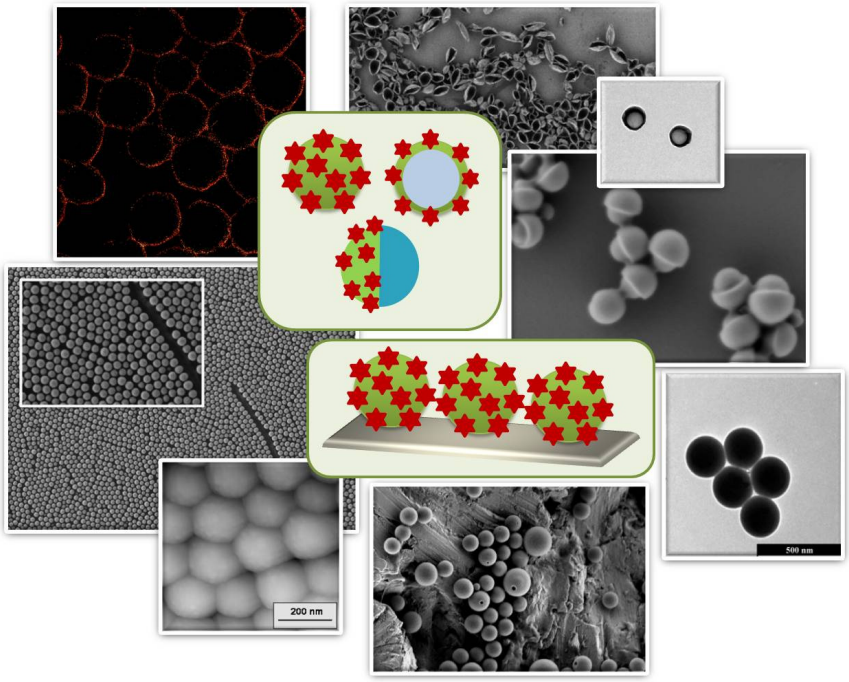
Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Max Planck Institute for Polymer Research

ulm university universität ulm

Phosphonat- und phosphatfunktionalisierte Polymerpartikel und Kapseln für biomedizinische Anwendungen wie Implantatbeschichtungen



Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades Dr. rer. nat.
der Fakultät Naturwissenschaften
der Universität Ulm

vorgelegt von

Anke Zeller

Ulm an der Donau, 2010

Amtierender Dekan:	Prof. Dr. A. Groß
1. Gutachterin:	Prof. Dr. K. Landfester
2. Gutachter:	PD Dr. U. Ziener
Tag der Promotionsprüfung:	18. Oktober 2010

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1
2 Grundlagen 4
2.1 Titan als Implantatmaterial 4
2.2 Oberflächenmodifizierung mit spezifischen Haftgruppen 5
2.3 Oberflächenmodifizierung mit Phosphon- und Phosphorsäuren als Haftgruppen 6
2.4 Heterophasensysteme 7
2.4.1 Direkte Miniemulsionen 8
2.4.2 (Funktionalisierte) Polymerpartikel für biomedizinische Anwendungen 10
2.4.3 Partikel-assoziierter Wachstum von Hydroxyapatit Nanokristallen 12
2.4.4 Phosphonat- und phosphatfunktionalisierte Polymerpartikel 13
2.4.5 Inverse Miniemulsionen 14
2.4.6 Polymerkapsel-Synthese durch Grenzflächenreaktionen in Miniemulsion 15
2.4.7 Emulsion/Lösungsmittelverdampfungstechnik kombiniert mit dem Miniemulsions-Prozess 16
2.4.8 Bioabbaubare Partikel für biomedizinische Anwendungen 17
2.5 Verkapselung von Wirkstoffen 18
2.6 Radikalische Substanzpolymerisation 20
2.6.1 Radikalische Emulsionspolymerisation 22
2.6.2 Radikalische Miniemulsionspolymerisation 24
2.6.3 Nukleationsmechanismen 25
3 Messmethoden 26
3.1 Dynamische Lichtstreuung 26
3.2 Zetapotentialmessungen 27
3.3 Partikelladungsdetektor (PCD) 28
3.4 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) 30
3.5 Rasterelektronenmikroskopie (REM) 30
3.6 Atomkraftmikroskopie (AFM) 31
3.7 Reaktionskalorimetrie 33
4 Ergebnisse und Diskussion 35
4.1 Funktionalisierte Polystyrol-und PMMA-Partikel 35
4.2 Phosphonatfunktionalisierte Polystyrol- und PMMA-Partikel 36
4.2.1 Funktionalisierte Partikel durch Copolymerisation mit Vinylphosphonsäure 36
4.2.2 Copolymerisation von VPS mit verschiedenen Methacrylaten 46
4.2.3 Copolymerisation mit 2-(Methacryloyloxy)ethylphosphonsäure (Maphos) 49

4.2.4 Copolymerisation mit Vinylbenzylphosphonsäure (VBPS) 52
4.2.5 Vergleich der verschiedenen phosphonatfunktionalisierten Comonomere 56
4.2.6 Umfunktionalisierung der Partikeloberfläche durch EDC-Kupplung 59
4.2.7 Phosphatfunktionalisierte Polystyrolpartikel 62
4.2.8 Sulfonatfunktionalisierte Polymerpartikel 64
4.3 Beschichtungen von Metalloxidoberflächen mit Modell-Partikeln 66
4.3.1 Präparation von partikulären Schichten auf Metalloxidoberflächen 66
4.3.2 Bestimmung der Adhäsionskräfte zwischen Partikel und Substrat mit AFM 69
4.3.3 Adsorptionsversuche auf Implantat-Material 74
4.4 Phosphonatfunktionalisierte bioabbaubare Polymerpartikel 76
4.4.1 Phosphonatfunktionalisierte Polylactid-Partikel 79
4.4.2 Einseitig phosphonatfunktionalisierte Polystyrol/Polylactid Janus-Partikel 81
4.4.3 Phosphonatfunktionalisierte Janus-Partikel mit verschiedenen Farbstoffen 85
4.5 Einbettung von hydrophoben Wirkstoffen in Polystyrol- und PLA-Partikel 91
4.5.1 Paclitaxelhaltige Partikel 91
4.5.2 Partikel mit Dexamethason 93
4.6 Funktionalisierte Kapseln 95
4.7 Synthese von unfunktionalisierten Kapseln 96
4.7.1 EDC-Kupplung an Polyharnstoffkapseln 97
4.7.2 Phosphatfunktionalisierte Cellulose-Kapseln 99
4.7.3 Verkapselung von Pamidronat in sulfonatfunktionalisierten Kapseln 101
4.8 Kalorimetrische Messungen 103
4.8.1 Kinetische Untersuchungen der Copolymerisationen von Styrol bzw. MMA mit VPS in Miniemulsion 103
4.8.2 Vergleich der Kinetik der Miniemulsions (Co-)Polymerisation von Styrol mit den hydrophilen Comonomeren AA oder VPS initiiert mit V59 106
4.9 Vergleich der Kinetik der Miniemulsions (Co-)Polymerisation von Styrol mit dem hydrophoben Comonomer VBPS initiiert mit V59 114
5 Experimenteller Teil 117
5.1 Charakterisierungsmethoden 117
5.2 Synthese der Polymerpartikel und Kapseln 119
5.2.1 Synthese von phosphonatfunktionalisierten Monomeren 119
5.2.2 Synthese von Polymerpartikeln in einer direkten Miniemulsion 120
5.2.3 Umfunktionalisierung von Partikeloberflächen durch EDC-Kupplung 122
5.3 Funktionalisierte Bioabbaubare Partikel 123
5.3.1 Ringöffnungspolymerisation von D,L-Lactid initiiert durch OH-terminierte Polyvinylphosphonsäure (PVPS) 123

5.3.2 Synthese von bioabbaubaren PLA-Partikeln durch Kombination der Miniemulsionstechnik mit dem Emulsion/Lösungsmittelverdampfungsverfahren 124
5.3.3 Ringöffnungspolymerisation von D,L-Lactid initiiert durch OH-terminierten BODIPY-Farbstoff 124
5.3.4 Synthese von Janus-Partikeln durch Kombination der Miniemulsionstechnik mit dem Emulsion/Lösungsmittelverdampfungsverfahren 125
5.3.5 Einbettung von hydrophoben Wirkstoffen 126
5.4 Funktionalisierte Polymerkapseln 127
5.4.1 Einführung von Phosphatgruppen an Hydroxypropylcellulose 127
5.4.2 Synthese der Polyharnstoff-/Polyurethankapseln in inverser Miniemulsion 128
5.5 Präparation der Schichten 128
6 Zusammenfassung 130
7 Literaturverzeichnis 134

1 Einleitung

Weltweit werden über eine Million Menschen wegen skelettaler Probleme behandelt. Allein in Deutschland werden jährlich ca. 100.000 künstliche Hüftgelenke bei Patienten eingesetzt. Aufgrund der guten mechanischen Eigenschaften und hervorragenden Biokompatibilität sind Titan und verschiedene Titanlegierungen für medizinische Zwecke, wie orthopädische und dentale Implantate weit verbreitet.[1] Wie von *Steinmann*[2] beschrieben, ist Titan aufgrund der hohen chemischen Stabilität im Körper, verursacht durch die natürliche Passivierungsschicht aus Titandioxid, das „Material der Wahl" für Hartgewebeimplantate. Der große Nachteil ist, dass Titan nur passiv in den Knochen eingebracht werden kann. Eine direkte Anbindung an den Knochen erfolgt nicht.[3] Für eine Langzeitstabilität des Implantats ist das Heranwachsen des umgebenden Knochens an das Implantat jedoch entscheidend. Die Implantatoberfläche ist hierbei wichtig, da sie mit dem umgebenden Gewebe in Wechselwirkung tritt. Verschiedene Modifizierungsarten der Titanoberflächen, die die Wechselwirkung mit der natürlichen Umgebung beeinflussen, sind in der Literatur beschrieben.[1,3-5] Die meisten Veröffentlichungen beschreiben die Modifizierung der Metalloberfläche mit *selbstanordnenden Monoschichten (SAMs)* aus funktionalisierten oder unfunktionalisierten Silanen[6] oder Phosphonaten.[1,3,5,7] Um eine Wechselwirkung zwischen dem Implantat und dem Knochen zu gewährleisten, können beispielsweise multifunktionale Phosphonsäure-Verbindungen auf das Implantat aufgebracht werden.[3]

Ziel des Projektes „*Bioaktive multifunktionale Coatings für humanmedizinische Hartgewebe-implantate"* der Landesstiftung Baden-Württemberg ist die Herstellung ultradünner knochenähnlicher Calciumphosphat-Beschichtungen, die durch gezielte Freisetzung pharmakologisch wirksamer Substanzen die Geweberegeneration unterstützen und die Wundheilung kontrollieren. Die Motivation der vorliegenden Dissertation, die im Rahmen des Landesstiftungsprojektes angefertigt wurde, war daher neuartige phosphonat-funktionalisierte Polymerpartikel und Kapseln als Beschichtungsmaterial für Titanimplantate zu synthetisieren und auf Titanoberflächen aufzubringen. Gleichzeitig sollte eine biologische Aktivierung durch verkapselte und gezielt freigesetzte Wirkstoffe erreicht werden. Diese Beschichtung sollte als Zwischenschicht eine haftfeste und dauerhafte Verbindung zwischen Implantatoberfläche und Apatitschicht gewährleisten. Der prinzipielle Aufbau einer solchen partikulären Schicht ist schematisch in Abbildung 1-1 gezeigt.

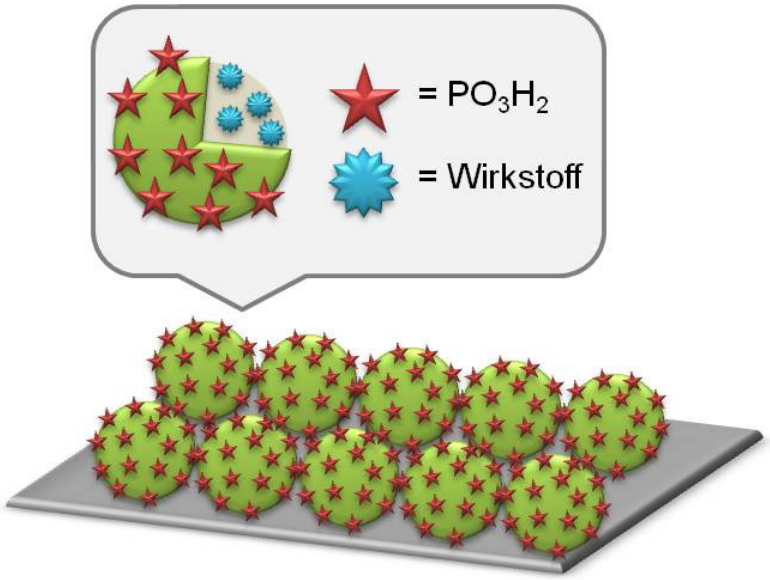


Abbildung 1-1 Funktionalisierte Partikel als Beschichtungsmaterial für Titanimplantate.

Der Vorteil einer solchen Beschichtung besteht in der hohen Funktionalisierbarkeit der Partikeloberfläche mit Phosphonatgruppen. Vorteilhaft ist weiterhin, dass Phosphon- und Phosphorsäuren spezifische Ankergruppen an Metalloxidoberflächen wie Titandioxid oder Aluminiumoxid darstellen. Ein Teil der zahlreichen Phosphonatgruppen wirken als Haftgruppen, während die restlichen freien Phosphonsäuregruppen die Einbettung des künstlichen Gelenks in das knöcherne Gewebe erhöhen können. Wird ein bioabbaubares oder selektiv spaltbares Monomer zur Synthese der funktionalisierten Polymerpartikel/Kapseln verwendet, ist die Verkapselung von wundheilenden Wirkstoffen und Medikamenten möglich.

Eine effektive und vielseitige Methode funktionalisierte Polymerpartikel mit definierter Größe und Größenverteilung herzustellen, ist die Miniemulsionspolymerisation. Eine gute Kontrolle über die Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung ist möglich. Durch radikalische Copolymerisationen können beispielsweise Polymerpartikel, die funktionelle Gruppen auf der Oberfläche, wie Carboxyl-, Amino-, Hydroxygruppen usw. tragen, hergestellt werden.[8] Der Miniemulsionsprozess ist zudem sehr gut geeignet, um polymere Nanokapseln herzustellen. Durch die Wahl der entsprechenden Monomere können Kapseln mit einem hydrophilen oder einem hydrophoben Kern hergestellt werden.[9] Vielfältige hydrophile und hydrophobe Agenzien, pharmakologisch wirksame Substanzen und Medikamente können so in die polymere Matrix von polymeren Nanopartikeln eingebracht oder in Nanokapseln verkapselt werden.[10]

Das Ziel der vorliegenden Dissertation lässt sich somit in vier Bereiche unterteilen: (1) die Synthese und Charakterisierung von (phosphonat-)funktionalisierten Polymerpartikeln und

Kapseln, (2) die Modifizierung von Titansubstraten mit Polymerpartikeln/Polymerkapseln und deren Charakterisierung, (3) die Verkapselung von pharmazeutischen Wirkstoffen in den Partikeln/Kapseln. Der letzte Teil der Arbeit (4) umfasst die Untersuchung der Polymerisationsverläufe in Miniemulsion durch Reaktionskalorimetrie. Hierbei kann eine mechanistische Aussage über das (Co-)Polymerisationsverhalten in Miniemulsion getroffen und der Partikelaufbau grundlegend erklärt werden.

2 Grundlagen

2.1 Titan als Implantatmaterial

Titan gehört zu den häufigsten Elementen. Es ist leicht, fest, sehr korrosionsbeständig und ist damit für die Luft- und Raumfahrtindustrie von großer Bedeutung. Aufgrund der hohen Stoß- und Schlagfestigkeit wird Titan z.B. für Turbinen und Eisenbahnräder verwendet.[11] Titandioxid kommt in den drei kristallinen Modifikationen Rutil, Anatas und Brookit vor und ist amphoter. Es besitzt saure als auch basische Eigenschaften.[12] Aufgrund guter mechanischer Eigenschaften werden Titan sowie Titanlegierungen, für biomedizinische Anwendungen wie künstliche Hüft- und Kniegelenksbefestigungen, dentale Prothesen, Stents oder Herzklappen eingesetzt.[13] Als Implantatmaterialien sind die Legierungen Ti-6Al-7Nb und Ti-6Al-4V am weitesten verbreitet.[14] Titan zeigt eine hervorragende Biokompatibilität, eine gute mechanische Festigkeit und Korrosionsbeständigkeit. Es bildet bei Kontakt mit Sauerstoff an der Oberfläche eine Oxidschicht aus. Die Biokompatibilität spielt eine entscheidende Rolle bei der Verwendung als Implantatmaterial. Die Untersuchungen der Wechselwirkungen zwischen biologischen Medien und der Implantatoberfläche sind von großer Relevanz. Titan wird nur passiv (z.B. als Schraube) in den Knochen integriert. Es besteht lediglich eine mechanische Verbindung.[3] Zahlreiche Studien dokumentieren, dass der Kontakt zwischen Knochen und Implantat durch eine raue Implantatoberfläche deutlich gesteigert werden kann.[15] Um die Verwachsung des künstlichen Materials mit dem Knochen zu erhöhen, wird beispielsweise eine Hydroxylapatitschicht durch Plasma-Sprayen aufgebracht.[15] Eine weitere vielversprechende Methode um die Haftung zwischen implantiertem Material und Knochen zu verstärken, ist die Beschichtung der Titanoberfläche mit multifunktionellen Phosphonsäuren (wie z.B. Methylendiphosphonsäure oder Ethan-1,1,2-triphosphonsäure).[3] *Plagge et al.*[16-18] beschreiben die Oberflächenmodifizierung von Titanlegierungen mit phosphatfunktionalisierter Cellulose, um Adhäsionen zwischen Implantatmaterial und Hydroxylapatit zu erreichen.

Die Modifizierungen von Implantatoberflächen sind aber auch für die Erzeugung proteinresistenter Beschichtungen von großem Interesse. Proteine, Bakterien, Zellen und Viren können an einer Grenzfläche zwischen fester und flüssiger Phase adsorbieren, wenn diese Oberfläche einer biologischen Umgebung, wie zum Beispiel Blut, ausgesetzt ist. Nicht-spezifische Adsorptionen stellen hier ein großes Problem dar, da sie für den menschlichen Körper unter anderem chronische Infekte, Abstoßungsreaktionen oder auch Thrombosen zur Folge habe können. Beispielsweise Polyethylen (PEG)- oder auch Oligoethylenglykole

(OEG) zeigen eine proteinresistente Wirkung. Ausgestattet mit spezifischen Haftgruppen, wie Phosphonsäuregruppen, können die PEG- oder OEG-Verbindungen an die Oberfläche des Implantats angebunden werden und die Verträglichkeit des Implantats für den menschlichen Körper deutlich erhöhen.[7,19,20]

2.2 Oberflächenmodifizierung mit spezifischen Haftgruppen

In der Literatur werden verschiedene Haftgruppen spezifisch für bestimmte Metall- und Metalloxid-Oberflächen beschrieben. Zahlreich wird die Verwendung von Organoschwefel-Gruppen wie Thiolen (-SH)[19,21,22] oder 1,2-Dithiolanen ($-SCH_2CH_2CH_2S-$)[22] auf Gold, Silber, Kupfer und Platin formuliert. Über Silan-Linker ($-SiR_3$ mit R=H oder Alkylrest) oder Trichlorsilan-Linker ($-SiCl_3$)[23] ist eine Bindung an TiO_2, SiO_2 und andere Metalloxide über Polyelektrolyt-Ankergruppen, aber auch an Glassubstrate möglich. Eine gute Haftung an Titanoxid, Nioboxid, Tantaloxid und Aluminiumoxid zeigen Phosphonsäure ($-PO(OH)_2$) und Phosphorsäureester ($-OPO(OH)_2$)-Gruppen[1,7,20]. In Tabelle 2-1 sind die verschiedenen Haftgruppen und die zugehörigen Metall- bzw. Metalloxidoberflächen zusammengefasst.

Tabelle 2-1 Zusammenfassung der spezifischen Haftgruppen für Metall- bzw. Metalloxidoberflächen.[24]

Haftgruppe	**Metall- bzw. Metalloxidoberfläche**
Thiole	Au, Ag
Phosphor-und Phosphonsäure	TiO_2, Al_2O_3, Ta_2O_5, Fe_2O_3
Chlorsilane, Siloxane	SiO_2
Carbonsäuren	Fe, Cr, Cu, Au, W, Mo, Ag, Nb, Al, Pb, Be, Zn, Ni, Cd, Nb, Sn

Nicht nur die Haftgruppe, sondern auch die Beschaffenheit und die Oberflächenladung der Oberfläche spielen für Chemisorptionsprozesse eine große Rolle. Liegen Metalloxide in wässrigen Suspensionen vor, sind sie generell elektrisch geladen. Die Ladung der Oberfläche hängt von dem pH-Wert der Lösung und der Lage des isoelektrischen Punktes des Metalloxids ab. In der Veröffentlichung von *Parks et al.*[12] sind verschiedene isoelektrische Punkte bestimmter Metalloxidoberflächen tabelliert. Ob eine kationische oder anionische Gruppe an die Oberfläche angelagert wird, hängt von dem Vorzeichen der Oberflächenladung ab. Es können zwei Fälle unterschieden werden:

- pH-Wert < isoelektrischer Punkt → Oberfläche positiv geladen
  Anlagerung anionischer Gruppen
- pH-Wert > isoelektrischer Punkt → Oberfläche negativ geladen
  Anlagerung kationischer Gruppen

2.3 Oberflächenmodifizierung mit Phosphon- und Phosphorsäuren als Haftgruppen

Phosphon- und Phosphorsäuren zeigen eine spezifische Bindungsneigung an Metalloxide wie Aluminiumoxid, Titanoxid, Tantaloxid und Eisenoxid. *McCafferty* and *Wightman*[25] untersuchten die Konzentration an natürlichen OH-Gruppen pro nm^2 Fläche verschiedener Metalloberflächen an Luft. Die größte Dichte an OH besitzt Aluminiumoxid mit etwa 15 OH-Gruppen pro nm^2, gefolgt von Titanoxid mit 11 bzw. 10 OH-Gruppen pro nm^2 Fläche.[5,26] Die geringste Dichte an OH-Gruppen besitzt dagegen Tantaloxid (6 OH-Gruppen pro nm^2).[5,26] Durch die Hydroxidgruppen und den amphoteren Charakter des Aluminiumoxids bzw. den basischen Charakter des Titanoxids wird eine starke Wechselwirkung zwischen der Metalloxidoberfläche und der Haftgruppe ermöglicht. Eine Adsorption der sauren Phosphat- bzw. Phosphonatgruppen ist möglich[24]. In der Literatur werden verschiedene Anbindungen der Phosphonsäuren an die Oberfläche diskutiert (s. Abbildung 2-1).

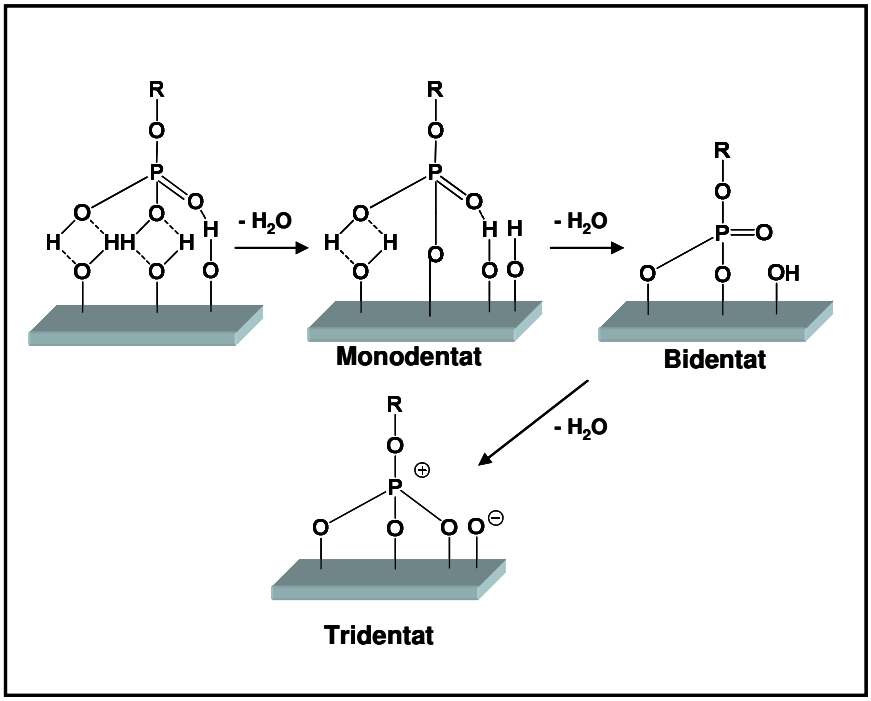


Abbildung 2-1 Adsorption einer Monoalkylphosphonsäure auf einer Metalloxidoberfläche.[27,28]

Es wird die Bildung von Bi- und Tridentaten beobachtet. Im ersten Fall wechselwirken die deprotonierten Sauerstoffatome mit der Oberfläche, während im zweiten Fall zusätzlich noch das, durch Doppelbindung an das Phosphoratom gebundene Sauerstoffatom durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken an die Oberfläche gebunden ist.

2.4 Heterophasensysteme[29-31]

Ein Heterophasensystem besteht aus zwei nicht miteinander mischbaren Komponenten. Eine Komponente (die disperse Phase) ist in einer zweiten Phase (der kontinuierlichen Phase) verteilt. Als Dispersionen werden Systeme bezeichnet bei der eine flüssige oder feste Phase in einer Flüssigkeit dispergiert ist. Emulsionen wiederum bestehen aus zwei oder mehr nicht miteinander mischbaren flüssigen Phasen. Eine der Flüssigkeiten bildet die kontinuierliche Phase aus, während die andere Phase in fein verteilten Tröpfchen als disperse Phase vorliegt. Es werden direkte (Öl-in-Wasser (O/W)) und indirekte (Wasser-in-Öl (W/O)) Emulsionen unterschieden. Die Grenzflächenspannung beeinflusst den Grad der Dispergierung in hohem Maße. Kleine Tröpfchen können durch Zusammenfließen (Koaleszenz) schnell anwachsen, was durch eine Stabilisierung der Tröpfchen durch Tenside verhindert werden kann. Tenside adsorbieren auf der Tröpfchenoberfläche und können, je nach Art des Tensids, die Tröpfchen sterisch oder elektrostatisch stabilisieren. Durch ihren amphiphilen Charakter setzten Tenside die Oberflächenspannung herab, was zu einer zusätzlichen Abnahme der Tröpfchengröße führt.

Emulsionen lassen sich weiter in Makro-, Mikro- und Miniemulsionen unterteilen. Als Makroemulsionen werden konventionelle Emulsionen bezeichnet, bei denen die Ölphase durch Rührprozesse in der wässrigen Phase dispergiert wird. Es werden Tröpfchen in einem breiten Größenbereich (von 100 nm bis zu einigen µm) erhalten. Durch Tensidzugabe wird die Stabilität der Emulsion erhöht. Neben den Tröpfchen liegen durch erhöhte Tensidkonzentrationen parallel aggregierte Tensidmoleküle (Mizellen) vor. Makroemulsionen sind instabil und brechen nach kurzer Zeit.

Die Tensidmengen bei Mikroemulsionen sind so gewählt, dass die Grenzflächenspannungen zwischen den Phasen stark herabgesetzt sind und sie allein durch die thermische Energie der Molekülbewegungen spontan emulgieren. Die gebildeten Tröpfchen sind aufgrund ihrer geringen Größe von 5 bis 50 nm nur schwach lichtstreuend. Sie erscheinen als klare Emulsionen. Eine Stabilität der Mikroemulsionen ist in den meisten Fällen jedoch nur durch Zugabe eines Cotensids (meistens Alkohole mit mittlerer Kettenlänge) gewährleistet. Cotenside sind zwischen den beiden Phasen verteilt und setzen den hydrophilen Charakter der amphiphilen Tenside und die Hydrophobizität der Ölphase herab. Zusammen mit dem

eigentlichen Tensid wird die Grenzflächenspannung weiter herabgesetzt. Mikroemulsionen sind thermodynamisch stabil.

Miniemulsionen können sich hingegen nicht spontan ausbilden. Durch Einwirkung schwacher Scherkräfte, wie intensives Rühren, werden die beiden Phasen voremulgiert. Die Homogenisierung erfolgt anschließend mittel hoher Scherkräfte wie Ultraschall oder einem Hochdruckhomogenisator. Die Synthese von Polymerpartikeln in einem Größenbereich von 30 bis 500 nm ist möglich. Miniemulsionen sind kritisch stabilisierte Systeme, die direkt nach der Miniemulgierung in Polymerpartikel unter Erhalt des kritisch stabilisierten Zustands polymerisiert werden können.

2.4.1 Direkte Miniemulsionen

Eine Miniemulsion besteht aus stabilen Tröpfchen in einem Größenbereich von 30 bis 500 nm, die in einer kontinuierlichen Phase durch hohe Scherkräfte, wie Ultraschall, erzeugt werden.[32] Um stabile Tröpfchen zu erhalten, müssen diese gegen Ostwald-Reifung durch Diffusionsprozesse und gegen Koaleszenz durch Kollision stabilisiert werden. Koaleszenz bezeichnet das Zusammenfließen der Tröpfchen und kann durch einen effektiven Einsatz von Tensiden kontrolliert werden. Ionische oder nichtionische Tenside können die Tröpfchen elektrostatisch oder sterisch stabilisieren. Durch Zusatz eines osmotischen Reagenzes („Hydrophob“) kann die Ostwald-Reifung unterdrückt werden. Unter Ostwald-Reifung versteht man das Wachstum der größeren Tröpfchen auf Kosten der kleineren durch Monomerdiffusion durch die wässrige Phase. Ursache dafür ist ein größerer Laplace-Druck in den kleineren Tröpfchen. Das Hydrophob baut in den Tröpfchen einen osmotischen Druck auf und wirkt dem Laplace-Druck so entgegen. Die Effektivität des Hydrophobs nimmt mit dessen steigender Löslichkeit in der kontinuierlichen Phase ab.

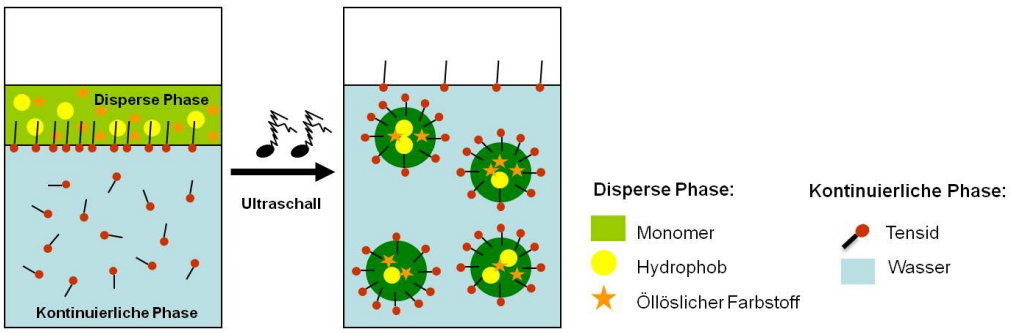
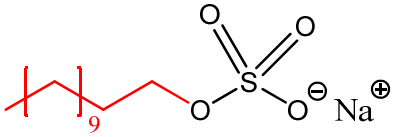
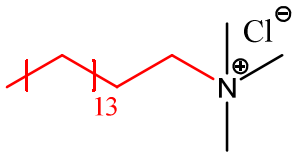
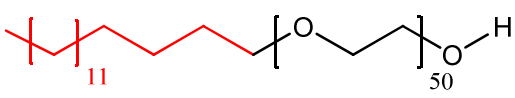


Abbildung 2-2 Prinzip einer direkten Miniemulsion.

Im idealen Fall wird die Polymerisation in jedem Tröpfchen initiiert. Die Löslichkeit des Monomeren in der kontinuierlichen Phase ist gering. Aufgrund der Tatsache, dass die Polymerisationszeit kürzer ist als mögliche Wachstumsprozesse durch Kollision, stellen die resultierenden Partikel eine 1:1 Kopie der Tröpfchen dar. Die Größe der Tröpfchen bzw. später der Partikel bleibt während der Polymerisation konstant. Jedes einzelne Tröpfchen kann als ein kleiner Nanoreaktor angesehen werden.[33] Monomere wie Styrol, Acrylate und verschiedene Methacrylate können in einer direkten Miniemulsion polymerisiert werden. Dabei ist das ultrahydrophobe Monomer Laurylmethacrylat (LMA) genauso in Miniemulsion polymerisierbar wie die vergleichsweise viel hydrophileren Monomere Methylmethacrylat (MMA) und Vinylactet. Bei Monomeren, die eine gewisse Löslichkeit in der kontinuierlichen Phase aufweisen, muss eine Nukleation in der Wasserphase unterdrückt werden. Dies kann beispielsweise durch den Einsatz von öllöslichen Initiatoren geschehen.[31]

Verschiedene anionische, kationische oder nichtionische Tenside können in einer direkten Miniemulsion eingesetzt werden, um Polymerdispersionen mit verschiedenen Partikelgrößen zu erhalten. Nach dem von *Griffin et al.* [34-36] 1949 entwickelten HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance)-Prinzip sind Tenside mit einem HLB-Wert > 7 als Emulgatoren für direkte Emulsionen geeignet. Häufig eingesetzte Tenside sind Natriumdocecylsulfat (SDS)[8] als anionisches Tensid, Cetyltrimethylammonium (CTMA)-Tenside[37] mit unterschiedlichen Gegenionen wie Chlor oder Brom, als kationisches Tensid und Lutensol AT50[8], ein Poly(ethylenoxid)-Hexadecylether mit einer EO Blocklänge von 50 Einheiten, als nichtionisches Tensid. Die Strukturformel der Tenside sind in folgender Tabelle 2-2 gezeigt.

Tabelle 2-2 Beispiele: Tenside für eine direkte Miniemulsion.

Tenside für direkte Miniemulsionen	
Anionisches Tensid SDS	Kationisches Tensid CTMA-Cl
	
Nichtionisches Tensid Lutensol AT50	
	

Im Rahmen dieser Dissertation wurde zur Synthese der Polymerpartikel hauptsächlich das nichtionische Tensid Lutensol AT50 verwendet. Während ionische Tenside die Partikel elektrostatisch stabilisieren, erfolgt die Stabilisierung durch nichtionische Tenside, wie Lutensol AT50, sterisch. Die ungeladenen Moleküle, meistens Blockcopolymere, adsorbieren an der Partikeloberfläche. Der hydrophobe Block lagert sich an der Partikeloberfläche an, während der hydrophile Teil in die wässrige Phase zeigt.

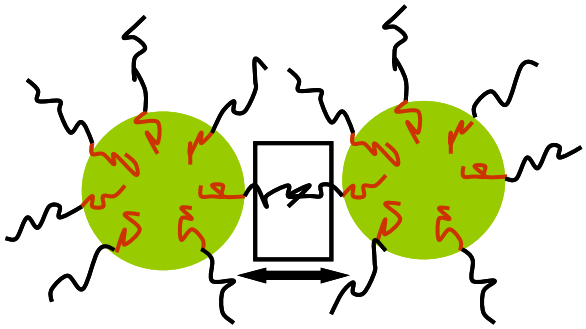


Abbildung 2-3 Abstoßung zwischen sterisch stabilisierten Partikeln.

Die Stabilisierung durch nichtionische Tenside beruht auf einem osmotischen und einem entropischen Effekt. Durch Annährung zweier sterisch stabilisierter Teilchen, kommt es zu einer lokalen Konzentrationsabnahme an Molekülen der kontinuierlichen Phase in der Zwischenschicht der stabilisierten Teilchen. Dadurch steigt der osmotische Druck in dieser Schicht an. Weitere einströmende Moleküle aus der kontinuierlichen Phase vergrößern den Abstand zwischen den Teilchen. Die Ketten der Tenside beider Adsorptionsschichten durchdringen sich gegenseitig. Durch Stauchung der Polymerketten in der Adsorptionsschicht, kommt es zu abstoßenden Wechselwirkungen und damit zu einer Verringerung der Entropie.

2.4.2 (Funktionalisierte) Polymerpartikel für biomedizinische Anwendungen

Polymere Nanopartikel finden vielseitige Anwendungen in der biomedizinischen und biotechnologischen Forschung und Diagnostik. Wirkstoffe oder diagnostische Verbindungen können in die Polymermatrix eingebettet, physikalisch adsorbiert oder kovalent an die Partikeloberflächen angebunden werden (Abbildung 2-4). Funktionalisierte Polymerpartikel werden als Trägermaterialien für Proteine, Peptide und Enzyme verwendet.[38,39] In den Bereichen der kontrollierten Wirkstofffreisetzung, Immundiagnostik und der Immunassays finden die Partikel ihre Anwendung.

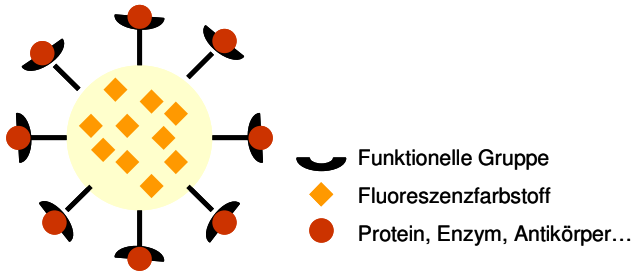


Abbildung 2-4 Schematischer Aufbau eines fluoreszierenden funktionalisierten Partikels.

Verschiedene Veröffentlichungen zeigen, dass Immunoreagenzien deutlich stabiler sind, wenn Proteine auf funktionalisierten Partikel kovalent angebunden sind.[40] Verschiedene Oberflächenfunktionalisierungen (-NH_2,[8,40,41] -COOH,[8,41,42] -CHO[38], -SO_3H[43] usw.) sind in der Literatur beschrieben. *Ramos et al.* [40] beschreiben beispielsweise die Synthese von aminofunktionalisierten Latex-Partikeln in einem Zweistufenprozess. Die Aktivierung dieser Partikel mit Glutaraldehyd führte zu einem effizienten Reagenz für Latex-basierte Immunassays. *Bryde et al.*[44] beschreiben die Anbindung von Tumornekrosefaktoren an aminofunktionalisierte Silica-Partikel. *Messerschmidt et al.*[45] publizierten die Funktionalisierung von aminofunktionalisierten Polystyrolpartikeln mit Tumornekrosefaktoren und die Freisetzung in Tumorzellen. *Gibanel et al.*[38] synthetisierten in einer Zweistufen Emulsionspolymerisation Polymerpartikel mit Aldehyd- und Acetalfunktionalitäten. Der Antikörper IgC Anti-C wurde kovalent an die Partikeloberfläche angebunden.

Ballauf et al. [43,46] beschreiben die Proteinadsorption auf Polyelektrolyt-Bürsten in wässriger Lösung. Lineare Polyelektrolytketten aus Polyacrylsäure oder Polystyrolsulfonsäure, sind auf einen Polystyrol-Kern aufgepfropft. Die Autoren zeigten, dass die verschiedenen Proteine leicht durch Änderung der Salzkonzentration abgewaschen werden können und die Partikel sich daher als Trägersysteme für Proteine eignen. Die Kopplung von Aminen an Carboxylgruppen erfolgt in der Biomedizin oft über eine EDC-Kupplung.[47-49] Die Carboxylgruppen wird mit dem Carbodiimid N-Ethyl-N'-dimethylaminopropylcarbodiimid (EDC) aktiviert, bevor die Anbindung an die Aminogruppe erfolgt. N-Hydroxysulfosuccinimid (Sulfo-NHS) wird als Katalysator zugesetzt.

Polymethylmethacrylat (PMMA)-Partikel sind biologisch unbedenklich und langsam bioabbaubar.[50-52] *Kreuter et al.*[50,51] beschreiben den Einsatz von PMMA-Partikel als Impfstoff-Adjuvanzien. Adjuvanzien sind pharmazeutische Hilfsstoffe, die die Wirkung eines Medikaments, Reagenz oder Arzneistoffs verstärken und idealerweise keine eigene pharmakologische Wirkung aufweisen. Impfstoff-Antigene wurden entweder in die Nanopartikel eingebracht oder auf bestehende Partikel adsorbiert und es wurde gezeigt, dass PMMA-Partikel geeignete Adjuvanzien für die verschiedensten Antigene darstellen.[50]

Für den Bereich der Wirkstofffreisetzung sind funktionalisierte Polystyrolpartikel von großem Interesse. Polystyrol-Latizes besitzen den großen Vorteil, dass sie mit kontrollierter Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung synthetisiert werden können. Polystyrolpartikel sind nicht abbaubar und können so über einen langen Zeitraum *in-vivo* und *in-vitro* im menschlichen Körper verfolgt werden.[41] Biologisch sind sie, im metabolischen Sinn, extrem inert. [53] Damit eine Detektion der Partikel in einem biologischen System möglich ist, müssen die Partikel markiert werden. Hierfür kann ein Fluoreszenzfarbstoff auf der Partikeloberfläche gebunden, physikalisch adsorbiert oder in die polymere Matrix eingebettet werden. In einer Copolymerisation kann aber auch ein fluoreszierendes Comonomer mit Styrol polymerisiert werden.[41] Fluoreszierende Comonomere können in Emulsionspolymerisation aufgrund zu geringer Wasserlöslichkeiten nicht in Polystyrolpartikel eingebracht werden. Die Miniemulsionstechnik dagegen eignet sich hervorragend, um Polystyrolpartikel mit hydrophoben Fluoreszenzfarbstoffen, wie z.B. N-(2,6-Diisopropylphenyl)perylen-3,4-dicarbonacidimid (PMI), zu markieren.[8,41,54] Es konnte von *Holzapfel et al.*[41] gezeigt werden, dass mit zunehmender Ladung auf der Partikeloberfläche von carboxyl- und aminofunktionalisierten Polystyrolpartikel die Aufnahme in HeLa-Zellen erhöht werden kann. Eine weitere Funktionalisierung der Oberfläche ist durch die Kopplung von Aminosäuren möglich. Beispielsweise wurde die Oberfläche magnetithaltiger Polystyrolpartikeln durch kovalente Anbindung von Lysin oder durch physikalische Adsorption von Poly(-L-lysin) weiter modifiziert. Mit den Partikeln wurden HeLa-Zellen inkubiert. Es zeigte sich, dass die Partikel mit kovalent gebundenem Lysin um das Vierfache besser in den Zellen aufgenommen werden, als die Partikel mit physikalisch adsorbiertem Poly(-L-lysin).[55] Bei Copolymer-partikeln kann die Zellaufnahme auch durch das Verhältnis der Monomere beeinflusst werden. So konnte gezeigt werden, dass die Aufnahme von Polyisopren/Polystyrol-Copolymerpartikeln in HeLa und Jurkat-Zelllinien durch den Gehalt an Isopren gesteuert werden kann.[54]

2.4.3 Partikel-assoziierter Wachstum von Hydroxyapatit Nanokristallen

Polystyrol-co-Acrylsäure[56-58] und Polystyrolpartikel, die mit β-Diketongruppen auf der Partikeloberfläche[57] modifiziert sind, eignen sich als Template für das Wachstum von Hydroxyapatit (HAP)-Nanokristallen. Hydroxyapatit (HAP) ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ gehört zu den wichtigsten Biomineralien, die in menschlichem Hartgewebe vorliegen. HAP ist der Hautbestandteil von menschlichem Knochen und Zähnen. *Schachschal et al.*[59] konnten zeigen, dass wässrige Mikrogele als Nanocontainer für die *in-situ* Synthese von HAP eingesetzt werden können. Die Mikrogelpartikel basierten auf einem Vinylcaprolactam- und

Acetoacetoxy-ethylmethacrylat-Copolymer. Eine Integration des HAP in die Mikrogele führte zu Hybridkolloiden, bei denen die Beladung mit HAP in einem breiten Bereich gesteuert werden konnte. In weiteren Arbeiten von *Schachschal et al.*[57] wurden Polystyrolpartikel funktionalisiert mit *ß*-Diketongruppen als Templat für das Wachstum von HAP eingesetzt. Erfolgreich wurden Partikel mit einem polymeren Kern und auf der Partikeloberfläche abgeschiedenen HAP (mit einem Gewichtsanteil von 7 bis 50 Gew.-%) synthetisiert. *Ethirajan et al.*[56] publizierten die Verwendung von carboxylfunktionalisierten Polystyrolpartikeln, die durch den Prozess einer direkten Miniemulsion hergestellt wurden, als Template für HAP. Im Rahmen dieser Arbeiten konnte gezeigt werden, dass bei einer festgelegten Konzentration an Ca^{2+}- und PO_4^{3-}-Ionen die Menge an gebildetem HAP auf der Partikeloberfläche mit ansteigender Menge an Carboxylgruppen auf der Oberfläche zunimmt.

2.4.4 Phosphonat- und phosphatfunktionalisierte Polymerpartikel

Phosphonat- und phosphatfunktionalisierte Polymerpartikel können in den verschiedensten Bereichen ihren Einsatz finden. Die hohe Affinität von Phosphonatgruppen an verschiedene Metallionen wie Cu(II), Co(II), Ag(I) und Ni(II), steuerbar durch den pH-Wert, führt beispielsweise zu Anwendungen als Dispergiermittel. Eine weitere mögliche Anwendung ist die Rückgewinnung von Metallen aus verdünnten Lösungen, wie Abwässern oder industriellen Flüssigkeiten.[60] *Henke et al.* [61] beschreiben die Verwendung von reaktiven Mikrogelen zur Verbesserung des Korrosionsschutzes von Aluminiumoxidoberflächen. Hierfür wurden funktionalisierte Polymerpartikel (40 bis 200 nm) in einer zweistufigen Emulsionspolymerisation hergestellt. Als Basispartikel wurde ein Butylacrylat/Styrol-Partikel verwendet und dieser mit verschiedenen Monomeren funktionalisiert. Die Funktionalisierung des Basis BA/S-Partikels erfolgte unter anderem mit Allylglycidylether, Polyethylenglykolmethacrylat und einem Gemisch aus 2-Methacryloyloxyethylphosphat und Bis-2-Methacryloyloxyethylphosphat. Aluminiumsubstrate wurden mit den Polymerdispersionen beschichtet und Korrosionsschutztests durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass die Beschichtungen mit den phosphorhaltigen Partikeln einen besseren Korrosionsschutz zeigen als Beschichtungen mit unfunktionalisierten Partikeln.

2.4.5 Inverse Miniemulsionen

Das Prinzip der Miniemulsion lässt sich von direkten Öl-in-Wasser (O/W)- auch auf indirekte Wasser-in-Öl (W/O)-Systeme übertragen. Als omotisches Reagenz wird das so genannte „Lipophob“ verwendet. Lipophobe sind typischerweise Salze (wie NaCl) oder Zucker, die eine geringe Löslichkeit in der organischen (kontinuierlichen) Phase aufweisen. Durch eine inverse Miniemulsion sind hydrophile Monomere, wie Hydroxyethylacrylat, Acrylamid oder Acrylsäure zugänglich. Polymere Nanokapseln können unter anderem durch Polyaddition oder Polykondensation in inverser Miniemulsion hergestellt werden.[9,62,63] Das Prinzip einer inversen Miniemulsion ist in Abbildung 2-5 gezeigt.

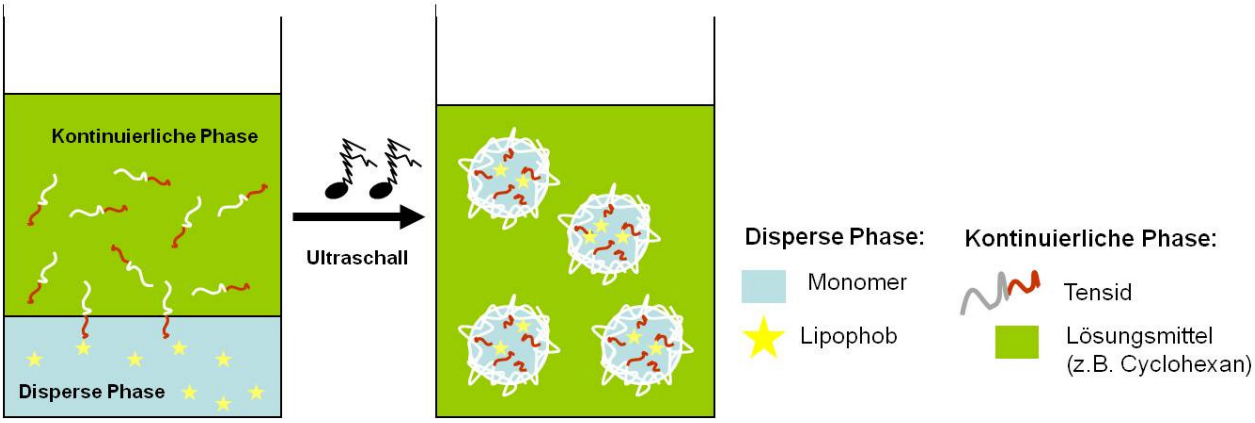
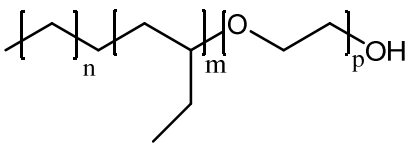
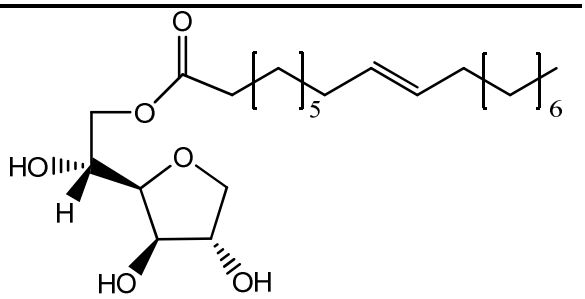
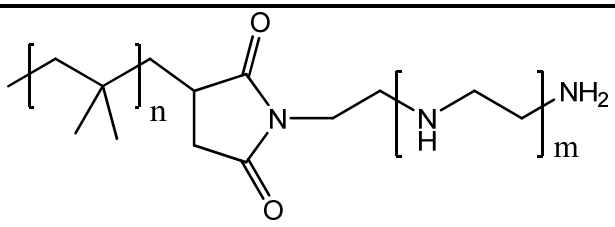


Abbildung 2-5 Prinzip einer inversen Miniemulsion.

