasturi, I. Ruiz de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W. J. Parak, M. Mahmoudi, "Antibacterial properties of Nanoparticles", *Trends in Biotechnology* 30, 499 - 511 (2012)
- iv) R. di Corato, D. Palumberi, R. Marotta, M. Scotto, S. Carregal-Romero, P. Rivera Gil, W. J. Parak, T. Pellegrino, "Magnetic nanobeads decorated with silver nanoparticles as cytotoxic agents and photothermal probes", *SMALL* 8, 2731-2742 (2012)
- v) K. van Hoecke, Karen, K. A. C. de Schampelaere; Z. Ali, F. Zhang, A. Elsaesser, P. Rivera Gil, W. J. Parak, G. Smagghe, C. V. Howard, C. R. Janssen, "Ecotoxicity and uptake of polymer coated gold nanoparticles ", *Nanotoxicology* 7, 37-47 (2013)
- vi) S. Ashraf, A. Z. Abbasi, C. Pfeiffer, S. Z. Hussain, Z. M. Khalid, P. Rivera Gil, W. J. Parak, I. Hussain, "Protein-mediated synthesis, pH-induced reversible agglomeration, toxicity

and cellular interaction of silver nanoparticles", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 102, 511-518 (2013)

vii) P. Rivera Gil, D. Jimenez de Aberasturi, V. Wulf, B. Pelaz, P. del Pino, Y. Zhao, J. de la Fuente, I. Ruiz de Larramendi, T. Rojo, X.-J. Liang, W. J. Parak, "The Challenge To Relate the Physicochemical Properties of Colloidal Nanoparticles to Their Cytotoxicity", *Account of Chemical Research* 46, 743–749 (2013)

viii) B. Fadeel, N. Feliu, C. Vogt, A. M. Abdelmonem, W. J. Parak, "Bridge over troubled waters: understanding the synthetic and biological identities of engineered nanomaterials", *WIREs Nanomedicine & Nanobiotechnology* 5, 111-129 (2013)

ix) B. Pelaz, G. Charron, C. Pfeiffer, Y. L. Zhao, J. M. de la Fuente, X.-J. Liang, W. J. Parak, P. del Pino, "Interfacing Engineered Nanoparticles with Biological Systems: Anticipating Adverse NanoBio Interactions", *SMALL* 9, 1573-1584 (2013)

x) E. Caballero-Díaz, C. Pfeiffer, L. Kastl, P. Rivera-Gil, B. Simonet, M. Valcárcel, J. Jiménez-Lamana, F. Laborda, W. J. Parak, "The toxicity of silver nanoparticles depends on their uptake by cells and thus on their surface chemistry", *Particle and Particle systems characterization* accepted (2013).

Die Ergebnisse wurden weiterhin in Form von **Vorträgen und Postern** auf verschiedenen nationalen und internationalen Konferenzen mit Erfolg vorgestellt (siehe Anhang bei Auflistung der Dienstreisen).

### **III Kurz gefaßter Erfolgskontrollbericht**

#### **III.1 Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen**

Wir standen innerhalb des Gesamtprojektes in intensiver Zusammenarbeit mit 3 der anderen Projektpartnern, der Gruppe von Prof. Dr. Michael Stintz (Technische Universität Dresden, TUDr), der Gruppe von Prof. Dr. Lutz Mädler (Stiftung Institut für Werkstofftechnik, IWT) und der Gruppe von Prof. Jörg Thöming (Verfahrenstechnik der Werkstoffrückgewinnung, VdW). Wir haben Proben von verschiedenen Nanopartikeln aller Gruppen charakterisiert. Wir waren maßgeblich an der Synthese und der Charakterisierung der Ag NP und diverser andere Nanopartikel beteiligt und verantwortlich.

#### **III.2 Wissenschaftlich-technische Ergebnisse**

Die wissenschaftlichen Ergebnisse sind im Detail in Kapitel I.3 beschrieben. Zusammengefaßt wurde in diesem Projekt folgendes erreicht:

- Die Synthese von rot fluoreszierenden Silber Nanoclustern (~2 nm Durchmesser)
- Die Synthese von hydrophoben Silber Nanopartikeln (~4 nm Durchmesser) und die Überführung der Partikel in die wäßrige Phase mittels Beschichtung mit einem amphiphilen Polymer
- Die definierte Modifizierung der Partikel mit Farbstoff und/oder Polymer
- Die Untersuchung dieser und weiterer Nanopartikel bezüglich ihrer Toxizität in unterschiedlichen Zellkulturen

#### **III.3 Fortschreibung des Verwertungsplans**

Es wurden bisher keine Erfindungen bzw. Schutzrechtsanmeldungen gemacht und keine Schutzrechte erteilt oder in Anspruch genommen. Direkte wirtschaftliche Erfolgsaussichten für die Philipps Universität Marburg waren nicht geplant und haben sich nicht ergeben, da die Rolle dieses Projektpartners eine Zulieferrollen von Materialien und Wissen an die anderen Projektpartner war. Durch die Charakterisierung der Partikel innerhalb von UMSICHT sollte allerdings für die industriellen Projektpartner ein Wissensgewinn erfolgt sein, da diese jetzt besser die Eigenschaften ihrer Partikel erkennen. Wissenschaftliche war das Projekt für die Philipps Universität Marburg ein voller Erfolg. Es wurden für ein derartiges Projekt überproportional viele Publikationen, teilweise in extrem hoch angesiedelten Zeitschriften erzieht. Damit konnte sich die Philipps Universität Marburg als Organisation für die Charakterisierung von Nanomaterialien etablieren. Auch Anschlussfähigkeit dieser Forschung bezogen auf die Philipps Universität Marburg ist gegeben. Teilweise unter Verwendung des bei UMSICHT erzielten Wissens konnte ein neues EU-Projekt eingeworben werden ("Future Nano, Koordination Prof. Kenneth Dawson, Dublin), welches sich zur Zeit in der Verhandlungsphase befindet. Weiterhin wurden basierend auf den in UMSICHT gewonnenen Resultaten zwei neue BMBF Projekte eingereicht, über deren Förderung derzeit entschieden wird. UMSICHT hat damit den Kern für neue Projekte an der Philipps Universität Marburg gelegt.

#### **III.4 Arbeiten die zu keiner Lösung geführt haben**

Die Arbeiten wurden wie im Antrag beschrieben durchgeführt. Es gab keine wesentlichen Abweichungen von diesem Plan und die Teilschritte wurden jeweils erzielt.

### **III.5 Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer**

Herr Christian Pfeiffer hat seine Ergebnisse bereits auf einer internationalen Konferenz (7. – 11.05.2012 Nanax 5 in Fuengirola, Spanien) präsentiert. Im Laufe des Projektes wurden regelmäßige Treffen mit den Projektpartnern durchgeführt, so daß diese immer Zugriff auf die Ergebnisse hatten. Auch wurden die Ergebnisse regelmäßig auf den BMBF Clustertreffen in Frankfurt präsentiert und einem interessierten Fachpublikum zugänglich gemacht. Auch wurden die Ergebnisse in mehreren Veröffentlichungen einer breiten Öffentlichkeit vorgestellt. Eine Liste der durchgeführten Präsentationen ist im Anhang beigefügt.

## **Anhang: Am Projekt beteiligte Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Parak**

Prof. Dr. Wolfgang Parak: Projektkoordination und Projektleitung

Dipl. Chem. Christian Pfeiffer: Projektmanagement, Koordination des Austausches mit anderen Gruppen, Erstellung des Abschlußberichts, verantwortlich für die Partikelsynthese (Ag und Au als Vergleichsmaterial), Oberflächenmodifikation von Partikeln, Partikelcharakterisierung (DLS, TEM, HPLC, Gelelektrophorese, etc.). Herr Christian Pfeiffer hat im Rahmen von Umsicht seine Dissertation angefertigt.

Jana Hollmann: Synthese ultrakleiner Silbernanopartikel (Cluster).

Dipl. Chem. Encarnacion Caballero: Zytotoxizitätsmessungen.

Dipl. Biol. Lena Kastl: Zytotoxizitätsmessungen.

Dipl. Phys. Dominik Hühn: Mithilfe bei der Oberflächenbeschichtung der Nanopartikel.

Dr. Markus Ochs: Mithilfe bei zur Untersuchung der Wechselwirkung von Nanopartikeln mit Zellen und zu Zytotoxizitätsmessungen.

Dipl. Chem Dorleta Jimenez de Aberasturi: Mithilfe bei Zytotoxizitätsmessungen.

Dr. Jose Maria Montenegros: wissenschaftliche Betreuung von Herrn Pfeiffer und Frau Hollmann im Bereich der Partikelsynthese.

Dr. Pilar Rivera Gil: Betreuung der Zytotoxizitätsmessungen.

Dr. Susanna Carregal Romero: Betreuung der Messungen zur Wechselwirkung von Partikeln mit Zellen.

Dr. Sumaira Ashraf: Mithilfe bei der Partikelsynthese.

## **Anhang: Auflistung der im Rahmen von Umsicht getätigten Reisen**

1+2) Reise von Prof. Dr. Wolfgang Parak und Christian Pfeiffer vom 09.06.2010 – 10.06.2010 nach Bremen zum Kick-off meeting von BMBF UMSICHT

Bei dieser Reise handelte es sich um das erste offizielle meeting der UMSICHT Projektpartner. Hierbei wurde unter anderem der genaue Zeitplan erläutert und erste Kontakte zwischen bis dato unbekanntem Projektpartnern konnten geknüpft werden. Aus diesem Grund war auch Herr Pfeiffer Teilnehmer dieser Reise.

3) Reise von Faheem Amin am 30.08.2010 nach Brüssel

Auf dieser Reise nahm Herr Amin an einem Meeting mit mehreren internationalen Kooperationspartnern teil. Unter diesen Partnern waren unter anderem Vertreter der Universität Genf, der Universität Dublin und TU Braunschweig. Hierbei wurden verschiedene biomedizinische Anwendungen unterschiedlicher Nanopartikel besprochen wobei ein besonderes Augenmerk auf die Charakterisierung von Nanopartikeln und deren Toxizität gelegt wurde. Durch diese Reise konnten Erkenntnisse für das Projekt UMSICHT gewonnen

4) Reise von Prof. Dr. Wolfgang Parak vom 11.08.2010 – 23.08.2010 nach München

Diese Reise diente gleich mehreren Zwecken. Zunächst wurde das UMSICHT Projekt bei drei Firmen (Nanoion, Nanotemper, Nanostove) vorgestellt und erläutert, um ein Interesse zu wecken und evtl. Kooperationen zu starten. Anschließend wurde ein Treffen mit Prof. Dr. Hermann Gaub an der LMU München abgehalten. Herr Prof. Gaub ist einer der führenden Wissenschaftler auf dem Feld der Biophysik. Hierbei wurden mögliche Kooperationsmöglichkeiten besprochen.

5) Reise von Dr. Susana Carregal Romero vom 23.08.2010 – 29.08.2010 nach Zürich zur Konferenz „NanoBio“

Auf dieser Konferenz waren unter anderem die Themen „NanoBio Materials“ und „Nanotoxicology“ von großer Bedeutung. Diese Themen stellen auch einen wichtigen Teil der Arbeiten im UMSICHT Projekt dar. Daher war die Teilnahme von Frau Carregal Romero erwünscht, um Neuigkeiten auf diesen und anderen Themen zu erfahren und auszutauschen. (Details siehe Reisebericht)

6) Reise von Zulqurnain Ali am 06.01.2011 nach Potsdam

Auf dieser Reise traf sich Herr Ali mit mehreren internationalen Kooperationspartnern. Zu diesen Partnern gehörten unter anderem Vertreter des Fraunhofer IAP Potsdam, der CNRS Strasbourg, der Hebräischen Universität Jerusalem und der Universität Paris-Süd 11. Hierbei waren biomedizinische Anwendungen von unterschiedlichen Nanopartikeln ein wichtiger Themenpunkt. Die Charakterisierung und die Untersuchung der Toxizität der Partikel waren dabei von besonderer Bedeutung. Aufgrund der Einbeziehung der in dieser Reise gewonnenen Erkenntnisse anderer Projekte konnte eine Zeitersparnis für das Projekt UMSICHT erzielt werden.