Tenside mit einem HLB-Wert [34,35] kleiner als 7 sind als Emulgatoren für inverse Systeme geeignet. Die Tenside Sorbitan Monooleat (Span®80) und das amphiphile Blockcopolymer Poly[(ethylen-co-butylen)-*b*-ethylenoxid)] (P(B/E-*b*-EO) können zur Stabilisierung inverser Miniemulsionen eingesetzt werden.[33] Die Verwendung des Surfmers Polyisobutylen-succinimidpentamin (Lubrizol®U) ist zur Stabilisierung bei der Kapselherstellung in Miniemulsion möglich.[9] Surfmere sind polymerisierbare Tenside, d.h. Tensid und Monomer (**Surf**actant and Mono**mer**) sind in einer Verbindung vereint. Der Vorteil liegt darin, dass der Stabilisator kovalent durch die aminofunktionalisierte Kopfgruppe des Surfmers Lubrizol®U, in die Polymerhülle eingebaut wird. Die Strukturformeln der Tenside ist in Tabelle 2-3 gezeigt.

Tabelle 2-3 Beispiele: Geeignete Tenside für eine inverse Miniemulsion.

Tenside für inverse Miniemulsionen	
Poly[(ethylen-*co*-butylen)-*b*-ethylenoxid)] (P(B/E-*b*-EO)	Sorbitan Monooleat (Span®80)
	
Polyisobutylensuccinimidpentamin (Lubrizol®U)	
	

Im Rahmen dieser Dissertation wurde hauptsächlich Poly[(ethylen-*co*-butylen)-*b*-ethylenoxid)] (P(B/E-*b*-EO) zur Stabilisierung der Kapseln in inverser Miniemulsion eingesetzt.

2.4.6 Polymerkapsel-Synthese durch Grenzflächenreaktionen in Miniemulsion

Die Miniemulsionstechnik eignet sich nicht nur für radikalische Polymerisationen. Vielfältige Polymerisationstypen wie anionische, kationische, enzymatische, metallkatalysierte und oxidative Polymerisationen sind über den Miniemulsions-Prozess zugänglich.[31] Auch Grenzflächenreaktionen, wie Polyadditionen oder Polykondensationen sind etabliert. Verschiedene Polymerpartikel und Polymerkapseln sind so synthetisierbar. Es können verschiedene Polyurethane, Polyharnstoffe, Polyamide, Polyester aber auch Polysiloxane und Epoxide in Miniemulsion synthetisiert und anschließend für mögliche biologische Anwendungen in eine wässrige Phase überführt werden.[31] Polyadditionen sind weit verbreitet, um Nanokapseln mit einem hydrophilen flüssigen Kern herzustellen. Die Herstellung kann durch Polykondensationen an der Grenzfläche oder durch Vernetzungsreaktionen in inverser Miniemulsion erfolgen. Durch Variation der Monomere können verschiedene Polyurethan-, Polyharnstoff- oder Polythioharnstoff-Kapseln synthetisiert werden. Bioabbaubare Polymerkapseln können durch Einsatz von Kartoffel-

Stärke in inverser Miniemulsion erhalten werden.[64,65] Das Prinzip dieser Grenzflächenreaktionen beruht darauf, dass das hydrophile Monomer z.B. 1,6-Hexamethylendiamin oder 1,6-Hexandiol in der dispersen Phase gelöst vorliegt, während das zweite Monomer, wie hydrophobe Diisocyanate oder Diisothiocyanate in der kontinuierlichen Phase gelöst wird. Die Polyaddition oder Vernetzungsreaktion findet an der Grenzfläche des Tröpfchens statt. Die resultierenden Kapseln liegen weiterhin dispergiert in der kontinuierlichen Phase vor. Die Verkapselung verschiedener Komponenten ist möglich. Die Kapseln ermöglichen so den Transport und die kontrollierte Freisetzung von Medikamenten, pharmazeutisch wirksamen Substanzen, Enzymen oder aber auch von verschiedenen chemisch aktiven Stoffen.[66-68] Die Verkapselung von Kontrastmitteln, wie Gadovist und Magnevist für die Magnet-Resonanz-Tomographie *(*MRT*)* ist eine der vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten.[10] Als weitere Anwendung wurde Silbernitrat in einer Polyharnstoffhülle verkapselt und anschließend zu Silber-Nanopartikeln in den Kapseln reduziert.[69] In inverser Miniemulsion wurden durch Polyaddition pH-sensitive, amphotere Partikel aus Ethylenglykoldiglycidylether (EGDGE) und L-Lysin herstellt und Oligonukleotide verkapselt. Die Freisetzung erfolgte durch gezielte Kontrolle des pH-Werts.[70] Es konnte zudem gezeigt werden, dass vernetzte Stärke-Kapseln als Nanoreaktoren für die Amplifizierung von dsDNA in einer Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) eingesetzt werden können. Hier konnte gezeigt werden, dass eine Einzelmolekülchemie in den Miniemulsionströpfchen möglich ist.[65]

2.4.7 Emulsion/Lösungsmittelverdampfungstechnik kombiniert mit dem Miniemulsions-Prozess

Die Methode der Emulsion/Lösungsmittelverdampfung kombiniert mit der Miniemulsions-technik ist etabliert um bioabbaubare Polyester-basierte Polymerlatizes, wie Polylactid-, Poly(lactid-co-glycolid) oder Poly(ε-caprolacton)- Nanopartikel herzustellen.[71,72] Die Herstellung der Nanopartikel erfolgt aus dem bereits gebildeten Polymer. Bei der Emulsion/Lösungsmittelverdampfungstechnik werden Öl-in-Wasser-Emulsionen verwendet, bei denen das fertige Polymer in einem organischen wasserunlöslichen Lösungsmittel gelöst ist. Die wässrige Tensidlösung bildet die kontinuierliche Phase. Beide Phasen werden gemischt und nach intensivem Rühren bildet sich eine Makroemulsion. Die Homogenisierung erfolgt im Anschluss durch Ultraschall. Das organische Lösungsmittel wird bei geeigneten Temperaturen oder reduziertem Druck verdampft, wobei stabile Nanopartikel in der wässrigen Phase gebildet werden (s. Abbildung 2-6).

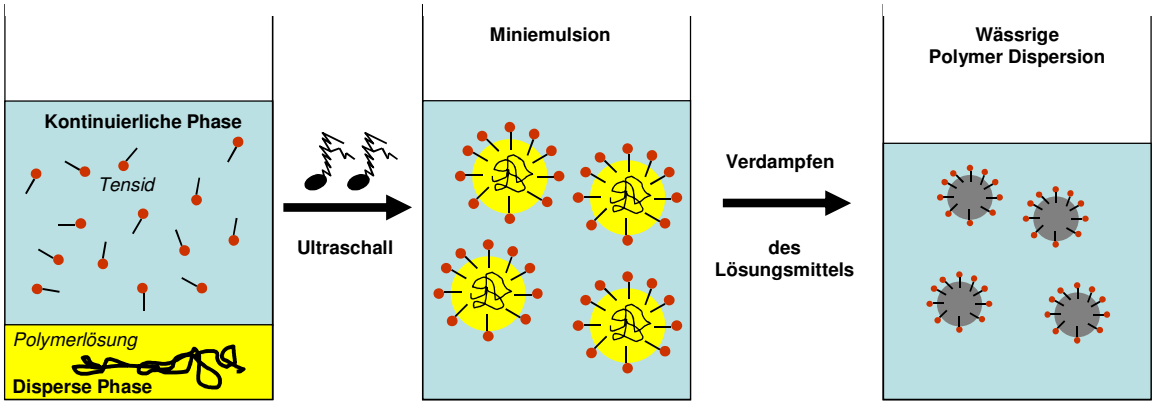


Abbildung 2-6 Ausfällung von Polymerpartikeln aus einem organischen Lösungsmittel in eine wässrige Phase.

Durch die geringe Wasserlöslichkeit der eingesetzten Polymere, kann bei dieser Methode auf die Zugabe eines Hydrophobs verzichtet werden.[73] Über die Konzentration der Polymerlösung und der Menge an Tensid in der wässrigen Phase lässt sich die Partikelgröße kontrollieren.[73] Verschiedene Veröffentlichungen beschäftigen sich mit der Herstellung von Polylactid-Nanopartikeln durch die Lösungsmittel-Verdampfungstechnik kombiniert mit heterophasen Systemen wie der Miniemulsions[71,72]- oder Mikroemulsionstechnik [74].

2.4.8 Bioabbaubare Partikel für biomedizinische Anwendungen

Verschiedene bioabbaubare Polymere können für biomedizinische Anwendungen eingesetzt werden. Es werden beispielsweise Proteine (z.B. Kollagen, Gelatine), Polysaccharide (z.B. Cellulose, Dextran, Chitosan) oder aliphatische Polyester (wie Polylactid, Polyglycolid, Poly(DL-Lactid-*co*-Glycolid), Poly(ε-caprolactam)) beschrieben.[72,75] Da diese aliphatischen Polyester eine geringe Toxizität *in-vivo*[71] aufweisen, biokompatibel und bioabbaubar sind, werden diese Polymere besonders für die kontrollierte Freisetzung von Wirkstoffen beschrieben. Polylactid ist ein besonders vielversprechendes bioabbaubares Polymer, da es eine hohe mechanische Festigkeit aufweist und aus erneuerbaren Ressourcen gewonnen werden kann.[72] Der Abbau der Polyester findet durch Hydrolyse der Esterbindungen statt. Das Abbauprodukt von Polylactid ist die Milchsäure. L-Milchsäure wird im Citrat-Zyklus zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut. D-Milchsäure wird in nicht-metabolisierter Form ausgeschieden. Verschiedene Faktoren wie die Umgebungsbedingungen, das Molekulargewicht, die Kristallinität usw. beeinflussen die Abbaukinetik. Die Funktionalisierung der Polylactid-Partikeloberfläche mit Hydroxy-und Carboxylgruppen ist literaturbekannt.[74] Verschiedene hydrophobe Fluoreszenzfarbstoffe können in Polylactid-

Partikeln verkapselt werden und somit kann die Zellaufnahme verfolgt werden.[71,72] Durch Einkapselung von Eisenoxid ist die Synthese magnetischer PLA-Nanopartikel möglich.[72] Kohori et al.[76] beschreiben die Synthese des thermosensitiven Blockcopolymers Poly(N-Isopropylacrylamid-*b*-DL-Lactid) (PIPAAm-PLA) und die anschließende Mizellbildung. Ziel war die Herstellung von Systemen, die durch thermosensitives Verhalten die gezielte Freisetzung von Wirkstoffen ermöglichen.

2.5 Verkapselung von Wirkstoffen

Im vorangehenden Teil der Arbeit wurde bereits die Synthese von Polymerpartikeln, Kapseln und bioabbaubaren Partikeln durch den Miniemulsions-Prozess beschrieben. Hier wurde gezeigt, dass sich (funktionalisierte) Polystyrolpartikel als Marker für Zellen eignen, da sie lange im menschlichen Körper nachweisbar sind. Polyharnstoff- und Polyurethankapseln bieten den Vorteil, dass sie aufgrund ihrer Kern-Schale-Struktur mit einem hydrophilen flüssigen Kern und einer dünnen Polymerwand die Verkapselung hydrophiler Substanzen möglich machen. Durch Verkapselung von pharmazeutisch wirksamen Substanzen und Medikamenten können Wirkstoffe gezielt an den gewünschten Wirkungsort gebracht werden. Nebenwirkungen können so verhindert werden, da der entsprechende Wirkstoff erst gezielt am Zielort freigesetzt wird. Polylactid-Partikel sind bioabbaubar und biokompatibel. Somit liegt eine große Bandbreite an partikulären Systemen vor, die die Verkapselung verschiedener hydrophiler und hydrophober Stoffe zulassen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene pharmazeutisch wirksame Stoffe verkapselt. Zum einen wurden die hydrophoben Arzneistoffe Paclitaxel und Dexamethason und zum anderen das hydrophile Bisphosphonat Pamidronat verkapselt. Im Folgenden ist eine kurze Übersicht über die Wirkstoffe und ihre Wirkungsweise gegeben.

Paclitaxel gehört zu der Wirkstoffklasse der Zytostatika und wird aus der Rinde verschiedener Eibenarten gewonnen.[77] Es besitzt einen großen Wirkungsbereich und wirkt gegen verschiedene Krebsarten, wie Brustkrebs, Leukämien, Blasen-, Kopf- und Hals-Karzinome. Paclitaxel gehört zur Gruppe der Taxane, welche chemisch zu den Diterpenoiden (Diterpenen) gehören. In Abbildung 2-7a) ist die Strukturformel gezeigt. Paclitaxel ist ein weißer Feststoff mit der Formel $C_{47}H_{51}NO_{14}$. Paclitaxel ist unlöslich in Wasser. Die Löslichkeit in Wasser beträgt lediglich zwischen 0,7 bis 30 µg/ml [77], was für die klinische Formulierung problematisch ist. Der Wirkstoff Paclitaxel wird direkt an Tubulin gebunden und stabilisiert so den Spindelapparat, der dadurch die Fähigkeit zu Kontraktion/Retraktion verliert.

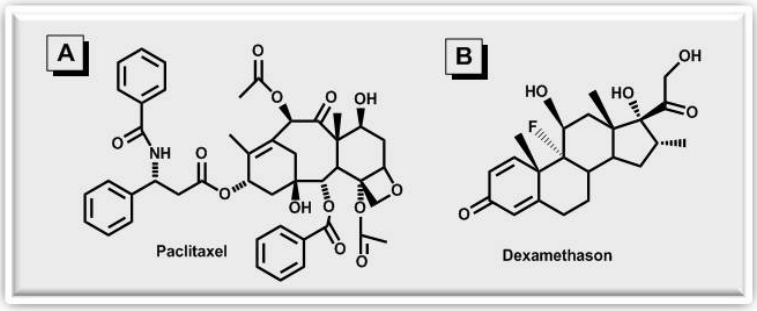


Abbildung 2-7 a) Strukturformel von Paclitaxel und b) von Dexamethason.

Verschiedene Publikationen behandeln die Wirkstofffreisetzung von Paclitaxel aus Mizellen.[78,79] Es wurde gezeigt, dass der Wirkstoff in kurzer Zeit (etwa einer Viertelstunde) freigesetzt wird. Systeme, die eine langsamere und kontrollierte Freisetzung ermöglichen, sind daher von Interesse.

Dexamethason gehört zur Wirkstoffgruppe der Glukokortikoide. Es wirkt entzündungshemmend und dämpfend auf das Immunsystem. Dexamethason wirkt lang und 30mal stärker als körpereigene Produkte. Die Strukturformel des hydrophoben Wirkstoffes ist in Abbildung 2-7b) gezeigt.

Bisphosphonate sind weit verbreitete und wirksame Arzneistoffe bei der Behandlung von verschiedenen Krankheiten im Zusammenhang mit Knochen, Zähnen und dem Calcium-Stoffwechsel.[80,81] Sie werden seit der Mitte der 80er Jahre zur Behandlung von Osteoporose und anderen Calcium-Stoffwechselerkrankungen eingesetzt. Durch Hemmung der Osteoklasten blockieren Bisphosphonate die Freisetzung von Calcium aus dem Knochen und den Knochenabbau. Die Adhäsion von Tumorzellen an die Knochenmatrix wird blockiert.[80,81] Der strukturelle Aufbau von Bisphosphonaten ist in folgender Abbildung 2-8 gezeigt.

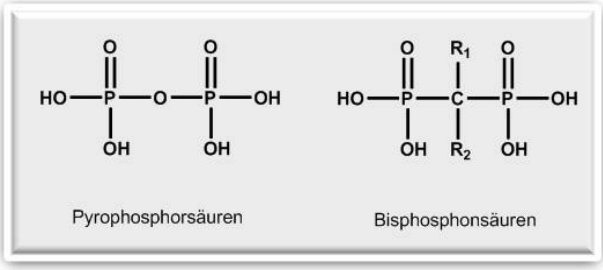


Abbildung 2-8 Strukturelle Einteilung von Bisphosphonaten.

Bisphosphonate sind Analoga der Pyrophosphate, wobei das zentrale Sauerstoffatom durch Kohlenstoff ersetzt ist. [80,82] Anhand ihrer chemischen Struktur können Bisphosphonate in

Pyrophosphorsäuren und Bisphosphonsäuren unterschieden werden (s. Abbildung 2-8). Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Bisphosphonat Pamidronat (R_1= $(CH_2)_3$-NH_2 und R_2= OH) verkapselt.

2.6 Radikalische Substanzpolymerisation

Die radikalische Polymerisation nimmt großtechnisch eine führende Stellung ein, da vielfältige Monomere radikalisch polymerisierbar sind. Außerdem ist die radikalische Polymerisation recht unempfindlich gegenüber Verunreinigungen, eine verhältnismäßig einfache Kontrolle ist möglich und schon bei geringen Umsätzen werden hohe Molekulargewichte erzielt. Bei der radikalischen Polymerisation handelt es sich um eine Kettenwachstumsreaktion und gliedert sich daher in die Elementarschritte Start, Wachstum, Abbruch und Übertragung. Die benötigten Radikale müssen erst *in situ* gebildet werden. In seltenen Fällen, wie z.B. bei der Polymerisation von Styrol, kann die Initiierung rein thermisch ohne Initiator erfolgen. In den meisten Fällen ist jedoch die Anwesenheit von Radikalbildner wie Peroxiden, Azoverbindungen, Hydroperoxide oder Organometallverbindungen notwendig. Die Bildung der Radikale erfolgt thermisch, photochemisch, durch Redox-Reaktionen oder durch Elektrolyse.

Der Initiator reagiert durch Spaltung von Atombindungen zu den Initiatorradikalen R*. Das Radikal R* reagiert unter Einbau mit dem ersten Monomermolekül M. Ein „Monomerradikal“ *R-M** entsteht und addiert in der Startreaktion ein weiteres Monomermolekül (*RM* + nM → P**) usw. Das Kettenwachstum findet statt, bis ein Abbruch durch Rekombination oder Disproportionierung zweier Makroradikale stattfindet.
In Bezug auf die Radikalkonzentration stellt sich nach wenigen Sekunden ein stationärer Zustand ein. Nach dem *Bodenstein*schen Stationaritätsprinzip reagieren die fortwährend während der Startreaktion gebildeten Radikale mit dem Monomer zu Polymerradikalen, die durch die Abbruchreaktion wieder verschwinden. Die zeitliche Änderung der Radikalkonzentration ist daher gleich null

$$\frac{d[P*]}{dt} = k_S[R*]\cdot[M] - k_t[P*]^2 = 0 \qquad (1)$$

Die Konzentration der Initatorradikale [*R**] ergibt sich aus der Bildungsgeschwindigkeit

$$\frac{d[I^*]}{dt} = 2f \cdot k_d[I] - k_S[R^*] \cdot [M] = 0 \qquad (2)$$

Die Polymerradikalkonzentration [*P**] folgt aus der Wachstumsreaktion

$$-\frac{d[M]}{dt} = k_p[P^*] \cdot [M] \qquad (3)$$

mit den Geschwindigkeitskonstanten des Initiatorzerfalls k_d, der Startreaktion k_s, dem Kettenwachstum k_p und der Rekombination k_t. Die Polymerisationsgeschwindigkeit R_p ist proportional zur Monomerkonzentration:

$$R_P = -\frac{d[M]}{dt} = k_p\left(2f \cdot \frac{k_d}{k_t}\right)^{1/2} \cdot [I]^{1/2} \cdot [M] \qquad (4)$$

Die Polymerisationsgeschwindigkeit sollte daher mit steigendem Umsatz abfallen. Die Geschwindigkeit kann zum Ende der Polymerisation aber wieder ansteigen, was sich auf die stark zunehmende Viskosität der Reaktionsmischung zurückführen lässt. Die Abbruchreaktion ist (wie nahezu alle Radikalreaktionen) diffusionskontrolliert. Die Abbruchkonstanten k_t fallen mit steigender Viskosität der Reaktionsmischung. Die Diffusion der Kettenradikale zueinander ist aufgrund der erhöhten Viskosität im Reaktionsmedium und der sterischen Hinderung der anwachsenden Polymerketten erschwert. Die Abbruchgeschwindigkeit nimmt ab. Die Diffusion der Monomermoleküle zu den Radikalzentren bleibt nahezu unverändert und die Wachstumsgeschwindigkeit bleibt konstant. Die Bruttopolymerisationsgeschwindigkeit erhöht sich. Anders ausgedrückt, werden somit weiter Radikale vom Initiator gebildet, es finden aber weniger Abbruchreaktionen statt. Die Reaktion wird stark exotherm. Dieser Effekt wird *Gel-Effekt* oder auch *Trommsdorff-Norrish-Effekt* genannt. Die oben beschriebenen Geschwindigkeitsgleichungen finden hier keine Gültigkeit mehr.

2.6.1 Radikalische Emulsionspolymerisation

Als Initiatoren in der Emulsionspolymerisation werden hydrophile Initiatoren wie typischerweise Dikaliumperoxodisulfat (KPS) oder Redox-Initiatoren wie Fe^{2+}/H_2O_2 eingesetzt. In der Miniemulsionspolymerisation können hydrophile Initiatoren wie z.B. KPS [83] und Natriumpersulfat (SPS), aber auch hydrophobe Initiatoren wie zum Beispiel 2,2'-Azobisisobutyronitril (AIBN)[84,85] oder 2,2'-Azobis(3-methylbutyronitril) (V59)[8] eingesetzt werden. Die Verteilung der Initiatoren zwischen der dispersen Ölphase und der wässrigen kontinuierlichen Phase wird in der Literatur durch den Verteilungskoeffizienten λ ($\lambda = [I]_{öl}/[I]_{wasser}$) beschrieben.[86] *Nomura et al.*[86] untersuchten die Verteilungskoeffizienten verschiedener Initiatoren zwischen einer dispergierten Styrolphase und einer wässrigen Phase. Sie konnten zeigen, dass V59 mit λ=2560 und AIBN mit λ=120 (beide Werte ermittelt bei 25 °C) eine unterschiedliche Verteilung zwischen den verschiedenen Heterophasen aufweisen. V59 liegt in der Ölphase vor, während AIBN mehr zwischen der Öl- und der Wasserphase verteilt ist.

In Emulsionen liegen die Monomere als fein verteilte Tröpfchen in einer wässrigen Phase unter Stabilisierung von Tensiden vor. Das Kettenwachstum findet separat in den Monomertröpfchen statt. Ein Abbruch durch Rekombination zweier Makromoleküle erfolgt nicht. Die Kinetik einer radikalischen Emulsionspolymerisation unterscheidet sich daher fundamental von der einer Substanzpolymerisation in dem Abbruchschritt. In der Emulsionspolymerisation kann nur ein Kettenabbruch erfolgen, wenn Primärradikale aus der wässrigen Phase in das Monomertröpfchen diffundieren und mit dem anwachsenden Makroradikal rekombinieren. Generell befindet sich ein aktives Radikal oder kein aktives Radikal in einem Monomertröpfchen. Bei der Substanzpolymerisation hängt die Reaktionsrate von der inversen Wurzel der Initiatorkonzentration $[I]^{1/2}$ und der Konzentration an Monomer *[M]* ab (siehe Gleichung 4), während bei der Emulsionspolymerisation die Teilchenzahl die Reaktionsrate ($R_p \infty N$) bestimmt. R_p ist somit antiproportional zum Teilchenvolumen.[87] Die Teilchenanzahl hängt von der Initiatorkonzentration ab.[87] Nach *Harkins*[88] lässt sich der Verlauf einer Emulsionspolymerisation in vier Bereiche (Intervall I bis IV) unterteilen (Abbildung 2-9).

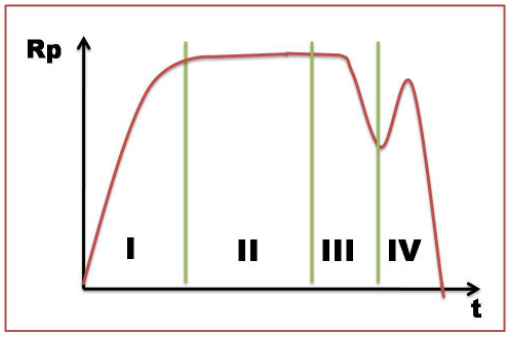


Abbildung 2-9 Schematischer Reaktionsverlauf einer Emulsionspolymerisation.

Intervall I bezeichnet die Nukleationsphase. In dieser Phase liegen neben den Monomertröpfchen Mizellen in der wässrigen Phase vor. Die Monomertröpfchen sind mit Tensid stabilisiert. Das Monomer diffundiert teilweise in die Mizellen, so dass freie Mizellen neben Monomer gequollenen Mizellen vorliegen. Der wasserlösliche Initiator startet die Polymerisation aus der Wasserphase und Oligoradikale treten in die Mizellen ein. Die Polymerisationsrate steigt an. Intervall II setzt ein, wenn alle Tenside an anwachsenden Latexteilchen adsorbiert sind. Es diffundiert immer mehr Monomer aus den Monomertröpfchen in die Partikel. Die Partikel wachsen kontinuierlich an. Die durchschnittliche Reaktionsgeschwindigkeit ist in Intervall II konstant, da die Monomerkonzentration in den Partikeln konstant bleibt. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird ausschließlich von der Diffusion des Monomeren bestimmt. Die Teilchenoberfläche nimmt kontinuierlich zu, so dass am Ende von Intervall II die Oberflächen der Partikel nicht mehr vollständig mit Tensid bedeckt sind. Während Intervall II und III ändert sich die Teilchenzahl nicht. Ist das Monomer in den Monomertröpfchen aufgebraucht, sinkt die Polymerisationsrate stetig und Intervall III ist erreicht. Verbleibendes Monomer ist ausschließlich in den monomergequollenen Partikeln vorhanden. Die Viskosität in den Partikeln nimmt immer weiter zu, so dass der *Gel-Effekt* (*Trommsdorff-Norrish-Effekt*) auftritt. Die Polymerisationsrate steigt stark an und Intervall IV nach *Harkins* [88] wird erreicht.

Die *Smith-Ewart-Theorie*[89] von 1948 unterscheidet für den stationären Zustand einer konstanten Polymerisationsgeschwindigkeit drei Fälle. Fall II ist charakteristisch für eine Emulsionspolymerisation und geht davon aus, dass die Konzentration an Radikalen in den Latexpartikeln nur konstant sein kann, wenn die Bildung und der Verbrauch an Radikalen pro Zeiteinheit gleich groß sind. Das Kettenwachstum erfolgt durch ein Radikal, das in das Latexteilchen eintritt. Tritt ein zweites Radikal ein, so kommt es sofort zu einer Rekombination mit dem anwachsenden Makroradikal. Die Polymerisation kann erst durch das erneute Eindringen eines weiteren Radikals in das Latexteilchen fortgesetzt werden. Die Geschwindigkeit des Eintritts ist daher geringer als die Abbruchgeschwindigkeit. In dem

Latexteilchen befindet sich damit entweder ein aktives Radikal oder durch die vorherige Rekombination eines eintretenden Radikals mit dem Makroradikal, kein Radikal. Die mittlere Anzahl an Radikalen pro Partikel $(\bar{n})$ beträgt somit 0,5.

2.6.2 Radikalische Miniemulsionspolymerisation

In einem Miniemulsionssystem kann jedes Monomertröpfchen als abgeschlossener Reaktionsort verstanden werden. Durch Zugabe des osmotischen Reagenz wird eine Monomerdiffusion zwischen den Tröpfchen unterdrückt. Die eingesetzte Tensidmenge wird so gewählt, dass keine freien Mizellen in der wässrigen Phase vorliegen. Die Tensidkonzentration liegt unterhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration (cmc). Jedes Tröpfchen wird im idealen Fall 1:1 in einen Polymerpartikel überführt. In Anlehnung an die *Harkins-Theorie*[88] kann der Verlauf einer Miniemulsionspolymerisation in drei Intervalle unterteilt werden (Abbildung 2-10). [31,83,87]

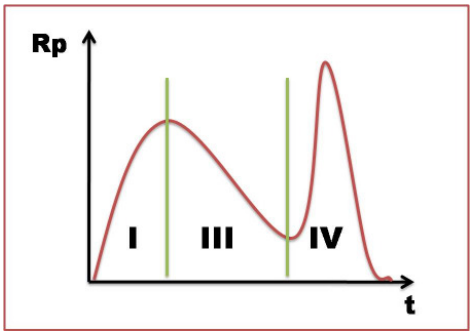


Abbildung 2-10 Schematischer Reaktionsverlauf einer Miniemulsionspolymerisation.

Intervall I und III sowie der Bereich des *Gel-Effekts* (Intervall IV) der *Harkins-Theorie*[88] können beobachtet werden. Wie auch bei der Mikroemulsionspolymerisation fehlt das Intervall der konstanten Reaktionsrate (Intervall II). Intervall I ist das Nukleationsintervall, in dem die Polymerisation in den Tröpfchen initiiert wird. Die Polymerisationsrate steigt an. Im anschließenden Intervall III kommt es zur Verarmung an Monomer in den Tröpfchen. Die Reaktionsrate nimmt ab. Aus der hohen Viskosität innerhalb der mit Monomer gequollenen Partikel resultiert schließlich der Gel-Effekt (Interval IV). Die Polymerisationsrate steigt rapide an und nimmt wieder ab.

Bechthold et al.[83] untersuchten die Polymerisation von Styrol unter Verwendung des wasserlöslichen Initiators KPS in Miniemulsion mittels Reaktionskalorimetrie. Es konnte gezeigt werden, dass die Gesamtreaktionsrate nur durch die Anzahl an Tröpfchen und somit der Tröpfchengröße beeinflusst wird. Die mittlere Anzahl an Radikalen wurde bestimmt und gezeigt, dass $\bar{n}$ in Intervall I von 0 auf 0,5 ansteigt. In Intervall III ist $\bar{n}$ konstant bei 0,5. Bei

Erreichen des *Gel-Effekts* steigt es sprunghaft an. In Intervall IV ist $\bar{n}$ somit deutlich größer als 0,5.

2.6.3 Nukleationsmechanismen

In der Literatur werden die Nukleationsmechanismen mizellare Nukleation, homogene Nukleation und Tröpfchennukleation für Polymerisationen in Heterophase diskutiert.[31] Im Fall der mizellaren Nukleation tritt ein Radikal in eine Mizelle ein, die mit Monomer gequollen ist. Das Radikal initiiert das Kettenwachstum durch Reaktion mit dem in der Mizelle vorliegenden Monomer. Weitere Mizellen dienen als Monomer-Reservoir, so dass weiteres Monomer aus den gequollenen Mizellen diffundieren kann. Direkt nach Zugabe eines wasserlöslichen Initiators wird die Polymerisation gestartet. Diese Nukleationsart ist typisch für Mikroemulsionen, da nur bei Tensidmengen oberhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration (cmc) freie Mizellen in der kontinuierlichen Phase vorliegen. In Miniemulsionen liegen die Werte der Oberflächenspannung meist deutlich oberhalb der Werte von gesättigten Tensidlösungen.[31] Neben den Tröpfchen liegen keine Mizellen vor. Für Miniemulsionen ist die mizellare Nukleation daher nicht von Bedeutung. Bei der homogenen Nukleation werden Nukleationskeime aus wasserlöslichen Oligomeren in der kontinuierlichen Phase gebildet. Das Monomer diffundiert zu den Nukleationsstellen. Ab einer bestimmten Anzahl an Oligomeren bzw. einer bestimmten Kettenlänge sind die Nukleationskeime thermodynamisch stabil. Unter einer bestimmten Anzahl an Oligomeren kommt es zur Auflösung. Die homogene Nukleation ist besonders für die tensidfreie Emulsionspolymerisation von Bedeutung, kann aber auch einen zweiten möglichen Mechanismus für die Miniemulsionspolymerisation darstellen. Der wichtigste und vorherrschende Mechanismus bei der Nukleation einer idealen Miniemulsion ist die Tröpfchennukleation. Die Tröpfchen die während der Emulgierung gebildet wurden, werden direkt durch die eintretenden Radikale nukleiert. Es findet direkt die Reaktion mit dem Monomer statt. In einer idealen Miniemulsion wird jedes einzelne Tröpfchen nukleiert. Die Anzahl an Tröpfchen während der Polymerisation bleibt konstant. Die Verwendung öllöslicher Initiatoren ist möglich.[31,83]

3 Messmethoden

3.1 Dynamische Lichtstreuung[29,30]

Bei der dynamischen Lichtstreuung (DLS), auch quasielastische Lichtstreuung oder Photonen-Korrelations-Spektroskopie genannt, können die Bewegungen von Molekülen verfolgt werden. Die Bestimmung von Teilchengrößen und Teilchengrößenverteilungen in kolloidalen Systemen ist möglich. Das grundlegende Prinzip ist der *Doppler-Effekt*. Licht ist nach der klassischen Theorie eine elektromagnetische Welle. Bewegt sich eine Quelle die Wellen (Licht, Schall) aussendet, mit einer bestimmten Geschwindigkeit relativ zum Beobachter, so erfährt die Welle beim Beobachter eine Frequenzverschiebung (*Doppler-Shift*). In einem kolloidalen System, also einer Dispersion oder Suspension, bewegen sich die Teilchen aufgrund der *Brown*'schen Molekularbewegung. Die gelösten Moleküle können sich in alle Raumrichtungen mit verschiedenen Geschwindigkeiten bewegen. Es kommt zur Rotation des Moleküls oder einzelner Molekülgruppen. Molekül-und Atomgruppen können schwingen. Es resultiert ein breites Spektrum (*Doppler*-Shift-Spektrum) an verschobenen Frequenzen in Bezug auf die eingestrahlte Frequenz. Durch experimentelle Bestimmung des *Doppler*-Shift-Spektrums *S(q,ω)* mit einem Interferometer kann im Prinzip die Bewegung von Molekülen verfolgt werden. Da die Bewegungsgeschwindigkeit der Moleküle jedoch sehr klein im Vergleich zur Lichtgeschwindigkeit ist, ist diese experimentelle Bestimmung schwierig. Die Autokorrelationsfunktion *g(t)* ist experimentell einfacher zu erfassen. Anstelle der Frequenzverschiebung wird zur Bestimmung der Autokorrelationsfunktion die zu verschiedenen Zeiten von der Signalquelle ankommende Photonen mit einem Photonen-Counter gemessen. Den Zusammenhang zwischen dem optischen Spektrum und der Autokorrelationsfunktion ist durch das *Wiener-Khinchine-Theorem* gegeben. Die in der Literatur angegebenen Gleichungen[29] lassen sich deutlich vereinfachen, wenn man einbezieht, dass die Bewegungsmöglichkeiten der Polymermoleküle, wie innere Schwingungen und innere Rotationen vernachlässigbar sind. Die Bewegungen sind derartig schnell, dass sie im Bereich der Messungenauigkeit der Dynamischen Lichtstreuung liegen. Bei reiner Translationsdiffusion starrer Kugeln gilt

$$g(t) = P \cdot \exp(-q^2 Dt) \qquad (5)$$

Mit P =präexponentieller Faktor, q =Streulichtvektor, D =Translations-Diffusionskoeffizienten und t =Zeit.

Es kann aus der Autokorrelationsfunktion (5) der Translations-Diffusionskoeffizient *D* berechnet werden. Der hydrodynamische Radius R_H lässt sich ermitteln, wenn eine Beziehung $D = f(R_H)$ besteht. Für Kugeln gilt das *Stokes-Einstein-Gesetz:*

$$R_H = \frac{k_B \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot D} \qquad (6)$$

Mit R_H = Hydrodynamischer Radius, k_B = Boltzmann-Konstante ($k_B = 1{,}38065 \cdot 10^{-23}\, J/K$) T = Temperatur, η = dynamische Viskosität und D = Translations-Diffusionskoeffizient.

3.2 Zetapotentialmessungen[29,90]

Das grundlegende Prinzip der Zetapotentialmessungen ist die Elektrophorese, das heißt die Wanderung eines geladenen Teilchens im elektrischen Feld (E-Feld). Wenn das Teilchen die Ladung $z \cdot e$ trägt, dann erfährt es im E-Feld die Kraft $F = z \cdot e \cdot E$. Aus der Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld, lässt sich das Zetapotential von geladenen Teilchen einer Dispersion bestimmen. Das Zetapotential lässt sich wie folgt definieren (siehe Abbildung 3-1):[29] Jedes geladene Teilchen besitzt ein elektrisches Potential $\varphi(x)$. Das Potential ist an der Oberfläche groß, nimmt aber mit zunehmendem Abstand *x* von der Oberfläche ab. Auf der Oberfläche des Teilchens befindet sich eine Lösungsmittelschicht. Das Zetapotential ist das elektrostatische Potential an der Oberfläche dieser Schicht.

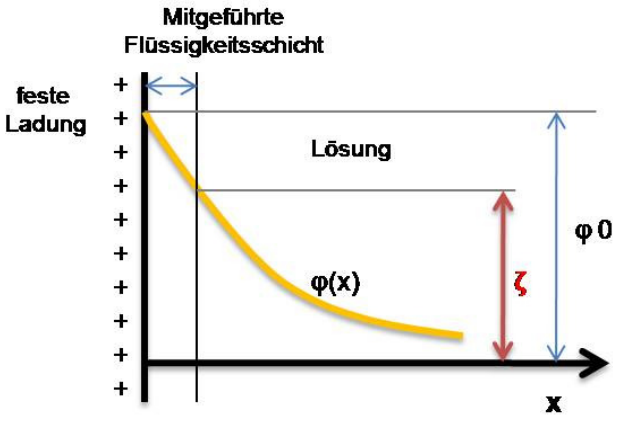


Abbildung 3-1 Definition des Zetapotentials.[29,90]

Die Bewegung der Teilchen im elektrischen Wechselfeld kann mit einem Laserstrahl verfolgt werden. Ein einfallender Laserstahl wird an einem bewegten Teilchen gestreut, was eine Frequenzverschiebung zur Folge hat (*Doppler-Effekt*). Aus der Frequenzverschiebung kann

die Geschwindigkeit der Teilchen bestimmt werden. Die Geschwindigkeit hängt mit dem Zetapotential über die *Smoluchowski-Beziehung* zusammen:

$$\zeta = \frac{v}{\eta \cdot \varepsilon \cdot E} \qquad (7)$$

Unter Einbeziehung von: v=Teilchengeschwindigkeit im E-Feld, η=Viskosität des Mediums, ε= Dielektrizitätskonstante und E=elektrische Feldstärke.

3.3 Partikelladungsdetektor (PCD)[91]

Oberflächenladungen von dispergierten Teilchen können über das Strömungspotential bestimmt werden. Zwischen den Teilchen und der umgebenden Lösung ist eine Relativgeschwindigkeit notwendig, die mechanisch bewirkt wird. Die Dispersion wird in ein Kunststoffgefäß eingefüllt, in dem sich ein Kolben auf und ab bewegt. Die Strömung der Flüssigkeit wird dabei in einem Messspalt zwischen der Gefäßwand und dem oszillierenden Kolben erzeugt. Die Spaltbreite und die Frequenz des sich bewegenden Kolbens müssen so abgestimmt sein, dass die erzeugte Relativgeschwindigkeit zwischen den Teilchen und dem umgebenden Dispersionsmedium groß genug ist, um die diffuse Schicht vollständig abzuscheren. Die Teilchen adsorbieren an der Gefäßwand und die Ladungsträger werden über das Strömungspotential getrennt (s. Abbildung 3-2). Es bildet sich ein messbares Strömungspotential aus. Das Strömungspotential sagt jedoch noch wenig über die Oberflächenladung der Teilchen aus. Der Wert des Messsignals ist abhängig von den Proben- und Umgebungsparametern wie z.B. der Gefäßgeometrie. Die Strömungsverhältnisse haben zudem einen entscheidenden Einfluss, die wiederum von der Strömungsgeometrie abhängen. Das Strömungspotential liefert somit kein absolutes Oberflächenpotential, gibt jedoch quantitative Aussagen, ob die Ladung positiv oder negativ ist und kann Veränderungen in der Oberflächenladung aufzeigen.

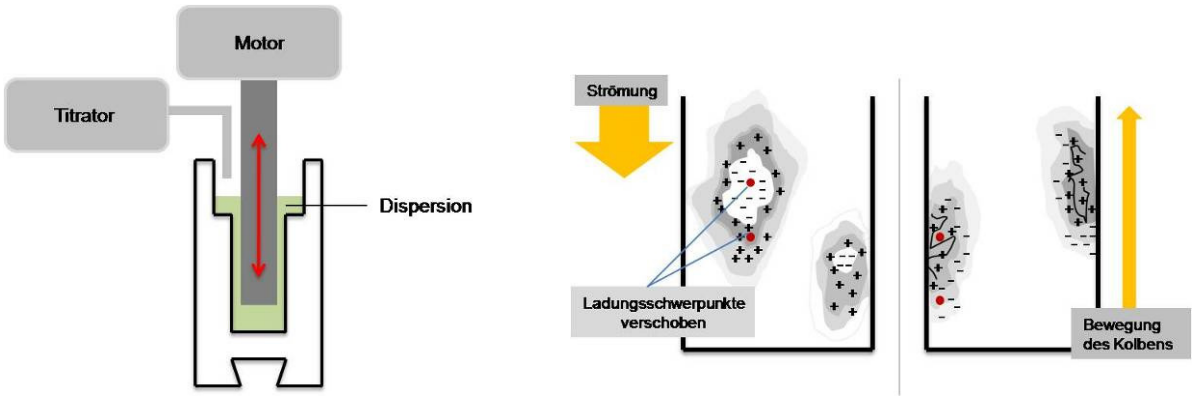


Abbildung 3-2 Schematischer Aufbau der PCD-Apparatur (links) und Mechanismus der Ladungstrennung (rechts).

Durch die Bestimmung des Strömungspotentials kann durch Titration mit einem entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten die Ladungsdichte von kolloidalen Teilchen auf der Oberfläche bestimmt werden. Beispiele für solche Polyelektrolyte sind Poly(diallyldimethylammoniumchlorid) (PDADMAC) und Natriumpolyethylensulfonat (PES-Na). Der zur Oberflächenladung der Teilchen entgegengesetzt geladene Polyelektrolyt, wird so lange zu der Dispersion hinzu titriert, bis es zur Neutralisation kommt und das Strömungspotential gleich null ist. Es bildet sich aufgrund der unterschiedlichen Ladungsvorzeichen ein Komplex zwischen Polyelektrolyt und Teilchen aus. Es herrschen Coulomb-Wechselwirkungen. Über den Verbrauch an Polyelektrolyten lässt sich die Ladungsdichte auf den Teilchen in der Dispersion berechnen. Folgende Formeln sind zur Berechnung in der Literatur beschrieben[8,41] und wurden im Rahmen dieser Arbeit verwendet, um die Anzahl an Phosphonat-, Phosphat-, Sulfat- und Aminogruppen auf der Oberfläche der Partikel zu bestimmen:

$$[Gruppen / g_{polymer}] = \frac{V \cdot M \cdot N_A}{SC} \qquad (8)$$

Mit V = Verbrauch an Polyelektrolyt in L, M = Molare Konzentration an Polyelektrolyt in mol/L, N_A =Avogadro-Konstante ($6.022 \times 10^{23}\ mol^{-1}$) und SC = Feststoffgehalt der Dispersion in g. Die Anzahl der funktionellen Gruppen pro Partikel berechnet sich wie folgt:

$$[Gruppen / Partikel] = [Gruppen / g_{polymer}] \cdot \frac{\rho \cdot D_n^3 \cdot \Pi}{6} \qquad (9)$$

$$[Gruppen / nm^2] = [Gruppen / g_{polymer}] \cdot \frac{\rho \cdot D_n \cdot 10^{-18}}{6} \qquad (10)$$

Mit ρ = Dichte des Polymeren (zum Beispiel Styrol =1,045 g/cm^3 und MMA = 0,94 g/cm^3) und D_n = Partikelgröße bestimmt durch DLS.

3.4 Transmissionselektronenmikroskopie [92]

Im Gegensatz zu einem herkömmlichen Lichtmikroskop werden in einem Elektronenmikroskop hochenergetische Elektronen verwendet, um eine bildhafte Darstellung eines Objekts zu erhalten. Analog zur Rasterelektronenmikroskopie, deren Prinzip im nächsten Abschnitt erläutert wird, besteht die Elektronenquelle aus einer Glühkathode. Die zu untersuchende Probe wird durch den Elektronenstrahl durchdrungen. Ein Kondensator bündelt den Elektronenstrahl, der anschließend auf die Probe fällt. Durch die elastische Streuung der Elektronen an den Atomkernen der Probe entsteht das Bild. Eine Blende unter dem Präparat fängt die gestreuten Elektronen ab, so dass an Stellen höherer Probendichte weniger Elektronen durch das Objektiv auf den Fluoreszenzschirm gelangen. Auf dem Schirm können somit durch die Helligkeit materiereiche Stellen und Gebiete mit weniger Materie der Proben unterschieden werden. Damit eine Transmission der Elektronen möglich ist, können nur dünne Proben untersucht werden. Das Transmissionselektronenmikroskop (TEM) wird im Hochvakuum betrieben, um die Ablenkung der Elektronen durch Luftmoleküle zu verhindern. Die Beschleunigungsspannungen liegen üblicherweise im Bereich von 50 bis 200 kV. In der vorliegenden Arbeit wurde die Transmissionselektronenmikroskopie eingesetzt, um die Morphologie der polymeren Nanopartikel und Kapseln zu untersuchen. Weiterhin fand die Methode ihren Einsatz, um die Größe der Partikel und Kapseln zu bestimmen und damit einen Vergleich zu den DLS-Ergebnissen zu erhalten.

3.5 Rasterelektronenmikroskopie [92]

Bei einem Rasterelektronenmikroskop (REM) wird die Oberfläche einer leitfähigen Probe mit einem sehr fein gebündelten Elektronenstrahl abgetastet. Die Kathode erzeugt einen Primärelektronenstrahl, der durch einen Steuerzylinder fokussiert und anschließend durch eine Anode beschleunigt wird. Der Elektronenstrahl wird durch das Passieren elektromagnetischer Spulen gebündelt und trifft mit einer Energie von ungefähr 0,5 bis 30 kV auf die Probe. Der primäre Elektronenstrahl rastert, unter Erzeugung von Sekundärelektronen, die Probe ab. Die Intensität der emittierten Sekundärelektronen hängt von der Krümmung der Probenoberfläche ab. Ein Detektor der schräg über der Probe angebracht ist, fängt die abgelenkten Sekundärelektronen ab. Durch die schräge Anordnung

des Detektors wird im Vergleich zum TEM ein plastischeres, dreidimensional wirkendes Bild erzeugt. Stellen der Proben, die dem Detektor zugewandt sind, emittieren deutlich mehr Elektronen und erscheinen dadurch heller als Probenbereiche die dem Detektor abgewandt sind.

3.6 Atomkraftmikroskopie [93-95]

Ein Atomkraftmikroskop (AFM) erlaubt die Abbildung von Oberflächentopographien mit einer hohen Auflösung und kann auch zur Messung von Kraft-Abstands-Kurven (kurz: Kraftkurven) eingesetzt werden. Beim AFM tastet eine Spitze, die an einer Blattfeder (Cantilever) befestigt ist, die Probe ab. Die topographische Aufnahme der Probe wird durch Aufzeichnung der Auslenkung des Cantilevers gegen die Probenposition erhalten.[93] Als Alternative kann die Höhenposition des Translationszustands aufgetragen werden. Ein piezoelektrischer Scanner bewegt die AFM-Spitze über die Probe. Die Kraft zwischen der Spitze und der Probe wird durch die Auslenkung des Cantilevers angezeigt, indem ein auf die Spitze gerichteter Laserstrahl reflektiert und mit einem Photodetektor aufgefangen wird. Ein Controller steuert die Bewegung des Scanners und der Spitze bzw. Probe und wertet die Signale aus. Der schematische Aufbau einer Atomkraftmikroskop-Apparatur ist in Abbildung 3-3 gezeigt.

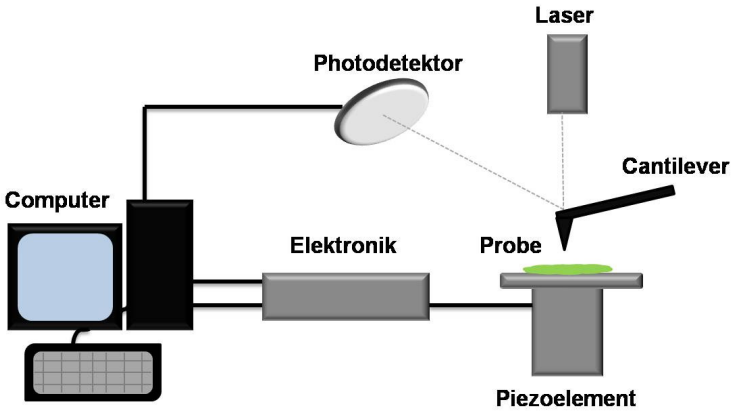


Abbildung 3-3 Schematischer Aufbau eines Atomkraftmikroskops.