7) Reise von Christian Pfeiffer vom 21.02.2011 – 22.02.2011 nach Dresden

Bei dieser Reise handelte es sich um ein Treffen mit dem Projektpartnern der TuDr und der VdW. Bei diesem Treffen wurden Details der weiteren Zusammenarbeit besprochen und offene Fragen geklärt. Auch wurden Partikelproben ausgetauscht welche zur Validierung der unterschiedlichen Meßinstrumente in den unterschiedlichen Labors dienten.

8) Reise von Christian Pfeiffer vom 10.05.2011 – 11.05.2011 nach Frankfurt (Main)

Diese Reise diente gleich zwei Zielen. Erstens wurde im Vorfeld des BMBF Clustertreffens NanoCare-NanoNature ein Verbundtreffen der UMSICHT Projektpartner abgehalten. Hierbei wurden Ergebnisse vorgestellt, Probleme besprochen und das weitere Vorgehen geplant. Zudem wurden die Ergebnisse im Zuge des Clustertreffens vorgestellt in Form eines Posters.

9) Reise von Markus Ochs vom 19.06.2011 – 22.06.2011 nach Weimar zur Konferenz „bbmec2011“

Hierbei handelte es sich um eine Teilnahme an einem Workshop „(Bio)sensors and biolanalytical microtechniques in environmental and clinical analysis“. Herr Ochs sammelte dabei neue Erfahrungen über die neuesten Errungenschaften auf diesem Gebiet und wie diese evtl. für das UMSICHT Projekt genutzt werden könnten.

10) Reise von Christian Pfeiffer vom 28.06.2011 – 29.06.2011 nach Hannover

Hierbei handelte es sich um eine Reise zum Verbundtreffen der UMSICHT Projektpartner. Dort erläuterte Herr Pfeiffer den anderen Projektpartnern die genaue Verwendungsweise und Funktion eines HPLC Systems. Auch wurden erneut die Forschungsergebnisse vorgestellt, offene Fragen beantwortet und das weitere Vorgehen besprochen. Außerdem konnte der Projektpartner BGR seine Labors vorstellen wodurch ein besseres Verständnis der Untersuchungen des Projektpartners gewährleistet wurde.

11) Reise von Dominik Hühn vom 13.11.2011 – 17.11.2011 nach Montreux zur Konferenz Nanobiotech 2011

Herr Hühn präsentierte auf dieser Konferenz einige Ergebnisse. Hierbei handelte es sich um eine allgemeine Nanotechnologie Konferenz. (Details siehe Reisebericht)

12) Reise von Markus Ochs vom 05.12.2011 – 07.12.2011 nach Dresden zur Teilnahme am „10. Dresdner Sensor Symposium“

Herr Ochs nahm an diesem Symposium teil, um Neuigkeiten auf dem Feld der Sensoren zu erlangen, die evtl. nützlich für das Vorgehen im UMSICHT Projekt sein könnten. Hierbei waren vor allem die Neuigkeiten in der Sensortechnik bei der Wasserqualität von Bedeutung.

13) Reise von Markus Ochs vom 21.02.2012 – 24.02.2012 nach Gent

Auf dieser Reise besuchte Herr Ochs die Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Kevin Braeckmans. Hierbei erlernte er Standard-Methoden zur Charakterisierung von Zellkulturen.

#### 14) Reise von Christian Pfeiffer vom 26.09.2012 – 28.09.2012 nach Dresden

Hierbei handelte es sich um eine Reise zum Verbundtreffen der UMSICHT Projektpartner. Erneut wurden die Ergebnisse vorgestellt und besprochen. Da dieses Treffen bereits gegen Ende des Projektes stattfand wurden die letzten offenen Fragen geklärt und die finalen Ziele festgelegt.

## **Reisebericht zur Reise von Faheem Amin am 30.08.2010 nach Brüssel**

Die Reise wurde angetreten, um an einem Meeting mit internationalen Kooperationspartnern (siehe Liste) teilzunehmen. Thema dieses Meetings war die biomedizinische Anwendung von verschiedenen Nanopartikeln. Dabei spielte die Untersuchung der Toxizität eine bedeutende Rolle. Die Reise wurde gemacht, um Erkenntnisse für UMSICHT in diesen Themen zu gewinnen. Auf dem Meeting wurden besonders Diskussionen geführt wie Partikel charakterisiert und deren Toxizität gemessen werden können. Diese Diskussionen führten zu einer Zeitersparnis für das UMSICHT Projekt, da Ergebnisse anderer Partner und Projekte in die Arbeiten von UMSICHT einbezogen werden konnten.

Die beteiligten Kooperationspartner waren:

- Trinity College Dublin (School of Medicine, School of Physics, School of Chemistry and CRANN)
- nanoGUNE Consolider (Nano-Biotechnology Group)
- Austrian Institute of Technology GmbH (Nano System group)
- Université de Genève GAP-Biophotonics
- University College Dublin (UCD) National University of Ireland, Dublin (Centre for BioNano Interactions)
- INSERM - Antibody Therapeutics and Immunotargeting (ATI), U624 INSERM, Marseille
- Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse (INSAT) –( Laboratoire de Physique et Chimie des Nano-objets (LPCNO) laboratory)
- Technical University BraunSchweig (Institute of Electrical Measurement and Fundamental Electrical Engineering)
- Ecole Polytechnique Federale de Lausanne (ISIC)
- Université de Savoie, Polytech'Savoie (Laboratoire SYMME)
- MPG, Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaft e.V. Gottingen (Dept. of Molecular Biology of Neuronal Signals)

## **Reisebericht zur Reise von Dr. Susana Carregal Romero vom 23.08.2010 – 29.08.2010 nach Zürich zur Konferenz „NanoBio“**

Auf dieser Reise stellte Frau Carregal Romero wissenschaftliche Ergebnisse in Form eines Posters auf einer internationalen Fachkonferenz dar. Hierbei wurden Nanopartikel in die Hülle von Mikrokapseln eingebettet. Diese Kapseln können mit unterschiedlichsten Materialien beladen werden z.B. Farbstoffe, Medikamente uvm.. Anschließend können diese Kapseln von Zellen aufgenommen werden und die Kapseln gezielt im Inneren der Zellen geöffnet werden. Hierzu nutzt man die Eigenschaft der Partikel, dass Sie bei der Bestrahlung mit einer bestimmten Wellenlänge Wärme produzieren. Diese Wärme wird genutzt, um die Polymerhülle der Kapseln zu zerstören und somit das Innere der Kapseln gezielt frei zu setzen.