Typische AFM-Aufnahmen werden im *Kontakt-Modus* aufgenommen, bei dem die Spitze in mechanischem Kontakt mit der zu untersuchenden Oberfläche steht. Im *Nicht-Kontakt-Modus* (*Tapping Mode*) schwingt der Cantilever an seiner Resonanzfrequenz. Es können gleichzeitig Höhen- und Phasenbilder aufgenommen werden. Höhenbilder geben Aufschluss über die Topographie, während über Phasenbilder Informationen über die mechanischen

Eigenschaften der Probe erhalten werden können. Mit Hilfe der Rastermikroskopie können auch molekulare Kräfte an Grenzflächen durch Aufzeichnung von Kraft-Abstands-Kurven bestimmt werden. In der vorliegenden Dissertation wurde diese Technik verwendet, um die Haftung der partikulären Beschichtungen auf Metalloxidoberflächen zu untersuchen. Die AFM-Spitze wird bei den Messungen der Oberfläche angenähert und anschließend zurückgefahren. Die Auslenkung des Cantilevers detektiert die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe. In Abbildung 3-4 ist eine theoretische Kraft-Abstands-Kurve gezeigt.[95]

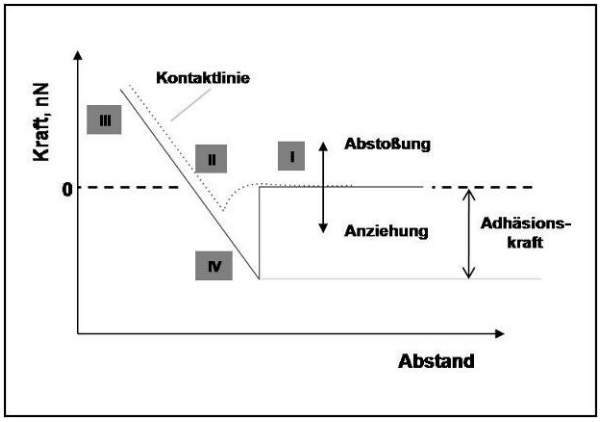


Abbildung 3-4 Theoretische Kraft-Abstandskurve mit den Kontakt- und Nicht-Kontakt-Bereichen: (I) AFM-Spitze ist weit von Oberfläche entfernt (II), Annäherungsregion (III), Kontakt-Region und (IV) die Rückzugsregion[95]

Im Bereich I sind AFM-Spitze und Probe räumlich weit separiert (Nicht-Kontakt-Region). Es herrschen keine Wechselwirkungen zwischen AFM-Spitze und Probe, die zu einer Auslenkung des Cantilevers führen können. Die Kurve liegt konstant bei dem Wert 0. In Region II und III sind Spitze und die Oberfläche angenähert bzw. in Kontakt. In diesem Bereich reflektiert die Kurve komplexe Anziehungs- und Abstoßungskräfte, die eine Aussage über die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe liefern können. Nach dem Kontakt (Bereich III) ist die Bewegung von der Spitze mit der der Probe geradlinig verbunden. Bereich IV stellt den Rückzugsbereich der Spitze von der Oberfläche dar. Der Cantilever verformt sich durch die wirkenden Kräfte zwischen Spitze und Probe bei dem Rückzug der Spitze. Ab einem bestimmten Punkt reist der Kontakt ab. Die Kurve zeigt einen negativen Ausschlag. Das Minimum der Kurve entspricht der Kraft.[95] Von *Ducker et al.*[96,97] und *Butt* [93,94], wurde erstmalig die so genannte „Colloidal Probe Technique“ angewendet, um den Kontaktwinkel einzelner Kolloide zu messen. Verschiedene Messmethoden sind von *Butt et al.*[93,94] beschrieben, um kolloidale Kräfte mittels AFM zu bestimmen.

3.7 Reaktionskalorimetrie [98,99]

Durch die Reaktionskalorimetrie (lat. calor = Wärme) können Wärmemengen bestimmt werden, die bei chemischen Reaktionen freigesetzt werden. Reaktionskalorimeter finden weitreichende Anwendungen für thermische und kinetische Analysen von chemischen Reaktionen im Zusammenhang mit thermischen Prozesssicherheiten und Reaktionsverläufen. Die Einteilung von Kalorimetern erfolgt nach ihrer Betriebsart (isotherm, adiabtisch, anisotherm) oder nach ihrem Messprinzip. Da adiabatisch lediglich schnell ablaufende Reaktionen messbar sind, wird häufig die isotherme Betriebsart bevorzugt. Die verschiedenen Kalorimetertypen sind Wärmeflusskalorimeter, leistungskompensierte Kalorimeter, Wärmebilanz-Reaktionskalorimeter und Peltier-Kalorimeter. Im Rahmen dieser Dissertation wurde ein isothermes Mikroreaktionskalorimeter verwendet, das nach dem Prinzip eines Peltier-Kalorimeters arbeitet.[100] Der Vorteil bei der Verwendung eines Mikroreaktionskalorimeters besteht in der Verwendung kleiner Messvolumina von weniger als 2 ml. Durch die Methode der Reaktionskalorimetrie lassen sich unter anderem Reaktionsverläufe von Polymerisationen in Heterophase, wie Emulsionen oder Miniemulsionen untersuchen. Mit Hilfe der kalorimetrisch ermittelten Daten lässt sich die mittlere Anzahl an Radikalen in einer radikalischen Miniemulsionspolymerisation mit den folgenden Formeln berechnen: [83]

$$Rp = \frac{Q_r}{V \cdot \Delta H_P} \tag{11}$$

Die Polymerisationswärme *Rp* kann anhand von Formel 11 durch die gemessene Reaktionswärme Q_r, das Volumen der wässrigen Phase und die molekulare Wärme der Reaktion ΔH_P berechnet werden. Unter Berücksichtigung, dass jedes Monomertröpfchen 1:1 in Miniemulsion in ein Polymerpartikel umgewandelt wird, können die DLS-Ergebnisse der finalen Partikel für die Berechnung von N_p herangezogen werden. Folgende Gleichung ist Grundlage zur Berechnung der Monomerkonzentration in den Partikeln $[M]_P$:

$$[M]_P = \frac{\frac{1-x}{M_0}}{\frac{(1-x)}{\rho_S} + \frac{x}{\rho_{PS}}} \tag{12}$$

ρ ist die Dichte von Styrol (S) and Polystyrol (PS) und M_0 stellt das Molekulargewicht vom Monomer dar. Durch Integration der mit dem Kalorimeter gemessenen Wärmestromkurve

kann der Monomerumsatz (*x*) bezogen auf die theoretische molekulare Wärme der Reaktion bestimmt werden. Die mittlere Anzahl an Radikalen ($\bar{n}$) pro Tröpfchen berechnet sich daher aus

$$\bar{n} = \frac{N_A \cdot R_P}{k_p \cdot [M]_p \cdot N_p} \qquad (13)$$

unter Verwendung der Avogadro-Konstante (N_A = *6,022142 x* 10^{23} *mol*$^{-1}$) und der Wachstumskonstante k_p. Die im Rahmen der vorliegenden Dissertation verwendeten Werte und Konstanten sind im Experimentalteil der Arbeit zusammengefasst.

4 Ergebnisse und Diskussion

Im Rahmen des Landesstiftungsprojektes *„Bioaktive multifunktionale Coatings für humanmedizinische Hartgewebeimplantate“* war es das Ziel, bioaktive partikuläre Beschichtungen zu entwickeln, die zum einen die Verkapselung und kontrollierte Freisetzung von pharmazeutischen Wirkstoffen ermöglichen und gleichzeitig die Verbindung zwischen Implantat und dem umgebenden Gewebe erhöhen. Diese partikulären Beschichtungen sollten auf phosphonatfunktionalisierten Polymerpartikeln bzw. Kapseln basieren, da Phosphonatgruppen spezifische Haftgruppen an Metalloxidoberflächen wie Titandioxid darstellen. Ein Teil der Phosphonatgruppen sollte die Haftung der Partikel an die Implantatoberfläche verbessern, während die restlichen funktionellen Gruppen das Knochenwachstum unterstützen. Um verschiedene hydrophile und hydrophobe Wirkstoffe effektiv in die Polymermatrix einzubringen bzw. zu verkapseln war es das Ziel, verschiedene phosphonatfunktionalisierte Partikel und Kapseln zu synthetisieren, spezifische Wirkstoffe einzubringen, Beschichtungen herzustellen und diese entsprechend in Bezug auf ihre Zusammensetzung und Haftung zu untersuchen. Der folgende Ergebnisteil dieser Arbeit unterteilt sich in die Synthese phosphonatfunktionalisierter Polymerpartikel und Kapseln, die Verkapselung von Wirkstoffen und die Präparation und Charakterisierung der Partikelschichten. Abschließend werden noch reaktionskalorimetrische Daten gezeigt, die einen Aufschluss über das Reaktionsverhalten von Styrol bzw. MMA in einer Copolymerisation mit verschiedenen Comonomeren (VPS, AA, VBPS) geben sollen.

4.1 Funktionalisierte Polystyrol-und PMMA-Partikel

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Methode der direkten Miniemulsionspolymerisation eingesetzt, um funktionalisierte Polymerpartikel zu synthetisieren. Es wurden phosphonat-, phosphat- und sulfonatfunktionalisierte Polystyrol- und PMMA-Partikel hergestellt. Wie im Grundlagenteil beschrieben, finden funktionalisierte Polymerpartikel ein weites Anwendungsgebiet in der Biomedizin. So eignen sich phosphonat-, phosphat- und sulfonatfunktionalisierte Polymerpartikel unter anderem auch als Trägermaterialien für Enzyme und Proteine.[38,39,46] Eine weiteres Anwendungsgebiet fernab der biomedizinischen Anwendungen sind Membranen in Brennstoffzellen.[101,102] Die Protonenleitfähigkeit der Membranen basiert auf schwächeren Säuren, wie Phosphonsäuren (pK_{S1}=2,3 und pK_{S2}=7,3), Phosphorsäuren (pK_{S1}=2,4 und pK_{S2}=6,6) oder den starken Sulfonsäuren (pK_S=1).[103]

4.1.1 Phosphonatfunktionalisierte Polystyrol- und PMMA-Partikel

Phosphonatfunktionalisierte Polymerpartikel wurden durch freie radikalische Copolymerisation von verschiedenen funktionalisierten Comonomeren mit Styrol bzw. Methylmethacrylat (MMA) durch die Miniemulsionstechnik hergestellt. Die unterschiedlichen phosphonsäurefunktionalisierten Monomere weisen unterschiedliche Wasserlöslichkeiten auf. Parameter, wie die Einwaage und Art des Comonomeren und des Tensids, wurden variiert und der Einfluss auf die Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) untersucht. In der folgenden Abbildung 4-1 sind die eingesetzten phosphonat-funktionalisierten Comonomere gezeigt.

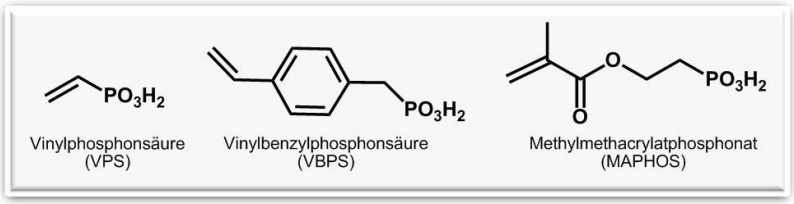


Abbildung 4-1 Verwendete phosphonatfunktionalisierte Comonomere.

Die Partikelsynthesen wurden unter Variation des Comonomergehaltes (von 1 bis 10 Gew.%) bei 72 °C in Miniemulsion durchgeführt. Die Polymerisationen wurden durch den hydrophoben Initiator V59 gestartet, um die Bildung von wasserlöslichen Oligomeren in der kontinuierlichen Phase zu minimieren. Um die Ostwald-Reifung, d.h. die Monomerdiffusion von den kleinen zu den größeren Tröpfchen zu unterdrücken, wurde das Hydrophob Hexadekan eingesetzt.

4.1.2 Funktionalisierte Partikel durch Copolymerisation mit Vinylphosphonsäure [104]

Das folgende Kapitel dieser Arbeit beschreibt die Synthese und Charakterisierung phosphonatfunktionalisierter Polystyrol- und PMMA-Partikel durch den Einsatz des wasserlöslichen Comonomeren Vinylphosphonsäure (VPS) in einer freien-radikalischen Copolymerisation in Miniemulsion.

Variation des Tensids

Um den Tensid-Einfluss auf die Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung zu untersuchen, wurden Poly(St-VPS)-Partikel unter Verwendung des ionischen Tensids SDS (1,2 Gew.-%) und des nichtionischen Tensids Lutensol AT50 (3,3 oder 6,6 Gew.-%) in Miniemulsion hergestellt. In Tabelle 4-1 sind die Ergebnisse zusammengefasst.

Tabelle 4-1 Partikelgrößenverteilung der Poly(St-VPS)-Partikel synthetisiert mit einem ionischen und einem nichtionischen Tensid.

VPS Gehalt (Gew.-%)[a]	Hergestellt mit 1,2 Gew.-% SDS[a]				Hergestellt mit 6,6 Gew.-% LutensolAT50[a]			
	Proben-name	D_Z, (nm)[b]	PDI	Feststoff-Gehalt (Gew.-%)[c,d]	Proben-name	D_Z, (nm)[b]	PDI	Feststoff-Gehalt (Gew.-%)[c,e]
0	AZ-50a-0V-SDS	90	0,02	18,7	AZC-MES-0	176	0,04	20,8
1	AZ-50b-1V-SDS	102	0,02	19,5	AZC-MES-1	184	0,04	20,1
3	AZ-50c-3V-SDS	104	0,01	20,2	AZC-MES-3	151	0,06	21,1
5	AZ-50d-5V-SDS	105	0,01	18,5	AZC-MES-5	149	0,02	19,7
10	AZ-50e-10V-SDS	112	0,03	15,8	AZC-MES10	145	0,12	20,7

[a] bezogen auf Gesamtmenge an Monomer [b] bestimmt mit DLS; [c] gravimetrisch ermittelt, [d] theoretischer FSG = 21,1%, [e] theoretischer FSG = 21,9%.

Anhand von Tabelle 4-1 wird deutlich, dass wie erwartet die VPS-basierten Polystyrolpartikel stabilisiert mit einer deutlich geringeren Menge an ionischem Tensid (1,2 Gew.-% bezogen auf die Gesamtmenge an Monomer) deutlich kleiner sind als die Partikel, die mit der 5,5fachen Konzentration an nichtionischem Tensid hergestellt wurden. Die Erklärung hierfür ist, dass die elektrostatische Abstoßung (erzeugt durch die SDS Moleküle) stärker ist als die sterische Abstoßung der Poly(ethylenoxid)-Ketten des nichtionischen Tensids Lutensol AT50. Es werden kleinere Tröpfchen und daraus resultierend kleinere Partikel erhalten, was ein Vergleich der reinen unfunktionalisierten Polystyrolproben (AZ-50a-0V-SDS und AC-MES-0) zeigt. Die Polystyrolpartikel hergestellt mit SDS (D_z= 90 nm) sind etwa nur halb so groß wie die Lutensol AT50 stabilisierte Probe (D_z= 176 nm). Die Partikelgrößen der SDS stabilisierten Partikeln liegen generell im Bereich von 90 bis 110 nm. Die Proben hergestellt

mit Lutensol AT50 weisen höhere Partikeldurchmesser im Bereich von 140 bis 180 nm auf. Auffällig in Tabelle 4-1 ist, dass die Partikelgrößen der mit SDS hergestellten Proben mit ansteigendem VPS-Gehalt zunehmen. Der gleiche Trend wurde bereits für carboxylfunktionalisierte Polystyrolpartikel, hergestellt durch radikalische Copolymerisation von Styrol mit Acrylsäure (AA) mit SDS, beobachtet.[8] Die Zunahme der Partikeldurchmesser kann, wie bei AA-basierten Polystyrolpartikeln, aus einer äußeren Schicht auf der Partikeloberfläche resultieren, die reich an hydrophilen Comonomer-Einheiten (AA[8] oder VPS) ist. Der hydrodynamische Radius der Lutensol AT50 stabilisierten Poly(St-VPS)-Partikel steigt erst an (mit 1 Gew.-% VPS) und nimmt dann bei höheren VPS-Gehalten ab. VPS ist ein hydrophiles Comonomer, das zwei pK_s-Werte aufweist (2,6 und 7,3). Es kann davon ausgegangen werden, dass sich ein großer Teil der hydrophilen Phosphonatgruppen an der Monomertröpfchen/Wasser-Grenzfläche anlagert. Messungen der Oberflächenspannung von VPS in Wasser lassen vermuten, dass VPS als niedermolekulargewichtiges Tensid ($\gamma \approx$ 60 mN/m) wirken kann. Die Einwaage an 1 Gew.-% VPS ist jedoch noch nicht ausreichend, um eine zusätzliche Stabilitätserhöhung durch das Comonomer zu bewirken. Mit ansteigendem VPS-Gehalt nimmt die Ladung auf der Oberfläche zu, wie in Tabelle 4-4 des späteren noch gezeigt wird. Dies führt zu einer zusätzlichen elektrostatischen Stabilisierung der Töpfchen und resultiert in kleineren Partikelgrößen. Die PDI-Werte kleiner als 0,1 zeigen, dass die Partikel monodispers sind. Einzig die Partikel, synthetisiert mit 10 Gew.-% VPS und Lutensol AT50, zeigen Uneinheitlichkeiten in der Partikelgrößenverteilung (PDI = 0,12). Hierbei muss berücksichtigt werden, dass durch hohe Einsatzmengen an hydrophilen Comonomer (wie VPS oder AA) Partikel resultieren können, bei der die äußere Schicht hauptsächlich aus dem hydrophilen Comonomer und nichtkompakten Polymerketten besteht. Aufgrund der Mobilität der Polymerketten kann der mittlere hydrodynamische Radius der Partikel beeinflusst werden und die Partikelgrößenverteilung verbreitert sein.

Copolymerisation von VPS mit verschiedenen Monomeren

Analog zu den Poly(St-VPS)-Partikeln stabilisiert mit Lutensol AT50, wurden Poly(MMA-VPS) nach dem gleichen Verfahren synthetisiert. Tabelle 4-2 fasst die charakteristischen Daten der Poly(St-VPS) und der Poly(MMA-VPS)-Partikel, mit variierendem VPS-Gehalt, zusammen. Der Lutensol AT50-Gehalt wurde konstant bei 6,6 Gew.-% (bezogen auf die Monomerphase) gehalten.

Tabelle 4-2 Charakteristische Daten der Polystyrol- und PMMA-basierten Latex-Partikel als Funktion des VPS-Gehaltes, hergestellt mit 6,6 Gew.-% Lutensol AT50.

Probenname		Einwaage VPS (Gew.-%)[a]	D_Z [b] (nm)		PDI		Feststoffgehalt (%)[c,d]	
PS	PMMA		PS	PMMA	PS	PMMA	PS	PMMA
AZC-MES-0	AZ45a-0VPA	0	176	182	0,04	0,09	20,8	20,7
AZC-MES-1	AZ45b-1VPA	1	184	229	0,04	0,10	20,1	16,8
AZC-MES-3	AZ45c-3VPA	3	151	201	0,06	0,07	21,1	15,4
AZC-MES-5	AZ45d-5VPA	5	149	205	0,02	0,09	19,7	15,2
AZC-MES10	AZ45e-10VPA	10	145	150	0,12	0,04	20,7	14,8

[a] bezogen auf Gesamtmenge an Monomer [b] bestimmt mit DLS; [c] gravimetrisch ermittelt,
[d] theoretischer FSG = 21,1%, [d] theoretischer FSG = 21,9%.

Es wurden phosphonatfunktionalisierte PMMA-Partikel in einem Größenbereich von 150 bis 230 nm (mit PDI-Werten kleiner 0,1) erhalten (s. Tabelle 4-2). Sowohl bei den Poly(St-VPS), als auch bei den Poly(MMA-VPS)-Partikeln, führt die Einführung von VPS erst zu einer Zunahme, gefolgt von einer Abnahme der Partikelgröße bei hohen VPS-Einwaagen. Die Poly(MMA-VPS)-Partikel weisen generell höhere Partikelgrößen als die Poly(St-VPS) auf. Die Ursache für die Unterschiede in der Partikelgröße kann in den unterschiedlichen Wasserlöslichkeiten von Styrol und MMA liegen. Die Wasserlöslichkeit von Styrol beträgt 0,24 g/L und 15,9 g/L für MMA. Aufgrund der besseren Löslichkeit von MMA in der kontinuierlichen Phase, kann es zu einer Überlagerung mit der homogenen Nukleation in der Wasserphase durch hydrophile Oligomerradikale kommen. Hieraus besteht die Möglichkeit,

dass die gebildeten Polymer- bzw. Oligomerketten sich auf der Partikeloberfläche abscheiden und zu erhöhten Partikelgrößen führen können. Bei der Polymerisation von Styrol findet die Nukleation hauptsächlich in den Monomertröpfchen statt.[83] Die Menge an eingesetztem Hydrophob Hexadekan wurde bei den Styrol- und den MMA-Proben konstant gehalten. Bei den MMA-basierten Partikeln scheint die Menge an Hexadekan nicht ausreichend zu sein, um die Ostwald-Reifung der Monomertröpfchen vollständig zu unterdrücken. Es werden größere Partikel erhalten. Eine mögliche Diffusion des Monomers durch die kontinuierliche Phase kann auch einen Einfluss auf den Feststoffgehalt der resultierenden Polymerdispersionen haben. Weiterhin werden die niedrigen Feststoffgehalte auf die Bildung von Koagulat während der Reaktion zurückzuführen sein.

Polymerisation mit geringeren Mengen an Lutensol AT50

Die Menge an 6,6 Gew.-% Lutensol AT50 wurde auf 3,3 Gew.-%, reduziert, um den zusätzlichen Einfluss der Phosphonatgruppen auf die Stabilität der Polymerlatizes zu untersuchen. Um vergleichbare Daten zu erhalten, wurden die gleichen Einwaagen an VPS, Styrol und MMA wie in den Experimenten mit 6,6 Gew.-% Lutensol AT50 verwendet. In Tabelle 4-3 sind die Partikelgrößen, Partikelgrößenverteilungen und die Feststoffgehalte der Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Partikel zusammengefasst.

Tabelle 4-3 Charakteristische Daten der Polystyrol- und PMMA-basierten Latex-Partikel als Funktion des VPS-Gehaltes, synthetisiert mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50.

Proben-name		Einwaage VPS	D_Z [b] (nm)		PDI		Feststoffgehalt [c,d] (%)	
PS	PMMA	(Gew.-%)[a]	PS	PMMA	PS	PMMA	PS	PMMA
AZ-31a 0 VPA	AZ-42a 0 VPA	0	208	301	0,03	0,22	19,0	17,9
AZ-31b 1 VPA	AZ-42b 1 VPA	1	247	312	0,03	0,14	15,7	13,3
AZ-31c 3 VPA	AZ-42c 3 VPA	3	231	250	0,05	0,07	19,2	14,9
AZ-31d 5 VPA	AZ-42d 5 VPA	5	228	220	0,06	0,03	16,3	17,4
AZ-31e 10VPA	AZ-42e 10VPA	10	210	207	0,09	0,12	17,7	18,2

[a] bezogen auf Gesamtmenge an Monomer [b] bestimmt mit DLS; [c] gravimetrisch ermittelt,
[d] theoretischer FSG = 21,1%, [d] theoretischer FSG = 21,4%.

Anhand der Daten in Tabelle 4-3 wird deutlich, dass die mit 3,3 Gew.-% synthetisierten Proben niedrigere Feststoffgehalte aufweisen als die Latizes, die mit 6,6 Gew.-% Lutensol AT50 hergestellt wurden. Die niedrigeren Feststoffgehalte resultieren aus stärkeren Koagulatbildungen während der Partikelsynthese. Bei den Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Proben mit 1 Gew.-% wird nur ungefähr die Hälfte des theoretischen Feststoffgehalts (21,4%) erzielt. Wie bereits erwähnt, ist davon auszugehen, dass eine Menge von 1 Gew.-% VPS nicht ausreichend ist, um die Stabilität der Monomertröpfchen während der Polymerisation durch die zusätzliche Ladung der Phosphonatgruppen zu erhöhen. Die Partikelgrößen der mit 3,3 Gew.-% stabilisierten Polystyrol- und PMMA-basierten Proben weisen höhere Partikeldurchmesser auf als die Proben, die mit der doppelten Menge an Lutensol AT50 synthetisiert wurden. Die phosphonatfunktionalisierten Polystyrolpartikel haben Partikelgrößen von 210 bis 250 nm, während die Größen der Poly(MMA-VPS)-Partikel zwischen 210 und 310 nm variieren. Interessant hierbei ist, dass beide Monomerarten (Styrol und MMA) bei Copolymerisation mit VPS den gleichen Trend aufzeigen. Die Partikelgröße steigt erst an und nimmt anschließend ab. Da der gleiche Effekt bei den Partikeln mit höherer Lutensol AT50-Einwaage zu beobachten ist, ist davon auszugehen, dass der Mechanismus der Partikelbildung nicht vom Tensidgehalt abhängt. In Abbildung 4-2 ist die Partikelgröße in Abhängigkeit vom VPS- und Lutensol AT50-Gehalt gezeigt.

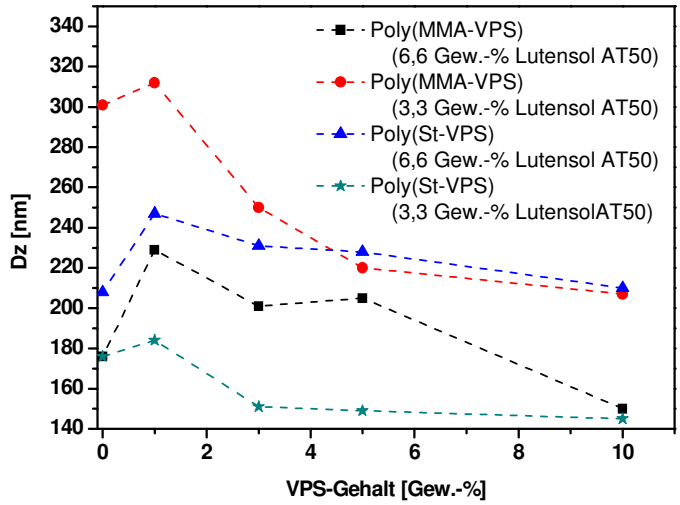


Abbildung 4-2 Partikelgrößen der Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Partikel mit unterschiedlichen Einwaagen an Lutensol AT50.

Transmissionselektronenmikroskopie

Die Morphologien, Partikelgrößen und Partikelgrößenverteilungen der Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Partikel wurden mit TEM untersucht. Im Fall der Poly(St-VPS)-Partikel, synthetisiert mit 10 Gew.-% VPS (AZC-MES-10), zeigt der PDI-Wert von 0,12 Uneinheitlichkeiten in der Partikelgrößenverteilung. Dies kann, wie bereits beschrieben, auf die VPS-reichen Ketten auf der Partikeloberfläche zurückgeführt werden. Anhand der TEM-Aufnahmen in Abbildung 4-3 und Abbildung 4-4 wird deutlich, dass die Partikel eine monomodale Größenverteilung aufweisen.

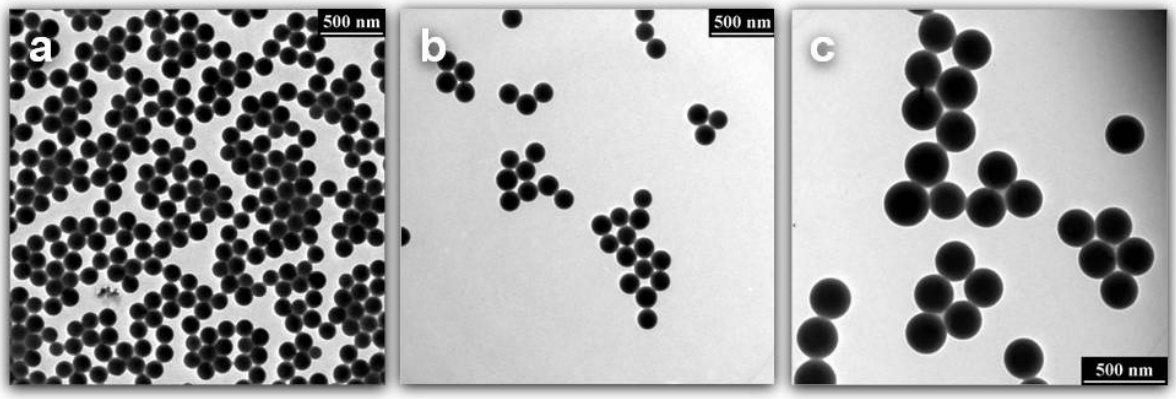


Abbildung 4-3 TEM-Aufnahmen von a) reinen Polystyrol-Partikeln (AZC-MES-0) und Poly(St-VPS) mit 10 Gew.-% VPS stabilisiert mit b) 6,6 Gew.-% Lutensol AT50 (AZC-MES10) und c) 3,3 Gew.-% Lutensol AT50 (AZ-15e10VPS).

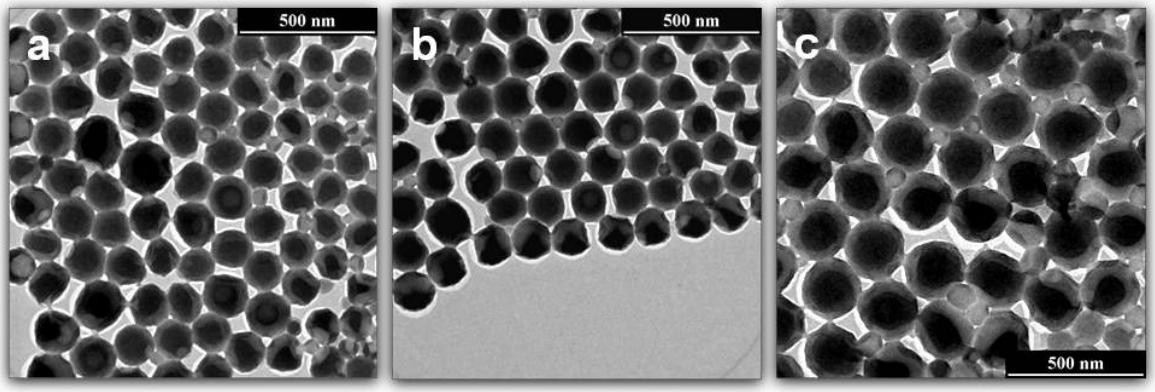


Abbildung 4-4 TEM-Aufnahmen von a) reinen PMMA-Partikeln (AZ45a0VPS) und Poly(MMA-VPS) mit 10 Gew.-% VPS stabilisiert mit b) 6,6 Gew.-% Lutensol AT50 (AZ45e-10VPA) und c) 3,3 Gew.-% Lutensol AT50 (AZ-42e10VPS).

Die Monodispersität wird durch die hexagonale Anordnung der Partikel in den TEM-Aufnahmen in Abbildung 4-3 und Abbildung 4-4 verdeutlicht. Im Gegensatz zu den Polystyrol-Proben sind die PMMA-Partikel nicht stabil gegen die Wärme des Elektronenstrahls während der TEM-Messungen. Der eintretende Abbauvorgang ist

besonders an den Rändern der PMMA-Partikel in Abbildung 4-4 deutlich erkennbar. Die mit DLS ermittelten Partikelgrößen werden durch die verschiedenen TEM-Bilder bestätigt. Bei der Partikelsynthese mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50 werden niedrigere Feststoffgehalte und Koagulatbildungen beobachtet. Die synthetisierten Partikel weisen jedoch eine einheitliche Größenverteilung auf. Die Verwendung von geringeren Tensidmengen reicht also aus, um phosphonatfunktionalisierte Polystyrol bzw. PMMA-Partikel mit kontrollierter Größe und Größenverteilungen herzustellen.

Bestimmung der Oberflächengruppen durch Titration

Die elektrokinetischen Eigenschaften von Latex-Partikeln können durch das Zetapotential angegeben werden. Bei einem pH-Wert von 10 besitzen die unfunktionalisierten Partikel geringe negative Ladungen von -3 bis -5 mV. Dies lässt sich in Analogie zur Literatur, durch die Adsorption von Hydroxylionen an der Partikel/Wasser-Grenzfläche erklären.[8,91] Mit steigendem VPS-Gehalt nehmen die Partikelgrößen ab, was durch die zusätzliche Stabilisierungseffekte der Ladungen der Phosphonatgruppen auf der Tröpfchen/Partikel-Oberfläche erklärt werden kann. Die Werte der Zetapotentiale für die Poly(St-VPS)-Proben liegen im Bereich von -12 und -20 mV und für die Poly(MMA-VPS)-Partikel zwischen -20 bis -42 mV bei einem pH-Wert von 10. Anhand der Zetapotential-Werte wird deutlich, dass die Ladung auf der Oberfläche der PMMA-basierten Partikel deutlich höher ist als bei den Poly(St-VPS)-Proben. Um die Anzahl an funktionellen Phosphonatgruppen zu bestimmen, wurden die Partikel gegen einen entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten titriert. [8,105] Die Titration basiert auf der Wechselwirkung zwischen den geladenen Phosphonatgruppen auf der Partikeloberfläche und den Ketten des entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten PolyDADMAC. Die Titration wurde bei pH 10 durchgeführt, um sicherzustellen, dass alle Phosphonatgruppen vollständig deprotoniert in wässriger Lösung vorliegen (pKs-Werte von VPS = 2,6 und 7,3). Die Menge an Phosphonatgruppen auf der Oberfläche kann über den Feststoffgehalt, die Größe der Polymerpartikel und die Dichte des Polymeren berechnet werden.[8,41] Die entsprechenden Formeln sind im Methodenteil der Arbeit angegeben. Die Anzahl an funktionellen Gruppen wurde für die Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Partikel für die verschiedenen Lutensol AT50 Gehalten bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4-4 zusammengefasst.

Tabelle 4-4 Menge an Phosphonatgruppen auf der Partikeloberfläche stabilisiert mit unterschiedlichen Lutensol AT50-Mengen.

Probenname		Einwaage VPS, Gew.-%[a]	Poly(St-VPS)		Poly(MMA-VPS)	
			Gruppen pro			
			Partikel	nm^2	Partikel	nm^2
Poly(St-VPS)	Poly(MMA-VPS)					
Synthetisiert mit 6,6 Gew.-% Lutensol AT50[a]						
AZC-MES-0	AZ45a-0VPA	0	0	0	0	0
AZC-MES-1	AZ45b-1VPA	1	14883	0,14	39520	0,24
AZC-MES-3	AZ45c-3VPA	3	14319	0,20	34251	0,27
AZC-MES-5	AZ45d-5VPA	5	19520	0,28	44865	0,34
AZCMES10	AZ45e10VPA	10	27067	0,41	46630	0,66
Synthetisiert mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50[a]						
AZ-31a 0VPS	AZ-42a 0 VPS	0	0	0	0	0
AZ-31b 1 VPS	AZ-42b 1 VPS	1	19157	0,10	76415	0,25
AZ-31c 3 VPS	AZ-42c 3 VPS	3	31920	0,19	54950	0,28
AZ-31d 5 VPS	AZ-42d 5 VPS	5	40807	0,25	48632	0,32
AZ-31e 10VPS	AZ-42e 10VPS	10	58160	0,42	84764	0,63

[a] bezogen auf die Gesamtmenge an Monomer.

Aus Tabelle 4-4 wird ersichtlich, dass die Anzahl an funktionellen Gruppen bei den Partikeln mit höherem Tensidgehalt geringfügig höher ist. Ein signifikanter Unterschied ist jedoch nicht erkennbar. Für beide Monomerarten wird deutlich, dass die Anzahl an Phosphonatgruppen mit ansteigendem VPS-Gehalt zunimmt. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Zetapotential-Messungen zeigt sich, dass die Oberflächenfunktionalisierung der Poly(MMA-VPS)-Partikel höher ist als die der Poly(St-VPS)-Proben.

PMI-Gehalt Bestimmung

Durch Einbringen des Fluoreszenzfarbstoffs PMI in die Matrix der Polymerpartikel ist es möglich, die Partikel für verschiedene biologische Versuche einzusetzen. Die Partikel können beispielsweise als Zellmarker verwendet werden.[41] Die Menge an eingekapseltem PMI wurde durch UV-Spektroskopie bestimmt. Die gereinigten Latizes wurden gefriergetrocknet und in THF gelöst. Es wurde eine PMI-Kalibrationsgerade in THF aufgenommen und die Geradengleichung zur Berechnung des Farbstoffgehalts herangezogen. In Tabelle 4-5 sind die entsprechenden PMI-Gehalte der Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Proben mit den verschiedenen Lutensol AT50-Mengen zusammengefasst.

Tabelle 4-5 Mengen an eingekapseltem PMI in Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Partikeln synthetisiert mit verschiedenen Lutensol AT50 Konzentrationen.

VPS Einwaage, Gew.-%[a]	Poly(St-VPS)		Poly(MMA-VPS)	
	Probenname	PMI-Gehalt ($mg/g_{Pol.}$)	Probenname	PMI-Gehalt ($mg/g_{Pol.}$)
	Hergestellt mit 6,6 Gew.-% Lutensol AT50 [a]			
0	AZC-MES-0	0,37	AZ45a-0VPA	0,43
1	AZC-MES-1	0,49	AZ45b-1VPA	0,49
3	AZC-MES-3	0,39	AZ45c-3VPA	0,31
5	AZC-MES-5	0,33	AZ45d-5VPA	0,39
10	AZC-MES10	0,46	AZ45e-10VPA	0,36
	Hergestellt mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50 [a]			
0	AZ-31a0 VPA	0,45	AZ-42a0 VPA	0,42
1	AZ-31b1 VPA	0,49	AZ-42b1 VPA	0,48
3	AZ-31c3 VPA	0,41	AZ-42c3 VPA	0,37
5	AZ-31d5 VPA	0,35	AZ-42d5 VPA	0,45
10	AZ-31e10VPA	0,39	AZ-42e10VPA	0,46

[a] bezogen auf die Gesamtmenge an Monomer.

Die maximale Menge die theoretisch in den Partikeln verkapselt werden kann, beträgt 0,5 mg PMI pro 1 g Polymer. Es kann daher berechnet werden, dass die Einkapselungseffizienz zwischen 62 und 98% liegt.

4.1.3 Copolymerisation von VPS mit verschiedenen Methacrylaten

Vinylphosphonsäure (VPS) wurde radikalisch in Miniemulsion neben MMA auch mit den Methacrylaten Ethylmethacrylat (EMA), Butylmethacrylat (BMA) und Laurylmethacrylat (LMA) copolymerisiert. Die Strukturformeln der entsprechenden Monomere sind in Abbildung 4-5 gezeigt.

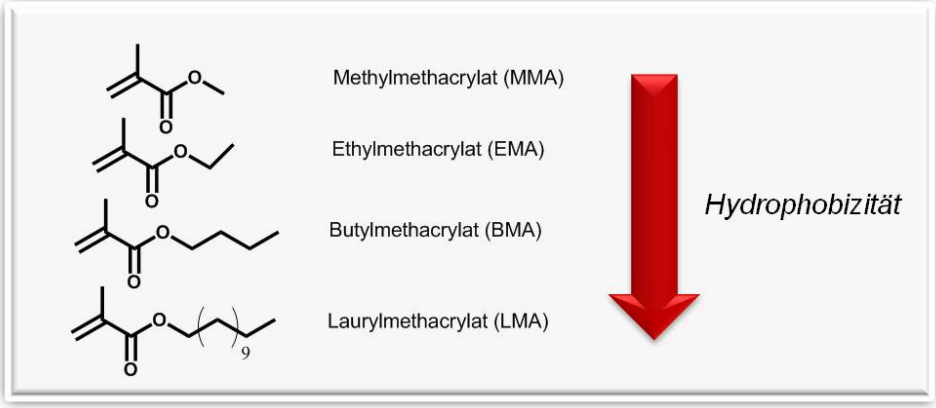


Abbildung 4-5 Strukturformeln der verschiedenen Methacrylate, die mit VPS in Miniemulsion copolymerisiert wurden.

Die Hydrophobizität der Monomere nimmt vom MMA zum LMA deutlich zu. Wie im vorherigen Teil der Arbeit gezeigt, ist es möglich das hydrophile MMA mit dem hydrophilen Comonomer VPS in Miniemulsion zu polymerisieren. Analog zu den vorher beschriebenen Versuchen mit Styrol und MMA wurden die verschiedenen phosphonatfunktionalisierten Methacrylat-Partikel mit dem öllöslichen Initiator V59 hergestellt. Die Verwendung eines öllöslichen Initiators führt zu einer Minimierung der Nukleation in der wässrigen Phase bei der Miniemulsionspolymerisation von Monomeren mit einer ausgeprägten Löslichkeit in der kontinuierlichen Phase, wie z.B. MMA[31] und/oder VPS. Die verschiedenen Polymerpartikel bestehend aus VPS und MMA, EMA, BMA oder LMA wurden unter Verwendung von 3,3 Gew.-% Lutensol AT50 hergestellt. Die Einwaage an VPS wurde zwischen 0 bis 10 Gew.-% variiert. In Tabelle 4-6 sind die DLS-Ergebnisse der Copolymerpartikel zusammengefasst. Abbildung 4-6 zeigt die Abhängigkeit der Partikelgröße von der VPS-Einwaage.

Tabelle 4-6 Charakteristische Daten der PMMA-, PEMA-, PBMA- und PLMA-basierten Latex-Partikel als Funktion des VPS-Gehaltes, synthetisiert mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50.

VPS-Einwaage [Gew.-%][a]	Probenname	D_z [nm]	Feststoffgehalt [%][b]
	Poly(MMA-VPS)		
0	AZ-42a-0VPA	301	17,9
1	AZ-42b-1VPA	312	13,3
3	AZ-42c-3VPA	250	14,9
5	AZ-42d-5VPA	220	17,4
10	AZ-42e-10VPA	207	18,2
	Poly(EMA-VPS)		
0	AZ184-pure-EMA	234	18,8
1	AZ185-1VPS-EMA	228	17,7
3	AZ186-3VPS-EMA	220	18,4
5	AZ187-5VPS-EMA	212	20,1
10	AZ188-10VPS-EMA	204	18,1
	Poly(BMA-VPS)		
0	AZ179-pure-BMA	251	19,6
1	AZ180-1VPS-BMA	245	17,8
3	AZ181-3VPS-BMA	234	18,8
5	AZ182-5VPS-BMA	233	18,0
10	AZ183-10VPS-BMA	231	19,0
	Poly(LMA-VPS)		
0	AZ160-pure-LMA	278	20,9
1	AZ161-1VPS-LMA	305	20,4
3	AZ162-3VPS-LMA	285	20,9
5	AZ163-5VPS-LMA	299	21,1
10	AZ164-10VPS-LMA	285	21,7

[a] bezogen auf die Gesamtmenge an Monomer [b] gravimetrisch bestimmt.

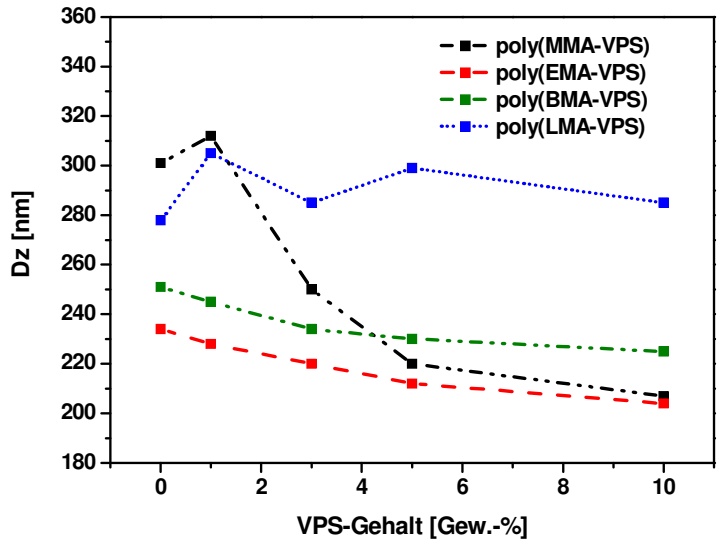


Abbildung 4-6 Partikelgrößen der verschiedenen phosphonatfunktionalisierten Polymethacrylat-Proben in Abhängigkeit von der VPS-Einwaage.

Anhand von Abbildung 4-6 und aus den DLS-Ergebnissen in Tabelle 4-6 wird deutlich, dass die Partikelgrößen mit ansteigender Kettenlänge der Methacrylate und daraus folgend mit zunehmender Hydrophobizität der Monomere ansteigen. Dies folgt den Erwartungen, denn aus der Literatur[106] ist bekannt, dass PLMA-Partikel hergestellt mit SDS größere Partikeldurchmesser als PMMA-Partikel aufweisen. Dies wurde durch eine höhere Grenzflächenspannung zwischen LMA und der Wasserphase erklärt. Diese muss durch eine höhere Tensidbedeckung auf der Oberfläche kompensiert werden.

Anhand der Daten wird deutlich, dass phosphonatfunktionalisierte PMMA-, PEMA-, PBMA- und PLMA-Partikel durch freie-radikalische Copolymerisation von VPS mit den verschiedenen Methacrylaten (stabilisiert mit dem nichtionischen Tensid Lutensol AT50) in Miniemulsion hergestellt werden können. Die verschiedenen Glastemperaturen der Methacrylate (T_g (MMA) = 102 °C; T_g (BMA) = 33 °C und T_g (LMA) = -55 °C)[107] führen zu unterschiedlichen Filmbildungseigenschaften der Nanopartikel und können daher besonders für Metalloxidbeschichtungen durch die Phosphonatfunktionalisierung von Interesse sein.

4.1.4 Copolymerisation mit 2-(Methacryloyloxy)ethylphosphonsäure (Maphos)

Es wurden weitere phosphonatfunktionalisierte Polymerpartikel durch radikalische Copolymerisation von 2-(Methacryloyloxy)ethylphosphonsäure (Maphos) (Strukturformel ist in Abbildung 4-1 gezeigt) mit Styrol bzw. MMA in Miniemulsion hergestellt. Für die VPS-basierten Polystyrol- und PMMA-Partikel konnte im vorherigen Teil dieser Arbeit gezeigt werden, dass einheitliche und stabile Latizes mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50 hergestellt werden können. Daher wurde diese Einwaage an Lutensol AT50 für die weiteren Versuche beibehalten. In Tabelle 4-7 sind die Daten der Poly(St-Maphos)- und der Poly(MMA-Maphos)-Partikel zusammengefasst.

Tabelle 4-7 Charakteristische Daten der Poly(St-Maphos) und Poly(MMA-Maphos)-Partikel.

Probenname		Einwaage VPS Gew.-% [a]	D_Z [b] (nm)		PDI		Feststoffgehalt (%)[c,d]	
PS	PMMA		PS	PMMA	PS	PMMA	PS	PMMA
AZ339-0MaphS	AZ343-0MaphM	0	210	300	0,04	0,09	20,0	20,7
AZ340-1MaphS	AZ343-1MaphM	1	285	225	0,05	0,08	19,0	19,0
AZ341-3MaphS	AZ343-3MaphM	3	267	205	0,06	0,09	18,7	17,0
AZ342-5MaphS	AZ343-5MaphM	5	262	166	0,09	0,05	17,9	19,7
AZ343-10MaphS	AZ343-10MaphM	10	222	144	0,05	0,09	19,6	17,4

[a] bezogen auf Gesamtmenge an Monomer [b] bestimmt mit DLS; [c] gravimetrisch ermittelt,
[d] theoretischer FSG = 21,1%, [d] theoretischer FSG = 21,9%.

Tabelle 4-7 verdeutlicht, dass die Poly(St-Maphos)-Partikel einen analogen Trend zu den VPS-basierten Proben aufweisen. Die Partikel mit 1 Gew.-% Maphos (AZ340-1MaphS) weisen mit 285 nm einen deutlich größeren Partikeldurchmesser auf, als die reine Polystyrol-Nullprobe (AZ339-0MaphS). Mit zunehmendem Maphos-Gehalt nehmen die Partikelgrößen der Poly(St-Maphos)- und Poly(MMA-Maphos)-Partikel ab. Verursacht werden kann diese Partikelgrößenabnahme durch die zusätzliche Ladung der Phosphonatgruppen auf der Partikeloberfläche. Dieser Effekt ist bereits bei den VPS-basierten Partikeln ausführlich

erklärt (s. Kapitel 4.1.2). Dass die Poly(St-Maphos)- und Poly(MMA-Maphos)-Partikel einheitliche Größenverteilungen aufweisen, wird durch die PDI-Werte gezeigt, die alle kleiner als 0,1 sind. Auffällig ist, dass die MMA-Proben kleinere Partikeldurchmesser besitzen. Für die Proben mit 5 und 10 Gew.-% Maphos (AZ343-5MaphM und AZ34-10MaphM) werden Partikelgrößen von 262 und 222 nm erhalten. Vergleicht man diese Werte mit den Partikelgrößen der Poly(MMA-VPS)-Partikel in dem vorherigen Teil dieser Arbeit (s. Tabelle 4-3), dann wird deutlich, dass mit den gleichen Mengen an Lutensol AT50 deutlich kleinere Partikel mit Maphos als Comonomer erhalten werden. Die Partikelgrößen der Poly(MMA-VPS)-Partikel betragen 220 und 207 nm für die Proben mit 5 und 10 Gew.-% VPS (AZ-42d-5VPS und AZ-42e-10VPS). Erklärt werden kann dies durch eine zusätzliche stabilisierende Wirkung von Maphos im Vergleich zu VPS. Durch die Alkylketten des Maphos und der Ladung der Phosphonatgruppen kann das Comonomer möglicherweise als Cotensid wirken, wodurch die Monomertröpfchen während der Polymerisation besser stabilisiert werden. Als Ergebnis werden bei den resultierenden Poly(MMA-Maphos)-Partikeln kleinere Partikeldurchmesser beobachtet, als bei den Poly(MMA-VPS)-Proben. Der Mechanismus der Copolymerisation von MMA mit hydrophilen VPS wird im späteren Kalorimetrieteil der Arbeit genauer diskutiert. Daher wird an dieser Stelle nicht genauer auf diesen Punkt eingegangen. TEM-Aufnahmen der Poly(MMA-Maphos)-Proben sind in Abbildung 4-7 gezeigt. Eine Zusammenfassung der Oberflächenladungen der Poly(St-Maphos)- und Poly(MMA-Maphos)-Partikel ist in Tabelle 4-8 gezeigt.

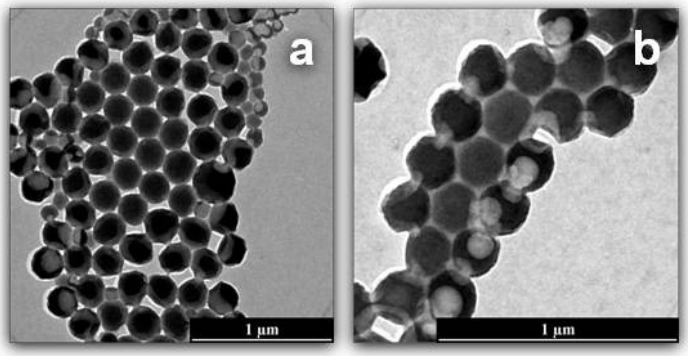


Abbildung 4-7 TEM-Aufnahmen der Poly(MMA-Maphos)-Proben mit a) 3 Gew.-% und b) 10 Gew.-% Maphos

Tabelle 4-8 Übersicht über die Oberflächenladungen der Poly(St-Maphos)- und Poly(MMA-Maphos)-Partikel.

Probenname		Einwaage VPS Gew.-% [a]	Zetapotential [mV]		Gruppen/ nm^2	
PS	PMMA		PS	PMMA	PS	PMMA
AZ339-0MaphS	AZ343-0MaphM	0	-3	-2	0	0
AZ340-1MaphS	AZ343-1MaphM	1	-13	-13	0,61	0,58
AZ341-3MaphS	AZ343-3MaphM	3	-15	-15	0,81	0,80
AZ342-5MaphS	AZ343-5MaphM	5	-27	-17	1,10	0,92
AZ343-10MaphS	AZ343-10MaphM	10	-38	-20	1,58	1,18

[a] bezogen auf Gesamtmenge an Monomer.

Tabelle 4-8 zeigt, dass die Anzahl an funktionellen Phosphonatgruppen auf der Partikeloberfläche durch den Maphos-Gehalt, analog zu den Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Proben, kontrolliert werden kann. Deutlich ersichtlich ist, dass die Zetapotentiale der Poly(St-Maphos)- und Poly(MMA-Maphos)-Proben bei den Maphos-Einwaagen von 1 und 3 Gew.-% ähnliche Größenordnungen für die Styrol- und MMA-Partikel aufweisen. Die Zetapotentiale betragen -13 und -15 mV für die funktionalisierten Styrol-Latizes (AZ-340-1MaphS und AZ-341-3MaphS) und -13 und -15 mV für die Copolymerpartikel aus Maphos und MMA (AZ343-1MaphM und AZ343-3MaphM). Bei höheren Maphos-Konzentrationen (5 und 10 Gew.-%) differieren die Zetapotentiale jedoch erheblich. Mit -27 und -38 mV (AZ-342-5MaphM und AZ-343-10MaphM) sind deutlich negativere Werte für die Polystyrol-Proben zu beobachten. Die Zetapotential-Werte korrelieren gut mit den PCD-Ergebnissen. Die Poly(St-Maphos)- und Poly(MMA-Maphos)-Proben mit 1 und 3 Gew.-% Maphos-Anteil zeigen eine gute Übereinstimmung in der Anzahl an Phosphonatgruppen pro nm^2-Partikeloberfläche. Bei höheren Maphos-Einwaagen werden mehr Phosphonatgruppen auf den Partikeloberflächen der Polystyrol-Proben detektiert. Aufgrund der hohen Feststoffgehalte (s. Tabelle 4-8) und nicht aufgetretener Koagulatbildung während der Synthese, ist davon auszugehen, dass bei den Polystyrol-, wie auch den MMA-Proben, der Einbau von Maphos weitestgehend vollständig erfolgt ist.

4.1.5 Copolymerisation mit Vinylbenzylphosphonsäure (VBPS)

Als weiteres funktionalisiertes Comonomer zur Einführung von Phosphonatgruppen auf der Partikeloberfläche wurde, die im Vergleich zu VPS, hydrophobere Vinylbenzylphosphonsäure (VBPS) in Miniemulsion eingesetzt. Analog zu den vorherigen Partikelsynthesen wurde der hydrophobe Initiator V59 verwendet, um die Initiierung der Polymerisation aus der Monomerphase aus zu starten. Zur Stabilisierung wurden 3,3 Gew.-% des nichtionischen Tensids Lutensol AT50 bei der Herstellung der Polymerlatizes eingesetzt. Die VBPS-Einwaage wurde im Bereich von 0 bis 10 Gew.-% variiert. In der folgenden Tabelle 4-9 sind die charakteristischen Daten der Poly(St-VBPS)-Partikel zusammengestellt.

Tabelle 4-9 Charakteristische Daten der Poly(St-VBPS)-Proben hergestellt mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50.

Probenname	VBPS-Gehalt, Gew.-%[a]	D_z nm[b]	PDI	Feststoff-gehalt, %[c]	Zetapotential, mV	$-PO_3H_2$-Gruppen pro nm^2
AZ-0VBPS-S	0	210	0,02	19,8	-3	0
AZ-1VBPS-S	1	267	0,03	19,7	-12	0,87
AZ-3VBPS-S	3	253	0,03	18,7	-30	1,49
AZ-5VBPS-S	5	240	0,02	20,0	-36	1,88
AZ-10VBPS-S	10	231	0,06	19,6	-40	2,09

[a] bezogen auf Gesamtmenge an Monomer [b] bestimmt mit DLS; [c] gravimetrisch ermittelt.

Analog zu den Poly(St-VPS) und Poly(St-Maphos)-Latizes nimmt der Partikeldurchmesser mit ansteigendem Comonomer-Gehalt ab (s. Tabelle 4-9), was vermutlich auf die zusätzliche elektrostatischen Stabilisierungseffekte der Phosphonatgruppen auf der Tröpfchen-/ Partikeloberfläche zurückzuführen ist. Die Feststoffgehalte von 18,7 bis 20% (theoretischer Feststoffgehalt 21,4%) zeigen, dass der Monomerumsatz hoch ist. Es wird zudem aus Tabelle 4-9 deutlich, dass Partikel mit höherem VBPS-Gehalt negativere Zetapotentiale aufweisen. Dieses Ergebnis wird durch die PCD-Messungen bestätigt. Die Titrationsergebnisse zeigen eindeutig, dass mit ansteigendem VBPS-Gehalt die Anzahl an Phosphonatgruppen auf der Partikeloberfläche deutlich erhöht wird (Tabelle 4-9). Die PDI-Werte zeigen, dass die Partikel eine sehr einheitliche Größenverteilung aufweisen. In Abbildung 4-8 sind TEM/REM-Aufnahmen der Poly(St-VBPS)-Partikel gezeigt, die eine Aussage über die Partikelmorphologie geben. Die hexagonale Partikelanordnung zeigt, dass

sehr einheitliche Polymerpartikel unter Verwendung von VBPS als Comonomer erhalten werden.

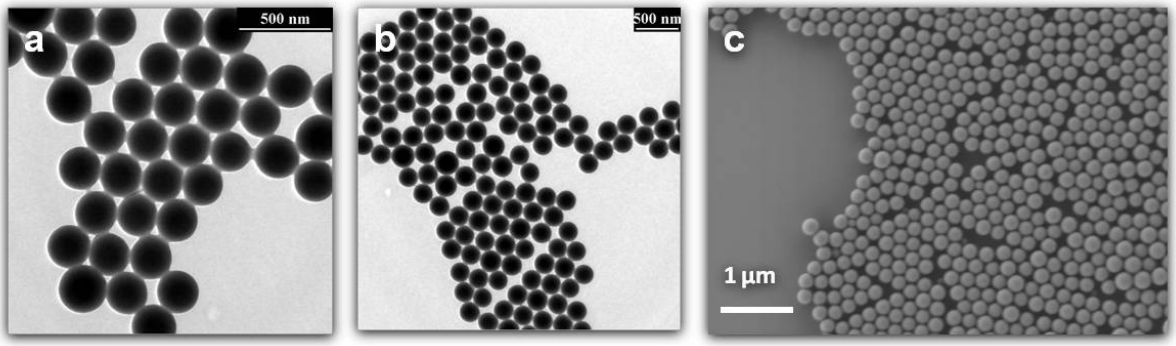


Abbildung 4-8 a) reines Polystyrol (AZ-0VBPA) (TEM) und b) TEM- und c) REM-Aufnahme von Poly(St-VBPS)-Partikeln mit 5 Gew.-% VBPS.

Die Zusammensetzung der VBPS-basierten Polystyrolpartikel wurde von Dr. Martin Dass detailliert mittels EELS- (*Energy Electron Loss Spectroscopy*) und ESI-Messungen (*Element Specific Imaging*) untersucht. Die ESI-Aufnahmen zeigen die Verteilung von Phosphor auf der Partikeloberfläche (Abbildung 4-9). Eine Aussage über die Phosphorverteilung im Inneren der Partikel ist aufgrund der Probendicke nicht möglich. In Abbildung 4-9 ist eine dunkel angefärbte Oberfläche im hellen Feld, verursacht durch Uranylacetat, erkennbar. Aus der Literatur ist bekannt, dass Uranylacetat ein gutes Anfärbemittel für Phosphatgruppen darstellt.[108] Die ESI-Messungen wurden bei der Ionisierungskante von Phosphor bei 132 eV durchgeführt und bilden das Element Phosphor ab. Die Ergebnisse zeigen in Übereinstimmung mit den PCD-Ergebnissen einen höheren Phosphorgehalt auf der Partikeloberfläche im Vergleich zum Partikelinneren (Abbildung 4-10). Es wird damit nochmals bestätigt, dass sich die Phosphonatgruppen während der Copolymerisation von VBPS mit Styrol hauptsächlich an der Grenzfläche zwischen Partikel und Wasserphase anordnen.

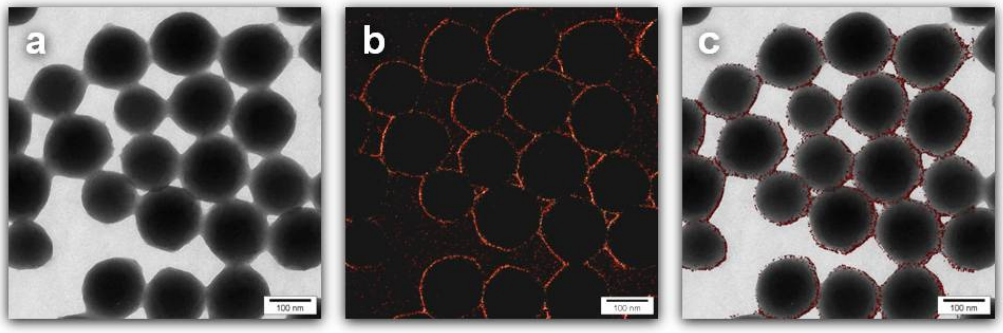


Abbildung 4-9 (a) Hellfeld-Aufnahme von Polystyrolpartikeln mit Phosphonatgruppen (AZ-5VBPS) und (b) ESI-Aufnahme der Phosphorverteilung auf der Partikeloberfläche.

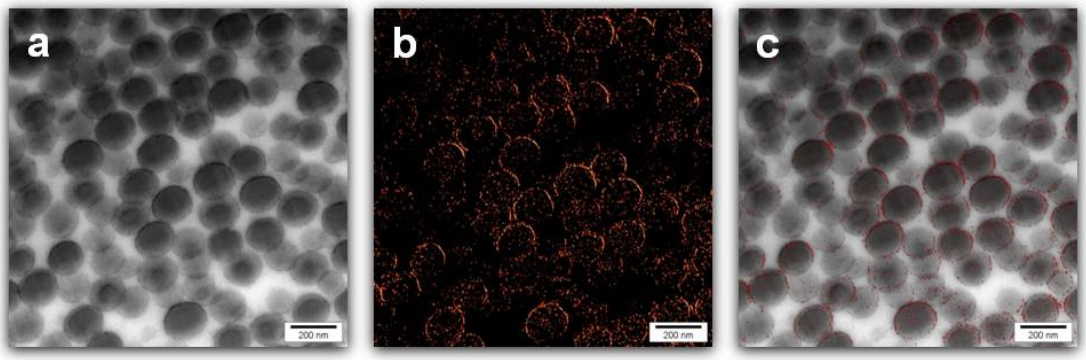


Abbildung 4-10 (a) Ultradünne Schichten der Polystyrolpartikel mit Phosphonatgruppen (AZ-0VBPS). (b) ESI-Aufnahme der Phosphorverteilung auf der Oberfläche.

Zusätzlich wurden von Dr. Martin Dass EDX-Aufnahmen gemacht (siehe Abbildung 4-11). Linienscans durch die Partikel zeigen eine höhere Konzentration an Phosphor auf der Partikeloberfläche und vervollständigen die ESI-Ergebnisse.

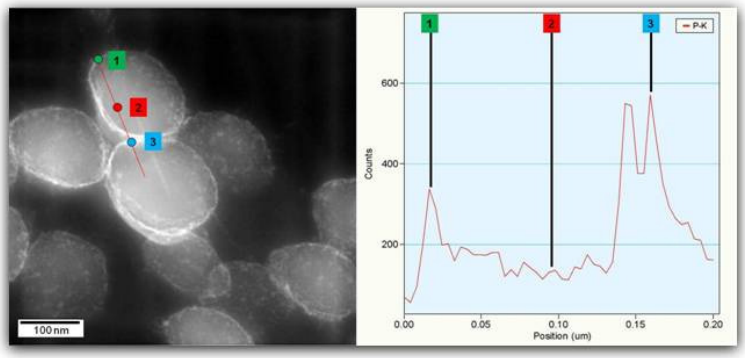


Abbildung 4-11 Dunkelfeldaufnahmen der VBPS-basierten Polystyrolpartikel (AZ-5VBPS). Links: EDX-Line Scan durch die Partikel aufgenommen im STEM-Modus. Position 1 (grün), 2 (rot) und 3 (blau) bezogen auf die Positionen, die im rechten Diagramm gezeigt sind.

Ein Blick in Abbildung 4-11 und in Tabelle 4-10 verdeutlicht, dass auch unter Verwendung von VBPS als Comonomer in der Miniemulsionspolymerisation von MMA ein analoger Trend der Partikelgrößen zu den Poly(MMA-VPS)- und Poly(MMA-Maphos)-Proben auftritt.

Tabelle 4-10 Charakteristische Daten der Poly(MMA-VBPS)-Proben hergestellt mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50.

Probenname	VBPS-Gehalt, Gew.-%[a]	D_z nm[b]	PDI	Feststoff-gehalt, %[c]	Zetapotential, mV	$-PO_3H_2$-Gruppen pro nm^2
AZ-0VBPS-M	0	300	0,02	19,8	-2	0
AZ-1VBPS-M	1	251	0,09	14,7	-9	0,44
AZ-3VBPS-M	3	240	0,09	16,7	-19	0,68
AZ-5VBPS-M	5	233	0,10	13,9	-31	0,75
AZ-10VBPS-M	10	225	0,11	14,3	-36	1,00

[a] bezogen auf Gesamtmenge an Monomer [b] bestimmt mit DLS; [c] gravimetrisch ermittelt.

Mit ansteigendem VBPS-Gehalt nimmt die Partikelgröße ab und der Wert des Zetapotentials wird negativer. Eine Kontrolle über die Ladung auf der Partikeloberfläche ist möglich. Es werden jedoch nur geringe Feststoffgehalte im Bereich von 13,9 bis 16,7% erzielt, was durch Koagulatbildungen während der Synthese erklärt werden kann. Die PDI-Werte der Proben mit 5 und 10 Gew.-% VBPS (AZ-5VBPS-M und AZ-10VBPS-M) zeigen, dass keine einheitlichen Partikelgrößenverteilungen zu beobachten sind. Die DLS-Ergebnisse werden durch die TEM-Aufnahmen in Abbildung 4-12 bestätigt.

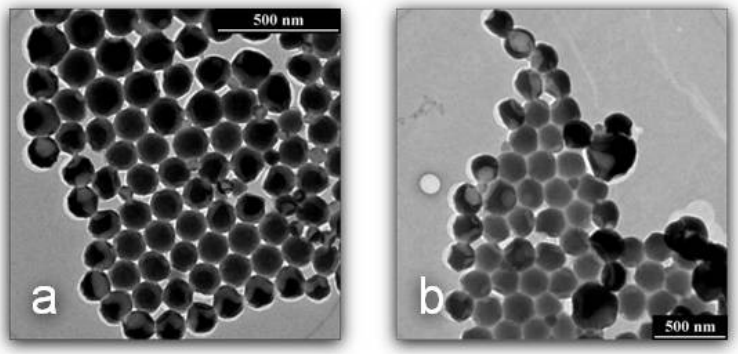


Abbildung 4-12 TEM-Aufnahmen von a) reinem PMMA (AZ-0VBPS-M) und b) Poly(MMA-VBPS) mit 5 Gew.-% Comonomer-Anteil (AZ-5VBPS-M).

4.1.6 Vergleich der verschiedenen phosphonatfunktionalisierten Comonomere

In der folgenden Abbildung 4-13 sind vergleichend die Polystyrolpartikel mit den verschiedenen phosphonatfunktionalisierten Comonomeren (VPS, Maphos und VBPS) zusammengefasst.

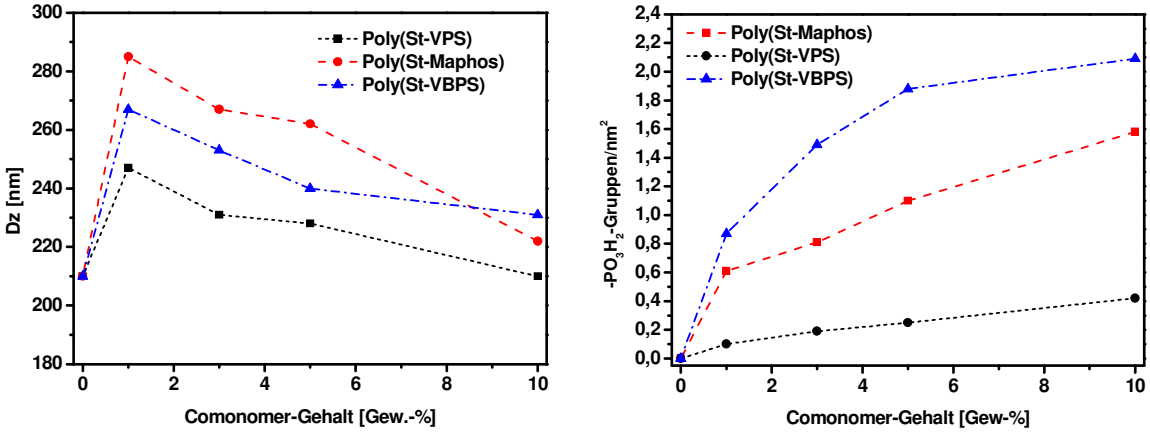


Abbildung 4-13 Vergleich der Partikelgrößen und Anzahl an funktionellen Gruppen der Polystyrol-basierten Polymerlatizes mit den unterschiedlichen Comonomeren VPS, VBPS und MAPHOS.

Der Vergleich der Partikelgrößen der Poly(St-VPS), Poly(St-VBPS) und Poly(St-Maphos) (Abbildung 4-13) zeigt deutlich, dass für alle Proben ein analoger Trend in der Abhängigkeit der Partikelgröße vom Comonomer-Gehalt erkennbar ist. Mit zunehmender Comonomer-Einwaage nimmt die Partikelgröße vermutlich durch die zusätzlichen elektrostatischen Stabilisierungseffekte der Phosphonatgruppen ab. Eine Einwaage von 1 Gew.-% VPS, VBPS oder MAPHOS ist scheinbar nicht ausreichend, um genügend Ladungen auf der Partikeloberfläche einzuführen. Die Partikelgrößen werden im Vergleich zur Polystyrol-Nullprobe nicht reduziert. Die Poly(St-VPS)-Partikel (mit 1 bis 10 Gew.-%VPS) weisen die geringsten, die Poly(St-Maphos)-Proben die größten Partikeldurchmesser auf. Die Größe der Poly(St-Maphos)-Partikel kann auf die chemische Struktur des Comonomers zurückgeführt werden. Die –O-CH_2-CH_2-PO_3H_2-Gruppen auf der Oberfläche können zu einer diffusen Schicht auf der Partikeloberfläche und daraus resultierend zu größeren Partikeldurchmessern führen. Bei Verwendung von VPS und VBPS liegen keine Alkylspacer zwischen Partikeloberfläche und Phosphonatgruppen auf den Partikeloberflächen vor. Die VPS-funktionalisierten Polystyrolpartikel sind geringfügig kleiner im Vergleich zu den VBPS-basierten Proben. Dies kann durch die oberflächenaktiven Eigenschaften von VPS erklärt werden, dass während der Tröpfchenbildung zusätzlich als niedermolekulares Tensid wirken kann, wie die Grenzflächenspannung von VPS in Wasser zeigt (s. Kapitel 4.1.2). Dies kann

zu kleineren Tröpfchen und daraus folgend zu kleineren Polymerpartikeln führen. Dieser Effekt ist bereits für carboxylfunktionalisierte Polystyrolpartikel, synthetisiert mit Acrylsäure (AA), als Comonomer publiziert.[8] Die Poly(St-VBPS)-Partikel sind ungefähr 20 nm größer in Bezug auf ihre Partikelgröße im Vergleich zu den Poly(St-VBPS)-Proben. Dies kann auch durch die unterschiedlichen hydrophilen Eigenschaften von VPS und VBPS erklärt werden. Aus der Literatur ist bekannt, dass die Verwendung von hydrophoben Monomeren zu größeren Partikeln führt.[106] Dies ist bedingt durch eine höhere Grenzflächenspannung zwischen Monomer- und der Wasserphase, die durch eine höhere Bedeckung der Oberfläche mit Tensidmolekülen kompensiert werden muss.[106] Ein Vergleich der funktionellen Gruppen auf der Partikeloberfläche der Poly(St-VPS), Poly(St-VBPS) und Poly(St-Maphos) (s. Abbildung 4-13) zeigt, dass mit steigender Einwaage an allen funktionalisierten Comonomeren, die Anzahl an funktionellen Gruppen zunimmt. Bei allen Latizes ist eine Kontrolle der Oberflächenladung durch die Comonomer-Einwaage möglich. Mit VBPS wird die höchste Dichte an Oberflächenfunktionalisierung, mit VPS die niedrigste Dichte erreicht. Unter Berücksichtigung, dass die molaren Einsatzmengen von VBPS zu VPS 1:1,7 betragen, ist die Oberflächenfunktionalisierung durch VBPS deutlich höher. Die chemische Struktur und daraus bedingt die Löslichkeit von VBPS bzw. VPS liefern die Erklärung. Nach der Bildung der Tröpfchen liegt VBPS in den Tröpfchen bzw. an der Grenzfläche zwischen Tröpfchen und kontinuierlicher Phase vor. VPS ist hydrophiler, liegt daher gelöst in der wässrigen Phase vor und muss durch Diffusion an die Tröpfchenoberfläche gelangen. Eine genauere Diskussion der Reaktionsmechanismen erfolgt in Kapitel 4 dieser Arbeit, das sich mit den kalorimetrischen Untersuchungen der Reaktionsverläufe beschäftigt. Die Anzahl an funktionellen Gruppen pro nm^2 Partikeloberfläche der Poly(St-Maphos)-Partikel liegt zwischen den Werten der Poly(St-VPS) und Poly(St-VBPS)-Proben. Auch hier wird der Einbau durch den hydrophilen Charakter des Comonomeren beeinflusst. In Abbildung 4-14 sind die Partikelgrößen und die Anzahl an funktionellen Gruppen der Poly(MMA-VPS)-, Poly(MMA-VBPS)- und der Poly(MMA-Maphos)-Proben zusammengefasst.

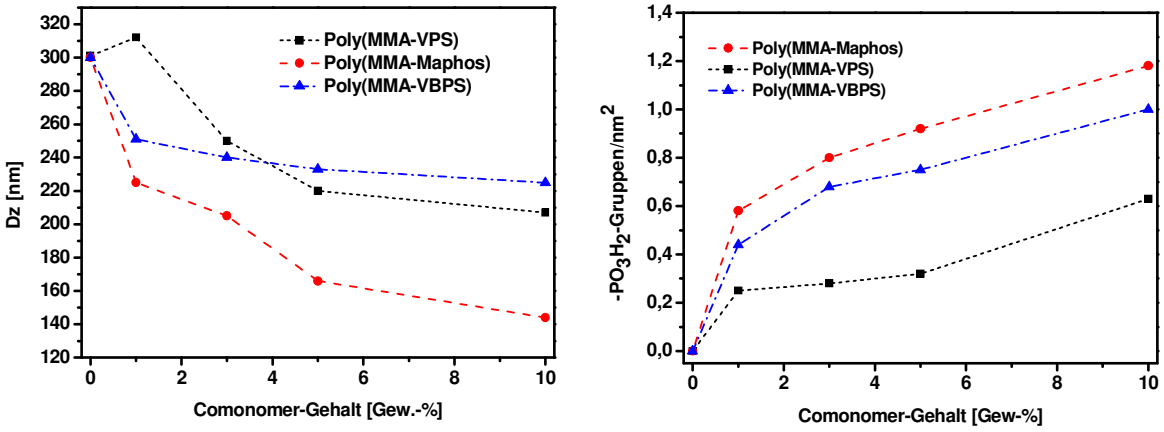


Abbildung 4-14 Vergleich der Partikelgrößen und Anzahl an funktionellen Gruppen der PMMA-basierten Polymerlatizes mit den unterschiedlichen Comonomeren VPS, VBPS und Maphos.

Aus dem Vergleich der Partikelgrößen und der Anzahl an Phosphonatgruppen pro nm^2 in Abbildung 4-14 wird deutlich, dass mit Maphos als Comonomer zu MMA, die kleinsten Partikeldurchmesser und die höchsten Funktionalisierungen auf der PMMA-Partikeloberfläche erhalten werden können. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit von Maphos mit MMA eignet sich dieses Comonomer offensichtlich besonders gut zur Funktionalisierung der PMMA-Partikel. Das hydrophile Comonomer VPS führt zu den höchsten Partikeldurchmessern und den niedrigsten Funktionalisierungsgraden auf der Partikeloberfläche. Die Funktionalisierung der Partikeloberfläche mit VBPS und Maphos ist deutlich höher als mit VPS.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass die strukturell ähnlichsten phosphonatfunktionalisierten Comonomere (VBPS/Styrol und Maphos/MMA) zu der höchsten Funktionalisierung der entsprechenden Partikeloberfläche führen. Durch freie-radikalische Copolymerisation von VPS, VBPS oder Maphos mit Styrol bzw. MMA können in Miniemulsion einheitliche phosphonatfunktionalisierte Partikel hergestellt werden.

4.1.7 Umfunktionalisierung der Partikeloberfläche durch EDC-Kupplung

Funktionelle Gruppen auf der Partikeloberfläche können nicht nur durch Copolymerisation mit einem entsprechend funktionalisierten Comonomer auf der Partikeloberfläche sondern auch nachträglich eingeführt werden Im Rahmen der Doktorarbeit wurden alternativ Partikel nach der Partikelbildung mit Phosphonatgruppen ausgestattet. Carboxylgruppen können durch EDC-Kupplung, unter Ausbildung von Amidbindungen, an Aminofunktionalitäten angebunden werden. Biomoleküle können so kovalent an Polymerpartikel angebunden werden. Im ersten Schritt reagiert N-Ethyl-N'-dimethylaminopropylcarbodiimid (EDC) mit der Carboxylgruppe. Es entsteht ein reaktives Zwischenprodukt, das mit der Aminogruppe reagiert. N-Hydroxysulfosuccinimid (Sulfo-NHS) katalysiert die Reaktion. Die Methode der EDC-Kupplung wurde verwendet, um aminofunktionalisierte Polystyrolpartikel in phosphonatfunktionalisierte Partikel umzuwandeln. Die entsprechende Reaktionsgleichung ist in Abbildung 4-15 gezeigt.

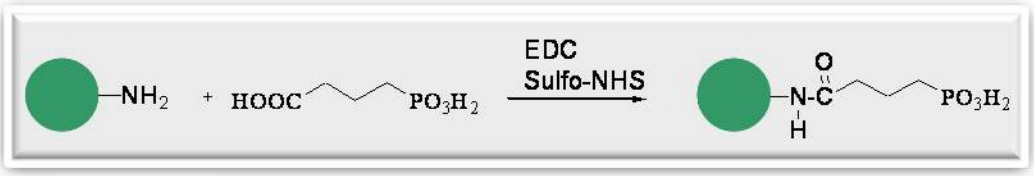


Abbildung 4-15 Umfunktionalisierung von AEMH-Partikeln durch EDC-Kupplung.

Aminofunktionalisierte Partikel wurden durch radikalische Copolymerisation von Aminoethylmethacrylat-hydrochlorid (AEMH) mit Styrol in Miniemulsion hergestellt.[8,41,71] Die Polymerisation wurde mit V59 initiiert und 3,3 Gew.-% des nichtionischen Tensids Lutensol AT50 zur Stabilisierung eingesetzt. Tabelle 4-11 fasst die DLS-Ergebnisse der AEMH-basierten Polystyrolpartikel zusammen. Die Anzahl an NH_2-Gruppen pro nm^2 Partikeloberfläche wurde durch Titration gegen PES-Na bestimmt.

Tabelle 4-11 Übersicht über aminofunktionalisierte Polystyrolpartikel mit variierenden AEMH-Gehalten von 0 bis 10 Gew.-% AEMH stabilisiert mit Lutensol AT50 (3,3 Gew.-%).

Probenname	AEMH -Einwaage Gew.-%	D_z [nm]	PDI	Feststoffgehalt (%)	Gruppen/nm^2
AZ-10-0AEMH	0	210	0,04	20,0	0
AZ-10a-1AEMH	1	242	0,06	20,6	0,12
AZ-10b-2,5AEMH	2,5	250	0,08	19,0	0,31
AZ-10c-5AEMH	5	262	0,09	20,1	0,40
AZ-10d-10AEMH	10	267	0,09	20,5	0,68

Die PDI-Werte (< 0,1) in Tabelle 4-11 zeigen, dass einheitliche aminofunktionalisierte Partikel erhalten wurden. Die ansteigende Ladungsdichte auf der Partikeloberfläche zeigt, dass die Anzahl an funktionellen Gruppen durch erhöhte AEMH-Einwaage gesteuert werden kann. Ausgehend von der Anzahl an -NH_2-Gruppen pro nm^2-Partikeloberfläche wurde für die anschließende EDC-Kupplung der Kupplungspartner 3-Phosphonopropionsäure in einem 10fach molaren Überschuss eingesetzt. In Tabelle 4-12 sind die Partikelgrößen und die entsprechenden Zetapotentiale der AEMH-Partikel, mit steigendem Comonomer-Gehalt, vor und nach der Anbindung von 3-Phosphonopropionsäure gegenüber gestellt.

Tabelle 4-12 Gegenüberstellung der DLS-Ergebnisse vor und nach der EDC-Kupplung von 3-Phosphonopropionsäure an AEMH funktionalisierte Polystyrolpartikel.

Probenname	AEMH Einwaage Gew.-%	D_z [nm]		Zetapotential bei pH 5 [mV]	
		PS-NH_2	*PS-PO_3H_2*	*PS-NH_2*	*PS-PO_3H_2*
AZ-10a-1AEMH	1	242	248	13	-26
AZ-10b-2,5AEMH	2,5	250	257	36	10
AZ-10c-5AEMH	5	262	288	50	12
AZ-10d-10AEMH	10	267	280	60	29

[a] bezogen auf die Gesamtmenge an Monomer.

Tabelle 4-12 zeigt, dass die Partikelgrößen nach der Anbindung der 3-Phosphonopropionsäure bei allen Proben zunehmen. Die Zunahme der Partikelgrößen deutet auf eine erfolgreiche Anbindung hin. Durch die Anbindung von 3-Phosphonopropionsäure befinden sich möglicherweise bewegliche Ketten auf der Partikeloberfläche, die zu einer Vergrößerung des Hydrodynamischen Radius führen können. Um die Ladung auf der Oberfläche zu bestimmen, wurde das Zetapotential der Partikel vor und nach der EDC-Kupplung bestimmt. Bei pH 5 ist erwartungsgemäß ein

positives Zetapotential für die aminofunktionalisierten Partikel messbar. Mit steigender AEMH-Einwaage nimmt der Wert des Zetapotentials zu, was auf die höhere Ladungsdichte durch die höhere Konzentration an funktionellem Monomer zurückzuführen ist. Die Zetapotential-Messungen bestätigen die PCD-Ergebnisse in Tabelle 4-11. Ein Blick in Tabelle 4-12 zeigt deutlich, dass die Zetapotentiale nach der EDC-Kupplung deutlich abnehmen. Der erwartete Vorzeichenwechsel des Zetapotentials tritt nur bei der Probe mit der geringsten Ladungsdichte auf der Oberfläche (AZ-10a-1AEMH) ein. Bei höheren AEMH-Gehalten verringert sich der Wert deutlich, bleibt aber positiv. Es ist davon auszugehen, dass bei den Proben mit der höheren Ladungsdichte auf der Oberfläche, ein Teil der Aminogruppen durch EDC-Kupplung umgesetzt wird, was durch die deutliche Abnahme des Zetapotentials angezeigt wird. Aufgrund der hohen Ladungsdichte und der Abschirmung durch das nichtionische Tensid Lutensol AT50 ist vermutlich die vollständige Umsetzung der Aminogruppen sterisch gehindert. Ist die Ladungsdichte auf der Oberfläche durch geringere AEMH-Einwaage reduziert (Probe mit 1 Gew.-% AEMH, AZ-10a-1AEMH), kann die Umsetzung der Aminogruppen verstärkter erfolgen. Dies führt zu einem Vorzeichenwechsel des Zetapotentials. In Abbildung 4-16 sind TEM-Aufnahmen der Proben vor und nach der EDC-Kupplung gezeigt. Die TEM-Aufnahmen bestätigen nochmal die Monodispersität der Proben. Aufgrund der Tatsache, dass bei höheren NH_2-Dichten auf der Oberfläche keine vollständige Umsetzung zu $–PO_3H_2$-Gruppen erfolgt, ist keine exakte Bestimmung der Anzahl an Oberflächengruppen mit PCD möglich.

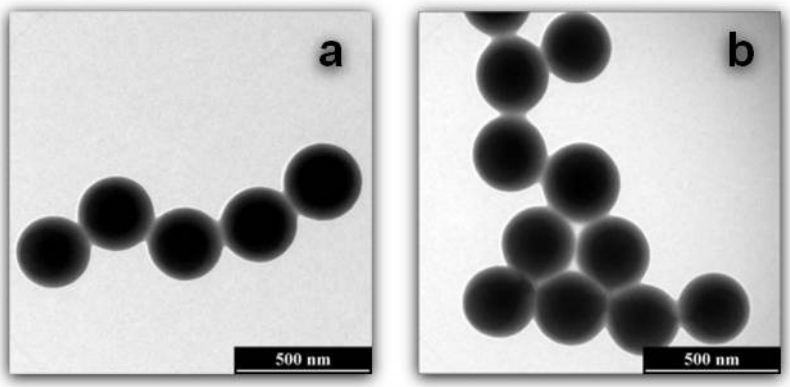


Abbildung 4-16 Aminofunktionalisierte Polystyrolpartikel mit einem Anteil an 1 Gew.-% AEMH a) vor und b) nach der Anbindung von 3-Phosphonopropionsäure.

4.1.8 Phosphatfunktionalisierte Polystyrolpartikel

Neben Phosphonatgruppen stellen Phosphate Ankergruppen an Metalloxide, wie Titandioxid oder Aluminiumoxid, dar.[7,109] Im Rahmen dieser Arbeit wurde das phosphatfunktionalisierte Monomer Ethylenglykolmethacrylatphosphat (EMAP) unter Schutzgasatmosphäre mit Phosphorylchlorid und Triethylamin aus Hydroxyethylenmethacrylat (HEMA) mit einer Ausbeute von 86% hergestellt. In der folgenden Abbildung 4-17 ist die Reaktionsgleichung der Umsetzung gezeigt.

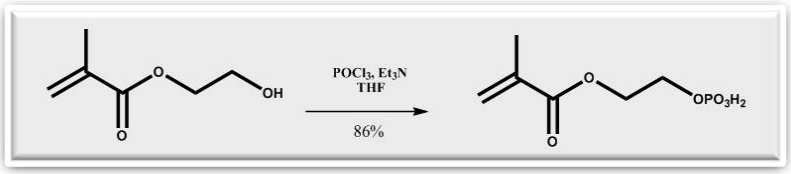


Abbildung 4-17 Syntheseschritt zur Herstellung von EMAP.

Das erhaltene Monomer EMAP wurde mit Styrol radikalisch in Miniemulsion polymerisiert. Um vergleichbare Daten zu erhalten, wurde in Analogie zu den phosphonatfunktionalisierten Proben, der Comonomergehalt im Bereich von 0 bis 10 Gew.-% variiert und das nichtionische Tensid Lutensol AT50 (3,3 Gew.-%) verwendet. Tabelle 4-13 fasst die DLS-Ergebnisse zusammen und Abbildung 4-18 zeigt die dazugehörigen REM-Aufnahmen. Die Aufnahmen zeigen die EMAP-Partikel auf Titanimplantatmaterial.

Tabelle 4-13 DLS-Ergebnisse der phosphatfunktionalisierten Partikel.

Proben-name	AEMH-Einwaage [Gew.-%][a]	D_z [nm]	PDI	Feststoffgehalt [%][b]	Zetapotential [mV]	Gruppen/nm^2
AZ-25-0EMAP	0	205	0,06	20,0	-3	0
AZ-25a-1EMAP	1	330	0,09	19,0	-12	0,33
AZ-25b-3EMAP	3	305	0,10	18,0	-22	0,74
AZ-25c-5EMAP	5	270	0,11	18,1	-34	1,05
AZ-25d-10EMAP	10	190	0,10	17,8	-46	1,10

[a] bezogen auf die Gesamteinwaage an Monomer, [b] gravimetrisch bestimmt.

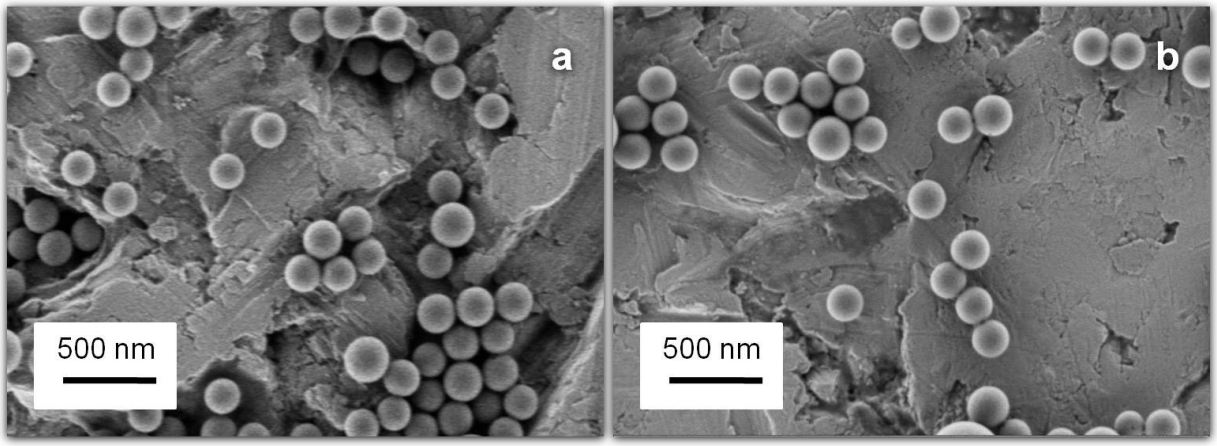


Abbildung 4-18 REM-Aufnahmen der Poly(St-EMAP)-Partikel mit a) 1 Gew.-% und b) 5 Gew.-% Comonomer auf Titanimplantatmaterial.

Die Partikelgrößen in Tabelle 4-13 zeigen einen analogen Trend zu den phosphonatfunktionalisierten Partikeln hergestellt mit VPS, VBPS bzw. MAPHOS: Mit steigendem EMAP-Gehalt nimmt die Partikelgröße ab. Bei den Proben mit geringeren EMAP-Einwaagen (AZ-25a-1EMAP, AZ-25b-3EMAP) reicht die Anzahl an Phosphatgruppen nicht aus, um die Tröpfchen zusätzlich zu stabilisieren. Die Proben weisen größere Partikeldurchmesser auf als die unfunktionalisierte Referenzprobe (AZ-25-0EMAP). Eine gute Kontrolle über die Oberflächenladung ist (analog zu den phosphonsäurefunktionalisierten Proben) möglich. Mit steigendem EMAP-Gehalt nehmen das Zetapotential und die Gruppen pro nm^2 Partikeloberfläche zu. Das geringe negative Zetapotential bei der Polystyrol-Referenzprobe (AZ-25-0EMAP) ist wie bereits bei den vorherigen Proben beschrieben, ein Ergebnis von Hydroxylion-Adsorptionen an der Grenzflächen zwischen Partikel und kontinuierlicher Phase.[8,91] Auffällig ist, dass die Dichte an funktionellen Gruppen zwischen den Proben mit doppelten EMAP- Einwaagen (5 und 10 Gew.-%) nur geringfügig differiert. Bei der Titration gegen den entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten PolyDADMAC, kann es zu einer sterischen Abschirmung der Ladung bei höheren Ladungsdichten durch die Polyethylenoxidketten des Lutensol AT50 kommen. Die Alkyleinheiten der EMAP-Ketten können zudem zu einer Abschirmung der Ladungen auf der Partikeloberfläche führen. Als Resultat werden in den PCD-Messungen geringere Dichten an Oberflächenladungen bestimmt, als tatsächlich auf der Partikeloberfläche vorhanden sind. Der gleiche Effekt wurde bei den phosphatfunktionalisierten Polystyrolpartikeln (PolySt-PolyEMAP) beobachtet und bereits bei den Poly(St-Maphos)-Proben diskutiert.

4.1.9 Sulfonatfunktionalisierte Polymerpartikel

Analog zu den phosphonat- und phosphatfunktionalisierten Partikeln können auch sulfonatfunktionalisierte Partikel durch radikalische Copolymerisation in Miniemulsion hergestellt werden. Sulfonatfunktionalisierte Partikel sind zum Beispiel als Trägersysteme für Proteine von Interesse.[46] Zur Einführung der Sulfonatfunktionalitäten auf der Partikeloberfläche von Polystyrol- und PMMA-Partikeln wurde 2-(Methacryloyloxy)ethansulfonsäure als Comonomer eingesetzt (s. Abbildung 4-19).

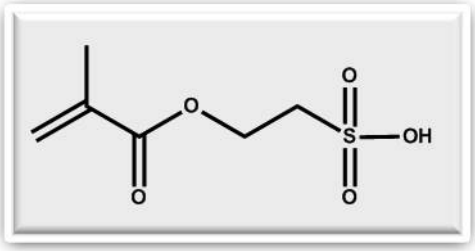


Abbildung 4-19 Strukturformel von 2-(Methacryloyloxy)ethansulfonsäure (SEMA).

Die REM-Aufnahmen in Abbildung 4-20 der Poly(St-SEMA)-Proben mit 3 und 10 Gew.-% SEMA-Gehalt zeigen, die Einheitlichkeit und die sphärische Form der Partikel. In Tabelle 4-14 sind die DLS-Ergebnisse der Poly(St-SEMA) und Poly(MMA-SEMA) zusammengefasst.

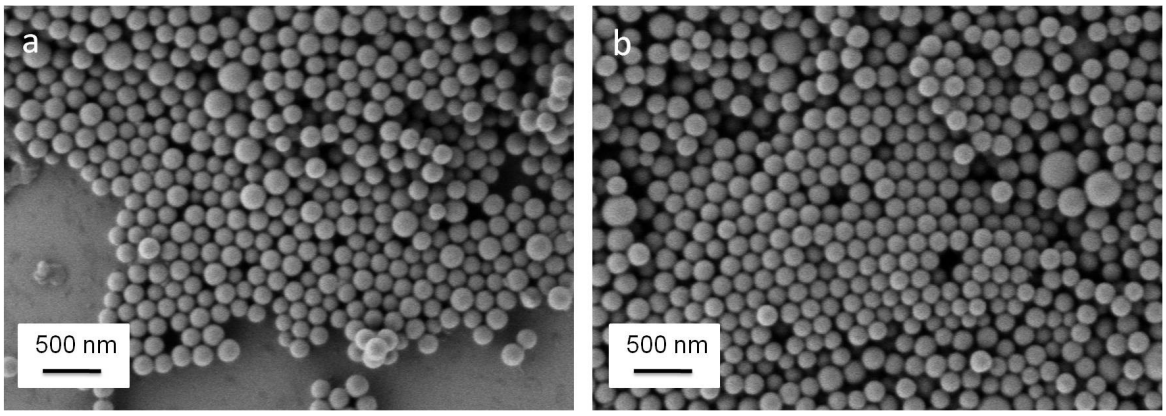


Abbildung 4-20 REM-Aufnahmen der Poly(St-SEMA)-Proben mit A) 3 Gew.-% und B) 10 Gew.-% SEMA.

Tabelle 4-14 DLS-Ergebnisse der Poly(St-SEMA) und Poly(MMA-SEMA).

Probenname	SEMA -Einwaage [Gew.-%]	D_z[a] [nm]	PDI	Feststoffgehalt[b] [%]	Zetapotential [mV]
Poly(St-SEMA)-Partikel mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50					
AZ-358 0SEMA-S	0	210	0,06	20,0	-3
AZ-359 1SEMA-S	1	275	0,07	19,0	-12
AZ-360 3SEMA-S	3	306	0,03	17,0	-15
AZ-361 5SEMA-S	5	297	0,09	18,0	-17
AZ-362 10SEMA-S	10	284	0,09	19,0	-34
Poly(MMA-SEMA)-Partikel mit 6,6 Gew.-% Lutensol AT50					
AZ-363 0SEMA-M	0	185	0,03	19,0	-2,2
AZ-364 1SEMA-M	1	180	0,02	17,0	-11
3SEMA-M AZ-366	3	181	0,04	20,0	-14
5SEMA-M AZ-367	5	157	0,10	16,0	-15
AZ-367 10SEMA-M	10	189	0,10	17,0	-28

[a] Bestimmt mit DLS, [b] gravimetrisch ermittelt.

Die Ergebnisse in Tabelle 4-14 zeigen, dass auch sulfonatfunktionalisierte Partikel mit kontrollierter Partikelgröße, Partikelgrößenverteilung und Ladung auf der Oberfläche durch radikalische Copolymerisation in Miniemulsion hergestellt werden können. Mit steigendem SEMA-Gehalt nimmt die Einheitlichkeit der Partikelgrößen ab. Die Bildung einer diffusen Schicht der Alkylketten auf der Partikeloberfläche ist denkbar und kann die Erklärung für die Zunahme der PDI-Werte bei höheren SEMA-Gehalten darstellen.

4.2 Beschichtungen von Metalloxidoberflächen mit Modell-Partikeln

Aufgrund der hohen Affinität von Phosphonat- und Phosphatgruppen werden diese als Haftgruppen an Metalloxidoberflächen wie Titandioxid eingesetzt. Im Rahmen des Landesstiftungsprojektes war wie bereits beschrieben das Ziel, partikuläre Beschichtungen für Implantatmaterialien herzustellen. Die Partikeln sollten einerseits die Haftung durch die Phosphonatgruppen auf der Implantatoberfläche verankert werden, während andererseits die restlichen freien Gruppen die Einbettung ins knöcherne Gewebe erhöhen sollten. Da die funktionalisierten Polystyrolproben auf VBPS-Basis sehr homogene Größenverteilungen aufweisen wurden diese als Modellpartikel für Implantatbeschichtungen eingesetzt. Des Weiteren sollten die Adhäsionskräfte durch Kraft-Abstands-Messungen mit AFM bestimmt werden. Für diese Versuche eignen sich Polystyrolpartikel sehr gut, da sie aufgrund der hohen Glastemperatur von Polystyrol (T_g~100 °C) bei Raumtemperatur „harte Kugeln" darstellen. Im Folgenden werden die Schichtpräparationen und die entsprechenden AFM-Messungen beschrieben.