Um Partikel für die beschriebene Anwendung zu verwenden bedarf es diverser Eigenschaften bzw. Bedingungen die die Partikel erfüllen müssen und welche zunächst untersucht werden müssen. Zunächst ist das Material der Partikel von Bedeutung. Gold ist hierbei ein bereits etabliertes Material aber auch die Verwendung von Silber ist möglich. Auch die Form und die Größe der Partikel spielen eine entscheidende Rolle da diese die Absorption und die damit einhergehende Wärmeentwicklung der Partikel beeinflussen. Auch die Stabilität der verwendeten Partikel ist wichtig da auch diese die Absorption im Falle der Aggregation der Partikel beeinflusst. Daher müssen die Partikel vor der Verwendung in Polymermikrokapseln zunächst ausführlich und möglichst detailliert untersucht und charakterisiert werden. Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Toxizität der verwendeten Partikel. Da diese nach der Öffnung der Mikrokapsel im Inneren der Zelle verweilen, ist eine genaue Kenntnis der toxischen Wirkung der verwendeten Partikel von Bedeutung. Je nach verwendeten Nanopartikel kann somit gewollt oder ungewollt Einfluss auf die Viabilität der Zellen genommen werden. Somit ist auch hier eine genaue Kenntnis der Wirkung der Nanopartikel auf die Zellen Voraussetzung und muss zunächst untersucht werden. All diese beschriebenen Bedingungen und Eigenschaften sind Grundvoraussetzungen welche im Projekt UMSICHT untersucht und erläutert werden.

Frau Dr. Carregal Romero ist im Projekt UMSICHT zusammen mit Frau Dr. Rivera Gil verantwortlich für die Betreuung der Zytotoxizitätsassays. Auf der Konferenz hatte Frau Dr. Caregal Romero die Möglichkeit sich mit anderen anwesenden Wissenschaftlern auszutauschen und damit neue Erkenntnisse in diesem und anderen Feldern zu sammeln. Diese leitete Sie nach der Reise an die beteiligten Mitarbeiter (namentlich: Frau Caballero, Frau Kastl, Frau Jimenez de Aberasturi und Frau Dr. Rivera Gil) weiter. Nach Diskussion der Erkenntnisse intern wurde eine Änderung in der bisherigen Vorgehensweise der Zytotoxizitätsassays beschlossen. Dies resultierte schließlich in einer Zeitersparnis was sich positiv auf das Projekt auswirkte.

## **Reisebericht zur Reise von Dominik Hühn vom 13.11.2011 – 17.11.2011 nach Montreux zur Konferenz „Nanobiotech 2011“**

Auf dieser Reise stellte Herr Hühn wissenschaftliche Ergebnisse in Form eines Posters und einer Kurzpresentation auf einer internationalen Fachkonferenz dar. Die Verwendung von Nanopartikeln in der Polymerhülle von Mikokapseln zur gezielten Öffnung ist eine etablierte Methode. Hierbei werden die Partikel mit Hilfe von Lasern, deren Licht von den Partikeln absorbiert wird, erhitzt und zerstören damit die Polymerhülle was zur Freisetzung des Inneren der Kapsel führt. Dabei kann es zum Siedeverzug des umgebenden Mediums kommen was zur explosionsartigen Verdampfung führt. Während dieses Vorgangs ist das Medium von großer Bedeutung aber auch der Partikel selbst besonders im Hinblick auf die Zeit nach der Bestrahlung von großer Bedeutung. Für den Vorgang der Öffnung sind diverse Eigenschaften des Partikels von Bedeutung da diese das Absorptionsverhalten und die damit verbundene Wärmeentwicklung beeinflussen. Zu diesen Eigenschaften gehören beispielsweise das Material des Partikels, die Größe des Partikels und auch das coating des Partikels, welches für die Stabilität der Partikel von größter Wichtigkeit ist. Diese Eigenschaften müssen vor der Verwendung der Partikel in einer Polymerhülle untersucht und bestimmt werden. Nach der Öffnung der Kapsel liegt der Partikel frei im Inneren der Zelle vor wodurch die diese und weitere Eigenschaften des Partikels weiter in den Vordergrund treten da diese die Zelle beeinflussen können. Das Material beispielsweise kann die Viabilität der Zelle aktiv beeinflussen beispielsweise durch die Freisetzung von Ionen (wie z.B.  $\text{Ag}^+$ ). Somit muss die toxische Wirkung der Partikel bekannt und untersucht sein bevor diese verwendet werden können. Ein weiterer wichtiger Punkt im Hinblick auf die Toxizität der Partikel ist das verwendete coating zur Stabilisierung der Partikel. Je nach verwendetem coating ändert sich Stabilisierung und somit das Aggregationsverhalten der Partikel. Die Toxizität der Partikel korreliert mit dem Grad an Aggregation der verwendeten Partikel. Die Untersuchung all diese Eigenschaften sind grundlegende Aufgaben des Projektes UMSICHT.

Im Projekt ist Herr Hühn Modifizierung der Partikeloberfläche zuständig. Daher ist er während des Projektes stets in Kontakt zu Herrn Pfeiffer und Herrn Dr. Montenegro Martos bezüglich Änderungen oder Verbesserungen diesbezüglich. Während der Konferenz konnte Herr Hühn einerseits die im Projekt UMSICHT erzielten Ergebnisse mit anderen Wissenschaftlern diskutieren andererseits erlangte er interessante neue Erkenntnisse, welche intern diskutiert und später im Projekt eingearbeitet wurden.