4.2.1 Präparation von partikulären Schichten auf Metalloxidoberflächen

Wie bereits beschrieben, weisen die Poly(St-VBPS)-Partikel, hergestellt mit 5 Gew.-% VBPA-Comonomergehalt (AZ-5VBPA), eine enge Größenverteilung (PDI = 0,02) und eine hohe Anzahl an funktionellen Gruppen (1,88 $-PO_3H_2$-Gruppen pro nm^2 Partikeloberfläche) auf. Daher wurden die Partikel zur Bildung von Monoschichten auf Metalloxidoberflächen eingesetzt. Si-Wafer, besputtert mit 20 nm TiO_2 und reine vorbehandelte Si-Wafer, die eine natürliche Hydroxydschicht in Gegenwart von Sauerstoff tragen, wurden als Substrat verwendet. Verschiedene Methoden zur Schichtpräparation wurden eingesetzt, um homogene Schichten der Partikel auf Metalloxidoberflächen zu erzeugen. In der Literatur ist von *Retsch et al.*[110] eine Methode beschrieben, um großflächige Monoschichten aus dicht gepackten Kolloiden durch Selbstanordnung der Partikel an einer Luft/Wasser-Grenzfläche herzustellen. Die kolloidale Dispersion wird im ersten Schritt auf ein Substrat aufgegeben und getrocknet. Nach dem Trocknungsprozess werden die Partikel an einer Luft/Wasser-Grenzfläche durch langsames Eintauchen in einem geringen Winkel aufgebracht. Die Partikel lösen sich von dem Substrat ab und bilden eine Monoschicht auf der Wasseroberfläche, die mit einem zweiten Substrat aufgenommen werden kann. Diese Methode stellt in der Regel eine sehr gute Möglichkeit dar, geordnete partikuläre Monoschichten zu erhalten. Eine Anwendung auf phosphonatfunktionalisierte Partikel war jedoch nicht möglich, da aufgrund der hervorragenden Haftung der Partikel auf dem ersten

Substrat keine Übertragung auf die Wasseroberfläche möglich war. Verschiedene Methoden wie Drop-Casting, Adsorption aus einer Lösung und Spin-Coating wurden daher alternativ eingesetzt. Exemplarisch sind die Ergebnisse aus den Adsorptionsversuchen aus einer wässrigen Lösung und den Drop-Casting-Versuchen gezeigt.

Schichtpräparation durch Adsorption aus Lösung

Verschiedene Konzentrationen (0,05 bis 5% Feststoffgehalt) an Partikeln in einer wässrigen verdünnten Lösung wurden getestet, um Monoschichten zu erhalten. Die Substrate wurden über Nacht in den Dispersionen gelagert und die Schichten mittels REM untersucht. Es zeigte sich, dass die Partikel keine definierten Schichten bei Adsorption aus einer wässrigen Lösung ausbilden. Die REM-Aufnahmen in Abbildung 4-21 zeigen exemplarisch verschiedene Schichten hergestellt mit zwei verschiedenen Partikel-Konzentrationen.

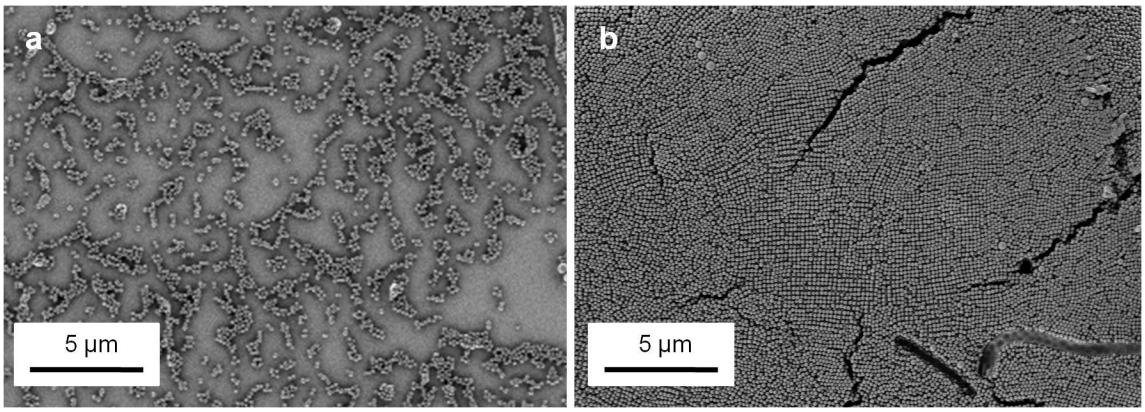


Abbildung 4-21 Partikelschichten durch Adsorption aus Lösung auf TiO_2 mit a) 0,1% und b) 5,0%.

Schichtpräparation durch „Drop-Casting" auf schiefer Ebene

Verschiedene Drop-Casting-Versuche mit unterschiedlichen Partikelkonzentrationen wurden durchgeführt. Um die Ausbildung einer dicht gepackten Monoschicht der Partikel auf den TiO_2-Substraten zu verstärken, wurden die verdünnten Dispersionen während des „Drop-Casting-Prozesses" auf einer schiefen Ebene positioniert. Ebenen mit den Steigungen 7, 13 und 30° wurden eingesetzt und auch hier die Konzentration der Partikel zwischen 0,01% und 5% Feststoffgehalt variiert. Nach den verschiedenen Experimenten zeigte sich deutlich, dass die Verwendung der 13°-Ebene zu besonders homogenen Schichten führt. Ausschnittsweise sind in den REM-Aufnahmen (Abbildung 4-22) der Schichten mit den vier verschiedenen Konzentrationen (0,01%, 0,05%, 0,1% und 1,0% Feststoffgehalt) gezeigt.

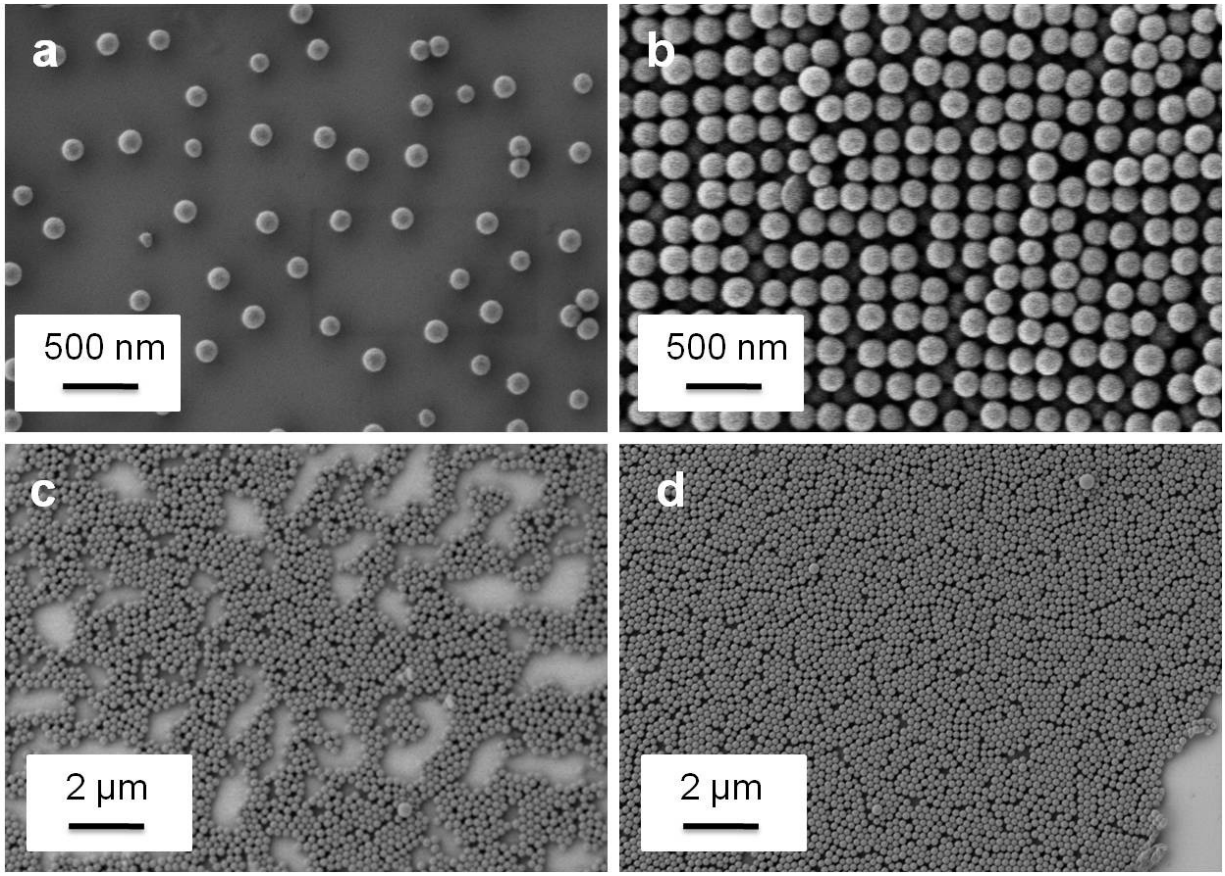


Abbildung 4-22 Partikelschichten präpariert durch Drop-Casting auf schiefer Ebene mit 13° mit a) 0,01% b) 1,0% c) 0,05% und d) 0,1% Feststoffgehalt.

Aus den REM-Aufnahmen in Abbildung 4-22 wird deutlich, dass mit einer Verdünnung von 0,1% Feststoffgehalt der 5 Gew.-% Poly(St-VBPS)-Probe (unter Verwendung der 13°-Ebene) dicht gepackte Monoschichten erhalten werden, in der sich die Partikel hexagonal anordnen. Bei niedrigeren Verdünnungen, wie 0,01% Feststoffgehalt, werden einheitliche Oberflächenbedeckungen, jedoch aber keine dichten Partikelschichten beobachtet. Bei höheren Feststoffgehalten bilden sich Multischichten aus, die dennoch eine gewisse Anordnung aufweisen. Eine vollständige flächige Bedeckung der Substrate mit Partikeln ist jedoch nicht durch diese Methode der Schichtpräparation gezielt möglich. Der Vorteil dieser Beschichtungsmethode besteht jedoch darin, dass keine Vorbehandlung zur Aktivierung der OH-Gruppen auf dem Metall (wie z.B. durch Plasmabehandlung) notwendig ist.

4.2.2 Bestimmung der Adhäsionskräfte zwischen Partikel und Substrat mit AFM

Schichtpräparation und AFM-Aufnahmen

Monoschichten der Poly(St-VBPS)-Partikel (5 Gew.-% VBPS) waren notwendig, um Kraft-Abstands-Messungen an den Partikelschichten mit AFM durchführen zu können. Deshalb wurden die Substrate auf einer schiefen Ebene (Steigung von 13°) positioniert und die Monoschichten durch „Drop-Casting“ der Partikel präpariert. In der folgenden Abbildung 4-23 sind REM-Aufnahmen der Schichten gezeigt, die für die AFM-Messungen verwendet wurden.

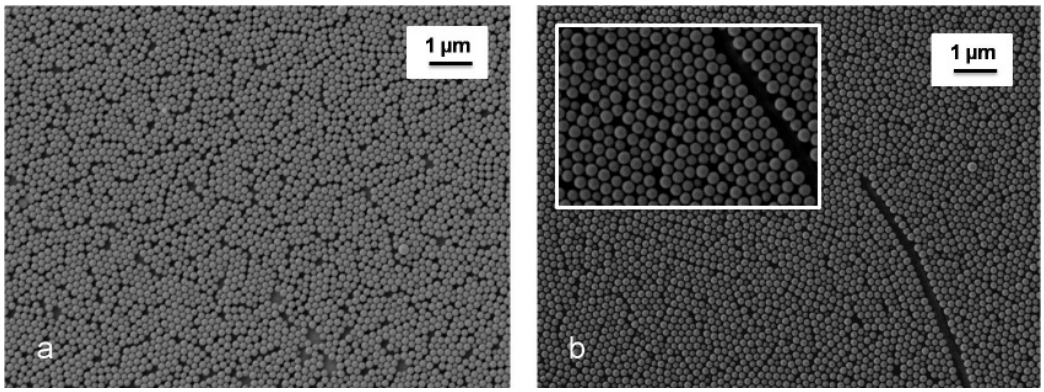


Abbildung 4-23 REM-Aufnahmen von Monoschichten der Poly(St-VBPS)-Partikel mit 5 Gew.-% Comonomergehalt (AZ-5VBPS) auf a) SiO_2 und b) TiO_2-Oberflächen.

Die REM-Aufnahmen zeigen, dass die Partikel eine hohe Einheitlichkeit in ihrer Größe aufweisen und dicht gepackte Monoschichten erhalten werden können. Die hexagonale Anordnung der Partikel ist deutlich erkennbar. Aussagen über die Topographie der Partikel können aus den AFM-Messungen in Abbildung 4-24 und Abbildung 4-25 erhalten werden.

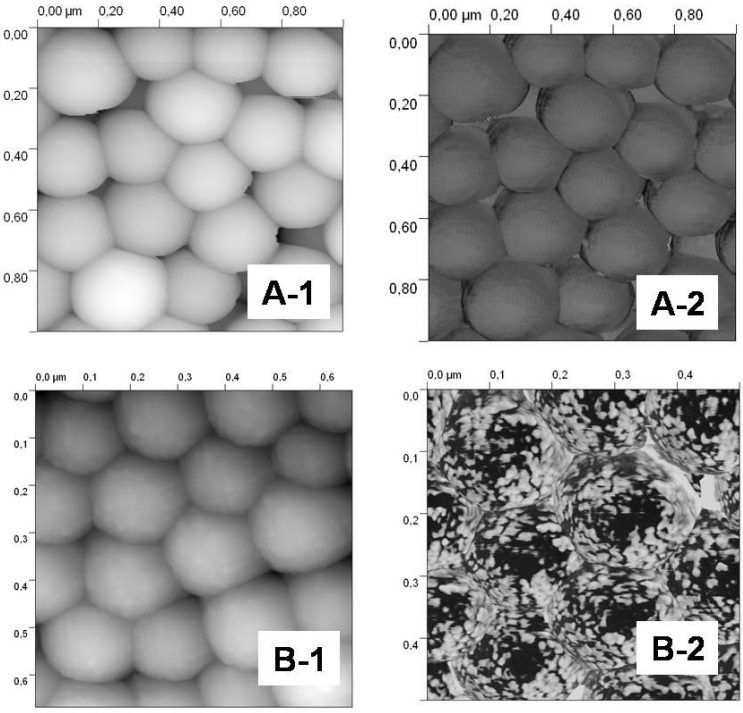


Abbildung 4-24 Vergleich der AFM-Aufnahmen: Höhen- (links) und Phasen- Aufnahme (rechts) der a) Polystyrol-Referenzprobe und b) Poly(St-VBPS) mit 5 Gew.-% Comonomer.

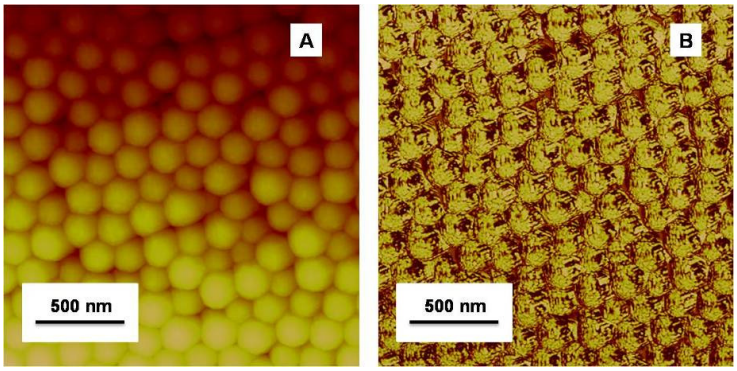


Abbildung 4-25 AFM-Aufnahmen der Poly(St-VBPS) mit 5 Gew.-% Comonomer a) Höhen- und b) Phasenbild.

Vergleicht man die Höhenbilder der unfunktionalisierten Polystyrol-Referenzprobe mit der phosphonatfunktionalisierten Polystyrolprobe, ist ein Unterschied in der Oberflächenbeschaffenheit der Partikel sichtbar. Ein Blick auf die Phasenbilder verdeutlicht, dass die Polystyrol-Referenzprobe eine homogene Oberfläche aufweist, während unterschiedliche Bereiche auf den Poly(St-VBPS)-Partikeln vorliegen. Die Existenz zweier Phasen auf den funktionalisierten Partikeln kann auf die Anwesenheit von VBPS-Homopolymerketten zurückgeführt werden. Ein Auftreten zweier Phasen ist für SDS stabilisierte Polystyrolpartikeln aus der Literatur bekannt.[110] In der Literatur wird der Effekt durch das Auftreten von hydrophileren und hydrophoberen Bereichen durch die Sulfat-

Gruppen des SDS an Luft erklärt.[110] Da auf den unfunktionalisierten Polystyrolpartikeln keine Strukturbildung erkennbar ist, kann davon ausgegangen werden, dass die PEG-Ketten des nichtionischen Tensids Lutensol AT50 keinen Einfluss auf die Oberflächentopgraphie der Partikel haben. Lutensol AT50 wurde in gleicher Einwaage bei der Synthese der funktionalisierten und unfunktionalisierten Partikel verwendet.

Kraft- Abstands-Messungen mit AFM

Um den Einfluss der Phosphonat-Gruppen auf die Wechselwirkung zwischen den Partikeln und den Metalloxiden TiO_2 und SiO_2 zu bestimmen, wurden Kraft-Abstands-Kurven (kurz Kraftkurven) aufgenommen. Unfunktionalisierte Polystyrolpartikel wurden als Referenzsystem verwendet. Um die Adhäsionskräfte zu bestimmen wurden Si-AFM-Spitzen zum einen mit 20 nm TiO_2 besputtert und zum anderen die reinen Si-Spitzen mit der natürlichen OH-Schicht eingesetzt. Die Technik um Kräfte an kolloidalen Systemen zu messen ist im Methodenteil dieser Arbeit genauer erläutert. In der folgenden Abbildung 4-26 sind die Kraftkurven für die Poly(St-VBPS)-Partikel (synthetisiert mit 5 Gew.-% VBPS) im Vergleich zu den unfunktionalisierten Referenzproben gezeigt. Die Wechselwirkungen zwischen den Partikeln und den beiden Spitzenmaterialien a) TiO_2 und b) SiO_2 sind in Abbildung 4-26 gegenübergestellt.

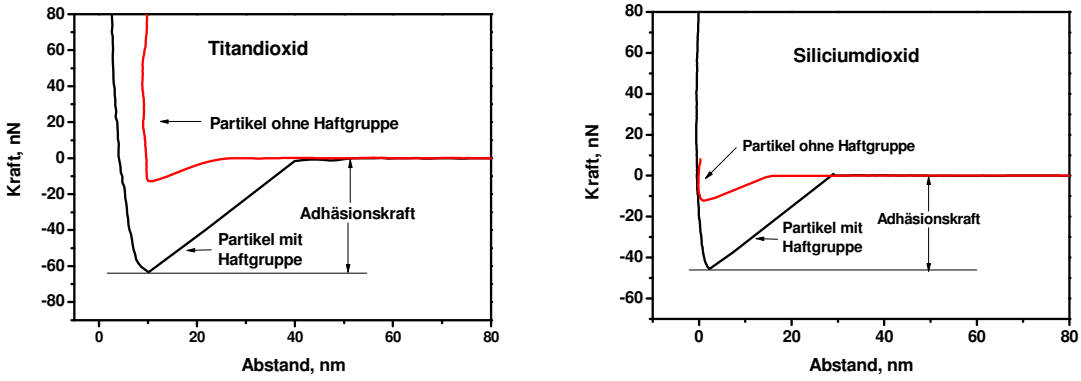


Abbildung 4-26 Kraft-Abstandskurven von Poly(St-VBPS)- (5 Gew.-% VBPS, AZ-5VBPS) (schwarze Kurven) und reinen Polystyrolpartikeln (rote Kurven) gemessen mit a) SiO_2 und b) TiO_2-Spitzen. Es sind jeweils nur die „Rückzugskurven“ gezeigt.

Die Kraftkurven in Abbildung 4-26 zeigen, dass die Einführung von Phosphonat-Gruppen (schwarze Kurven) auf der Partikeloberfläche zu deutlich höheren Adhäsionskräften im Vergleich zu den Referenzproben (rote Kurven) führt. Da die Kräfte an unterschiedlichen Stellen der Partikel variieren können, wurden an verschiedenen Stellen auf den Partikeln und den Partikeln-Monoschichten jeweils 100 Kraftkurven aufgenommen. Da die Adhäsionskräfte eine Abhängigkeit von der Spitzengeometrie aufweisen[94], wurden verschiedene Spitzen

verwendet. Die Ergebnisse der verschiedenen Kraftmessungen sind in folgender Tabelle 4-15 zusammengefasst.

Tabelle 4-15 Adhäsionskräfte zwischen reinen Polystyrolpartikeln und Polystyrolpartikeln ausgestattet mit Phosphonat-Haftgruppen bestimmt mit SiO_2- und TiO_2-AFM Spitzen.

Probenname	Haftgruppe	Spitzenmaterial	Adhäsionskraft [nN]*
AZ-0VBPS	keine Haftgruppe	SiO_2	12,5 ± 2,6
AZ-5VBPS	$-PO_3H_2$	SiO_2	43,4 ± 3,6
AZ-0VBPS	keine Haftgruppe	TiO_2	13,4 ± 0,9
AZ-5VBPS	$-PO_3H_2$	TiO_2	63,9 ± 4,3

* Mittelwert aus 100 Kraftkurven an 10 verschiedenen Substratpositionen.

Ein Vergleich der Adhäsionskräfte (Tabelle 4-15) zeigt, dass die Kräfte zwischen der SiO_2- und der TiO_2-Spitze und den Referenzpartikeln unabhängig vom Spitzenmaterial ungefähr 13 nN betragen. Die Adhäsionskräfte zwischen der SiO_2-Spitze und den phosphonatfunktionalisierten Partikeln sind mit 43,4 (± 3,6) nN deutlich höher. Die höchsten Adhäsionskräfte können zwischen den Poly(St-VBPS)-Partikeln und der TiO_2-Spitze mit 63,9 (± 4,3) nN beobachtet werden. Dieser Anstieg der Adhäsionskräfte kann mit der Anzahl an OH-Gruppen auf dem entsprechenden Metalloxid korreliert werden. McCafferty und Wightman[26] bestimmten die Konzentration an OH-Gruppen in an Luft gebildeten Oxidfilmen auf unter anderem Titan und Silizium mit quantitativer XPS. Sie konnten zeigen, dass Titan mit 11 und Silizium mit 8 OH-Gruppen pro nm^2 bedeckt sind. Im Vergleich bedeutet das: SiO_2 trägt durchschnittlich 8 OH-Gruppen pro nm^2. Die funktionalisierten Partikel weisen eine mittlere Adhäsionskraft von 43,4 nN an die SiO_2-Spitze auf. TiO_2 weist 11 OH-Gruppen auf. Die Wechselwirkung der phosphonatfunktionalisierten Partikel ist mit 69,3 nN deutlich höher. Die inhomogenere Oberfläche der Partikel wurde bei den Kraftmessungen berücksichtigt. Es wurden nicht nur an verschiedenen Stellen des Substrats Kraftkurven gemessen, sondern speziell auf einem Partikel verschiedene Messungen gemacht. Die Adhäsionskräfte in Tabelle 4-15 zeigen die Mittelwerte der verschiedenen Messungen. Im folgenden Histogramm (Abbildung 4-27) ist die Kräfteverteilung auf einem Partikel im Vergleich zwischen der Referenz- und der funktionalisierten Probe gezeigt. Exemplarisch sind die Ergebnisse aus den Messungen mit einer TiO_2-Spitze abgebildet.

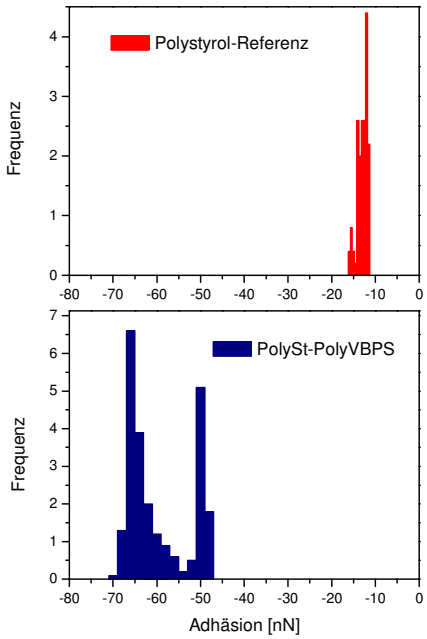


Abbildung 4-27 Verteilung der Adhäsionskräfte auf einem Partikel gemessen mit der TiO_2-Spitze von der Polystyrol-Referenzprobe (AZ-0VBPS) im Vergleich zu Poly(St-VBPS) (AZ-5VBPS) mit 5 Gew.-% Comonomer.

Abbildung 4-27 verdeutlicht, dass die Adhäsionskräfte für die Poly(St-VBPS)-Partikel in einem breiteren Bereich (47 bis 73 nN) variieren, als die Kräfte für die Polystyrol-Referenzprobe (12 bis 18 nN). Dieses Ergebnis spiegelte sich bereits in den Standardabweichungen in Tabelle 4-15 wieder. Die Anwesenheit der VBPS-Homopolymerketten auf der Partikeloberfläche führen zu höheren Schwankungen in den Adhäsionswerten. Berücksichtigt man, dass in Abbildung 4-27 die beiden Histogramme die gleiche Skala aufweisen, wird auf den ersten Blick aber auch deutlich, dass die Adhäsionskräfte für die funktionalisierten Partikel in allen Fällen deutlich höher sind, als für die Referenzprobe. Zusammenfassend lässt sich aussagen, dass die Einführung der Phosphonat-Gruppen auf der Partikeloberfläche die Haftung an Metalloxidoberflächen, wie TiO_2 und SiO_2, deutlich erhöht.

Da die partikulären Beschichtungen zur Modifizierung von Implantatoberflächen eingesetzt und die Einbettung des künstlichen Gelenks in das knöcherne Gewebe erhöhen sollen, wurden von Dr. Anitha Ethirajan und Katrin Schöller verschiedene Experimente zur Nukleation von Calciumphosphat auf den Partikelschichten durchgeführt. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die auf Silizium adsorbierten Poly(St-VBPS)-Partikel nach dem Beladungsprozess eine hohe Bedeckung mit Kristallen aufweisen (s. Abbildung 4-27).

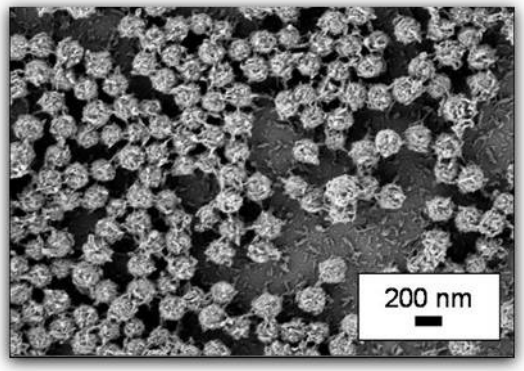


Abbildung 4-27 Poly(St-VBPS)-Partikel auf einem Si-Wafer beladen mit Calciumphosphat (REM-Aufnahme von Dr. Anitha Ethirajan).

4.2.3 Adsorptionsversuche auf Implantat-Materialien

Die Haftung von unfunktionalisierten Polystyrolpartikeln auf Titan-Implantat-Material wurde im Vergleich zu den phosphonatfunktionalisierten Partikeln (Poly(St-VPS)) getestet. Verschiedene Substrate aus Titan bzw. Titanlegierungen (Ti-6Al-4V und Ti-6Al-7Nb) wurden für diese Zwecke von Frau Prof. Anita Ignatius vom Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik in Ulm zur Verfügung gestellt. REM- und AFM-Aufnahmen der verschiedenen Proben sind in der folgenden Abbildung 4-28 gezeigt.

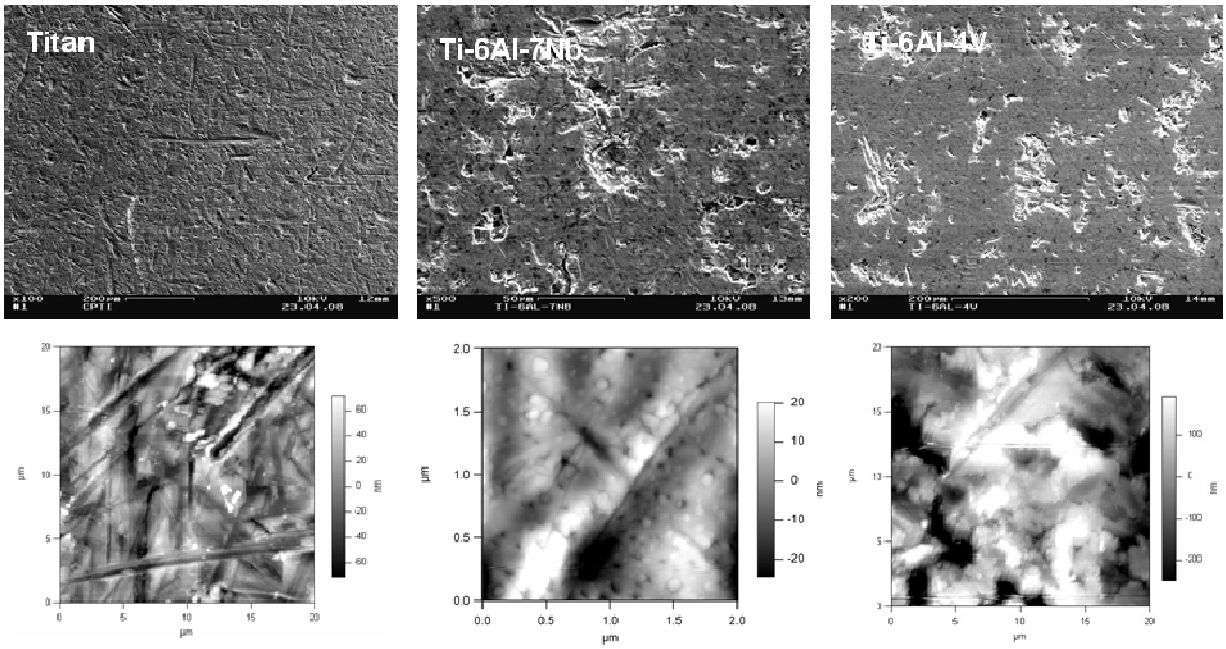


Abbildung 4-28 REM-und AFM-Aufnahmen von verschiedenen Implantat-Materialien aus Titan- bzw. Titanlegierungen.

Die REM- und AFM-Aufnahmen in Abbildung 4-28 zeigen, dass die Implantat-Materialien (reines Titan und die Titanlegierungen Ti-6Al-4V und Ti-6Al-7Nb) sehr inhomogene Oberflächen aufweisen. Wie im Grundlagenteil dieser Arbeit beschrieben, wird der Kontakt zwischen Knochen und den Implantatoberflächen durch raue Oberflächen deutlich erhöht.[15] Die atomare Zusammensetzung auf der Oberfläche der verschiedenen Implantat-Substrate wurde mit Röntgenphotonenelektronenspektroskopie (XPS) untersucht. In der folgenden Tabelle 4-16 ist die prozentuale Elementzusammensetzung der verschiedenen Implantat-Materialen angegeben.

Tabelle 4-16 Elementzusammensetzung auf den Implantatoberflächen.

Element	Anteile der Elemente [%]	
	cpTitan	Ti-6Al-7Nb
C1s	56,5	63,2
O1s	31,1	25,7
Ti2p	9,2	5,0
N1s	1,5	2,1
Al2p	1,4	1,5
Si2p	-	1,2
Cl2p	-	0,8
Nb3d	-	0,3
Pb4f	0,2	0,2

Um die Haftung der Partikel an den Titanoberflächen zu bestimmen, wurde die Titanlegierung Ti-6Al-7Nb mit unfunktionalisierten und phosphonatfunktionalisierten Polystyrolpartikeln (Poly(St-VPS) mit 10 Gew.-% VPS) beladen, mit entmineralisiertem Wasser gespült und im Stickstoffstrom getrocknet (s. Abbildung 4-29). Dieses Verfahren ist vielfältig in der Literatur beschrieben, um die Haftung von phosphonatfunktionalisierten Verbindungen, wie beispielweise funktionalisierten Oligoethylenglykolen oder Polyethylenglykolen, auf TiO_2-Oberflächen zu bestimmen.[7,109]

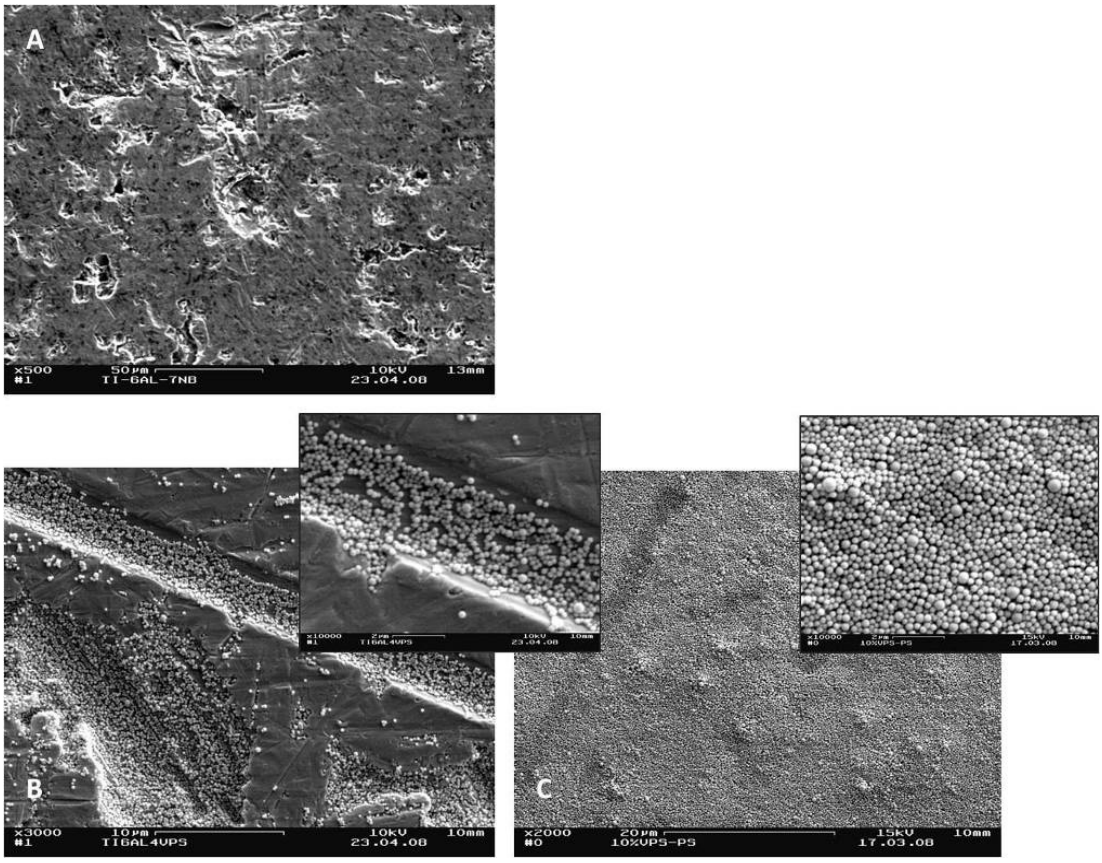


Abbildung 4-29 REM-Aufnahmen von reinem a) Implantat-Material Ti-6Al-7Nb und den Oberflächen nach dem Spülen und Trocknen, beladen mit b) unfunktionalisierten Polystyrolpartikeln und c) Poly(St-VPS) mit 10 Gew.-% Comonomergehalt.

In Abbildung 4-29 a) ist eine REM-Aufnahme des Ti-6Al-7Nb-Substrats gezeigt. Diese wurde mit reinen (b) und phosphonatfunktionalisierten Polystyrolpartikeln (c) beladen und anschließend gespült, um nicht adsorbierte Partikel von der Oberfläche zu entfernen. Das Implantat-Material wurde anschließend im Stickstoffstrom getrocknet. Die REM-Aufnahmen in Abbildung 4-29b) und c) zeigen, dass die unfunktionalisierten Partikel sich in den inhomogenen Teilen des Ti-6Al-7Nb-Substrats befinden, von den restlichen Teilen aber nahezu vollständig abgewaschen werden. Die funktionalisierten Partikel führen jedoch zu einer gepackten, stabilen Partikelschicht. Die Bedeckung mit den Poly(St-VPS)-Partikeln ist deutlich höher als die mit der unfunktionalisierten Probe.

4.2.4 Zellversuche mit phosphonatfunktionalisierten Polystyrolpartikeln[111]

Im Rahmen des Landesstiftungsprojekts wurden in den Arbeiten von Steffen Lorenz und Andrea Tautzenberger (Institut für Unfallchirurgie und Biomechanik, Ulm) die phosphonatfunktionalisierten Partikel umfangreichen Biokompatibilitätstests (Zellversuchen) unterzogen. Ein Projektziel der Landestiftung Baden-Württemberg ist die Freisetzung von

Wirkstoffen aus den funktionalisierten und auf Titanimplantaten aufgebrachten Nanopartikeln. Damit ein Einwachsen des Implantats möglich ist, müssen sich verschiedene Zelltypen (wie Osteoblasten) an der Grenzfläche zwischen Implantatoberfläche und umgebenden Gewebe ansiedeln und eine stabile Verbindung zwischen dem künstlichen Material und dem umgebenden Knochengewebe ausbilden. Von Steffen Lorenz wurden die verschiedenen phosphonatfunktionalisierten Polystyrolpartikel auf ihre Toxizität und Zellaufnahme in HeLa-Zellen (Ephitelzellen eines Gebärmutterhalskrebses) und Mesenchymale Stammzellen (MSC, Vorläuferzellen des Bindegewebes) getestet. Während HeLa Zellen nur ein erstes Modellsystem darstellten, besitzen MSCs ein hohes Potential zur Proliferation und können neben Knorpel- und Fettzellen zu Ostoblasten, den knochenaufbauenden Zellen differenzieren. Exemplarisch werden im Folgenden kurz Ergebnisse aus den Arbeiten von Steffen Lorenz und Andrea Tautzenberger mit VPS-basierten Polystyrolpartikeln, die im Rahmen der vorliegenden Dissertation synthetisiert und charakterisiert wurden, vorgestellt. Der Effekt der fluoreszenzmarkierten PolySt-PolyVPS-Partikel (hergestellt mit 10 Gew.-% VPS und stabilisiert mit Lutensol AT50; markiert mit PMI; Dz =210 nm, Zetapotential = -19 mV) auf die Differenzierung von MSCs wurde untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Partikel von den Zellen aufgenommen werden und keinen Einfluss auf Vitalität und das Differenzierungsverhalten der MSCs aufweisen. In Abbildung 4-30 sind CLSM-Aufnahmen (Confocal Laser Scanning Microscope) der PolySt-PolyVPS-Partikel lokalisiert in den MSCs gezeigt.

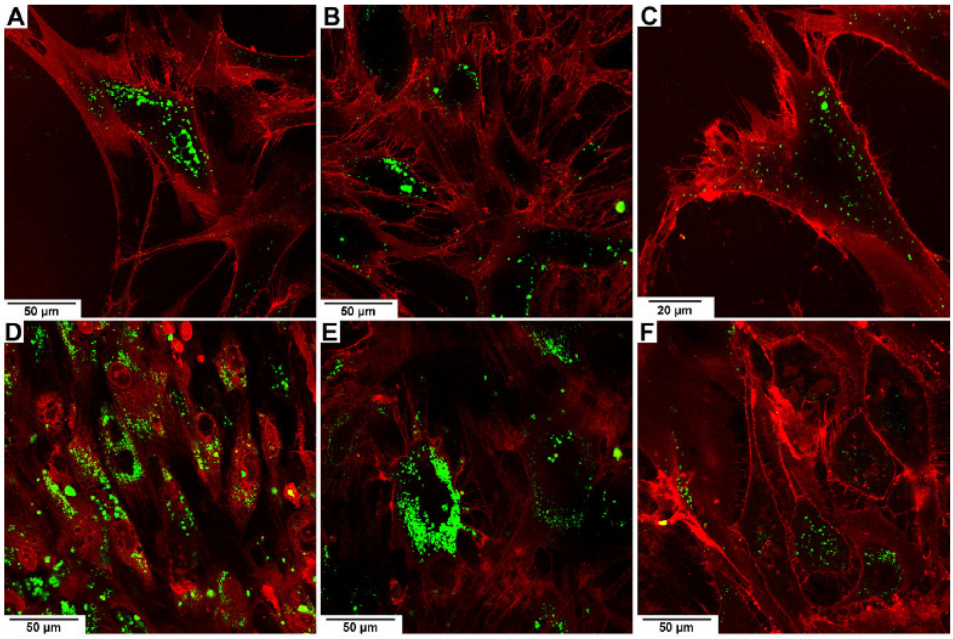


Abbildung 4-30 CLSM-Aufnahmen der VPS-Partikel in MSCs. Die Zellmembranen sind rot angefärbt (CellMask^{TM}Orange). Aufnahmen nach (A-C) Tag 5 und nach Tag 23 (D-F). (Aufnahmen von Steffen Lorenz)

Von Andrea Tautzenberger konnte mittels Genexpressionsanalyse in Quantitativer RT-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction) auch gezeigt werden, dass eine Beeinflussung der relevanten Differenzierungsgene durch die Nanopartikel nicht vorlag. Weiterhin wurde dieses Ergebnis durch klassische immunhistochemische Färbungen zur Differenzierung bestätigt. Dass die Partikel keinen Einfluss auf die Zelldifferenzierung haben, wird exemplarisch auch durch die TEM-Aufnahme in Abbildung 4-31 gezeigt. Hier sind die Partikel in Anwesenheit von differenzierten Adipozyten (Fettzellen) dargestellt.

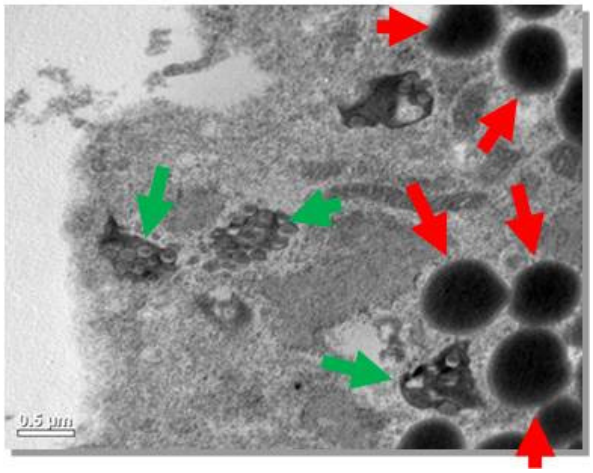


Abbildung 4-31 TEM-Aufnahme der erfolgreichen Differenzierung zu Adipozyten (Fettzellen). Poly(St-VPS)-Partikel (grüne Pfeile) sind in Anwesenheit von Fettzellen (rote Pfeile) gezeigt. (Aufnahme von Steffen Lorenz)

Die Zellversuche zeigen, dass die phosphonatfunktionalisierten Partikel in MSCs aufgenommen werden und keinen Einfluss auf Vitalität und das Differenzierungsverhalten der MSCs haben. Aufgrund der starken Zellaufnahme werden aktuell die partikulären Beschichtungen Zellstudien unterzogen. Hier gilt es sicherzustellen, das die Zellen die Partikel nicht von der Oberfläche ablösen und aufnehmen. Unabhängig vom Einsatz der Partikel als Beschichtungsmaterial für Implantate sind die Partikel für biologische Anwendungen, wie als Trägersysteme zur gezielten Wirkstofffreisetzung in Zellen aufgrund der starken Zellaufnahme denkbar.

4.3 Phosphonatfunktionalisierte bioabbaubare Polymerpartikel

Zur Freisetzung von hydrophoben Agenzien (wie öllösliche Medikamente, Arzneistoffe usw.) können diese in die Matrix von bioabbaubaren Polymerpartikeln eingebracht werden. Wie bereits im Grundlagenteil dieser Arbeit beschrieben, ist Polylactid ein vielseitig einsetzbares bioabbaubares Polymer, das hydrolytisch spaltbar ist. Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Methoden eingesetzt, um Polylactid mit Phosphonatgruppen zu funktionalisieren, um so Ankerpunkte an den Partikeln für die Anbindung an Metalloxidoberflächen zu schaffen. Janus-Partikel bieten die Möglichkeit, verschiedene polymere Materialien und Funktionalitäten in einem Polymerpartikel zu vereinen. Im Rahmen dieser Dissertation wurden Janus-Partikel, die einseitig Phosphonat-Gruppen tragen, hergestellt. Durch die Phosphonatgruppen können die Partikel an die Oberfläche angebunden werden. Wird ein hydrophober Wirkstoff verkapselt, so kann eine gezielte Freisetzung durch die bioabbaubare Polylactidphase erfolgen. Die Hybridpartikel sind aus Polylactid und Polystyrol bzw. PMMA aufgebaut. Ziel war es einseitig mit Haftgruppen funktionalisierte Partikel zu erhalten, die hydrophobe Wirkstoffe freisetzen können.

4.3.1 Phosphonatfunktionalisierte Polylactid-Partikel

Copolymerisation von VPS mit Polylactid in einer Ringöffnungspolymerisation

Anlehnend an die Synthese von Poly(N-isopropylacrylamid-*b*-DL-lactid) (PIPAAm-PLA)[76] durch Ringöffnungspolymerisation von DL-Lactid initiiert durch OH-terminiertes N-Isopropylacrylamid (IPAAm) wurde ein Blockcopolymer bestehend aus Vinylphosphonsäure (VPS) und DL-Lactid synthetisiert. Die erfolgreiche Umsetzung wurde mit GPC und ^{1}H- und ^{31}P-NMR überprüft. Mit GPC wurde ein Molekulargewicht von M_n = 8655 g/mol Das Reaktionsschema ist in Abbildung 4-32 gezeigt.

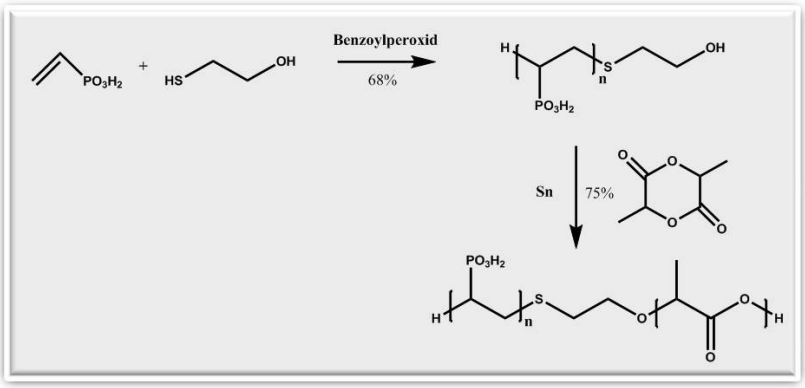


Abbildung 4-32 Reaktionsschema zur Synthese von Poly(lactid-*co*-VPS).

Im ersten Schritt wurde VPS radikalisch unter Verwendung von 2-Hydroxyethanthiol als Kettenübertragungsreagenz polymerisiert. Die Zuordnung der entsprechenden Peaks ist im Experimentalteil der Arbeit angegeben. Im zweiten Schritt wurde die D,L-Lactid-Ringöffnungspolymerisation durch die OH-terminierte Polyvinylphosphonsäure (PVPS) initiiert. Mit GPC wurde ein Molekulargewicht von M_n = 25500 g/mol und eine Polydispersität von 1,8 für das Poly(Lactid-co-VPS) Copolymer ermittelt. Über die Molekulargewichte und die Integration im NMR können Blocklängenverhältnisse von PLA zu PVPS von ungefähr 2,5:1 berechnet werden. Die in der ersten Stufe erhaltene PVPS wurde mittels NMR charakterisiert.

Synthese der Poly(Lactid-co-VPS)-Partikel

Durch Kombination des Miniemulsionsprozesses und der Emulsion/Lösungsmittel-verdampfungstechnik wurden aus dem Poly(Lactid-*co*-VPS)-Copolymer Partikel hergestellt. Zur Stabilisierung wurde das nichtionische Tensid Lutensol AT50 verwendet, um keine zusätzliche Ladung zu den Phosphonatgruppen zu erhalten. Zusätzlich wurden Partikel mit dem anionischen Tensid SDS hergestellt. In der folgenden Tabelle 4-17 sind die Partikelgrößen und die Zetapotentiale der dialysierten Latizes zusammengefasst.

Tabelle 4-17 Charakteristische Daten der Poly(Lactid-*co*-VPS)-Partikel.

Probenname	D_z [nm]	PDI	Zetapotential [mV]
Stabilisiert mit 2,0 Gew.-%[a] Lutensol AT50			
AZ-106_LutAT50	135	0,11	-16
Stabilisiert mit 0,72 Gew.-%[a] SDS			
AZ-106_SDS	100	0,10	-38

[a] bezogen auf die gesamte disperse Phase.

Unabhängig vom Tensid können stabile Polymerlatizes aus dem Copolymer Poly(lactid-*co*-VPS) hergestellt werden. Mit dem anionischen Tensid SDS werden Partikel mit einer Größe von 100 nm (AZ-106_SDS) erhalten, während die Partikel hergestellz mit dem sterisch stabilisierenden Tensid Lutensol AT50 mit 135 nm (AZ-106_LutAT50) größer sind. Die Zetapotentialwerte der Proben zeigen, dass hydrophile Phosphonatgruppen an der Partikel/Wasser-Grenzfläche vorhanden sind. Die SDS stabilisierten Proben weisen ein Zetapotential von -38 mV auf, das teilweise auf die Sulfatgruppen des SDS zurückzuführen ist. Für die mit dem nichtionischen Tensid Lutensol AT50 stabilisierten Proben, wird ein Zetapotential von -16 mV gemessen. Dies ist allein auf die Phosphonatgruppen zurückzuführen. In Abbildung 4-33 sind die TEM-Aufnahmen der Partikel gezeigt.

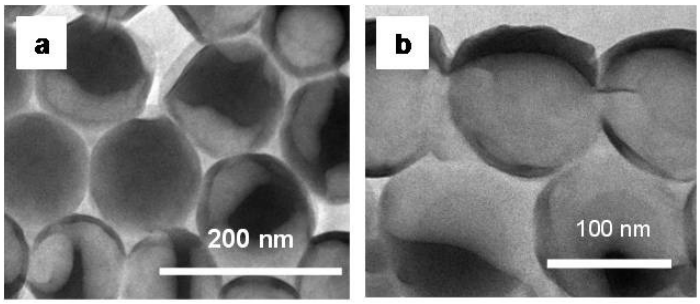


Abbildung 4-33 Phosphonatfunktionalisierte Polylactid-Partikel hergestellt mit a) 6,6 Gew.-% Lutensol AT50 und b) 1,2 Gew.-% SDS.

Die TEM-Aufnahmen bestätigen die mit DLS ermittelten Partikelgrößen und zeigen eine einheitliche Partikelgrößenverteilung unabhängig vom eingesetzten Tensid. Für die phosphonatfunktionalisierten Polystyrolpartikel wurde in dieser Arbeit bereits gezeigt (s. Kapitel 4.1.1), dass die zusätzliche Ladung durch die Phosphonatgruppen zu einer zusätzlichen Stabilisierung der Tröpfchen bzw. der Partikel führen können. Die zusätzliche Stabilisierung führt wahrscheinlich bei den phosphonatfunktionalisierten Polylactid-Partikeln, wie auch bei den sterisch stabilisierten Proben zu einheitlichen phosphonatfunktionalisierten bioabbaubaren Polymerpartikeln.

4.3.2 Einseitig phosphonatfunktionalisierte Polystyrol/Polylactid Janus-Partikel

Über die Kombination der Miniemulsionstechnik und der Emulsion/Lösungsmittel-verdampfungstechnik sollten einseitig phosphonatfunktionalisierte Januspartikel hergestellt werden (s. Abbildung).

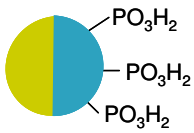
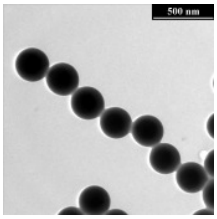
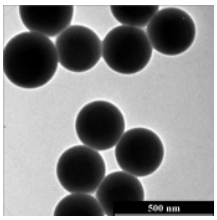


Abbildung 4-34 Schematische Darstellung eines phosphonatfunktionalisierten Januspartikels bestehend aus Polystyrol (blau) und Polylactid (grün).

Im ersten Schritt wurden phosphonatfunktionalisierte Polystyrolpartikel durch freie radikalische Copolymerisation in Miniemulsion von Styrol mit VPS bzw. VBPS synthetisiert. Die verschiedenen Copolymerisationen sind bereits ausführlich in Kapitel 4.1.2 und 4.1.5 dieser Arbeit diskutiert. Tabelle 4-18 fasst zur Übersicht die DLS-Ergebnisse der Poly(St-VPS)- und Poly(St-VBPS)-Partikel zusammen.

Tabelle 4-18 DLS-Ergebnisse der phosphonatfunktionalisierten Polystyrolpartikel hergestellt mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50.

Probe	D_z [nm]	Zetapotential [mV]	$-PO_3H_2-$ Gruppen/nm^2	TEM-Aufnahmen
Poly(St-VBPS) (5 Gew.-% VBPS)	235	-40	1,88	
Poly(St-VPS) (10 Gew.-% VPS)	200	-20	0,42	

Die Poly(St-VPS) und Poly(St-VBPS)-Latizes wurden gefriergetrocknet und ein kommerzielle erhältliches Polylactid ($\overline{M_n} \approx 66.500$ g/mol) für die Synthese der Janus-Partikel eingesetzt. In Tabelle 4-19 sind die DLS-Ergebnisse der phosphonatfunktionalisierten Januspartikel (synthetisiert mit SDS) gezeigt.

Tabelle 4-19 DLS-Ergebnisse der phosphonatfunktionalisierten Janus-Partikel hergestellt mit SDS.

Probe	D_z[nm]	Zetapotential [mV]
Poly(St-VBPS)-PLA (5 Gew.-% VBPS)	185	-47
Poly(St-VPS)-PLA (10 Gew.-% VPS)	155	-33

Es wurden stabile Partikel erhalten. Zu den hohen Zetapotentialen tragen zum einen die Phosphonatgruppen und zum anderen die Ladungen der Sulfatgruppen des SDS bei. Die Poly(St-VBPS)-Partikel zeigen jedoch mit -47 mV ein deutlich negativeres Zetapotential, als die Poly(St-VBPS)-PLA-Probe mit -33 mV. Dies kann auf eine höhere Funktionalisierung der Polystyrolphase mit Phosphonatgruppen zurückzuführen sein (s. Tabelle 4-19). Um die Janus-Struktur der Partikel zu überprüfen, wurden diese mit REM untersucht.

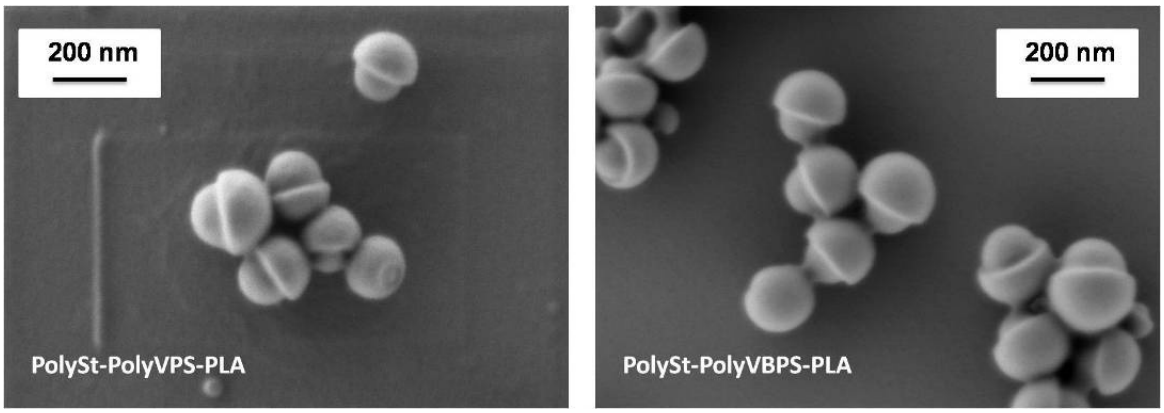


Abbildung 4-35 REM-Aufnahmen der a) Poly(St-VPS)-PLA- und b) Poly(St-VBPS)-PLA-Janus-Partikel (stabilisiert mit SDS).

In den REM-Aufnahmen (Abbildung 4-35) sind deutlich die Janus-Strukturen durch „pilzartigen"-Formen der Partikel erkennbar. Um das Auftreten dieser Strukturen zu überprüfen, wurden Substrate mit Gold bedampft und gezeigt, dass die Partikel komplett sphärisch sind. Die „Pilz"-Strukturen sind folglich ein REM-Artefakt und kommen durch den Abbau der Polylactid-Phase im Elektronenstrahl zustande. Dies wird durch die AFM-Aufnahmen in folgender Abbildung 4-36 bestätigt, in der die sphärische Struktur der Partikel deutlich erkennbar ist.

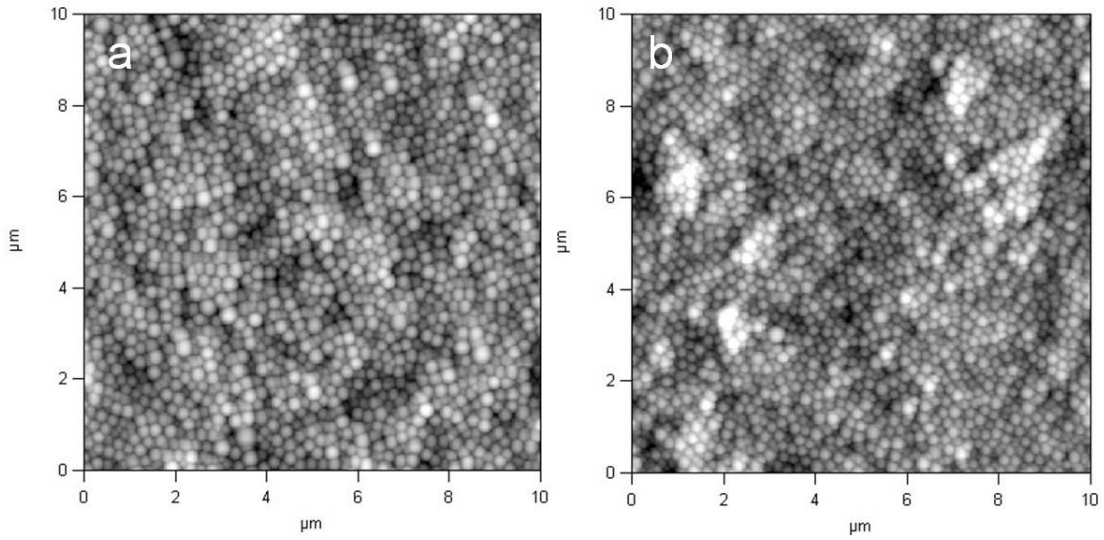


Abbildung 4-36 AFM-Aufnahmen der der a) Poly(St-VPS)-PLA- und b) Poly(St-VBPS)-PLA-Janus-Partikel (stabilisiert mit SDS).

Da durch die Sulfatgruppen des SDS zusätzliche Ladungen auf der Partikeloberfläche vorhanden sind, wurde das Tensid SDS gegen Lutensol AT50 in einem Zentrifugationsprozess ausgetauscht. In Tabelle 4-10 sind die DLS-Ergebnisse der Janus-Partikel nach dem Tensidaustausch zusammengefasst.

Tabelle 4-20 DLS-Ergebnisse der phosphonatfunktionalisierten Janus-Partikel vor und nach dem Austausch von SDS gegen Lutensol AT50.

Probe	D_z [nm]		Zetapotential [mV]	
	vorher	*nachher*	*vorher*	*nachher*
Poly(St-VBPS) (5 Gew.-% VBPS)	185	200	-47	-30
Poly(St-VPS) (10 Gew.-% VPS)	155	180	-33	-10

Die Abnahme der Zetapotentiale (s. Tabelle 4-20) zeigt, dass das SDS erfolgreich gegen Lutensol AT50 ausgetauscht wurde. Die Poly(St-VPS)-PLA- und die Poly(St-VBPS)-PLA-Partikel sind in den REM-Aufnahmen in Abbildung 4-36 gezeigt.

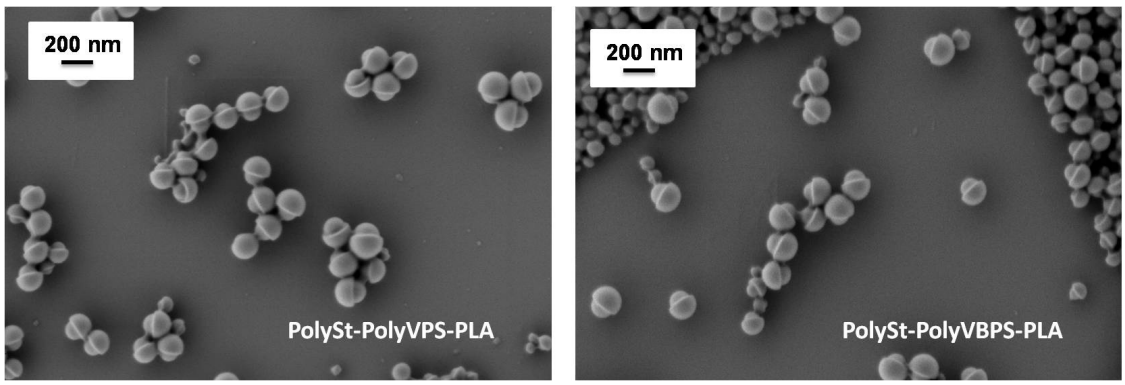


Abbildung 4-37 REM-Aufnahmen der a) Poly(St-VPS)-PLA- und b) Poly(St-VBPS)-PLA-Janus-Partikel nach dem Austausch von SDS gegen Lutensol AT50.

Die Höhe der Zetapotentiale nach dem Tensidaustausch zeigt, dass die Janus-Partikel erfolgreich mit den Phosphonatgruppen funktionalisiert werden können. Es zeigt sich auch, dass die VBPS-basierte Probe mit -47 mV eine höhere Oberflächenladung aufweist, als die Janus-Partikel hergestellt mit VPS mit -33 mV.

4.3.3 Phosphonatfunktionalisierte Janus-Partikel mit verschiedenen Farbstoffen

Um die Janus-Struktur der Partikel im konfokalen Mikroskop darstellen zu können, wurde in beide Polymerphasen BODIPY-Farbstoffe (synthetisiert von Dr. Andrey Turshatov) mit unterschiedlichen Anregungswellenlängen einpolymerisiert. BODIPY (4,4-Difluoro-4-Bor-3a,4a,-Diaza-*s*-Indacen)-Farbstoffe sind stark UV-absorbierend und emittieren relativ scharfe Fluoreszenzpeaks mit hohen Quantenausbeuten.[112] Schon minimale strukturelle Veränderungen führen zu veränderten Fluoreszenzeigenschaften. BODIPY-Farbstoffe werden daher zum Beispiel zur Markierung von Proteinen[113] oder DNA[112] eingesetzt. In Abbildung 4-38 ist das Reaktionsschema der Synthese von Polylactid, markiert mit dem BODIPY-Farbstoff 1, gezeigt.

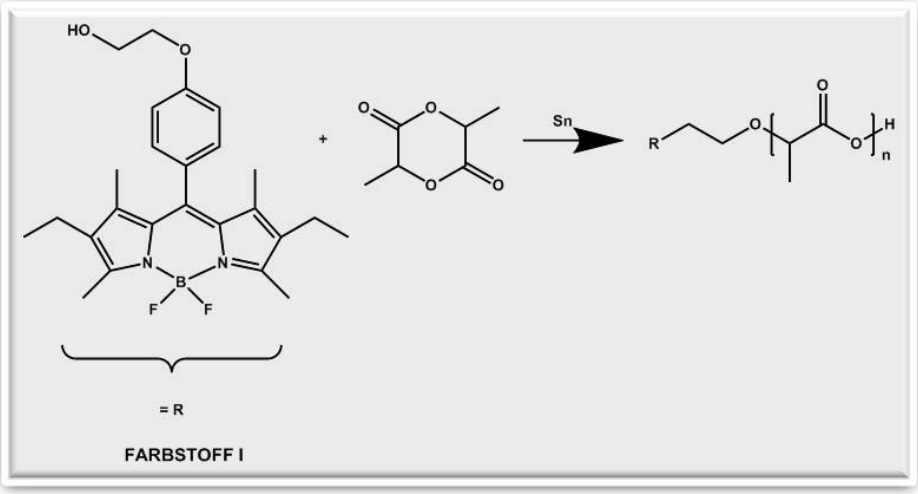


Abbildung 4-38 Synthese von Polylactid markiert mit BODIPY-Farbstoff

Der OH-terminierte BODIPY-Farbstoff 1 wurde als Initiator bei der Ringöffnungspolymerisation von Lactid eingesetzt. Der BODIPY-Farbstoff 1 kann bei einer Wellenlänge von 504 nm angeregt werden und emittiert das Licht bei einer Wellenlänge von 518 nm (in Toluol). Das Polymer wurde in einer Ausbeute von 80% bezogen auf die Theorie erhalten. Die erfolgreiche Synthese des Polymeren wurde NMR-spektroskopisch gezeigt. Mittels HPLC konnte nachgewiesen werden, dass kein ungebundener Farbstoff im Polymer vorhanden ist. Die Molekulargewichte wurden mit GPC bestimmt. Es wurden Molekulargewichte von M_n = 10.960 g/mol und M_w = 21.370 g/mol ermittelt. Daraus folgt eine Polydispersität von 1,95. Die thermischen Eigenschaften des BODIPY-markierten Polylactid wurden mittels DSC mit einer Heizrate von 10 °C/min untersucht. Es konnten die für ein teilkristallines Polymer typischen Phasenübergänge (T_g und T_m) ermittelt werden. Die

bestimmte Glastemperatur T_g = 56 °C und Schmelztemperatur T_m = 159 °C zeigt eine gute Übereinstimmung zu den in der Literatur angegeben Temperaturbereichen.[75]

Synthese von phosphonatfunktionalisierten PMMA-Partikeln mit Farbstoff

Um die Janus-Strukturen von PLA-PMMA-Hybridpartikeln nachweisen zu können, wurde neben dem markierten PLA ein weiterer BODIPY-Farbstoff mit PMMA copolymerisiert. Von Dr. Andrey Turshatov wurde ein weiterer BODIPY-Farbstoff synthetisiert, der endständig eine polymerisierbare Doppelbindung trägt. Das Absorptionsmaximum des Farbstoffs liegt in Ethylacetat bei einer Wellenlänge von 617 nm und das Emissionsmaximum bei 637 nm. In einer direkten Miniemulsion wurde der Farbstoff mit MMA und den Comonomeren VPS bzw. VBPS copolymerisiert. Als Referenzprobe wurde eine farbstoffmarkierte PMMA-Probe ohne Zusatz der phosphonatfunktionalisierten Comonomere hergestellt. Die Strukturformel des Farbstoffs ist in Abbildung 4-39 gezeigt.

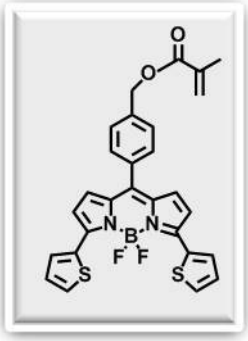


Abbildung 4-39 Strukturformel des BODIPY-Farbstoffs 2 zur Markierung der PMMA-Proben.

Die DLS-Ergebnisse der farbstoffmarkierten PMMA-, Poly(MMA-VPS)- und Poly(MMA-VBPS)-Partikel sind in der folgenden Tabelle 4-21 zusammengefasst.

Tabelle 4-21 DLS-Ergebnisse der BODIPY-markierten PMMA-, Poly(MMA-VPS)- und Poly(MMA-VBPS)-Partikeln hergestellt mit 6,6 Gew.-% Lutensol AT50

Probe	D_z [nm]	PDI	Zetapotential [mV]	Feststoffgehalt [%]
AZ-349 pMMA-dye	163	> 0,01	-2	18
AZ-348 5VBPS-MMAdye	186	0,03	-29	18
AZ-347 10VPS-MMAdye	167	0,02	-19	19

Die farbstoffmarkierte PMMA-Referenzprobe sowie die phosphonatfunktionalisierten PMMA-Proben weisen mit PDI-Werten kleiner 0,1 eine monodisperse Partikelgrößenverteilung auf. Die erfolgreiche Einführung der Phosphonatgruppen auf der Partikeloberfläche wird durch

die Zetapotentiale von -29 mV für die Poly(MMA-VBPS)-Partikel (AZ-348-5VBPS-MMAdye) und -18 mV für die Poly(MMA-VPS)-Probe (AZ-347-10VPS-MMAdye) gezeigt. Da die Proben mit dem nichtionischen Tensid Lutensol AT50 hergestellt wurden, sind die negativen Zetapotentiale komplett auf die Ladung durch die Phosphonatgruppen zurückzuführen. Ein deutlicher Unterschied der Zetapotentiale im Vergleich zur PMMA-Referenzprobe mit -2 mV (AZ-349pMMAdye) wird deutlich. Die verschiedenen PMMA-Proben wurden getrocknet und mit HPLC wurde nachgewiesen, dass kein ungebundener Farbstoff an den verschiedenen Polymeren detektiert werden kann und somit der Einbau in die Polymerkette vollständig erfolgt ist. Um einen Vergleich der Umsätze bei der Synthese der farbstoffmarkierten phosphonatfunktionalisierten PMMA-Partikel hergestellt mit den Comonomeren VPS bzw. VBPS zu erhalten, wurden die verschiedenen Copolymerisationen vergleichend mittels Reaktionskalorimetrie untersucht. Die gemessenen Wärmestromkurven sind in Abbildung 4-51a) gezeigt. Als Referenz wurde die PMMA-Referenzprobe gemessen. Basierend auf den Reaktionswärmen der Umsetzungen wurde der Umsatz berechnet. Die entsprechenden Umsatzkurven sind in Abbildung 4-40B) gezeigt.

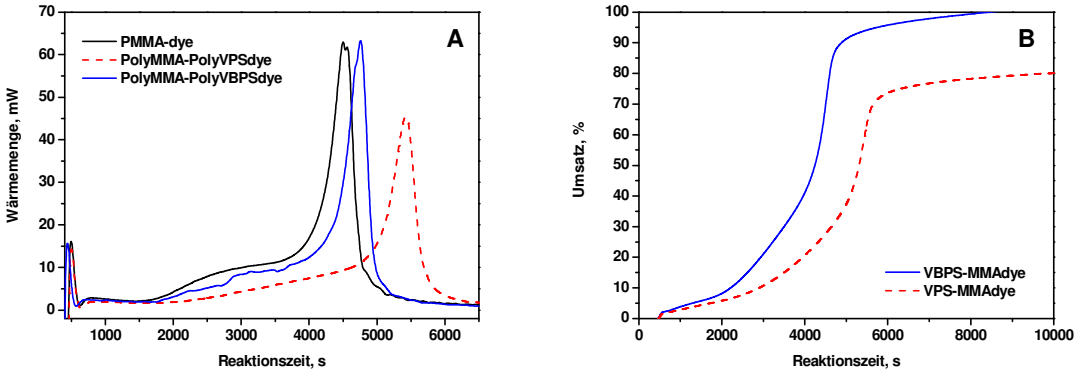


Abbildung 4-40 (A) Untersuchung der Reaktionsverläufe und (B) der Umsätze der Copolymerisationen von MMA mit VPS oder VBPS in Anwesenheit des BODIPY-Farbstoffs mittels Reaktionskalorimetrie.

Die Umsatzkurven in Abbildung 4-40B zeigen, dass bei der Copolymerisation von VPS mit MMA und Farbstoff mit 80% geringere Monomerumsätze erzielt werden, als wenn VBPS als Comonomer eingesetzt wird. Dass der Umsatz bei den Poly(MMA-VPS)-Proben geringer ist als bei den Poly(MMA-VBPS), kann vermutlich durch die höhere Wasserlöslichkeit von VPS im Vergleich zu VBPS erklärt werden. Die Zetapotentiale in Tabelle 4-21 zeigen, dass bei den Poly(MMA-VBPS)-Partikeln mehr Ladungen auf der Partikeloberfläche vorhanden sind und vermutlich ein höherer Anteil an VBPS als VPS in die Polymerketten eingebaut wird.

VPS bzw. VBPS-MMA-PLA Janus-Partikel mit unterschiedlichen Farbstoffen

Aus den in den vorherigen Schritten hergestellten farbstoffmarkierten PLA- und gefriergetrockneten PMMA-, Poly(MMA-VBPS)- bzw. Poly(MMA-VPS)-Proben, wurden über die Kombination der Miniemulsionstechnik und dem Emulsion/Lösungsmittel-verdampfungstechnik Hybridpartikel mit Janus-Strukturen synthetisiert. Zur Stabilisierung wurde das ionische Tensid SDS eingesetzt, da mit Lutensol AT50 Proben uneinheitlichere Partikel bezogen auf die Partikelgrößen erhalten wurden. Als Referenzproben wurden PLA-Proben und Partikel bestehend aus PLA und PMMA ohne Zusatz der phosphonatfunktionalisierten Comonomere VPS oder VBPS hergestellt. Die Partikelgrößen und Partikelgrößenverteilung sind in der folgenden Tabelle 4-23 zusammengestellt.

Tabelle 4-22 DLS-Ergebnisse der Janus-Partikel stabilisiert mit SDS und markiert mit unterschiedlichen BODIPY-Farbstoffen.

Probenname	D_z [nm]	Zetapotential [mV]	PDI
AZ-367-PLAd	147	-16	0,04
AZ-357 10VPS-MMA-PLAd	141	-37	0,03
AZ-358 5VBPS-MMA-PLAd	200	-49	0,09
AZ-356 PMMA-PLAd	151	-17	0,09

Die Daten in Tabelle 4-23 verdeutlichen, dass einheitliche (PDI-Werte <0,1) und stabile Polymerdispersionen, mit Partikelgrößen im Bereich von 100 bis 200 nm erhalten werden können. Die Zetapotentiale bestätigen die erfolgreiche Funktionalisierung der Partikel mit Phosphonatgruppen. Ein Teil der Ladung wird durch die Sulfatgruppen des Tensids SDS verursacht, was durch die unfunktionalisierten PLA- und PMMA-PLLA-Referenzproben nachgewiesen wird. Tabelle 4-22 zeigt, dass die unfunktionalisierten Referenzproben Zetapotentiale von -16 und -17 mV (AZ-367-PLAd und AZ-356 PMMA-PLAd) aufweisen. Vergleicht man die Zetapotentiale der reinen PLA- bzw. PMMA-Referenzprobe von -16 bzw. -17 mV wird ein deutlicher Unterschied zu den phosphonatfunktionalisierten Janus-Partikeln deutlich. Die Poly(MMA-VPS)-PLA-Probe (AZ-357 10VPS-MMA-PLAd) weist mit -37 mV ein geringeres Zetapotential auf als die Poly(MMA-VBPS)-PLA-Probe (AZ-358 5VBPS-MMA-PLAd) mit -49 mV. Die Differenz der Zetapotentiale beträgt -21 mV zwischen der PLA-Referenzprobe und der der Poly(MMA-VPS)-PLA-Probe und -33 mV zwischen PLA- und Poly(MMA-VBPS)-PLA-Probe. Es kann, in guter Übereinstimmung mit den Zetapotentialen der Poly(MMA-VPS) und Poly(MMA-VBPS)-Proben, hergestellt mit Lutensol AT50 (Tabelle 4-21), davon ausgegangen werden, dass dieses Zetapotential auf die Phosphonatgruppen zurückzuführen ist.

Die Morphologien der Partikel wurden mit REM, AFM und dem konfokalen Mikroskop untersucht. Ein Nachweis für die Janusstrukturen der Partikel erfolgt durch die REM-Aufnahmen in Abbildung 4-41. Analog zu den REM-Aufnahmen in Abbildung 4-37 in Kapitel 4.3.2 werden auch hier „pilzartige“ Strukturen aufgrund der Instabilität der PLA-Phase im Elektronenstrahl beobachtet. Die Annahme, dass es sich hier um ein REM-Artefakt handelt, wird durch die AFM-Bilder in Abbildung 4-43 gestützt, die eine sphärische Partikelform zeigen.

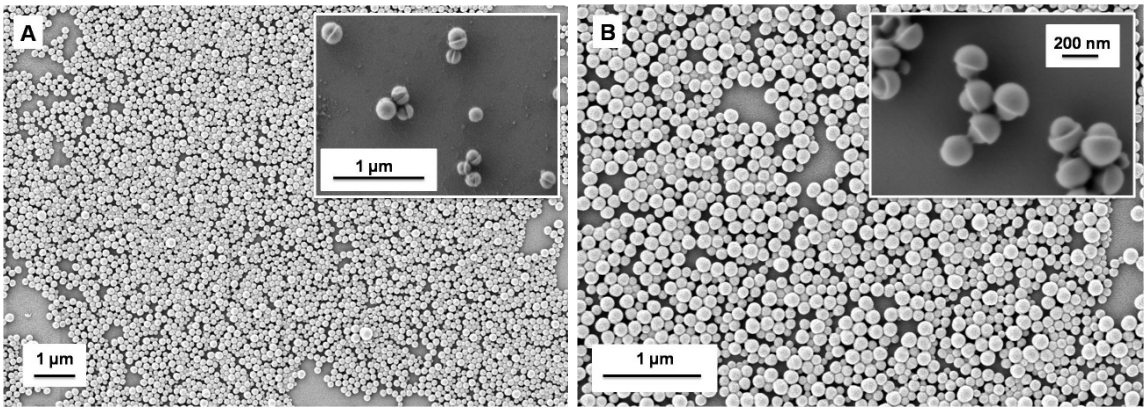


Abbildung 4-41 REM-Aufnahmen der Janus-Partikel von A) PMMA-PLA- und B) VBPS-PMMA-PLA-Partikeln.

Zusätzlich wurden die Partikel von Dr. Andrey Turshatov mit einem konfokalen Mikroskop abgebildet. Die beiden unterschiedlichen BODIPY-Farbstoffe besitzen unterschiedliche Anregungs- und Emissionswellenlängen, so dass sie im Mikroskop grün und rot erscheinen. In Abbildung 4-42 sind exemplarisch die konfokalen Aufnahmen der VBPS-PMMA-PLA-Probe gezeigt. Die Polylactid-Phase wird durch die grünen (Absorptionswellenlänge = 504 nm/ Emissionswellenlänge = 518 nm) und die PMMA-Phase durch die roten Spots (Absorptionswellenlänge = 617 nm/ Emissionswellenlänge = 637 nm) sichtbar. Durch die unterschiedlichen BODIPY-Farbstoffe werden die Janusstrukturen der Hybridpartikel dargestellt.

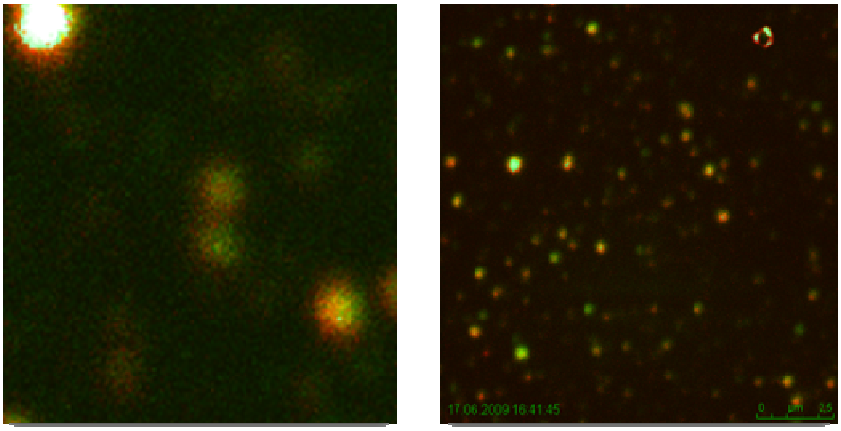


Abbildung 4-42 Aufnahmen der VBPS-PMMA-PLA-Janus-Partikel mit dem konfokalen Mikroskop (Bilder von Dr. Andrey Turshatov)

Vergleichend sind AFM-Aufnahmen der PLA-Referenzproben und der Poly(MMA-VBPS)-PLA-Janus-Proben gezeigt.

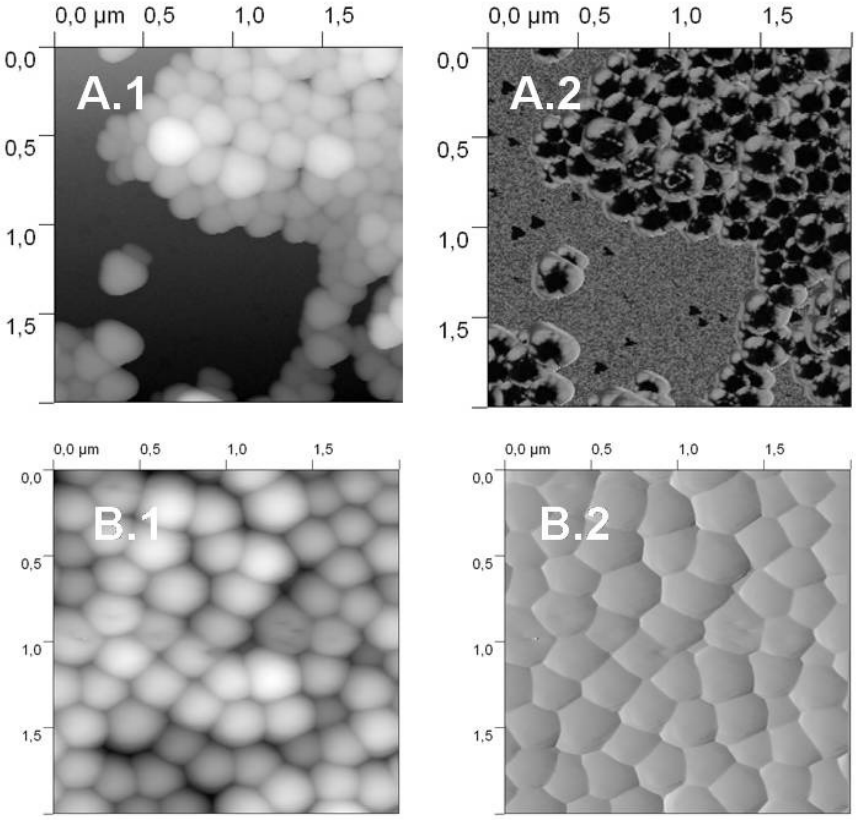


Abbildung 4-43 AFM-Aufnahmen von A) VBPS-PMMA-PLA-Janus-Partikeln (A.1 = Höhe und A.2 = Phase) und B) reine PLA-Referenzpartikeln (B.1 = Höhe und B.2 =Phase)

In Abbildung 4-43 sind deutliche Unterschiede in den Phasen-Aufnahmen der VBPS-PMMA-Probe (AZ-358 5VBPS-MMA-PLAd) und der reinen PLA-Referenzprobe (AZ-367-PLAd)

erkennbar. Während die PMMA-Partikel eine homogene Oberfläche aufweisen, zeigen die VBPS-PMMA-PLA-Partikel eine ungleichmäßige Oberflächenstruktur. Die Phasenbilder zeigen eine gute Übereinstimmung zu den AFM-Ergebnissen in Kapitel 4.2. Hier wurde gezeigt, dass phosphonatfunktionalisierte Polystyrolpartikel, basierend auf VBPS als Comonomer, eine inhomogene Oberfläche aufweisen. Diese Phasenbildung wurde hier auf die Präsenz hydrophiler VBPS-Homopolymerketten zurückgeführt. Das Auftreten zweier Phasen ist für Polystyrolpartikel stabilisiert mit SDS aufgrund der Bildung hydrophilerer und hydrophoberer Bereiche durch die Sulfatgruppen des SDS an Luft in der Literatur beschrieben.[110] Im Kapitel 4.2 dieser Arbeit wurde gezeigt, dass auch Phosphonatgruppen zu der Bildung von Phasen auf Polystyrolpartikeln führen. In dem Phasenbild in Abbildung 4-43 ist vermutlich die Phasenbildung durch die Phosphonatgruppen erkennbar und kann einen weiteren Nachweis für die Bildung von zweiphasigen Janusstrukturen darstellen.

4.4 Einbettung von hydrophoben Wirkstoffen in Polystyrol- und PLA-Partikel

4.4.1 Paclitaxelhaltige Partikel

Das Zytostatikum Paclitaxel wurde in Polymerpartikeln verkapselt, da in Arbeiten von Dr. Julia Dausend eine langsame kontrollierte Wirkstoff-Freisetzung in HeLa-Zellen erzielt werden sollte. Verschiedene Paclitaxel-Konzentrationen wurden in Polystyrol -und Polylactidpartikel eingebracht. Polystyrolpartikel sind nicht abbaubar und können so über einen langen Zeitraum *in-vivo* und *in-vitro* im menschlichen Körper verfolgt werden.[41] Bei Polylactid sollte aufgrund der Bioabbaubarkeit des Polymeren eine schnellere Freisetzung des Wirkstoffes möglich sein. Die Synthese der paclitaxelhaltigen Partikel wurde durch die hohe Toxizität des Wirkstoffs (LD_{50}=12 mg/kg (Maus)) deutlich erschwert. Die Homogenisierung der Probe erfolgte in einem geschlossenen Gefäß mittels inversen Ultraschalls. Bei diesem Homogenisierungsverfahren ist der Energieeintrag in die Probe deutlich geringer als bei direkten Ultraschallprozessen. Zusätzlich können invers nur kleinere Probenvolumina homogenisiert werden. Stabile wirkstoffbeladene Polystyrol- und Polylactidpartikel konnten nach Optimierung der Einsatzmenge, der verwendeten Tenside und der Ultraschalleinstellungen hergestellt werden. In Tabelle 4-23 sind Paclitaxel beladene Polystyrol- und Polylactidproben hergestellt mit gleichen Ultraschalleinstellungen und den Tensiden SDS und Lutensol AT50 gezeigt. Die mit DLS bestimmten Partikelgrößen werden durch die TEM-Aufnahmen der Polystyrolproben in Abbildung 4-44 bestätigt.

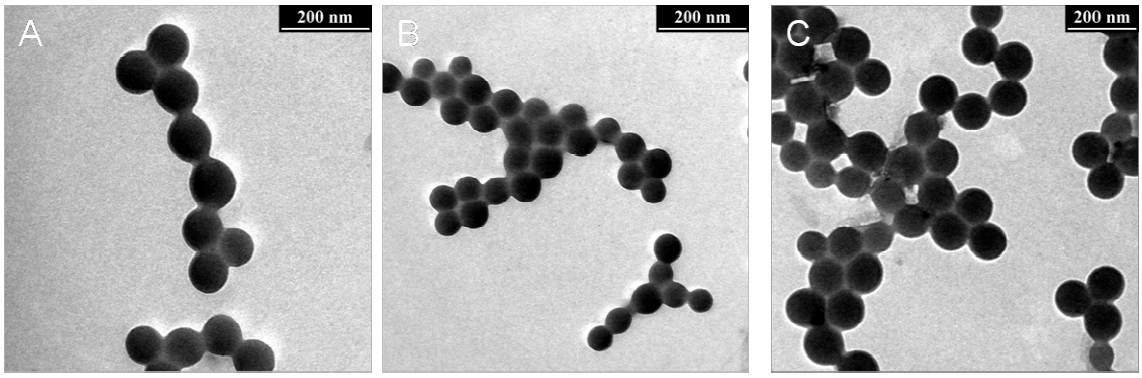


Abbildung 4-44 Polystyrolpartikel hergestellt mit SDS und A) 3 und B) 5 Gew.-% Paclitaxel und Lutensol AT50 stabilisierte Probe mit C) 5 Gew.-% Wirkstoff.

Tabelle 4-23 DLS-Ergebnisse der paclitaxelhaltigen Polystyrol- und PLA-Proben.

Probename	Paclitaxelgehalt Gew.-%[a]	D_z [nm]	PDI	Feststoffgehalt [%]
Polystyrolproben hergestellt mit 1,2 Gew.-% SDS				
AZ-116_1Pac_PS_SDS	1	111	<0,01	21,0
AZ-117_2Pac_PS_SDS	2	112	0,01	19,0
AZ-118_3Pac_PS_SDS	3	140	0,07	21,0
AZ-119_4Pac_PS_SDS	4	120	0,07	22,0
AZ-103_5Pac_PS_SDS	5	120	0,06	22,1
AZ120_Nullprobe_PS_SDS	0	110	<0,01	20,7
Polystyrolproben hergestellt mit 6,6 Gew.-% Lutensol AT50				
AZ-102_5Pac_PS_Lut	5	120	0,09	21,5
AZ-104_Nullprobe_PS_Lut	0	113	0,07	20,3
Polylactidproben hergestellt mit SDS und Lutensol AT50				
AZ_240_5Pac_PLA_SDS	5	242	0,11	2,5
AZ_238_Nullprobe_PLA_SDS	0	212	0,10	2,3
AZ_239_5Pac_PLA_Lut	5	*Latizes instabil*		
AZ_241_Nullprobe_PLA_Lut	0			

[a] bezogen auf die Einwaage an Monomer.

Tabelle 4-23 zeigt, dass stabile und einheitliche paclitaxelhaltige Partikel hergestellt wurden. Einzig die wirkstoffhaltigen Polylactidproben stabilisiert mit Lutensol AT50 führten zu keinen stabilen Polymerdispersionen. Die verschiedenen wirkstoffbeladenen Partikel und ihre Wirkung auf HeLa- und MCF-7-Zellen wurden im Rahmen der Dissertation von Julia Dausend untersucht.[114] In dieser Arbeit wurden die paclitaxelhaltigen Polystyrol- und

Polylactidpartikel 72 h in Zellen inkubiert und anschließend die Vitalität der Zellen untersucht. Julia Dausend konnte zeigen, dass bei gleicher Menge an Wirkstoff, die PLA-Partikel zu stärkeren Vitalitätseinbußen der HeLa-Zellen, im Vergleich zu den beladenen Polystyrol-Latizes, führen.[114] Die Freisetzung des Wirkstoffs aus den bioabbaubaren PLA-Partikeln erfolgte daher schneller, als aus den nicht abbaubaren Polystyrolproben.

4.4.2 Partikel mit Dexamethason

Als weiterer hydrophober Wirkstoff wurde das künstliche Glukokortikoid Dexamethason (9-Fluor-16α-methylprednisolon) in Polystyrol- und PLA-Partikel eingebracht. Die wirkstoffhaltigen Proben wurden unter Verwendung des anionischen Tensids SDS hergestellt. Die Polystyrolproben wurden in einer direkten Miniemulsion und die PLA-Partikel durch die Kombination aus Miniemulsion und der Emulsion/Lösungsmittelverdampfungs-technik synthetisiert. Die Homogenisierung der Proben erfolgte bei den dexamethasonhaltigen Proben, im Unterschied zu den paclitaxelbeladenen Proben, durch direkten Energieeintrag mit dem Ultraschallstab. In Tabelle 4-25 sind die DLS-Ergebnisse der Proben zusammengefasst.

Tabelle 4-24 DLS-Ergebnisse der dexamethasonhaltigen Polystyrol- und PLA-Proben.

Probename	Gehalt an Dexamethason Gew.-%[a]	D_z [nm]	PDI
Polylactidproben stabilisiert mit SDS			
AZ-467_pure PLA_SDS	0	134	0,06
AZ-468_2Dex_PLA_SDS	2	178	0,09
AZ-469_5Dex_PLA_SDS	5	220	0,10
Polystyrolproben hergestellt mit 1,2 Gew.-% SDS			
AZ-467a_pure PS_SDS	0	90	0,03
AZ-468a_2Dex_PS_SDS	2	105	0,07
AZ-469a_5Dex_PS_SDS	5	135	0,09

[a] bezogen auf die Einwaage an Monomer.

Analog zu den im vorherigen Abschnitt beschrieben paclitaxelhaltigen Polystyrol- und PLA-Proben, wurden stabile Polymerlatizes erhalten. Wegen des höheren Energieeintrags durch den direkten Ultraschallprozess wurden kleinere Partikelgrößen für die Dexamethason-

Proben (Tabelle 4-25), im Vergleich zu den paclitaxelhaltigen Proben (Tabelle 4-23), erhalten. Die wirkstofffreie Polystyrol-Referenzprobe zeigt beispielsweise eine Partikelgröße von 90 nm (AZ-467a_pure PS_SDS, Tabelle 4-25). Die entsprechende Polystyrol-Nullprobe, homogenisiert mittels inversen Ultraschall, weist eine Partikelgröße von 110 nm (AZ120_Nullprobe_PS_SDS, Tabelle 4-23) auf. Die Differenz bei den PLA-Nullproben ist mit 134 nm (AZ-467_pure PLA_SDS, Tabelle 4-25) und 212 nm (AZ_238_Nullprobe_PLA_SDS, Tabelle 4-23) noch signifikanter. Allgemein wird jedoch deutlich, dass stabile paclitaxel- und dexamethasonhaltige Polystyrol- und PLA-Latizes in Miniemulsion hergestellt werden können. Die PDI-Werte mit kleiner 0,1 zeigen, dass die Partikel eine einheitliche Größenverteilung aufweisen. Bei allen Proben wurde gravimetrisch der Feststoffgehalt bestimmt, welcher auf einen vollständigen Monomerumsatz hinweist. Die wirkstoffbeladenen Partikel werden momentan in Zellversuchen getestet.

4.5 Funktionalisierte Kapseln

Im Rahmen dieser Dissertation wurden phosphonatfunktionalisierte Polymerpartikel bestehend aus Polystyrol, verschiedenen Polymethacrylaten und Polylactid hergestellt. Die Herstellung erfolgte durch den Prozess einer direkten Miniemulsion. Das Monomer liegt dispergiert als Tröpfchen in der wässrigen kontinuierlichen Phase vor. Verschiedene hydrophobe Substanzen lassen sich in die polymere Matrix einbringen. Ziel war es aber auch hydrophile Substanzen zu verkapseln, daher wurden Polymerkapseln mit einem wässrigen Kern hergestellt. Die Herstellung der Kapseln erfolgte in einer inversen Miniemulsion, in der Cyclohexan die kontinuierliche Phase darstellt. Für weitere biologische Anwendungen wurden die Kapseln aus der Cyclohexanphase in eine wässrige Phase überführt. Hydrophile Monomere wie verschiedene Diamine, Diole oder auch das Makromonomer Cellulose wurden zur Herstellung von Kapseln eingesetzt. Bei allen Experimenten wurde Toluol-2,4-diisocyanat (TDI) als Vernetzer und zur Stabilisierung das amphiphile Blockcopolymer Poly[(ethylen-*co*-butylen)-*b*-ethylenoxid)] (P(B/E-*b*-EO)) verwendet. Um die Kapseln in weiteren Zellversuchen detektieren zu können, wurde in den Proben der hydrophile Farbstoff Sulphorhodamin SR101 (siehe Abbildung 4-45, Emissionsmaxima bei 518 und 605 nm) verkapselt. Aus der Literatur[115] und vorherigen Arbeiten in der Gruppe ist bekannt, das Sulphorhodamin SR101 aufgrund seiner pH-Unabhängigkeit und der Reversibilität gegenüber TDI für die Verkapselungsprozesse sehr gut geeignet ist. Die Strukturformel des Farbstoffs ist in Abbildung 4-45 gezeigt.

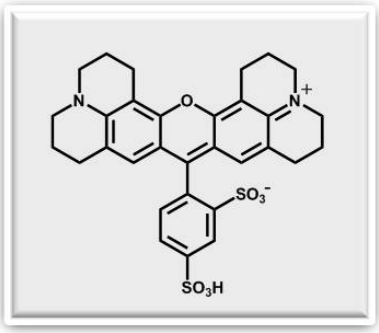


Abbildung 4-45 Strukturformel von Sulphorhodamin SR101.

Um phosphonatfunktionalisierte Kapseln zu erhalten wurden Monomere, die die entsprechende funktionelle Gruppe tragen, eingesetzt oder nachträglich die Oberfläche der in Wasser redispergierten Kapseln umfunktionalisiert. In verschiedenen Kapseln wurde der wasserlösliche Wirkstoff Pamidronat (Strukturformel s. Kapitel 2.5) verkapselt, der Teil der Medikamentengruppe ist, die den Knochenstoffwechsel beeinflussen.

4.6 Synthese von unfunktionalisierten Kapseln

Für die Synthese von Polyharnstoffkapseln wurden die Diamin-Monomere 1,6-Hexamethylendiamin, 1,5-Diamino-2-methylpentan, Harnstoff und Diethylentriamin eingesetzt, die in Abbildung 4-46 gezeigt sind, eingesetzt. Die Monomere wurden variiert, um den Einfluss auf die Größe und die Einheitlichkeit der Kapseln zu untersuchen.

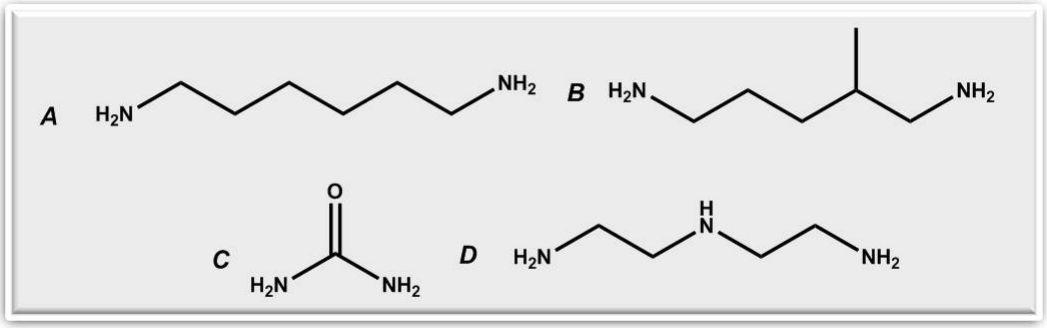


Abbildung 4-46 Verwendete Monomere für die Synthese der Polyharnstoffkapseln: 1,6-Hexamethylendiamin (A), 1,5-Diamino-2-methylpentan (B), Harnstoff (C) und Diethylentriamin (D).

Die verschiedenen Diamine wurden im Prozess der inversen Miniemulsion zu Polyharnstoff-kapseln mit einem wässrigen Kern umgesetzt. Damit die Polyharnstoffkapseln für biologische Anwendungen eingesetzt werden können, wurden die erhaltenen Kapseln aus der kontinuierlichen Cyclohexanphase in eine wässrige Lutensol AT50- bzw. SDS-Lösung überführt. Die charakteristischen Daten der synthetisierten Kapseln sind in Tabelle 4-25 zusammengefasst.

Tabelle 4-25 Charakteristische Daten der Polyharnstoffkapseln vor und nach der Redispergierung in wässriger SDS- oder Lutensol AT50-Tensidlösung.