## **Reisebericht zur Reise von Markus Ochs vom 21.02.2012 – 24.02.2012 nach Gent**

Herr Markus Ochs hat in Ghent die Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Kevin Braeckmans besucht, um dort wichtige Zytotoxizitäts-Assays zu lernen. Die Gruppe von Prof. Dr. Kevin Braeckmans ist in der Pharmazie angesiedelt und hat daher ein zahlreiche Assays zu Verfügung, die dem PUM Partner nicht zur Verfügung standen. Herr Ochs hat einige dieser Assays erlernt und mit nach Marburg gebracht. Weiterhin wurden auch die bisher in Marburg vorhandenen Assays besprochen und konnten damit besser interpretiert werden. Es wurde dabei die Beratung durch Herrn Prof. Dr. Kevin Braeckmans fortgesetzt, die sich bereits zu einem früheren Zeitpunkt durch eine gemeinsame Publikation als nützlich erwiesen hat: S. J. Soenen, P. Rivera Gil, J.-M. Montenegro, W. J. Parak; S. C. De Smedt, K. Braeckmans, "Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation", NanoToday 6, 446-465 (2011).

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 1748-0132	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel  <b>Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Stefaan J. Soenen, Pilar Rivera Gil, José-Maria Montenegro, Wolfgang J. Parak, Stefaan C. De Smedt, Kevin Braeckmans	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 09.09.20011
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1) Lab of General Biochemistry and Physical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ghent University, Harelbekestraat 72, B- 9000 Gent, Belgium 2) Biophotonics Group, Philipps-University of Marburg, Renthof 7, D- 35032 Marburg, Germany	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl 20
12. Fördernde Institution (Name, Adresse)  Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung The safe use of inorganic nanoparticles (NPs) in biomedical applications remains an unresolved issue. The present review presents an overview of the cytotoxic effects of commonly used inorganic NPs: quantum dots, gold and iron oxide nanoparticles. The main focus is on presenting recent findings and identifying similar cytotoxic effects which appear common to all these NPs. Next, several considerations are provided for optimizing cell–NP interaction studies which could aid in improving our understanding of NP toxicity. Finally, several critical NP parameters are discussed and suggestions are made on how to optimize NP design in view of minimal cytotoxicity.	
19. Schlagwörter Nanoparticles, gold, iron oxide, quantum dots, cytotoxicity, superparamagnetism, stem cells, in vitro	
20. Verlag Nano today	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 0743-7463	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel <b>Synthesis and characterization of colloidal fluorescent silver nanoclusters</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <b>Sherry Huang, Christian Pfeiffer, Jana Hollmann, Sebastian Friede, Justin J. C. Chen, Andreas Beyer, Kerstin Volz, Wolfram Heimbrodtt, José-Maria Montenegro Martos, Walter Chang, Wolfgang J. Parak</b>	5. Abschlussdatum des Vorhabens  6. Veröffentlichungsdatum 26.03.2012  7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1) Institute of Polymer Science and Engineering, National Taiwan University, Taipei, Taiwan 2) Fachbereich Physik and WZMW, Philipps Universität Marburg, Marburg, Germany 3) Department of Biomedical Engineering, Chung Yuan Christian University, Chungli, Taiwan	9. Ber. Nr. Durchführende Institution  10. Förderkennzeichen  11. Seitenzahl 5
12. Fördernde Institution (Name, Adresse)  <b>Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn</b>	13. Literaturangaben  14. Tabellen  15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung <b>Ultrasmall water-soluble silver nanoclusters are synthesized, and their properties are investigated. The silver nanoclusters have high colloidal stability and show fluorescence in the red. This demonstrates that like gold nanoclusters also silver nanoclusters can be fluorescent.</b>	
19. Schlagwörter Silver, nanoparticles, surface properties, synthesis	
20. Verlag Langmuir	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 0167-7799	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel <b>Antibacterial properties of Nanoparticles</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Mohamed J. Hajipour, Katharina M. Fromm, Ali A. Ashkarran, Dorleta Jimenez de Aberasturi, Idoia Ruiz de Larramendi, Teofilo Rojo, Vahid Serpooshan, Wolfgang J. Parak, Morteza Mahmoudi	5. Abschlussdatum des Vorhabens  6. Veröffentlichungsdatum 30.10.2012  7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) <sup>1</sup> Laboratory of NanoBio Interactions, Department of Nanotechnology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran <sup>2</sup> University of Fribourg, Department of Chemistry, Chemin du Musée 9, CH-1700 Fribourg, Switzerland <sup>3</sup> Department of Physics, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran <sup>4</sup> Fachbereich Physik and WZMW, Philipps Universität Marburg, Marburg, Germany <sup>5</sup> Department of Inorganic Chemistry, UPV/EHU, Bilbao, Spain <sup>6</sup> Division of Pediatric Cardiology, Department of Pediatrics, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA 94305- 5101, USA <sup>7</sup> Nanotechnology Research Center, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran	9. Ber. Nr. Durchführende Institution  10. Förderkennzeichen  11. Seitenzahl 13
12. Fördernde Institution (Name, Adresse)  Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben  14. Tabellen  15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Antibacterial agents are very important in the textile industry, water disinfection, medicine, and food packaging. Organic compounds used for disinfection have some disadvantages, including toxicity to the human body, therefore, the interest in inorganic disinfectants such as metal oxide nanoparticles (NPs) is increasing. This review focuses on the properties and applications of inorganic nanostructured materials and their surface modifications, with good antimicrobial activity. Such improved antibacterial agents locally destroy bacteria, without being toxic to the surrounding tissue. We also provide an overview of opportunities and risks of using NPs as antibacterial agents. In particular, we discuss the role of different NP materials.	
19. Schlagwörter antibacterial agent; nanoparticle; toxicity	
20. Verlag Trends in Biotechnology	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 1613-6810	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel <b>Magnetic nanobeads decorated with silver nanoparticles as cytotoxic agents and photothermal probes</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <b>Riccardo Di Corato, Domenico Palumberi, Roberto Marotta, Marco Scotto, Susana Carregal-Romero, Pilar Rivera-Gil, Wolfgang J Parak, Teresa Pellegrino</b>	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 25.06.2012
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1) Nanoscience Institute of CNR National Nanotechnology Laboratory Via Arnesano, 73100 Lecce, Italy 2) Istituto Italiano di Tecnologia Via Morego 30, 16163 Genova, Italy 3) Fachbereich Physik and WZMW Philipps Universität Marburg Marburg, Germany	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl 12
12. Fördernde Institution (Name, Adresse)  <b>Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn</b>	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung <b>Silver nanoparticles (AgNPs) are nucleated at the surface of magnetic nanobeads (MNBs). <i>In vitro</i> tests on two distinct tumour cell lines on the resulting nanobeads reveal 10 magnetically-driven enhanced cellular up-taking which corresponds to increased toxicity effects. A synergic cytotoxicity induced by photo-activation was also found.</b>	
19. Schlagwörter	
20. Verlag Small	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 1743-5390	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel Ecotoxicity and uptake of polymer coated gold nanoparticles	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Karen van Hoecke, Karel A. C. de Schamphelaere; Zuluqurain Ali, Feng Zhang, Andreas Elsaesser, Pilar Rivera Gil, Wolfgang J. Parak, Guy Smaghe, C. Vyvyan Howard, Colin R. Janssen	5. Abschlussdatum des Vorhabens  6. Veröffentlichungsdatum 02. 2013 7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1)Laboratory of Environmental Toxicology and Aquatic Ecology, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Gent, Belgium 2)Fachbereich Physik and Wissenschaftliches Zentrum für Materialwissenschaften, Philipps Universität Marburg, Marburg, Germany 3)University of Ulster, Centre for Molecular Bioscience, Coleraine, Co. Londonderry, UK 4)Laboratory of Agrozoology, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Gent, Belgium	9. Ber. Nr. Durchführende Institution  10. Förderkennzeichen  11. Seitenzahl 10
12. Fördernde Institution (Name, Adresse)  Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben  14. Tabellen  15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Bioconjugated gold nanoparticles (Au NPs) are a promising tool for pharmaceutical applications. However, the ecotoxicity of these types of NPs has hardly been studied. We investigated the ecotoxicity and uptake of 4–5 nm Au NPs to which two types of polymer coatings were attached. One coating was an amphiphilic polymer only and the other an amphiphilic coating to which 10 kDa polyethylene glycol chains were attached. In both 72 h algal growth inhibition tests with the alga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> and in 24 h resazurin cytotoxicity tests with the rainbow trout gill cell line RTGill-W1, the pegylated Au NPs were found less toxic compared to the amphiphilic coated particles. No uptake or direct interaction between particles and algal cells was observed. However, uptake/adsorption in fish gill cells reached up to $>10^6$ particles/cell after 1 h and particles were eliminated for $\geq 96\%$ after 24 h depuration. Both particle types were found within membrane enclosed vesicles in the cytoplasm of RTgill-W1 cells.	
19. Schlagwörter Gold, nanoparticles, cells	
20. Verlag Nanotoxicology	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 0927-7765	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel Protein-mediated synthesis, pH-induced reversible agglomeration, toxicity and cellular interaction of silver nanoparticles	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Sumaira Ashraf, Azhar Z. Abbasi, Christian Pfeiffer, Seyed Z. Hussain, Zafar M. Khalid, Pilar Rivera Gil, Wolfgang J. Parak, Irshad Hussain	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 09.2012
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1) National Institute for Biotechnology and Genetic Engineering (NIBGE), Jhang road, Faisalabad, Pakistan 2) Department of Physics and WZMW, Philipps University of Marburg, Marburg, Germany 3) Department of Chemistry, School of Science & Engineering (SSE), Lahore University of Management Sciences (LUMS), DHA, Lahore Cantt 54792, Pakistan	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl 8
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Casein, a milk protein, is used to produce biotolerable and highly stable silver nanoparticles with a fair control over their size without using any additional reducing agent. These silver nanoparticles undergo reversible agglomeration to form protein–silver nanoparticle composite agglomerates as pH approaches to the isoelectric point of casein protein (pI = 4.6). These agglomerates can then easily be re-dispersed in alkaline aqueous media with no obvious change in their optical properties. The nanoparticles can withstand high salt concentration (~0.5 M), and can also be freeze-dried, stored as dry powder and then dispersed in aqueous media whenever required. More interestingly, by controlling the concentration of casein protein and pH, it was also possible to control the self-assembly of silver nanoparticles to produce fairly uniform spherical agglomerates. The nanoparticles and their agglomerates were thoroughly characterized using UV–visible and FTIR spectroscopy, TEM, SEM and DLS, etc. Cytotoxicity of the hybrid materials was examined using a Resazurin based cytotoxicity assay. After determining the LD50 using NIH/3T3 fibroblast cells, the cellular interaction of these hybrid nanoparticles was studied to examine the behavior of casein-coated nanoparticles for their potential bio-applications.	
19. Schlagwörter Silver, nanoparticles, proteins, NIH 3T3 cell	
20. Verlag <i>Colloids and Surfaces B: Biointerfaces</i>	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 0001-4842	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel <b>The Challenge To Relate the Physicochemical Properties of Colloidal Nanoparticles to Their Cytotoxicity</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <b>Pilar Rivera Gil, Dorleta Jimenez de Aberasturi, Verena Wulf, Beatriz Pelaz, Pablo del Pino, Yuanyuan Zhao, Jesus de la Fuente, Idoia Ruiz de Larramendi, Teófilo Rojo, Xing-Jie Liang, Wolfgang J. Parak</b>	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 07.2012
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) <b>1) Fachbereich Physik and WZMW, Philipps Universität Marburg, Renthof 7, D-35037 Marburg, Germany 2) Department of Inorganic Chemistry, UPV/EHU, Bilbao, Spain 3) Instituto de Nanociencia de Aragon, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, Spain</b>	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl 7
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) <b>Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn</b>	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Nanomaterials offer opportunities to construct novel compounds for many different fields. Applications include devices for energy, including solar cells, batteries, and fuel cells, and for health, including contrast agents and mediators for photodynamic therapy and hyperthermia. Despite these promising applications, any new class of materials also bears a potential risk for human health and the environment. The advantages and innovations of these materials must be thoroughly compared against risks to evaluate each new nanomaterial. Although nanomaterials are often used intentionally, they can also be released unintentionally either inside the human body, through wearing of a prosthesis or the inhalation of fumes, or into the environment, through mechanical wear or chemical powder waste. This possibility adds to the importance of understanding potential risks from these materials. Because of fundamental differences in nanomaterials, so und risk assessment currently requires that researchers perform toxicology studies on each new nanomaterial. However, if toxicity could be correlated to the basic physicochemical properties of nanomaterials, those relationships could allow researchers to predict potential risks and design nanomaterials with minimum toxicity. In this Account we describe the physicochemical properties of nanoparticles (NPs) and how they can be determined and discuss their general importance for cytotoxicity. For simplicity, we focus primarily on in vitro toxicology that examines the interaction of living cells with engineered colloidal NPs with an inorganic core. Serious risk assessment of NPs will require additional in vivo studies. Basic physicochemical properties of nanoparticulate materials include colloidal stability, purity, inertness, size, shape, charge, and their ability to adsorb environmental compounds such as proteins. Unfortunately, the correlation of these properties with toxicity is not straightforward. First, for NPs released either unintentionally or intentionally, it can be difficult to pinpoint these properties in the materials. Therefore, researchers typically use NP models with better defined properties, which don't include the full complexity of most industrially relevant materials. In addition, many of these properties are strongly mutually connected. Therefore, it can be difficult to vary individual properties in NP models while keeping the others constant	
19. Schlagwörter	
20. Verlag <i>Account of Chemical Research</i>	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 1939-0041	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel Bridge over troubled waters: understanding the synthetic and biological identities of engineered nanomaterials	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Bengt Fadeel, Neus Feliu, Carmen Vogt, Abuelmagd M. Abdelmonem, Wolfgang J. Parak	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 03.2013
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1) Division of Molecular Toxicology, Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden 2) Fachbereich Physik and Wissenschaftlichen Zentrum für Materialwissenschaften, Philipps Universität Marburg, Marburg, Germany	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl 19