Probe	Monomer	in Cyclohexan		Redispergiert in SDS-Lösung		Redispergiert in Lutensol AT50-Lösung	
		D_z [nm]	PDI	D_z [nm]	PDI	D_z [nm]	PDI
AZ-80b_DH	A	275	0,18	275	0,20	340	0,20
AZ_479_DAMP	B	280	0,17	285	0,19	305	0,25
AZ-550_HS	C	300	0,24	290	0,22	310	0,23
AZ-78b_DET	D	215	0,20	220	0,19	284	0,20

Es wurden mit allen verwendeten Monomeren stabile Polyharnstoffkapseln mit Feststoffgehalten im Bereich der theoretischen Feststoffgehalte von 3% erhalten. Die Überführung der Kapseln in die wässrigen Tensidlösungen war ohne Stabilitätsverlust der Kapseln möglich. Die Redispergierung in der wässrigen SDS-Lösung führte zu geringeren Kapseldurchmessern verglichen mit den in Lutensol AT50 redispergierten Kapseln.

4.6.1 EDC-Kupplung an Polyharnstoffkapseln

In Kapitel 4.1.7 der vorliegenden Dissertation ist bereits die Einführung von Phosphonsäuregruppen durch EDC-Kupplung von 3-Phosphonopropionsäure an aminofunktionalisierte Polystyrolpartikel beschrieben. Die Funktionalisierung der Kapseloberfläche mit Phosphonat- bzw. Phosphatgruppen ist, aufgrund der Tatsache dass diese Gruppen eine hohe Wasserlöslichkeit besitzen und die Synthese in einem inversen System erfolgt, deutlich erschwert. Es gilt sicherzustellen, dass sich die Phosphonat- bzw. Phosphatgruppen auf der Kapseloberfläche anordnen und nicht in der inneren wässrigen Phase der Kapseln orientiert vorliegen. Daher war es Ziel dieser Versuchsreihe, die Phosphonatgruppen nachträglich an der Kapsel einzuführen, wenn diese redispergiert in der Wasserphase vorliegen. Um funktionalisierte Kapseln herzustellen, wurden verschiedene Polyharnstoffkapseln synthetisiert (Tabelle 4-25) und in einer Lutensol AT50-Lösungen (0,3 Gew.-%) redispergiert. Aus der Literatur ist bekannt, dass die Isocyanatgruppen auf der Kapseloberfläche nach Überführung in die wässrige Phase zu Aminogruppen umgesetzt

werden.[9,116] Aus den Isocyanatgruppen und dem Wasser werden, über die Bildung einer instabilen Carbamidsäure als Zwischenprodukt (durch Hydrolyse) Aminogruppen gebildet.[9] Die freien Aminogruppen wurden als Kupplungskomponenten für 3-Phosphonopropionsäure eingesetzt. In Abbildung 4-47 ist das Reaktionsschema der Umsetzung gezeigt.

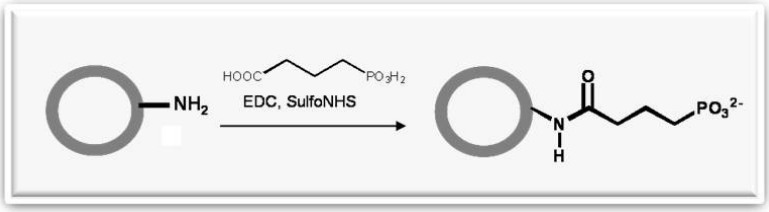


Abbildung 4-47 Umfunktionalisierung der Polyharnstoffkapseln durch EDC-Kupplung mit 3-Phosphonopropionsäure.

Für die EDC-Kupplung wurden exemplarisch Polyharnstoffkapseln auf Basis der Monomere 1,5-Diamino-2-methylpentan (B) und Diethylentriamin (D) aus Tabelle 4-25 eingesetzt. Die Kapselgrößen und Zetapotentiale vor und nach der Umsetzung wurden mittels DLS ermittelt und sind in Tabelle 4-26 gegenübergestellt.

Tabelle 4-26 Gegenüberstellung der DLS-Ergebnisse vor und nach der EDC-Kupplung von 3-Phosphonopropionsäure an aminofunktionalisierten Polystyrolpartikeln.

Probenname	Monomer	D_z [a] [nm]		Zetapotential [a] [mV]	
		$-NH_2$ [a]	$-PO_3H_2$	$-NH_2$ [a]	$-PO_3H_2$
AZ_479_DAMP	B	305	320	14	-2
AZ-78b_DET	D	284	300	16	-5

[a] Werte der Kapseln redispergiert in wässriger Lutensol AT50-Lösung.

Die Zunahme der mittleren Kapseldurchmesser und Zetapotentiale weist auf eine erfolgreiche Umfunktionalisierung der Kapseloberfläche hin. Nach EDC-Kupplung nehmen die Größen der Kapseln in beiden Fällen um ungefähr 15 nm zu und das Zetapotential erfährt den erwarteten Vorzeichenwechsel von positiven auf negative Werte. Der Vorzeichenwechsel zeigt, dass die Aminogruppen größtenteils durch die EDC-Kupplung in Phosphonatgruppen überführt wurden. Ein analoges Verhalten wurde bereits bei der Umfunktionalisierung der aminofunktionalisierten Polystyrolpartikel in Kapitel 4.1.7 beobachtet. Die REM-Aufnahmen in Abbildung 4-48a zeigen, dass Kapselstrukturen erhalten wurden. Die Modifizierung der Kapseloberfläche durch EDC-Kupplung beeinträchtigt die Stabilität der Kapseln nicht.

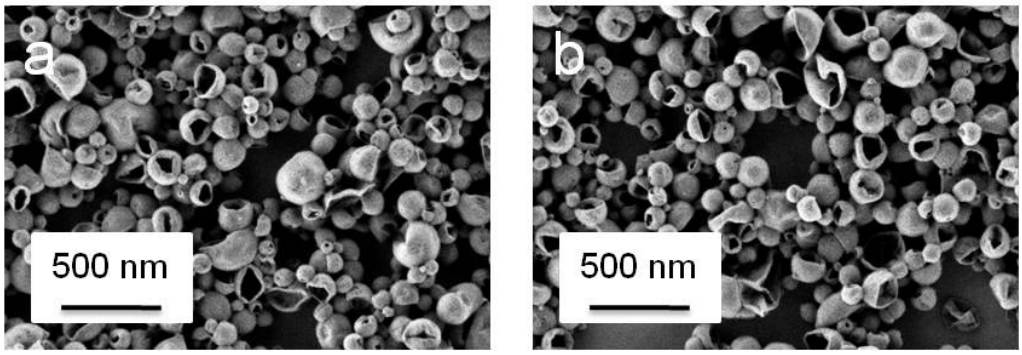


Abbildung 4-48 1,5 Diamino-2-methylpentan-Kapseln redispergiert in wässriger Lutensol AT50-Lösung a) vor und b) nach der EDC-Kupplung mit 3-Phosphonopropionsäure.

4.6.2 Phosphatfunktionalisierte Cellulose-Kapseln

Cellulose ist eins der wichtigsten Biopolymere in der Natur und wird beispielsweise für Dialysemembranen in der Medizintechnik eingesetzt. Es besitzt eine hohe thermische Stabilität.[17] Die hohe Anzahl an OH-Gruppen erlaubt die Einführung verschiedener funktioneller Gruppen, so dass Cellulose für verschiedene Anwendungen entsprechend modifiziert werden kann.[16-18] Im Rahmen dieser Dissertation wurden Phosphatgruppen an Hydroxypropylcellulose eingeführt und die restlichen freien OH-Gruppen für die Polyaddition mit TDI in einer inversen Miniemulsion dafür genutzt, um polymere Kapseln mit einer Cellulose-Wand und einem wässrigen Kern herzustellen. Die Einführung der Phosphatgruppen erfolgte nach einer Literatursynthese[117]. In Abbildung 4-49 ist das Reaktionsschema der Umsetzung gezeigt.

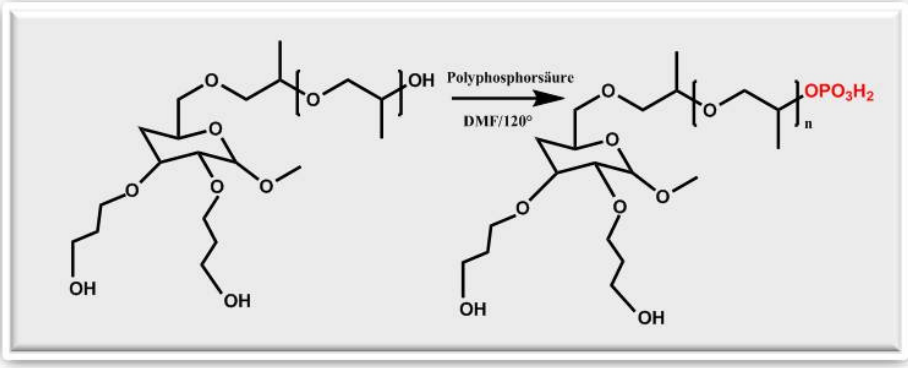


Abbildung 4-49 Phosphatieren von Cellulose.

Es wurde Hydroxypropyl-2-phosphatpropyl-Cellulose in einer Ausbeute analog zur Literatur[117] von 61% erhalten. Die erfolgreiche Umsetzung wurde mittels ^{1}H-und ^{31}P- NMR nachgewiesen. Die entsprechende Auswertung befindet sich Experimentalteil der Arbeit. Aus

der Literatur ist bekannt, dass bei den eingesetzten Mengen an Hydroxypropylcellulose und Polyphosphorsäure ein Substitutionsgrad von ungefähr 1,3 erreicht wird.[117] Das modifizierte Cellulose-Derivat wurde eingesetzt, um polymere Kapseln herzustellen. In Tabelle 4-27 sind die DLS-Ergebnisse der Kapselsynthese zusammengefasst. Als Referenzsystem wurden Kapseln auf Basis von unmodifizierter Cellulose hergestellt. Die Proben wurden aus der organischen Cyclohexanphase in die wässrige Phase, durch Redispergierung in einer 0,3 Gew.-% wässrigen SDS- bzw. Lutensol AT50-Lösung, überführt.

Tabelle 4-27 Charakteristische Daten der Cellulose-Kapseln. Im Vergleich sind die $-PO_3H_2$-funktionalisierten Kapseln und die entsprechende unfunktionalisierten Referenzkapseln gegenüber gestellt.

Probe	in Cyclohexan		Redispergiert in SDS-Lösung		Redispergiert in Lutensol AT50-Lösung	
	D_z [nm]	PDI	D_z [nm]	PDI	D_z [nm]	PDI
AZ-466-Nullkapsel	405	0,19	390	0,16	410	0,20
AZ-466a-PO_3H_2-Cell	430	0,22	410	0,18	440	0,20

Die DLS-Ergebnisse der Kapseln vor und nach dem Redispergierschritt zeigen, dass stabile Kapseln erhalten werden. Die Kern-Schale-Strukturen der Proben sind deutlich in den TEM-Aufnahmen in Abbildung 4-50 ersichtlich. Die Kapseldurchmesser aus den TEM-Aufnahmen zeigen eine gute Übereinstimmung zu den DLS-Ergebnissen.

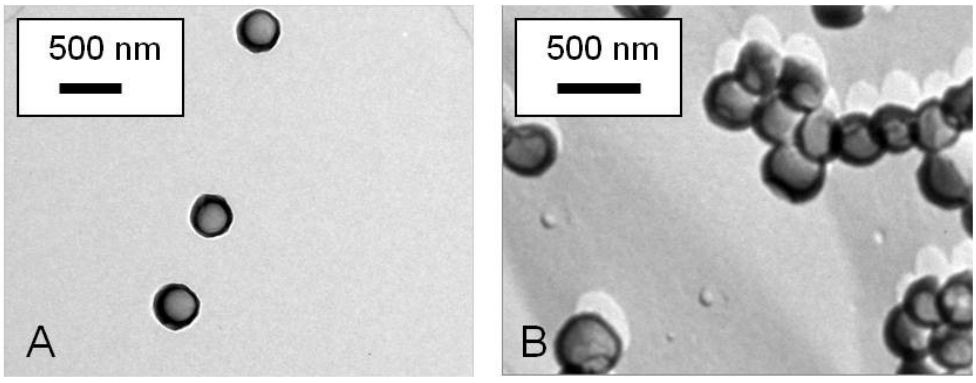


Abbildung 4-50 TEM-Aufnahmen der (a) phosphatfunktionalisierten und (b) unfunktionalisierten Cellulose-Kapseln.

Um die Präsenz der Phosphatgruppen auf der Kapseloberfläche nachzuweisen, wurde das Zetapotential der Kapseln (redispergiert in Lutensol AT50) bestimmt. Die unfunktionalisierte

Cellulosekapsel weist ein Zetapotential von -3 mV auf, während ein deutlich negativerer Wert mit -40 mV für die phosphatfunktionalisierte Kapsel messbar ist. Die Ergebnisse der Zetapotentialmessungen zeigen die erfolgreiche Funktionalisierung der Kapseloberfläche. Es zeigt sich, dass nach Redispergierung der Kapseln, die in einer inversen Miniemulsion mit Cyclohexan synthetisiert wurden, sich zumindest ein Teil der Phosphonat-Gruppen an der Kapseloberfläche befindet. Die phosphatfunktionalisierten Cellulose-Kapseln können zukünftig geeignete Transportsysteme für verschiedene hydrophile Wirkstoffe darstellen. Eine Anbindung von verschiedenen Biomolekülen an die funktionellen Gruppen auf der Kapseloberfläche ist denkbar. Eine Verwendung als Beschichtungsmaterial für bioaktive Implantatoberflächen ist durch die Funktionalisierung mit Phosphatgruppen sehr gut vorstellbar, da diese neben Phosphonatgruppen exzellente Bindungsneigungen an Metalloxidoberflächen wie TiO_2 aufweisen.[5]

4.6.3 Verkapselung von Pamidronat in sulfonatfunktionalisierten Kapseln

Im Rahmen dieser Arbeit sind bereits verschiedene Partikel beschrieben, die mit hydrophoben Wirkstoffen beladen wurden. Um eine erhöhte Zellaufnahme der Kapseln zu erzielen, wurden sulfonatfunktionalisierte Kapseln hergestellt und das Bisphosphonat Pamidronat verkapselt. Bei der Synthese der sulfonatfunktionalisierten Kapseln wurde das funktionelle Diol 3,6-Dihydroxynapthalen-2,7-Disulfonsäure (s. Abbildung 4-51) eingesetzt. Analog zu der phosphatierten Cellulose trägt das Monomer direkt die gewünschte funktionelle Gruppe. Die Kapseln wurden in einer wässrigen Lutensol AT50-Lösung (0,3 Gew.-%) redispergiert. In den sulfonatfunktionalisierten Kapseln wurde das Bisphosphonat Pamidronat verkapselt, das bei der Behandlung von Krankheiten im Zusammenhang mit Knochen, Zähnen und dem Calcium-Stoffwechsel eingesetzt wird. Bisphosphonate werden beispielsweise medikamentös bei Osteoporose verabreicht.

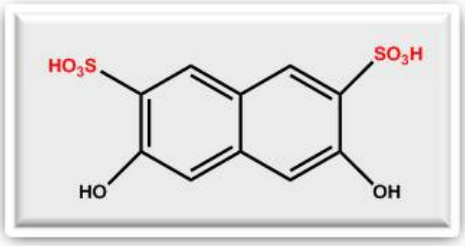


Abbildung 4-51 Strukturformel von 3,6-Dihydroxynapthalen-2,7-Disulfonsäure.

Die DLS-Ergebnisse in Tabelle 4-28 zeigen, dass durch die Verwendung von 3,6-Dihydroxynapthalen-2,7-Disulfonsäure in einer inversen Miniemulsion auch

sulfonatfunktionalisierte Polyurethankapseln erhalten werden können. In Abbildung 5-52 sind REM-Aufnahmen der Kapseln gezeigt.

Tabelle 4-28 Charakteristische Daten der sulfonatfunktionalisierten Kapseln. Im Vergleich sind die Kapseln mit Pamidronat und die entsprechende wirkstofffreie Referenzkapsel gegenübergestellt.

Probe	in Cyclohexan		Redispergiert in Lutensol AT50-Lösung		
	D_z [nm]	PDI	D_z [nm]	PDI	Zetapotential [mV]
AZ-484-Nullkapsel	435	0,21	432	0,20	-18
AZ-485-+Pamidronat	430	0,22	484	0,20	-21

Es wurden stabile Polyurethankapseln auf Basis des Diols 3,6-Dihydroxynapthalen-2,7-Disulfonsäure erhalten. Die REM-Aufnahmen zeigen deutlich die Kern-Schale-Strukturen der Kapseln (Abbildung 4-52). Die Verkapselung von Pamidronat zeigt keinen Einfluss auf die Stabilität der Proben und auch die Redispergierung der reinen und der wirkstoffhaltigen Kapseln in der 0,3 Gew.-% Lutensol AT50-Lösung ist ohne Stabilitätsbeeinträchtigung der Proben möglich. Die Zetapotentiale von -18 mV (AZ-484-Nullkapsel) und -21 mV (AZ-485+Pamidronat) weisen die Präsenz von Sulfonatgruppen auf der Kapseloberfläche nach. Ausblickend wäre es interessant, die Kapseln in Zellversuchen auf ihre Toxizität und Zellaufnahme zu testen.

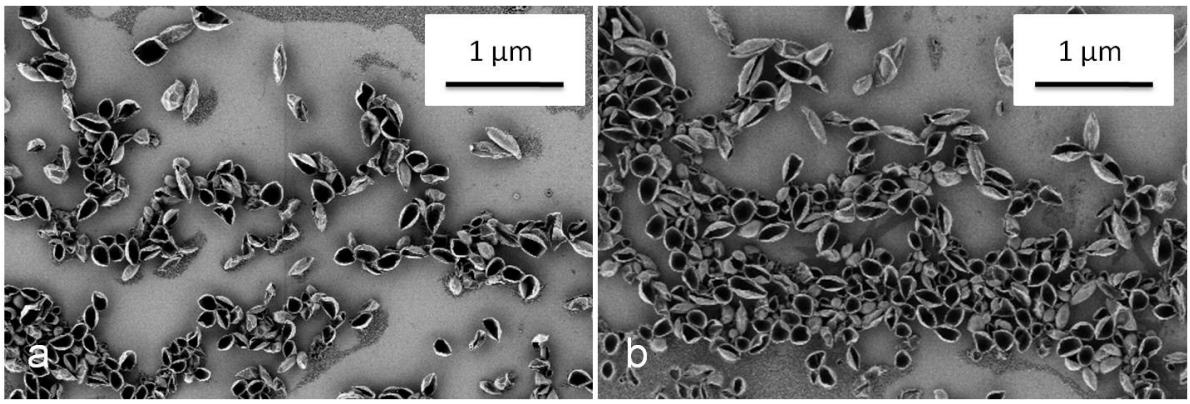


Abbildung 4-52 REM-Aufnahmen der in Lutensol AT50 redispergierten Polyurethankapseln auf Basis von 3,6-Dihydroxynapthalen-2,7-Disulfonsäure mit a) den wirkstofffreien (AZ-484-Nullkapsel) und b) der pamidronathaltigen Kapseln (AZ-485+Pamidronat).

4.7 Kalorimetrische Messungen

4.7.1 Kinetische Untersuchungen der Copolymerisationen von Styrol bzw. MMA mit VPS in Miniemulsion [104]

Die Kinetik der freien-radikalischen Copolymerisation von VPS mit Styrol bzw. MMA in Miniemulsion, unter Verwendung des hydrophoben Initiators V59, wurde mit Reaktionskalorimetrie untersucht. Die kalorimetrischen Untersuchungen waren auf den Einfluss von verschiedenen VPS-Gehalten auf den Reaktionsverlauf bei der Copolymerisation mit Styrol oder MMA fokussiert. Wie bereits im Grundlagenteil dieser Arbeit beschrieben, sind drei Nukleationsmechanismen bei Polymerisationen in Heterophase möglich.[83] In Miniemulsionspolymerisationen sind jedoch nur zwei Nukleationsmechanismen (Tröpfchen- und Homogene Nukleation) relevant, da hier keine Mizellen in der wässrigen Phase vorliegen.[31] Der erste und vorherrschende Nukleationsmechanismus ist die Tröpfchennukleation. Die Radikale treten in die Monomertröpfchen ein und starten hier direkt die Polymerisation. Öllöslichen Initiatoren können somit in Miniemulsion eingesetzt werden.[31] Der zweite mögliche Nukleationsmechanismus ist die homogene Nukleation, welche für die Polymerisation von Styrol aber vernachlässigbar ist und soweit wie möglich minimiert wird.[31,83,87] Nach *Harkins*[88] lässt sich der Reaktionsverlauf einer Emulsionspolymerisation in vier Intervalle einteilen. Auf die Polymerisation in Miniemulsion können drei der vier Intervalle übertragen werden. Das zweite Intervall der konstanten Reaktionsrate tritt in der Miniemulsionspolymerisation nicht auf und fehlt im Reaktionsverlauf komplett. Intervall I stellt das Nukleationsintervall dar. Im dritten Bereich nach *Harkins*[88] (Intervall III) wird das Monomer verbraucht und es kommt zu einem exponentiellen Abfall der Reaktionsrate aufgrund der Verarmung an Monomer. Im letzten Bereich (Intervall IV) tritt der Gel-Effekt („Trommsdorf-Norrish-Effekt“) auf.

Die Copolymerisation von VPS mit Styrol bzw. MMA in Miniemulsionspolymerisation wurde unter Verwendung des hydrophoben Initiators V59 und 3,3 Gew.-% Lutensol AT50 im Reaktionskalorimeter untersucht. Die entsprechenden kalorimetrischen Kurven sind in Abbildung 4-53 gezeigt.

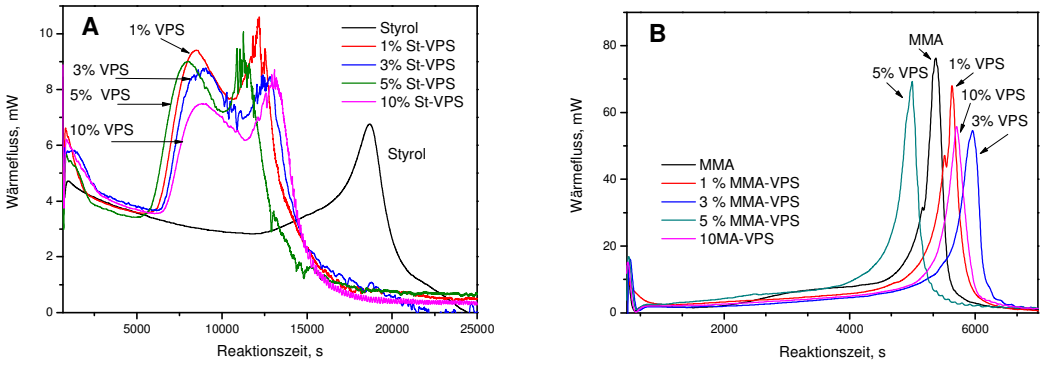


Abbildung 4-53 Kalorimetrische Kurven der Copolymerisation von VPS mit a) Styrol und b) MMA

Die Kalorimetriekurven in Abbildung 4-53 zeigen deutliche Unterschiede im Reaktionsverlauf der Copolymerisationen von VPS zu Styrol und der mit MMA. Die gemessenen Reaktionswärmen der Homopolymerisationen von Styrol und MMA zeigen eine gute Übereinstimmung mit den theoretischen Werten. Die theoretischen Reaktionswärmen betragen ΔH_R=-73 kJ/mol für Styrol und ΔH_R=-58 kJ/mol für MMA.[118] Der Einsatz der hydrophilen VPS führt zum Auftreten eines Doppelpeaks und zu einer deutlich verkürzten Reaktionszeit im Vergleich zur Homopolymerisation von Styrol. Eine Ursache sind die deutlich unterschiedlichen Wasserlöslichkeiten von VPS und Styrol. Nachdem die Miniemulsionsprobe in den Kalorimeterblock (der das Peltier-Element enthält) gestellt wird, wird ein Ausschwingen in der Wärmeflusskurve aufgezeichnet. Dieser Ausschlag ist messtechnisch bedingt und stellt den Bereich dar, in dem sich das thermische Gleichgewicht der Probe einstellt. Da dieser Teil der Kurven nicht Teil der (Co-)Polymerisation ist, ist er in den Kurven in Abbildung 4-53 nicht gezeigt und wurde bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Der Start der Reaktion ist daher bei den Proben um ca. 300 s verzögert. Die drei klassischen Intervalle einer Miniemulsionspolymerisation[83] sind bei der Homopolymerisation von Styrol deutlich zu erkennen. Das Nukleations-Interval (Interval I) ist sehr kurz. Nach 1250 s (21 min) bis zu einer Reaktionszeit von 6250 s (104 min) kann der exponentielle Abfall der Kurve durch die Verarmung an Monomer in den Tröpfchen beobachtet werden (Intervall III). Die VPS-haltigen Polystyrolproben zeigen den Gel-Peak nach einer Reaktionszeit von 10000 s (167 min) und 15000 s (250 min). Der Geleffekt tritt in der Wärmestromkurve der reinen Polystyrolprobe nach 19000 s (317 min) auf. Die PMMA-Proben hingegen zeigen keine klassischen Wärmestromkurven. Der Gelpeak in der Wärmestromkurve ist stärker ausgeprägt. Nach *Norrish und Smith*[119] ist der Geleffekt bei der Polymerisation von MMA deutlich ausgerägter als bei der Polymerisation von Styrol. Aus der Literatur ist bekannt, dass in einer idealen Miniemulsion die Reaktionsrate von verschiedenen Parametern wie der Partikelgröße, der Wasserlöslichkeit der Monomere und

der Initiatorkonzentration abhängt. Generell ist die Reaktionsdauer der Polystyrolproben deutlich länger, als die der MMA-Proben. Dies zeigt eine gute Übereinstimmung mit den Konstanten der Wachstumsgeschwindigkeit für MMA (k_p=1041 l/mol) und Styrol (k_p = 426 l/mol), die in der Literatur zu finden sind.[83,118] Bei den wasserlöslicheren Monomer MMA, und daraus folgend auch bei der Copolymerisation mit dem hydrophilien Comonomer VPS, kann es zu einer Überlagerung der Tröpfchennukleation mit der homogenen Nukleation in der Wasserphase kommen. Nach kalorimetrischen Aspekten verläuft die Reaktion nicht nach der Kinetik einer idealen Miniemulsion. Der Monomerumsatz der verschiedenen Polystyrol- und PMMA-basierten Proben kann aus der Integration der Wärmestromkurven erhalten werden, die in der folgenden Abbildung 4-54 als Funktion der Reaktionszeit angegeben sind.

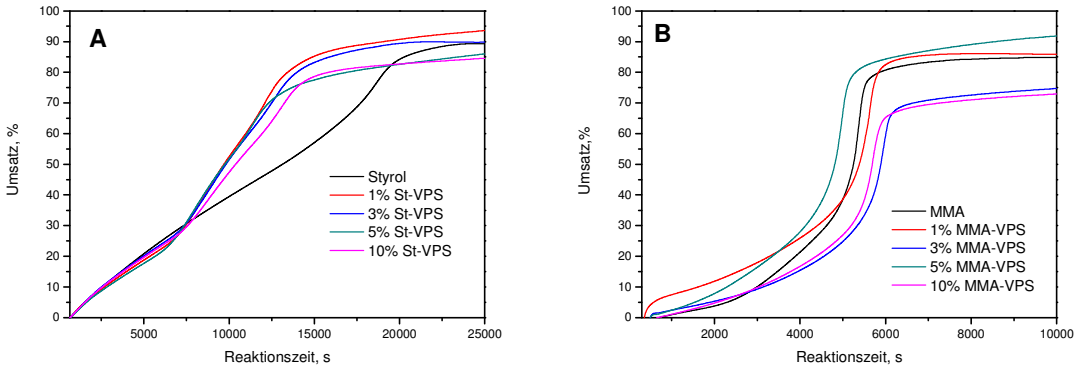


Abbildung 4-54 Monomerumsatz gegen Reaktionszeit der Copolymerisationen von VPS mit A) Styrol und B) MMA.

Referenzwerte für ΔH_R für die Copolymerisation von MMA bzw. Styrol mit VPS sind nicht in der Literatur bekannt, daher wurden die Werte der Homopolymerisationen verwendet. Dies führt zu Abweichungen im Monomerumsatz in der Abbildung 4-54. Hier kann lediglich ein quantitativer Vergleich gemacht werden. Eine Bestimmung der Monomerumsätze der verschiedenen (Co-)Polymerisationen wurde zudem separat gravimetrisch durchgeführt. Die Kurvenformen und die finalen Umsätze aus Abbildung 4-54 wurden bei diesen Umsatzbestimmungen bestätigt. Reines Polystyrol und die Proben mit Einwaage von 1 und 3 Gew.-% weisen einen Umsatz von 90- 95% auf. Bei den höheren VPS-Gehalten von 5 und 10 Gew.-% liegt der Umsatz bei 85%. Ursache könnte der höhere Anteil an hydrophilen Comonomer sein, der zu einer veränderten Radikalverteilung zwischen den Phasen führen kann. Bis zu einer Reaktionszeit von 6000 s (100 min) und einem Umsatz von 30% zeigen die Kurven die gleiche Steigung. Dieser Teil kann Interval III nach Harkins zugeordnet werden. Im Anschluss steigt der Umsatz rapide an und nach ungefähr 15000 s (250 min) wird ein Plateau erreicht. Bei der Homopolymerisation von Stryol wird das Plateau erst nach

20000 s (333 min) beobachtet. Der Umsatz bei dem MMA-Proben ist mit 73 bis 92% geringer als bei den Polystyrolpartikeln. Ein Zusammenhang zu den VPS-Einwaagen ist nicht erkennbar. Dies lässt sich auf eine veränderte Verteilung der Monomere, aufgrund der höheren Wasserlöslichkeit im Vergleich zu Styrol, zurückführen. Es kommt vermutlich zu einer Überlagerung zweier Nukleationsmechanismen (Tröpfchen- und homogene Nukleation).

4.7.2 Vergleich der Kinetik der Miniemulsions (Co-)Polymerisation von Styrol mit den hydrophilen Comonomeren AA oder VPS initiiert mit V59

Der Reaktionsverlauf der (Co-)polymerisationsprozesse in Miniemulsion von Styrol mit geringen Einwaagen an hydrophilem Comonomer wurde mit Reaktionskalorimetrie untersucht. Im vorherigen Kapitel sind bereits kalorimetrische Messungen der Poly(St-VPS) und Poly(MMA-VPS)-Proben gezeigt. Hier zeigte sich, dass bereits geringe Mengen an hydrophiler VPS zu einem komplett veränderten Reaktionsverlauf im Vergleich zur Homopolymerisation von Styrol und daraus ergebend zu einem veränderten Reaktionsmechanismus führen. Aufgrund der erhöhten Wasserlöslichkeit von MMA ist der Einfluss von VPS auf den Reaktionsverlauf deutlich geringer. Dieses Kapitel der Arbeit beschäftigt sich daher mit dem Einfluss von VPS (und vergleichend von Acrylsäure (AA)) auf die Reaktionskinetik der Polymerisation. Die Polymerisationen wurden analog zu den Versuchen im vorherigen Abschnitt durch den öllöslichen Initiator V59 gestartet und bei 72°C durchgeführt. Die Stabilisierung erfolgt mit 3,3 Gew.-% Lutensol AT50. Aus der Literatur ist bekannt, dass Polystyrollatizes mit hoher Einwaage an Acrylsäure mit Lutensol AT50 nicht stabil sind.[8] Verursacht wird diese Instabilität durch zwei Prozesse: Ein Prozess ist die Ausflockung durch Verbrückung von Polymerketten zwischen zwei Partikeln. Die Stabilität wird zudem durch die hydrophilen Ketten in der Wasserphase verringert, die zu einer zunehmenden Viskosität der Latizes führen.[120] Die Verwendung von nichtionischen Tensiden, die sterisch stabilisierend wirken, führt zu geringeren Stabilitäten als bei elektrostatisch stabilisierten Proben. Eine spezifische Wechselwirkung zwischen den Ethylenoxidketten des Lutensol AT50 und den Carboxylgruppen ist möglich. Wasserstoffbrücken zwischen den Ethylenoxidgruppen des Lutensol AT50 und den Carboxylgruppen führen zu einer flachen Konformation der Tensidketten auf der Partikeloberfläche.[71,121] Die sterische Abschirmung der Partikel wird dadurch deutlich verringert. Bei der Copolymerisation mit VPS können stabile Latizes mit Einwaagen bis 10 Gew.-% VPS (bezogen auf die Gesamteinwaage an Monomer) problemlos synthetisiert werden, wie die kalorimetrischen Daten im vorherigen Abschnitt 4.7.1 und die

Charakterisierungen im Kapitel 4.1.2 dieser Arbeit zeigen. Im Vergleich wurden bei den Experimenten in diesem Kapitel Copolymerpartikel aus VPS und Styrol bzw. AA und Styrol mit Comonomereinwaagen von 0 bis 5 Gew.-% hergestellt. Abbildung 4-55a zeigt die gemessenen Wärmestromkurven der Copolymerisationen von Styrol mit AA bzw. VPS in einem Einwaagebereich von 0 bis 3 Gew.-% Comonomer. In Abbildung 4-55b ist die Polymerisationsrate *Rp* in Abhängigkeit von der Reaktionszeit gezeigt. Die Kurven wurden durch die im Methodenteil angegeben Gleichungen berechnet.[83,122] Aufgrund der geringen Comonomer-Einwaage wurden bei der Berechnung Theoriewerte für die Polymerisation von Styrol zugrunde gelegt. Diese Vorgehensweise ist für verschiedenen Copolymerisationen von Styrol mit geringen Mengen an Comonomer in Heterophase in der Literatur zu finden.[42,123] Berechnet man das molare Verhältnis der Comonomere und setzt die erhaltenen Werte in die entsprechenden Gleichungen ein, werden minimale Unterschiede sichtbar. Die Verwendung der Tabellenwerte für reines Styrol führt nur zu marginalen Fehlern in der Auswertung.

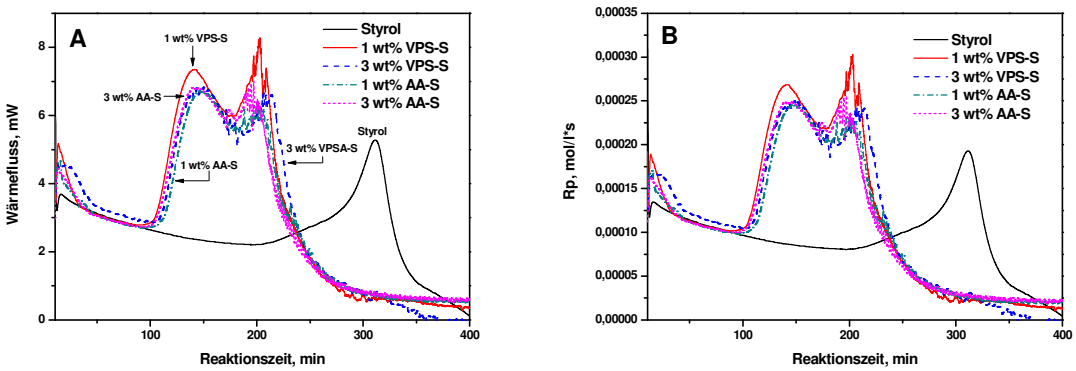


Abbildung 4-55 Wärmeflusskurven der (Co-)Polymerisation von Styrol mit geringen Einwaagen an hydrophilem Comonomer AA und VPS (0 bis 3 Gew.-% und (b) Kurven der Polymerisationsraten (R_p).

Abbildung 4-55 zeigt nochmal deutlich den veränderten Reaktionsverlauf der Miniemulsionspolymerisation schon bei Einwaage an 1 Gew.-% VPS oder AA im Vergleich zu reinem Styrol. Wie bereits im vorherigen Abschnitt gezeigt, wird für die VPS-basierten Polystyrolproben neben einem Doppelpeak in der Wärmestromkurve, auch eine deutlich verkürzte Reaktionszeit beobachtet. Die Verwendung von AA führt zu den gleichen Effekten. Der charakteristische Gelpeak ist in der Wärmestromkurve der Homopolymerisation von Styrol nach 320 min zu beobachten. Bei den Reaktionskurven der unterschiedlichen Copolymerisationen tritt der Gelpeak bereits nach ungefähr 200 min auf. Bis zu einer Reaktionszeit von 100 min zeigen die Wärmestromkurven der Copolymerisationen (AA bzw. VPS mit Styrol) den gleichen Verlauf wie die Kurve von reinem Styrol. Der Anstieg der Kurve ist Teil des Nukleationsintervalls (Intervall I) nach der Harkins-Theorie. Dieses Intervall ist

durch die Verwendung des öllöslichen Initiators V59 sehr verkürzt. Der folgende exponentielle Abfall der Kurve ist Teil von Intervall III und kann durch die Verarmung an Monomer in den Tröpfchen erklärt werden. Die ähnlichen Kurvenverläufe können dadurch erklärt werden, dass im ersten Teil der Reaktion nur reines Styrol polymerisiert wird. Initiiert wird die Reaktion durch den öllöslichen Initiator direkt im Monomertröpfchen. Das hydrophile Comonomer liegt gelöst in der kontinuierlichen Phase vor und muss erst durch Diffusionsprozesse an den Reaktionsort gelangen. Nach ungefähr 100 min ist Intervall III bei den Copolymerisationsprozessen abgeschlossen, während für reines Styrol Intervall III deutlich später bei ungefähr 200 min beendet ist. Das hydrophile Comonomer kann zwischen der wässrigen Phase, der Oberfläche und dem Inneren der Tröpfchen verteilt vorliegen. Mit dem Einbau der hydrophilen Kettensegmente in die Polystyrolketten, wird die Hydrophilie der wachsenden Oligo-/Polymerkette verändert. Der Einbau der hydrophilen Kettensegmente ermöglicht den Eintritt und den Austritt der anwachsenden Oligoradikale aus den Monomertröpfchen. Die mittlere Anzahl an Radikalen pro Monomertröpfchen unterscheidet sich daher für die Copolymerisationsreaktionen im Vergleich zu der Homopolymerisation von Styrol. Bei der Miniemulsionpolymerisation von reinem Styrol sollte der Initiator ausschließlich in der Ölphase vorliegen. Die Verteilung der Radikale zwischen den Phasen bei den Copolymerisationsreaktionen von Styrol mit AA oder VPS führt zu weniger Abbruchreaktionen durch Rekombination und daher zu einer verkürzten Reaktionszeit. Die hydrophile Natur, zusammen mit den elektrostatischen Stabilisierungseffekten durch die Ladung der Comonomere, sowie die Einflüsse durch dass sterisch stabilisierende Tensid Lutensol AT50 verändern die Radikalverteilung zwischen kontinuierlicher Phase, Tröpfchen-/Partikeloberfläche und dem Inneren der Tröpfchen/Partikel. Als Folge resultiert eine erhöhte Viskosität im Inneren und an der äußeren Schicht der Tröpfchen/Partikel. Ein zweiter Peak ist in den Wärmestromkurven der Copolymerisationen nach ca. 150 min zu erkennen (s. Abbildung 4-55). Die komplette Polymerisation ist nach 200 min beendet und der Gelpeak wird beobachtet. Auffällig ist, dass für AA und VPS in der Copolymerisation mit Styrol, die gleichen Kurvenverläufe und Gesamtreaktionszeiten zu beobachten sind. Dieser Effekt kann mit den strukturellen Ähnlichkeiten der verwendeten Comonomere VPS und AA erklärt werden. VPS und AA gehören zu den einfachsten säurefunktionalisierten Comonomeren. Unterschiede liegen nur in der Art und der Valenz des Atoms, das die ionisierbare Gruppe trägt. VPS ist die stärkere Säure und verfügt über zwei pK-Werte (pK_1=2,6 und pK_2=7,3), während die schwächere Säure AA nur eine pK-Wert von 4,2 besitzt. Die pH-Werte wurden während der Polymerisation nicht durch Zugabe von Säure oder Base eingestellt. Am Ende der Polymerisation wurden die pH-Werte gemessen und lagen für beide Proben im sauren Bereich (VPS: pH= 3,3 und AA= pH 3,8). In diesem pH-Wert-Bereich verhält sich VPS wie eine einprotonige Säure. Verschiedene Veröffentlichungen beschäftigen sich mit der

Verteilung von AA bei Copolymerisation mit Styrol zwischen den Phasen (wässrige Phase, Grenzfläche Ö/W und der inneren Ölphase) in Emulsionspolymerisation in Abhängigkeit vom pH-Wert. [42,123] Die Hydrophilie der AA nimmt mit ansteigendem Dissoziationsgrad zu. Es konnte gezeigt werden, dass bei Polymerlatizes die bei pH > 7 synthetisiert werden, das die hydrophile dissoziierte AA hauptsächlich in der Wasserphase verbleibt und nur rund 10% der eingewogenen AA in die Partikel und die äußere Partikelschicht eingebaut werden. Bei pH 2,5 konnte AA nahezu vollständig in den Partikeln oder der äußeren Schicht detektiert werden.[42,123] Vergleichbare Studien über die Copolymerisation von VPS und Styrol in Heterophase und den Einbau in die Partikel sind aktuell noch nicht publiziert.

Vergleich der Oberflächenladungen der Partikel

Vergleicht man die pK-Werte der Comonomere VPS und AA (VPS: pK_1=2,6 und pK_2=7,3; AA: pK=4,2) wird deutlich, dass bei den sauren pH-Werten während der Miniemulsionspolymerisation VPS einen höheren Dissoziationsgrad aufweist als AA. VPS weist bei den Reaktionsbedingungen daher eine höhere Löslichkeit in der wässrigen kontinuierlichen Phase auf. Erwartungsgemäß sollte der Einbau an AA in die Polymerpartikel daher bei den pH-Werten um 3 höher sein. Um eine Aussage über die Funktionalisierung der Partikeloberfläche der Poly(St-AA) und Poly(St-VPS)-Partikel zu erhalten, wurden Polymerlatices gegen den entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten PDADMAC titriert und die Anzahl an funktionellen Gruppe pro Partikel und nm^2 Partikeloberfläche untersucht. In der folgenden Tabelle 4-30 sind die PCD-Ergebnisse zusammengefasst.

Tabelle 4-29 Vergleich der Oberflächenladungen der resultierenden Poly(St-VPS)- und Poly(St-AA)-Partikel.

Probenname	Einwaage an VPS oder AA, Gew.-%[a]	D_z[b] [nm]	Anzahl an funktionellen Gruppen pro	
			Partikel	nm^2
AZ-31a-0VPS	0	208	0	0
AZ-31b-1VPS	1	247	19157	0,10
AZ-31c-3VPS	3	231	31920	0,19
AZ-444a-1AA	1	195	37870	0,32
AZ-444b-3AA	3	181	68380	0,64

[a] bezogen auf die Gesamteinwaage an Monomer; [b] bestimmt mit DLS.

Die Ergebnisse in Tabelle 4-30 zeigen, dass die carboxylfunktionalisierten Partikel (hergestellt mit AA als Comonomer) eine deutlich höhere Funktionalisierung als die phosphonatfunktionalisierten Partikel (hergestellt mit VPS) aufweisen. Die AA-basierten Proben besitzen ungefähr die dreifache Menge an funktionellen Gruppen auf der

Partikeloberfläche. So konnten bei der Poly(St-VPS) mit 3 Gew.-% VPS lediglich 0,19 Gruppen/nm^2 (AZ-31c-3VPS), bei der Poly(St-AA) 0,64 Gruppen/nm^2 (AZ-444b-3AA) detektiert werden. In Anbetracht der Tatsache, dass im direkten Vergleich die molaren Einsatzmengen an AA (M=72,06 g/mol) und VPS (M=108,03 g/mol) korrekterweise verglichen werden müssen, zeigt hier der Vergleich auch eine deutlich höhere Funktionalisierung der Partikel mit AA. Bei den Proben mit 3 Gew.-% Comonomeranteil werden 0,00176 mol AA und 0,0011 mol VPS eingesetzt. Die Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Erwartungen, bedenkt man, dass VPS bei den sauren pH-Werten hydrophiler aufgrund des höheren Dissoziationsgrads ist als AA. Ein Vergleich der Partikelgrößen (Tabelle 4-30) zeigt, dass die carboxylfunktionalisierten Proben vergleichsweise geringere Partikeldurchmesser aufweisen, als die phosphonat-funktionalisierten Partikel. Aus der Literatur ist bekannt, dass sich bei der Copolymerisation von AA mit Styrol in Miniemulsion bzw. Emulsion eine „haarige“ Schicht aus AA-Homopolymerketten auf der Oberfläche bildet.[8,124] Die geringeren Partikeldurchmesser der Poly(St-AA)-Partikel zeigen, denn die elektrostatischen Effekte der funktionellen Gruppen auf der Oberfläche. Die höher funktionalisierten Poly(St-AA)-Partikel weisen, durch die höhere Anzahl an funktionellen Gruppen und der daraus folgenden besseren Stabilisierung der Tröpfchen während dem Polymerisationsprozess, geringere Partikelgrößen auf. Auffällig ist, dass obwohl die Partikelgrößen der verschiedenen Copolymerpartikel im Bereich von 180 bis 250 nm variieren, kein Einfluss auf die Reaktionszeit in den Wärmestromkurven (Abbildung 4-55) erkennbar ist. In einer idealen Miniemulsion können die Monomertröpfchen als unabhängige Nanoreaktoren betrachtet werden. Jedes Monomertröpfchen wird in einer 1:1 Kopie in ein Polymerpartikel überführt. Das bedeutet, dass je kleiner die Partikel sind, desto höher ist die Anzahl an Reaktionsorten und daraus folgend nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit zu. In der folgenden Tabelle 4-30 ist die Anzahl an Partikeln pro ml (Np) der Poly(St-VPS) und Poly(St-AA) im Vergleich zur Polystyrolprobe zusammengefasst.

Tabelle 4-30 Menge an Partikeln pro ml wässriger Phase der Polystyrol-, Poly(St-VPS)- und Poly(St-AA)-Proben.

Comonomereinwaage, Gew.-%[a]	Menge an Partikeln pro ml, N_p[b]	
	Poly(St-VPS)	Poly(St-AA)
1	$2{,}76 \times 10^{13}$	$7{,}40 \times 10^{13}$
3	$1{,}59 \times 10^{14}$	$8{,}85 \times 10^{13}$
0 (Polystyrolprobe)	$5{,}59 \times 10^{13}$	

[a] bezogen auf die Gesamteinwaage an Monomer

[b] Berechnungen basierend auf den Tröpfchen-/Partikelgrößen bestimmt durch DLS.

Anhand von Tabelle 4-30 wird deutlich, dass die Anzahl an Tröpfchen/Partikeln keinen Einfluss auf die Polymerisationsrate besitzt. Die Anzahl an Tröpfchen/Partikeln ist bei der AA-basierten Probe mehr als doppelt so hoch als bei der VPS-Probe. Trotzdem verläuft die Copolymerisation von VPS mit Styrol nach einem ähnlichen Verlauf und nahezu mit gleicher Reaktionszeit. Bei der Homopolymerisation von Styrol liegt die Anzahl an Tröpfchen/Partikel zwischen den Werten für Poly(St-VPS) und Poly(St-AA). Bei der Miniemulsionspolymerisation von Styrol ist der öllösliche Initiator V59 in den Tröpfchen „gefangen". Tröpfchennukleation ist der vorherrschende Nukleationsmechanismus. Ein Austritt der Radikale aus den Monomertröpfchen ist nicht wahrscheinlich und der Reaktionsort ist auf das Monomertröpfchen beschränkt. Findet aber die Polymerisation in Gegenwart der hydrophilen Comonomere AA oder VPS statt, ist die Tröpfchennukleation mit der homogenen Nukleation überlagert. Die anwachsenden Ketten werden durch den Einbau hydrophiler und ein Austritt der Radikale ist denkbar. Die Reaktion ist nicht mehr auf die Monomertröpfchen als Reaktionsort beschränkt.

Einfluss der Tensidmenge auf den Reaktionsverlauf

Durch die Einwaage an Tensid kann die Partikelgröße beeinflusst werden. Daher wurde die Einwaage an Lutensol AT50 von 3,3 Gew.-% auf 6,6 Gew.-% verdoppelt. In Kapitel 4.1.2 dieser Arbeit ist der Einfluss der Tensidmenge auf die Partikelgröße der Poly(St-VPS)-Partikel ausführlich diskutiert. Die Partikelgrößen von Poly(St-VPS)-Partikeln mit 1 Gew.-% Comonomer betragen mit der geringeren Lutensol AT50-Einwaagen (3,3 Gew.-%) beispielsweise 247 nm (AZ-31b_1VPS) und mit der höheren Tensidkonzentration 184 nm (AZC-MES-1). Bei den Poly(St-AA)-Partikeln können mit der niedrigeren Tensideinwaage Partikelgrößen von 135 nm (AZ-444a_2-1AA) und mit der doppelten Konzentration 195 nm (AZ-444a-1AA) bestimmt werden. Der Einfluss der Partikelgröße auf den Reaktionsverlauf ist exemplarisch in Abbildung 4-56 im Vergleich der Poly(St-VPS)- und der Polystyrolprobe gezeigt. Für die Poly(St-AA)-Partikel wurden ähnliche Kurvenverläufe gemessen.