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Engineered nanomaterials offer exciting opportunities for ‘smart’ drug delivery and <i>in vivo</i> imaging of disease processes, as well as in regenerative medicine. The ability to manipulate matter at the nanoscale enables many new properties that are both desirable and exploitable, but the same properties could also give rise to unexpected toxicities that may adversely affect human health. Understanding the physicochemical properties that drive toxicological outcomes is a formidable challenge as it is not trivial to separate and, hence, to pinpoint individual material characteristics of nanomaterials. In addition, nanomaterials that interact with biological systems are likely to acquire a surface corona of biomolecules that may dictate their biological behavior. Indeed, we propose that it is the combination of material-intrinsic properties (the ‘synthetic identity’) and context-dependent properties determined, in part, by the bio-corona of a given biological compartment (the ‘biological identity’) that will determine the interactions of engineered nanomaterials with cells and tissues and subsequent outcomes. The delineation of these entwined ‘identities’ of engineered nanomaterials constitutes the bridge between nanotoxicological research and nanomedicine.	
19. Schlagwörter Drug delivery, diagnostic imaging, bioengineering	
20. Verlag <i>WIREs Nanomedicine &amp; Nanobiotechnology</i>	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN 1613-6810	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel <b>Interfacing Engineered Nanoparticles with Biological Systems: Anticipating Adverse NanoBio Interactions</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <b>Beatriz Pelaz, Gaëlle Charron, Christian Pfeiffer, Yuliang L. Zhao, Jesus M. de la Fuente, Xiang-Jie Liang, Wolfgang J. Parak, Pablo del Pino</b>	5. Abschlussdatum des Vorhabens  6. Veröffentlichungsdatum 05.2013  7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1) Instituto de Nanociencia de Aragon (INA), Universidad de Zaragoza, 50018 Zaragoza, Spain 2) Univ. Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité ITODYS, UMR CNRS 7086, 15 rue J-A de Baïf, 75205 Paris Cedex 13, France 3) Fachbereich Physik and WZMW, Philipps Universitaet Marburg, 35037 Marburg, Germany 4) Laboratory of Nanomedicine and Nanosafety Division of Nanomedicine and Nanobiology National Center for Nanoscience and Technology China, and CAS Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials and Nanosafety Chinese Academy of Sciences Beijing 100190, P.R. China	9. Ber. Nr. Durchführende Institution  10. Förderkennzeichen  11. Seitenzahl 12
12. Fördernde Institution (Name, Adresse)  <b>Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn</b>	13. Literaturangaben  14. Tabellen  15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung <p><b>The innovative use of engineered nanomaterials in medicine, be it in therapy or diagnosis, is growing dramatically. This is motivated by the current extraordinary control over the synthesis of complex nanomaterials with a variety of biological functions (e.g. contrast agents, drug-delivery systems, transducers, amplifiers, etc.). Engineered nanomaterials are found in the bio-context with a variety of applications in fields such as sensing, imaging, therapy or diagnosis. As the degree of control to fabricate customized novel and/or enhanced nanomaterials evolves, often new applications, devices with enhanced performance or unprecedented sensing limits can be achieved. Of course, interfacing any novel material with biological systems has to be critically analyzed as many undesirable adverse effects can be triggered (e.g. toxicity, allergy, genotoxicity, etc.) and/or the performance of the nanomaterial can be compromised due to the unexpected phenomena in physiological environments (e.g. corrosion, aggregation, unspecific absorption of biomolecules, etc.). Despite the need for standard protocols for assessing the toxicity and bio-performance of each new functional nanomaterial, these are still scarce or currently under development. Nonetheless, nanotoxicology and relating adverse effects to the physico-chemical properties of nanomaterials are emerging areas of the utmost importance which have to be continuously revisited as any new material emerges. This review highlights recent progress concerning the interaction of nanomaterials with biological systems and following adverse effects.</b></p>	
19. Schlagwörter	
20. Verlag Small	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung
3. Titel <b>The Toxicity of Silver Nanoparticles Depends on Their Uptake by Cells and Thus on Their Surface Chemistry</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <b>Encarnación Caballero-Díaz, Christian Pfeiffer, Lena Kastl, Pilar Rivera-Gil, Bartolome Simonet, Miguel Valcárcel, Javier Jiménez-Lamana, Francisco Laborda, Wolfgang J. Parak</b>	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum Ahead of print
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1) Fachbereich Physik Philipps Universität Marburg, Marburg, Germany 2) Department of Analytical Chemistry, University of Cordoba, Córdoba, Spain 3) Group of Analytical Spectroscopy and Sensors (GEAS), Institute of Environmental Sciences (IUCA), University of Zaragoza, Zaragoza, Spain 4) CIC Biomagune, San Sebastian, Spain	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl 7
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) <b>Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn</b>	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung A set of three types of silver nanoparticles (Ag NPs) are prepared, which have the same Ag cores, but different surface chemistry. Ag cores are stabilized with mercaptoundecanoic acid (MUA) or with a polymer shell [poly(isobutylene-alt-maleic anhydride) (PMA)]. In order to reduce cellular uptake, the polymer-coated Ag NPs are additionally modified with polyethylene glycol (PEG). Corrosion (oxidation) of the NPs is quantified and their colloidal stability is investigated. MUA-coated NPs have a much lower colloidal stability than PMA-coated NPs and are largely agglomerated. All Ag NPs corrode faster in an acidic environment and thus more Ag(I) ions are released inside endosomal/lysosomal compartments. PMA coating does not reduce leaching of Ag(I) ions compared with MUA coating. PEGylation reduces NP cellular uptake and also the toxicity. PMA-coated NPs have reduced toxicity compared with MUA-coated NPs. All studied Ag NPs were less toxic than free Ag(I) ions. All in all, the cytotoxicity of Ag NPs is correlated on their uptake by cells and agglomeration behavior.	
19. Schlagwörter	
20. Verlag Particle and Particle Systems Characterization	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Dissertation
3. Titel <b>Silver nanoparticles – From the synthesis to the biological application</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <b>Christian Pfeiffer</b>	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 25.09.2013
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) <b>Fachbereich Physik, Universität Marburg</b>	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) <b>Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn</b>	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung	
19. Schlagwörter	
20. Verlag	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Bachelorarbeit
3. Titel Comparison of Colloidal Silver Nanoparticles Under Two Different Syntheses	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Jana Hollmann	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 28.02.2011
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Fachbereich Physik, Universität Marburg	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung	
19. Schlagwörter	
20. Verlag	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Masterarbeit
3. Titel <b>Wechselwirkung von kolloidalen Nano- und Mikrosystemen mit Säugerzellen</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <b>Lena Kastl</b>	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 01.08.2012
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) <b>Fachbereich Biologie, Universität Marburg</b>	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) <b>Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn</b>	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung	
19. Schlagwörter	
20. Verlag	21. Preis

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Abschlussbericht
3. Titel <b>Abschlussbericht der Philipps Universität Marburg zum BMBF Projekt UMSICHT</b>	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <b>Christian Pfeiffer, Wolfgang J. Parak</b>	5. Abschlussdatum des Vorhabens
	6. Veröffentlichungsdatum 31.10.2013
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) <b>Renthof 7, Fachbereich Physik, Universität Marburg, 35037 Marburg</b>	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen
	11. Seitenzahl 34
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) <b>Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn</b>	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Im Laufe des Projektes UMSICHT wurden verschiedene Silbernanopartikel synthetisiert. Hierbei wurden zwei verschiedene Synthesemethoden verwendet was zu zwei unterschiedlichen Größen von Nanopartikeln führte. Einerseits Partikel mit einem Durchmesser von ca. 4 nm. Diese Synthesemethode musste zunächst in der Arbeitsgruppe etabliert werden. Andererseits wurden kleine Nanocluster mit einem Durchmesser von ca. 2 nm synthetisiert. Hierfür wurde eine bereits etablierte Synthese für Au NC verändert. Die großen Partikel wiesen nach der Synthese eine hydrophobe Oberfläche auf und mussten daher für Untersuchungen in wässrigen Medien zunächst mit einem amphiphilen Polymer beschichtet werden. Anschließend konnte die Oberfläche der NP mit Polymeren und/oder einem Farbstoff versehen werden. Die Oberfläche des kleinen Cluster war bereits hydrophil wodurch die Beschichtung entfiel. Alle im Laufe des Projektes synthetisierten Partikel wurden mit diversen Methoden gereinigt und charakterisiert. Hierzu gehörten u.a. Gelelektrophorese, UV/Vis Spektroskopie, Fluoreszenzspektroskopie und DLS. Die Stabilität der Polymer beschichteten Partikel gegenüber Natriumchlorid wurde mittels DLS untersucht. Hierbei wurde für die beschichteten Partikel eine Stabilität bis zu 2.5M NaCl in einem Zeitraum von 24h nachgewiesen. Die gleichen Kerne, jedoch mit einem anderen Liganden zur Stabilisierung wurden ebenfalls untersucht. Hierbei wurde nur eine Stabilität bis 160mM NaCl gefunden während bei höheren Konzentrationen Aggregation auftrat. Auch die Toxizität aller großen und kleinen Partikel bzw. Cluster wurde untersucht. Für die Nanocluster wurde die Zelllinie MCF-7 verwendet und für die größeren Nanopartikel die Zelllinie 3T3. Für die Cluster wurde eine moderate Toxizität gefunden. Bei den anderen Partikeln wurde eine Abhängigkeit der Aufnahme und dem entsprechend auch der Toxizität mit der Oberflächenbeschichtung bzw. Stabilisierung gefunden. Als Vergleichswert wurde die Toxizität von AgNO <sub>3</sub> verwendet.	
19. Schlagwörter UMSICHT, Ag Nanopartikel, Toxizität	
20. Verlag	21. Preis