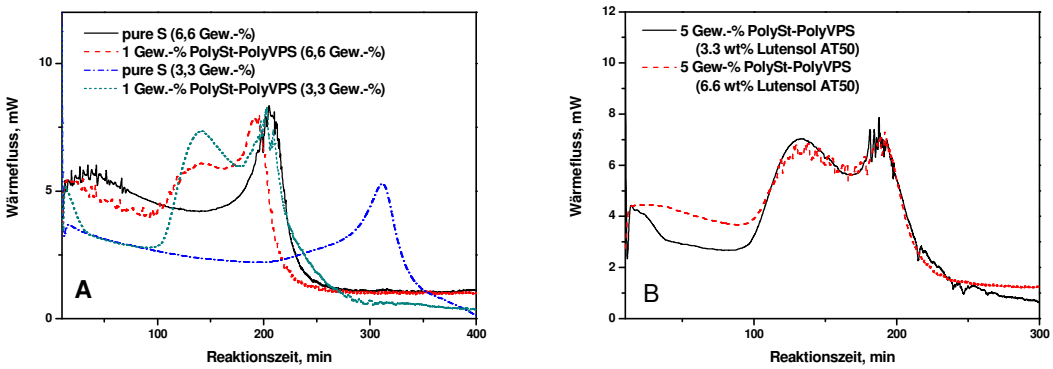


Abbildung 4-56 Abhängigkeit des Reaktionsverlaufs von der Partikelgröße der Poly(St-VPS)-Probe mit a) 1 Gew.-% und b) 5 Gew.-% Comonomer und unterschiedlichen Lutensol AT50-Einwaagen im Vergleich zu reinem Polystyrol.

Aus Abbildung 4-56a wird deutlich, dass die Menge an Tensid und daraus folgend die Partikelgröße nur einen Einfluss auf die Reaktionszeit der Homopolymerisation von Styrol zeigt. Bei den Partikeln synthetisiert mit der höheren Tensidmenge (D_z = 208 nm, AZ-31a0VPS) ist der charakteristische Geleffekt nach 300 min sichtbar, während bei den geringeren Lutensol AT50 Einwaagen (D_z = 176 nm, AZC-MES-0) der Gelpeak bereits nach 200 min zu beobachten ist. Es wird deutlich, dass die Reaktion nach dem Prinzip einer idealen Miniemulsionspolymerisation verläuft. Bei der Copolymerisation von Styrol mit VPS existiert keine Abhängigkeit der Partikelgröße von der Reaktionszeit. Der erste Peak ist bei der Wärmestromkurve mit höherer Tensideinwaage weniger ausgeprägt. Dieser Effekt kann durch einen erschwerten Radikalein/-austritt erklärt werden, verursacht durch die höhere Konzentration an Lutensol AT50 auf der Partikeloberfläche. Auch die Kurven in Abbildung 4-56b zeigen deutlich, dass die Polymerisation durch Zugabe an hydrophilem Comonomer nicht mehr nur auf die Monomertröpfchen als Reaktionsort beschränkt sind. Hier sind die Poly(St-VPS)-Proben mit 5 Gew.-% VPS-Einwaage gezeigt. Die Partikelgrößen variieren durch die Variation an der Tensidmenge um 79 nm (3,3 Gew.-% D_z =228 nm und 6,6 Gew.% D_z = 149 nm). Ein deutlicher Unterschied ist bei den Kurven im Intervall III zu erkennen. Während bei der niedrigeren Tensidkonzentration der exponentielle Abfall der Kurve deutlich ist, ähnelt der Reaktionsverlauf mit höherem Tensidgehalt dem Verlauf einer Emulsionspolymerisation.

Mittlere Anzahl an Radikalen pro Tröpfchen/Partikel

Die mittlere Anzahl an Radikalen ($\bar{n}$) wurde aus den gemessenen Wärmestromkurven berechnet.[83] Für die Homopolymerisation von Styrol unter Verwendung eines wasserlöslichen Initiators werden die drei klassischen Intervalle nach *Harkins* in der Literatur beobachtet.[83] In Intervall I steigt $\bar{n}$ von 0 auf 0,5 an ($\bar{n}$<0,5). Im folgenden Intervall III ist $\bar{n}$ konstant bei 0,5. Anschließend steigt $\bar{n}$ stark, aufgrund des rapiden Anstiegs der Reaktionsrate, an (Intervall IV). In Abbildung 4-57 ist die Abhängigkeit von $\bar{n}$ vom Umsatz, für Polystyrol, Poly(St-VPS) und Poly(St-AA) (mit 3 Gew.-% Comonomeranteil) unter Verwendung von V59, gezeigt.

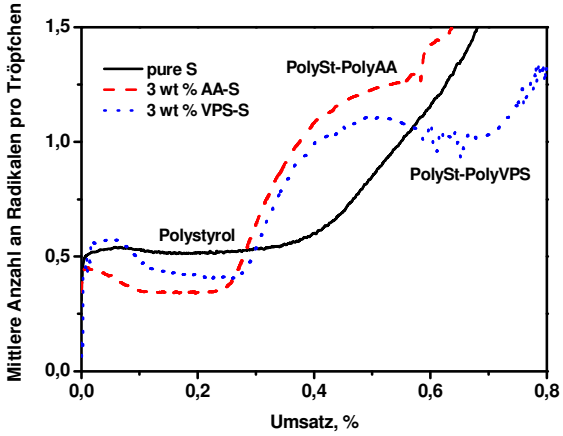


Abbildung 4-57 Verlauf von $\bar{n}$ bei der Copolymerisation von Styrol mit AA bzw. VPS (3 Gew.-%) und der Homopolymerisation von Styrol.

Der Umsatz wurde durch Integration der gemessen Wärmestromkurven erhalten. Die theoretische Wärme der Reaktion wurde als Referenz verwendet. In Abbildung 4-57 sind exemplarisch die Kurven für die Proben mit 3 Gew.-% gezeigt. Für die anderen Comonomereinwaagen werden ähnliche Kurvenverläufe beobachtet. Vergleicht man den Kurvenverlauf für reines Styrol mit V59, mit den Ergebnissen veröffentlicht für die Homopolymerisation initiiert mit KPS[83], ist ein deutlicher Unterschied sichtbar. Im ersten Bereich der Kurve steigt $\bar{n}$ bereits bei sehr kleinen Umsätzen auf 0,5 an. Dies lässt sich durch den Einsatz des öllöslichen Initiators V59 erklären. Bei einer KPS-initiierten Miniemulsionspolymerisation von Styrol muss der Initiator erst durch die wässrige Phase zu den Monomertröpfchen (Reaktionsort) diffundieren. Das Nukleationsintervall ist für die V59-initiierte Miniemulsion deutlich verkürzt, da der öllösliche Initiator direkt in den Monomertröpfchen vorliegt und die Polymerisation *in situ* starten kann. Bis zu einem Monomerumsatz von 40% ist $\bar{n}$ konstant bei 0,5. Anschließend steigt der Wert rapide an und

der Geleffekt tritt ein. Die Kurven der Copolymerisationen mit 3 Gew.-% AA oder VPS zeigen einen anderen Kurvenverlauf (Abbildung 4-57). Bis zu einem Umsatz von ungefähr 10% nimmt $\bar{n}$ ab. Bereits nach einem Umsatz von 25% steigt $\bar{n}$ rapide an. Der Verlauf der Kurve bestätigt die Hypothese, dass durch das hydrophile Comonomer die hydrophilen Oligo-/Polymerradikale aus den Tröpfchen in die Wasserphase diffundieren und so eine verändertes Radikalgleichgewicht im Vergleich zur Styrol Homopolymerisation vorliegt. Die Abnahme von $\bar{n}$ zeigt an, dass weniger Radikale in Tröpfchen vorhanden sind, wenn die hydrophile AA oder VPS zugegeben wird. Der Anstieg von $\bar{n}$ bereits nach einem Umsatz von 25% kann auf die erhöhte Viskosität durch Bildung einer „haarigen“ Schicht auf der Partikeloberfläche aus den hydrophilen AA-bzw. VPS-Ketten erklärt werden. Diese Bildung der äußeren Schicht erschwert weitere Diffusionsprozesse zwischen den Phasen. Es folgen weniger Abbruchreaktionen.

4.8 Vergleich der Kinetik der Miniemulsions (Co-)Polymerisation von Styrol mit dem hydrophoben Comonomer VBPS initiiert mit V59

Um einen Vergleich zu den Copolymerisationen von Styrol mit dem hydrophilen Comonomer VPS zu erhalten, wurden kalorimetrische Messungen unter Verwendung des hydrophoben Comonomeren Vinylbenzylphosphonsäure (VBPS) durchgeführt. Analog zu den kalorimetrischen Messungen in Kapitel 4.7.2 wurden die verschiedenen Copolymerisationen von Styrol mit VBPS unter Verwendung von 3,3 Gew.-% Lutensol AT50 und dem öllöslichen Initiator V59 durchgeführt. Die Einwaage an VBPS wurde im Bereich zwischen 0 und 5 Gew.-% Comonomer variiert. In Abbildung 4-58 A) sind die Wärmestromkurven der Copolymerisationen und in B) die aus den Kurven ermittelten Umsatzkurven gezeigt.

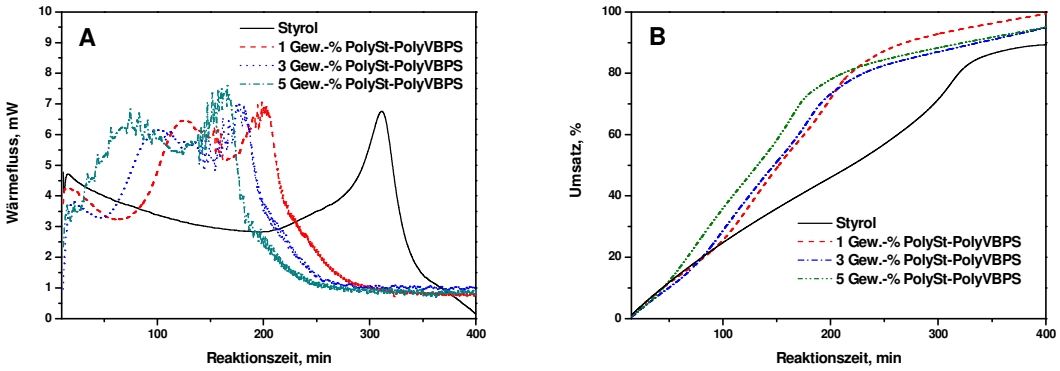


Abbildung 4-58 (A) Kalorimetrische- und (B) Umsatzkurven der Copolymerisation von VBPS mit Styrol in Miniemulsion initiiert mit V59.

Analog zu den Copolymerisationen von Styrol mit VPS oder AA, führt auch bei der Verwendung von VBPS als Comonomer, bereits eine Einwaage von 1 Gew.-% Comonomer zu einem stark veränderten Reaktionsverlauf. Auffällig ist, dass auch hier ein Doppelpeak auftritt und die Copolymerisation in einer deutlich verkürzten Reaktionszeit im Vergleich zur Homopolymerisation von Styrol abläuft. Ein Vergleich der Wärmestromkurven in Abbildung 4-58 zeigt zudem, dass mit ansteigendem VBPS-Gehalt Bereich III nach Harkins immer mehr zurückgedrängt wird. Die Wärmestromkurve der Styrolprobe mit 1 Gew.-% VBPS zeigt bis zu einer Reaktionszeit von ungefähr 80 min einen exponentiellen Abfall. Bei der Probe mit 3 Gew.-% Comonomereinwaage ist der Bereich des exponentiellen Abfalls bereits nach ungefähr 50 min beendet. Die Probe mit dem höchsten VBPS-Gehalt (5 Gew.-%) steigt direkt an. Intervall III fehlt vollständig. Die Polymerisation wird *in situ* in den Tröpfchen durch den öllöslichen Initiator V59 gestartet. Es ist davon auszugehen, dass die Tröpfchennukleation der vorherrschende Nukleationsmechanismus ist. Bei der Copolymerisation von Styrol mit dem hydrophilen Comonomer VPS zeigen die Wärmestromkurven der Copolymerisationen am Beginn der Reaktion Analogien zum Kurvenverlauf der Homopolymerisation von Styrol (Abbildung 4-55). Hier kann man davon ausgehen, dass das hydrophile Comonomer erst durch die Wasserphase zu den Monomertröpfchen diffundieren muss und zu Beginn der Reaktion nur reines Styrol polymerisiert wird. Bei Verwendung des viel hydrophoberen Comonomeren VBPS, sind am Anfang der Polymerisation beide Comonomere beteiligt und werden in die wachsende Polymerkette eingebaut. VBPS ist mit den hydrophilen Phosphonatgruppen funktionalisiert, die sich bevorzugt an der Grenzfläche zwischen Tröpfchen und Wasserphase anlagern und somit zu einer erhöhten Viskosität auf der Partikeloberfläche führen. Diese erhöhte Viskosität kann das Auftreten des Doppelpeaks erklären. Ein Radikalaustritt, wie bei den Poly(St-VPS)- bzw. Poly(St-AA)-Proben, ist nicht so wahrscheinlich, aufgrund der Funktionalisierung des Comonomeren mit Phosphonatgruppen aber durchaus möglich, wenn in den anwachsenden Polymerketten bevorzugt VBPS anstatt Styrol eingebaut wird. Eine Verteilung der Radikale zwischen dem Inneren der Partikel und der Partikeloberfläche und die erhöhte Viskosität können zu minimierten Rekombinationsreaktionen führen und damit die verkürzte Reaktionszeit verursachen. Die Phosphonatgruppen führen zudem zu einer zusätzlichen Stabilisierung der Tröpfchen während des Polymerisationsprozesses. In Abbildung 4-58b sind die Umsätze der Reaktionen, ermittelt über die Reaktionswärmen, gezeigt. Die Umsätze der Copolymerisationsreaktionen von Styrol mit VBPS verlaufen nach den ermittelten Wärmemengen vollständig und liegen alle bei 100% Umsatz. Der Umsatz der Homopolymerisation von Styrol liegt mit ungefähr 95% niedriger. Da bei der Berechnung der Monomerumsätze der Copolymerisationen die theoretische Wärme der Homopolymerisation von Styrol zugrunde gelegt wurden, kann dies zu geringfügigen Abweichungen führen. Die

kalorimetrisch ermittelten Umsätze wurden mit gravimetrischen bestimmten Umsätzen korreliert und auch hier zeigt sich, dass bei den Copolymerisationen von Styrol mit den verschiedenen VBPS-Einwaagen (1 bis 5 Gew.-%) beide Monomere vollständig umgesetzt werden. Dies wird auch durch die Feststoffgehalte in Tabelle 4-9 bestätigt.

5 Experimenteller Teil

5.1 Charakterisierungsmethoden

Atomkraftmikroskopie (AFM):

Alle AFM-Aufnahmen und Kraft-Abstands-Messungen wurden an einem AFM des Typs *Dimension 3100 Mikroskop* (Veeco Instruments, Plainview, USA) ausgestattet mit einem *Nanoscope V-Controller* und Software Version 7.20 durchgeführt. Es wurden Si-Cantilever mit einer Resonanzfrequenz von 70 kHz und einer nominellen Federkonstante von 2 N/m (*OMCL-AC40TS*, Olympus, Tokio, Japan) verwendet. Die Bestimmung der Federkonstanten erfolgte durch die „Thermal-Noise"-Methode.[125] Für die Kraft-Abstands-Messungen wurden die Cantilever im Plasma-Ofen vorbehandelt und anschließend mit 20 nm TiO_2 besputtert. Die Auswertung der Kraftkurven erfolgte mit einer im Arbeitskreis von Prof. Hans-Jürgen Butt/Dr. Michael Kappl (MPIP Mainz) geschriebenen Software.

Dynamische Lichtstreuung (DLS):

Die Partikelgrößen und der Polydispersitätsindex (PDI) wurden an einem *Zeta Nanosizer* (Malvern Instruments, UK) bei einem Rückstreuwinkel von 173° bzw. an einem *Nicomp 380 Submicron Particle Sizer* (Nicomp Particle Sizing Systems, USA) bei einem Streuwinkel von 90° bei einer Temperatur von 20 °C bestimmt.

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR):

^{1}H-NMR-Spektren wurden an einem Kernresonanzspektrometer (*Bruker, Avance 400*) und ^{13}C-NMR-Spektren an einem *Bruker, Avance 500* aufgenommen. Die Spektren wurden in den deuterierten Lösungsmitteln $CDCl_3$ oder D_2O aufgenommen.

Partikelladungsdetektion (PCD):

Die Anzahl an funktionellen Gruppen auf der Partikeloberfläche erfolgte durch Titration mit dem entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten PDADMAC bzw. PES-Na. Es wurde ein Partikelladungsdetektor der Firma Mütek GmbH in Verbindung mit einem automatischen Titrator (Metrohm AG, Schweiz) verwendet. Für die Messungen wurden 10 ml der gereinigten Polymerlatizes mit einem Feststoffgehalt von 1 g/L eingesetzt und die Menge an funktionellen Gruppen pro nm^2 Partikeloberfläche über den Verbrauch an Polyelektrolyt berechnet.[8,41,104]

Rasterelektronenmikroskopie (REM):

Die Partikelschichten wurden mit dem *Zeiss 1530 Gemini* Rasterelektronenmikroskop (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) bei Beschleunigungsspannungen von 0,1 kV bis 1 kV untersucht. Die verdünnten Proben wurden auf Si-Wafer oder TiO_2-Substrate aufgetropft und über Nacht getrocknet.

Reaktionskalorimetrie:

Kalorimetrische Messungen wurden in einem *µRC-Mikro-Reaktionskalorimeter* (Thermal Hazard Technology, UK) durchgeführt. Nach dem Ultraschallprozess wurden 0,5 ml der Miniemulsion in ein Kalorimetergefäß gefüllt und in den Aluminiumblock der das Peltier-Element enthält, gestellt. Die (Co-)Polymerisationen wurden bei 72 °C in dem Kalorimeter bis zum Erreichen eines konstanten Wärmeflusses von Null durchgeführt. Alle Messungen wurden mehrfach durchgeführt und so auf ihre Reproduzierbarkeit überprüft. Für die Berechnungen und Auswertung der kalorimetrischen Messungen wurden die Formeln aus dem Methodenteil dieser Arbeit und die Parameter aus Tabelle 5-1 verwendet.

Tabelle 5-1 Übersicht über die verwendeten Parameter.

Parameter	**Monomer**	**Tabellenwert**	**Literaturstelle**
$\rho(S)$	Styrol	0,91 g/cm^3	[126]
$\rho(PS)$	Polystyrol	1,05 g/cm^3	[83,126-128]
k_p (S) at 70 °C	Styrol	426 L/mol s	[126]
k_p (AA) at 70 °C	Acrylsäure	60.000 L/mol s	[127,128]
ΔH_p (S)	Styrol	73 kJ/mol	[8,83]
ΔH_p (AA)	Acrylsäure	67 kJ/mol	[126]
r (S)	Styrol	0,04	[83,127,128]
r (AA)	Acrylsäure	0,4	[83,127,128]
k_I (V59)	V59	1,5*10^{-5} 2,8*10^{-5}	[129]

Transmissionselektronenmikroskopie (TEM):

Die Morphologie der Partikel wurde anhand von Transmissionselektronenmikroskopie (Philips EM400) bei einer Beschleunigungsspannung von 80 kV untersucht. Für die TEM-Aufnahmen wurden die verschiedenen Latizes mit Wasser verdünnt und ein Tropfen der Lösung auf ein kohlenstoffbeschichtetes Kupfer-Grid getropft. Die Proben trockneten über Nacht bei Raumtemperatur. TEM-Grids mit empfindlichen Proben wie PMMA oder PLA wurden nachträglich mit Kohle bedampft.

UV/VIS-Spektroskopie:

Die Mengen an verkapseltem PMI in den Polymerpartikeln wurden mit einem *Lambda 16 UV/VIS-Spektrometer* (Perkin Elmer) bestimmt. 7,8 mg der gefriergetrockneten Probe wurde in 2,5 g THF gelöst und die Absorption am Peak-Maximum in dem Spektrum bei einer Wellenlänge von 480 nm analysiert.

Zetapotential-Messungen:

Die Zetapotentiale wurden in einer 10^{-3} M Kaliumchlorid-Lösung an einem *Zeta Nanosizer* (Malvern Instruments, UK) und einem *Nicomp Zeta Sizer* (Nicomp Particle Sizing Systems, USA) bei 20 °C bestimmt.

5.2 Synthese der Polymerpartikel und Kapseln

5.2.1 Synthese von phosphonatfunktionalisierten Monomeren

Die phoshonatfunktionalisierten Comonomere Vinylbenzylphosphonsäure (VBPS) und 2-(Methacryloyloxy)ethylphosphonsäure (MAPHOS) wurden im Arbeitskreis von Prof. Dr. Klaus Müllen/Dr. Markus Klapper am MPI-P von Dr. Dilyana Markova in Mainz hergestellt. Die Synthese von VBPS erfolgte nach einer modifizierten Literaturvorschrift.[130]

Synthese von Ethylenglykolmethacrylatphosphat (EMAP)

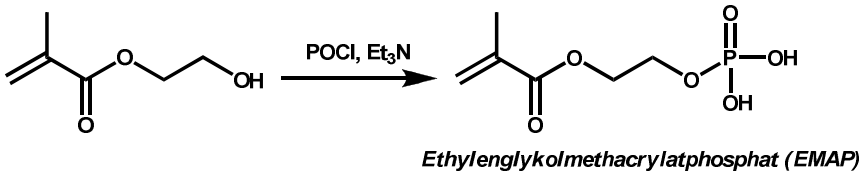


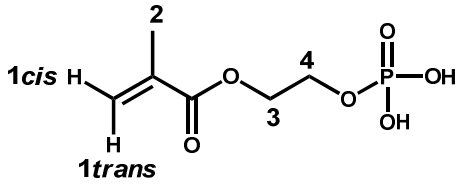
Abbildung 5-1 Syntheseschema von EMAP.

Ein Zweihalskolben, ausgestattet mit einem Thermometer, Ballon und Magnetrührer, wurde evakuiert, ausgeheizt und anschließend mit Stickstoff gespült. 6 ml THF und 0,3 ml $POCl_3$ wurden vorgelegt und im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurden 0,24 ml Et_3N zugegeben und im Anschluss für 30 min bei dieser Temperatur gerührt, wobei sich ein weißer Niederschlag ausbildete. Es wurden langsam 3 g Hydroxyethylenglykolmethacrylat (HEMA) bei 0 °C zugegeben. Anschließend rührte die Reaktionsmischung für 90 min bei Raumtemperatur. Nach Zugabe von 13 ml ges. $NaHCO_3$-Lösung löste sich der Niederschlag weitestgehend auf. Im Anschluss rührte das Reaktionsgemisch für weitere 48 Stunden bei

Raumtemperatur. Es wurde H_2O zugegeben und anschließend mit konz. HCl auf pH=1 angesäuert. Im Anschluss erfolgte eine mehrmalige Extraktion mit Chloroform. Die organische Phase wurde über $MgSO_4$ getrocknet und das restliche Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Als Produkt wurde ein gelbes Öl erhalten.

m = 3,84 g (80% d. Th)

NMR-Daten:



^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm]= 6,60 (d, 1H, H-**1cis**); 6,52 (d, 1H, H-**1trans**); 4,52 (t, 2H, H-**3**); 4,36 (m, 2H, H-**4**); 2,21 (s, 3H, H-**2**).
^{31}P-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm]= 1,92

5.2.2 Synthese von Polymerpartikeln in einer direkten Miniemulsion

Phosphonat-, phosphat-, sulfonat- und aminofunktionalisierte Polystyrol- bzw. PMMA-Partikel wurden durch radikalische Copolymerisation in Miniemulsion unter Verwendung folgender Chemikalien hergestellt:
2-(Methacryloyloxy)ethansulfonsäure(SEMA), (ABCR-Products) Aminoethylmethacrylat-Hydrochlorid (AEMH) (Aldrich), Hexadekan (99%, Aldrich), der hydrophobe Initiator 2,2'-Azobis(3-methylbutyronitril) (V59) (Wako Chemikalien, Japan), die Tenside Lutensol AT50 (BASF) und Natriumdodecylsulfat (SDS) (Aldrich). Der Fluoreszenzfarbstoff PMI wurde von BASF zur Verfügung gestellt. Styrol und MMA (beides Merck) wurden frisch unter Vakuum destilliert. Vinylphosphonsäure (VPS) (98%, Aldrich) wurde mehrmals mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet, um vorhandenen Inhibitor zu entfernen. Für alle Versuche wurde entmineralisiertes Wasser verwendet. Alle anderen Chemikalien sind kommerzielle Produkte und wurden ohne weitere Vorbehandlung verwendet. Die Synthese der funktionalisierten Polymerpartikel erfolgte durch freie-radikalische (Co-)Polymerisation in Miniemulsion. Tabelle 5-2 fasst die eingesetzten Mengen zusammen.

Tabelle 5-2 Eingesetzte Mengen bei der Synthese von funktionalisierten Partikeln in Miniemulsion.

Verbindung	Menge [g]
Styrol oder MMA	6,0-5,4
VPS, VBPS, EMAP, AEMH, SEMA und Maphos	0,0-0,6 (0-10 Gew.-% bezogen auf die Gesamtmenge an Monomer)
Hydrophober Initiator V59	0,1
Hexadekan (Hydrophob)	0,25
Fluoreszenzfarbstoff PMI	0,003
Nichtionisches Tensid Lutensol AT50	0,2 bzw. 0,4
Ionisches Tensid SDS	0,072
Entmineralisiertes Wasser	24,0

Für die disperse Phase wurde die entsprechende Menge an Styrol oder MMA, 250 mg Hexadekan, 100 mg V59 und 3 mg PMI eingewogen und unter Rühren mit der kontinuierlichen Phase bestehend aus Wasser und Tensid vereint. Je nach Löslichkeit wurden die verschiedenen Comonomere in der dispersen oder kontinuierlichen Phase gelöst. Nach anschließendem Rühren auf höchster Stufe (ungefähr 10000 rpm) wurde die Makroemulsion mittels Ultraschall für 120 s bei 90% Amplitude unter Eiskühlung homogenisiert und anschließend über Nacht bei 72 °C polymerisiert. Die Aufreinigung der Latizes erfolgte bei Proben, die mit dem nichtionischen Tensid Lutensol AT50 stabilisiert waren, durch mehrmalige Zentifugation/Redispergierung. Proben die mit dem ionischem Tensid SDS hergestellt wurden, wurden über eine Milipore Membran (MWCO 10000) dialysiert und das Ergebnis mittels Leitfähigkeitsmessungen überprüft. Es wurden die Partikelgrößen und die Partikelgrößenverteilungen mit Hilfe von DLS bestimmt. Die Ermittlung der Oberflächenfunktionalisierungen erfolgt durch PCD- und Zetapotentialmesungen. Feststoffgehalte wurden gravimetrisch bestimmt.

5.2.3 Umfunktionalisierung von Partikeloberflächen durch EDC-Kupplung

Für die Anbindung von 3-Phosphonopropionsäure an aminofunktionalisierte Polystyrolpartikel wurden folgende Chemikalien verwendet: 3-Phosphonopropionsäure (Aldrich), N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (EDC) (98%, Aldrich) und N-Hydroxysulfosuccinimid (Sulfo-NHS) (98%, Aldrich).

Die aminofunktionalisierten Partikel wurden mehrmals durch Zentrifugation vor dem Einsatz gereinigt. 5 ml der Dispersion wurden entnommen und jeweils mit einem zehnfach molaren Überschuss an EDC und 3-Phosphonopropionsäure versetzt. Ein fünffach molarer Überschuss an Sulfo-NHS wurde zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Verdünnung des Reaktionsvolumens um das 10fache und die Einengung in einer Ultrafiltrationszelle durch Druckfiltration über eine Größenausschlussmembran (MWCO 100000 Da). Überschüssiges EDC, Sulfo-NHS und das entstandene Harnstoffderivat wurden abgetrennt. Die Änderungen in den Partikelgrößen wurden anhand von DLS untersucht und die Einführung der Phosphonatgruppen durch Zetapotential-Messungen bestimmt.

5.3 Funktionalisierte Bioabbaubare Partikel

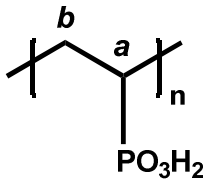
5.3.1 Ringöffnungspolymerisation von D,L-Lactid initiiert durch OH-terminierte Polyvinylphosphonsäure (PVPS)

Folgende Chemikalien wurden eingesetzt: Vinylphosphonsäure (Sigma Aldrich, 97%), 2-Hydroxyethanthiol (Merck), Benzoylperoxid (Wako Pure Chemicals), THF (Aldrich), (3S)-cis-3,6-Dimethyl-1,4-Dioxan-2,5-dion (DL-Lactid) (Aldrich, 98%) und Zinn(II)-2-ethylhexanoat (Sigma Aldrich). Das Lösungsmittel p-Xylol (Acros Organics, 99%) wurde unter Rückfluss über Natrium vor der Synthese getrocknet.

Stufe 1: Polymerisation von VPS [131,132]

Es wurden 4 g VPS, 0,03 g 2-Hydroxyethanthiol, 0,012 BPO und 12 ml trockenes THF in einem mit Argon gespülten und ausgeheizten Dreihalskolben vorgelegt. Der Kolben war mit einem Ballon, einem Septum und einem Rückflusskühler ausgestattet. Die Polymerisation erfolgte für 6 h bei 80 °C unter Rückfluss. Im Anschluss wurde ein großer Teil an THF im Vakuum entfernt und anschließend Diethylether unter Eiskühlung zugegegen. Überschüssiger Ether wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte durch Dialyse durch Ultrafiltration (*Mw* =30.000 g/mol) Als Produkt wurde ein gelbes Öl mit einer Ausbeute von 80% erhalten. Das Produkt wurde mittels ^{1}H- und ^{31}P-NMR charakterisiert.

<u>NMR-Daten:</u>



^{1}H-NMR (D_2O): δ [ppm]= 2,5 (*a*-C**H**-P); 2,2-1,8 (*b*-C**H**$_2$);
^{31}P-NMR (D_2O): δ [ppm]= 28,5

Stufe 2: Ringöffnungspolymerisation von D,L-Lactid [76]

Ein Kolben wurde mit Argon gespült und ausgeheizt. 1 g PVPS wurde in 6 ml trockenem Xylol gelöst und anschließend 1g DL-Lactid und 0,1 ml Zinn(II)-2-ethylhexanoat zugegeben. Die Reaktionsmischung rührte im Anschluss für 24 h bei 150 °C unter Argon-Atmosphäre. Nach dem Abkühlen wurde in einem Überschuss aus Diethylether ausgefällt und die Probe durch Gefriertrocknung von dem restlichen Lösungsmittel befreit. Das Produkt wurde mittels ^{1}H- und ^{31}P-NMR, sowie GPC charakterisiert.

5.3.2 Synthese von bioabbaubaren PLA-Partikeln durch Kombination des Miniemulsionsprozesses mit der Emulsion/Lösungsmittelverdampfungs-technik [71,72]

Für die Synthese der bioabbaubaren Polylactid-Partikel wurden folgende Chemikalien eingesetzt: Polylactid wurde durch Ringöffnungspolymerisation hergestellt oder das Biomer®L9000 (Biomer, Deutschland) mit einem Molekulargewicht von M_n= 66.500 g/mol bzw. M_W=145.000 g/mol[72] verwendet. Des Weiteren wurden eingesetzt: Chloroform (99,98%, Fisher Scientific), Lutensol AT50 (BASF), Natrium-n-Dodecylsulfat (99%, Alfa Aeser) und der Fluoreszenzfarbstoff PMI (Gabe von BASF). Für alle Experimente wurde entmineralisiertes Wasser verwendet.

300 mg PLA und 0,2 mg PMI wurden im Thermoschüttler bei 40 °C in 10 g Chloroform gelöst und anschließend mit einer kontinuierlichen Phase, bestehend aus 24 g Wasser und 72 mg SDS bzw. 200 mg Lutensol AT50, unter Rühren vereinigt. Nach einer Stunde Rühren bei ca.10000 rpm, erfolgte die Homogenisierung der Probe durch Ultraschall (1/2''-Spitze, 70%, 180 s mit 30 s Puls und 10 s Pause) unter Eiskühlung. Die resultierende Miniemulsion wurde über Nacht unter Rühren auf 40 °C erhitzt, um das Chloroform zu verdampfen. Überschüssiges Tensid wurde durch Dialyse entfernt. Anschließend wurden die Partikelgrößen mit DLS, der Feststoffgehalt gravimetrisch und die Morphologie der Partikel mit TEM untersucht.

5.3.3 Ringöffnungspolymerisation von D,L-Lactid initiiert durch OH-terminierten BODIPY-Farbstoff

Folgende Chemikalien wurden eingesetzt: Zinn(II)-2-ethylhexanoat (Sigma Aldrich). Das Lösungsmittel p-Xylol (Acros Organics, 99%) wurde durch Refluxieren über Natrium vor der Synthese getrocknet. Der OH-terminierte BODIPY-Farbstoff wurde von Dr. Andrey Turshatov synthetisiert.

Ein 250 ml Dreihalskolben, ausgestattet mit Rückflusskühler, Septum, Stopfen, wurde ausgeheizt und mit Stickstoff gespült. 10 mg des Farbstoffs und 5 g des D,L-Lactids wurden vorgelegt und in 20 ml des getrockneten Xylols gelöst. Anschließend wurden 0,25 ml des Katalysators Zinn(II)-2-ethylhexanoats zugegeben und bei 150 °C für 25 h gerührt. Es bildete sich ein Niederschlag aus, der nach dem Abkühlen fest wurde. Der feste Niederschlag wurde bei 72 °C in Chloroform gelöst und das Polymer unter Eiskühlung in Diethylether ausgefällt.

Das rosafarbene Polymer wurde im Anschluss über eine Nutsche abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Die Charakterisierung erfolgte mit ^{1}H-NMR, GPC (in THF, PMMA-Standard) und HPLC.

5.3.4 Synthese von Janus-Partikeln durch Kombination der Miniemulsionstechnik mit dem Emulsion/Lösungsmittel-Verdampfungsverfahren

Die Synthese der Janus-Partikel erfolgte analog zu den PLA-Partikeln durch die Kombination der Miniemulsionstechnik mit dem Emulsion/Lösungsmittel-Verdampfungsverfahren. Anstelle von 300 mg PLA wurden, 150 mg PLA und 150 mg der gefriergetrockneten Styrol bzw. MMA-Latizes verwendet.

Für den Tensidaustausch von SDS gegen Lutensol AT50 wurde 1 ml der vorher dialysierten Latizes mit 1 ml einer Lutensol AT50-Lösung (200 mg Lutensol AT50 in 24 g Wasser) vereinigt und für 20 min bei 10.000 rpm zentrifugiert. Im Anschluss wurde der Überstand entfernt und mit 1 ml Lutensol AT50-Lösung und 1 ml entmineralisiertem Wasser aufgefüllt. Die Probe wurde wiederum zentrifugiert, der Überstand abgenommen und anschließend mit 1 ml entmineralisiertem Wasser wieder aufgefüllt. Die Partikelgrößen wurden mittels DLS bestimmt. Zetapotentialmessungen wurden zur Charakterisierung der Oberflächenladung eingesetzt, der Feststoffgehalt gravimetrisch bestimmt und die Janus-Strukturen mit REM und AFM überprüft.

5.3.5 Einbettung von hydrophoben Wirkstoffen

Synthese von paclitaxelhaltigen Partikeln

Für die Synthese der paclitaxelhaltigen Partikel wurden analoge Chemikalien wie in Kapitel 5.3.2 verwendet. Zudem wurde Paclitaxel (LC Laboratories, ≥ 99,5%) und Polylactid Biomer®L9000 (Biomer, M_n = 66.500 g/mol bzw. M_w = 145.000 g/mol) verwendet. Die eingesetzten Mengen sind in Tabelle 5-3 zusammegefasst.

Tabelle 5-3 Eingesetzte Mengen bei der Synthese von paclitaxelhaltigen Polystyrol- und Polylactidpartikel.

Verbindung	**Menge [g]**
Paclitaxelhaltige Polystyrolpartikel	
Styrol	0,6
Paclitaxel	0-0,03 g (0-5 Gew.-% bezogen auf die Gesamtmenge an Monomer)
Hydrophober Initiator V59	0,010
Hydrophob Hexadekan	0,025
Fluoreszenzfarbstoff PMI	0,0003
Nichtionisches Tensid Lutensol AT50	0,02 oder 0,04
Ionisches Tensid SDS	0,0072
Entmineralisiertes Wasser	2,4
Paclitaxelhaltige Polylactidpartikel	
Polylactid	0,0025
Paclitaxel	0-0,00125 (0-5 Gew.-% bezogen auf die Gesamtmenge an Monomer)
Chloroform	1,5

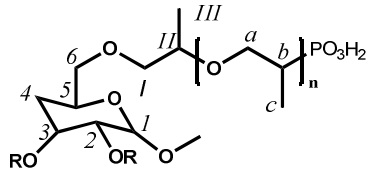
Die wirkstoffbeladenen Partikel wurden nach dem gleichen Verfahren wie die Proben im Unterkapitel 5.2.2 bzw. 5.3.2 synthetisiert. Die Proben wurden aufgrund der hohen Toxizität des Paclitaxel jedoch im inversen Ultraschall (80% Amplitude, 4 min, 20 s Puls, 15 s Pause) homogenisiert. Die Proben wurden mit DLS und TEM charakterisiert und der Feststoffgehalt gravimetrisch bestimmt.

5.4 Funktionalisierte Polymerkapseln

5.4.1 Einführung von Phosphatgruppen an Hydroxypropylcellulose

Die Synthese wurde analog zu einer Literaturvorschrift durchgeführt.[117] Folgende Chemikalien wurden verwendet: Polyphosphorsäure (Merck), Triethylamin (Aldrich), Dimethylformamid (DMF). DMF wurde vor dem Einsatz getrocknet. Hydroxypropylcellulose (M_w=100.000 g/mol, Acros Organics) wurde ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt. In einem ausgeheizten und mit Stickstoff gespülten Kolben wurden 6 g Hydroxypropylcellulose in 100 ml DMF über Nacht gelöst. 17 ml Polyphosphorsäure (gelöst in 25 ml DMF), sowie 7 ml Triethylamin wurden anschließend zu der gelösten Hydroxypropylcellulose hinzu gegeben. Die Reaktionsmischung wurde langsam auf 120 °C erhitzt und rührte anschließend für 6 Stunden bei dieser Temperatur unter Rückfluss. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 250 ml Wasser hinzugegeben und für 12 h gerührt. Das Produkt wurde zur Aufreinigung 7 Tage dialysiert und im Anschluss durch Gefriertrocknung von dem überschüssigen Wasser befreit. Das Produkt wurde in einer Ausbeute von 61% bezogen auf die Theorie erhalten und mittels ^{1}H- und ^{31}P-NMR-Spektroskopie untersucht.

NMR-Daten:



^{1}H-NMR (CD_3OD): δ [ppm]= 1,2 (m, 6H, **III** und **c**); 3,1-4,0 (m, 12H, **I, II** und **a, b** und 2-6); 4,4-4,8 (m, 1H, **1**), 5,0 (m, 1H, **b**).

^{13}C-NMR (CD_3OD): δ [ppm]= 16,6-18,0 (C-**I** und C-**b**); 70,0 (C-**6**), 71,8 (C-**b**), 73,0 (C-**I**), 74,0 (C-**5**), 75,2 (C-**II**), 76,3 (C-**4**), 82,1 (C-**2**), 83,1 (C-**3**), 102,5 (C-**1**).

^{31}P-NMR (CD_3OD): δ [ppm]= 1,52.

5.4.2 Synthese der Polyharnstoff-/Polyurethankapseln in inverser Miniemulsion

Folgende Monomere wurden verwendet: 1,6-Diaminohexan (HMDA, Aldrich), Diethylentriamin (Aldrich), 3,6-Dihydroxynapthalen-2,7-Disulfonsäure-Dinatriumsalz (Acros Organics, 92%), 1,6-Hexandiol (Aldrich, 99%), 2,5-Dimethyl-2,5-hexandiol (Alfa Aesar, 97%), 1,5-Diamino-2-methylpentan (Merck), Hydroxypropylcellulose (M_w=100.000 g/mol, Acros Organics). Weiterhin wurden eingesetzt: Toluol-2,4-diisocyanat (TDI) (Aldrich, 98%), Cyclohexan (Aldrich, >99%), Natriumchlorid (Merck). Das amphiphile Blockcopolymer Poly[(ethylen-*co*-butylen)-*b*-ethylenoxid)] (P(B/E-*b*-EO), M_w=12.186 g/mol) wurde durch anionische Polymerisation hergestellt. [76]

Eine entsprechende Menge an Monomer, 1,3 g Wasser (bzw. 2 mM wässrige Sulphorhodaminlösung) und 30 mg NaCl wurde mit der kontinuierlichen Phase bestehend aus 7,5 g Cyclohexan und 100 mg P(B/E-*b*-EO) unter Rühren vereint. Nachdem für 1 h gerührt wurde, erfolgte die Homogenisierung mittels Ultraschall (3 min, 70% Amplitude, 20 s Puls, 10 s Pause, 1/2''-Spitze) unter Eiskühlung. Anschließend wurden langsam eine Mischung aus 5 g Cyclohexan, 30 mg P(B/E-*b*-EO) und 200 mg TDI, unter Rühren zugetropft und danach für 3 Stunden bei Raumtemperatur polymerisiert. Anschließend erfolgte die Redispergierung der Kapseln in Lutensol AT50- oder SDS-(0,3 Gew.-%) Lösungen. Hierfür wurde 1 g Dispersion zu 5 g Tensidlösung gegeben und restliches Cyclohexan für 48 h verdampft. Im letzten Schritt wurde die Probe wurde für 20 min ins Ultraschallbad gestellt. Überschüssiges Tensid wurde durch Dialyse entfernt. Die Polymerkapseln wurden mit TEM, REM, DLS und Zetapotential-Messungen charakterisiert.

5.5 Präparation der Schichten

Die Adsorptionsversuche wurden auf Si-Wafer bzw. Si-Wafer besputtert mit 20 nm TiO_2 durchgeführt. Vor dem Besputtern wurden die Si-Wafer wie folgt vorbehandelt: Im ersten Schritt wurden die Si-Wafer für 10 min für die Vorreinigung in Ethanol eingelegt. Anschließend wurden die Wafer in eine Färberbox überführt und 50 ml MiliQ-Wasser, 10 ml Ammoniaklösung (25%ig) und 10 ml H_2O_2-Lösung (35%ig) hinzugegeben. Anschließend wurde für 45 min auf 80 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die Si-Wafer mehrmals mit MilliQ-Wasser und anschließend mit Ethanol gewaschen. Die vorbehandelten Si-Wafer wurden an einer Sputteranlage des *Typs Auto 500* (BOC Edwards) mit 300 W Leistung und 30 sccm O_2 mit 20 nm TiO_2 besputtert. Vor dem Einsatz wurden die Substrate mehrmals mit

Toluol und Isopropanol im Ultraschallbad vorbehandelt und im Stickstoffstrom getrocknet. Zur Erzeugung der Partikel-Monoschichten wurden die Polymerdispersionen verdünnt und durch Drop-Casting auf die Metall(-oxid)-Substrate aufgebracht, die auf einer schiefen Ebene (Steigung 13°) positioniert waren. Die Substrate trockneten über Nacht. Die Schichtbildung wurde mittels REM und AFM überprüft.

Die Adsorptionsversuche auf den Implantatoberflächen wurden mit den Materialproben cpTi und Ti-6Al-7Nb (Ø 20 mm, *Stratec/Synthes*), erhalten aus dem Arbeitskreis von Frau Prof. Ignatius vom Instituts für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik in Ulm, durchgeführt. Hierfür wurden die Substrate analog mit Toluol und Isopropanol im Ultraschallbad von möglichen Verunreinigungen befreit und im Stickstoffstrom getrocknet. Vergleichsproben wurden auf den gleichen Feststoffgehalt stark verdünnt und durch Adsorption aus Lösung die Partikel aufgebracht, anschließend mit MiliQ-Wasser gespült und im Stickstoffstrom getrocknet. Die Oberflächenbedeckung der unfunktionalisierten und der funktionalisierten Partikel wurde im Anschluss mittels REM untersucht.

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation war Teil des Projektes „„*Bioaktive multifunktionale Coatings für humanmedizinische Hartgewebeimplantate“* der Landesstiftung Baden-Württemberg. Ziel war die Entwicklung biologisch aktiver Beschichtungen für Implantatoberflächen, die die Integration des künstlichen Gelenks in das knöcherne Gewebe erhöhen. Durch kontrollierte Freisetzung von Wirkstoffen bzw. Medikamenten sollten gleichzeitig Faktoren wie die Wundheilung gezielt unterstützt werden. Das Ziel der Arbeit war die Herstellung einer solchen Implantatbeschichtung auf Basis von Polymerpartikeln/Kapseln. Durch verkapselte Wirkstoffe, die kontrolliert aus den Partikeln freigesetzt werden, sollte die Beschichtung biologisch aktiviert werden. Hierfür konnten erfolgreich $–PO_3H_2$, $-PO_4H_2$ und $–SO_3H$-funktionalisierte Polymerpartikel und Kapseln in Miniemulsion hergestellt werden. Das Hauptaugenmerk lag auf der Synthese von phosphonatfunktionalisierten Partikeln und Kapseln, da diese zum einem spezifische Haftgruppen an Metalloxidoberflächen darstellen und zum anderen zur Nukleation von Calciumhydroxyapatit dienen können. Es konnte gezeigt werden, dass funktionalisierte Polystyrol- und PMMA-Partikel mit einer guten Kontrolle über die Partikelgröße, Partikelgrößenverteilung und Oberflächenladung durch radikalische Copolymerisation in einer direkten Miniemulsion hergestellt werden können. Verschiedene phosphonatfunktionalisierte Comonomere, wie Vinylphosphonsäure (VPS), (Methacryloyloxy)ethylphosphonsäure (Maphos) und Vinylbenzylphosphonsäure (VBPS) wurden zur Einführung der funktionellen Gruppen auf der Partikeloberfläche eingesetzt. Es konnte nachgewiesen werden, dass besonders mit VBPS sehr einheitliche Polystyrolpartikel mit einer hohen Anzahl an Phosphonatgruppen erhalten werden können. Die Reaktionsverläufe der radikalischen Copolymerisationen in Miniemulsion wurden mit Reaktionskalorimetrie genauer untersucht. Die VBPS-basierten Polystyrolpartikel wurden aufgrund der einheitlichen Größenverteilung und der hohen Dichte an Phosphonatgruppen auf der Partikeloberfläche als Modellsystem für die partikulären Beschichtungssysteme ausgewählt. Über die Methode des „Drop-Castings“ auf einer schiefen Ebene, wurden partikuläre, einheitliche und dichtgepackte Monoschichten auf Titan und Silizium, die mit einer natürliche OH-Schicht bedeckt sind, aufgebracht und die Haftung der Partikel im Vergleich zu unfunktionalisierten Polystyrolpartikeln durch Kraft-Abstands-Messungen (kurz: Kraftmessungen) mit AFM untersucht. Die Kraftmessungen zeigten deutlich, dass durch die Einführung der Phosphonat-Ankergruppen, die Haftung der Partikel im Vergleich zu reinem Polystyrol deutlich erhöht wird. Die Adhäsion der Poly(St-VBPS)-Partikel an TiO_2, ist beispielsweise um mehr als das 5fache höher, als die der unfunktionalisierten Polystyrol-Referenzprobe. Verschiedene Zellversuche zeigten, dass die Partikel keinen Einfluss auf die

Vitalität und das Differenzierungspotential von HeLa-Zellen und MSCs aufweisen. Weitere Zellversuche mit den partikulären Schichten sind in Arbeit. Um die Partikel in den Beschichtungen zudem als Systeme zur Wirkstofffreisetzung zu modifizieren, wurden verschiedene neuartige phosphonatfunktionalisierte bioabbaubare Partikel entwickelt und hydrophobe Wirkstoffe verkapselt. Da diese bioabbaubaren Partikel nur die Verkapselung hydrophober Wirkstoffe ermöglichen, wurden zudem funktionalisierte Kapseln mit einem wässrigen Kern und einer dünnen Polymerwand in inverser Miniemulsion synthetisiert und ein hydrophiler Farbstoff und der Wirkstoff Pamidronat verkapselt. Die wirkstoffhaltigen Kapseln sind momentan Teil verschiedener Zellexperimente.

Summary

This thesis was part of the project "*bioactive multifunctional coatings for human implants*" of the Landesstiftung Baden-Württemberg. The aim of the project was the development of bioactive implant coatings, which are able to increase the implant tissue interaction. The incorporation of drugs should additionally advance the wound healing by a controlled release. The idea of this work was the creation of particle/capsule-based implant coatings, which support the wound healing by incorporated drugs delivered by the nanoparticles/capsules. Different phosphonate, phosphate and sulfonate functionalized polymeric nanoparticles and capsules for biomedical applications were synthesized via the miniemulsion technique. The work mainly focused on the surface functionalization of particles with phosphonate and phosphate groups because on the one hand these groups can serve as specific anchor groups to metal oxide surfaces and on the other hand, they can nucleate calcium phosphate, which is similar to the mineral phase of bone. In this work it was shown, that phosphonated (and phosphate or sulfonated) polystyrene and polymethylmethacrylate particles can be synthesized in a free-radical copolymerization in miniemulsions. The particle size, particle size distribution and the amount of functional groups at the particle surface can be adjusted by the concentration of initial functional comonomer. Different phosphonate functionalized particles were synthesized via copolymerization of styrene and methylmethacrylate with vinylphosphonic acid (VPA), 2-(acryloyloxy)ethylphoshonic acid (Maphos) and vinylbenzylphosphonic acid (VBPA). Especially, in case of the VBPA-based polystyrene particles, well defined particles with a narrow size distribution and a high amount of phosphonate groups were obtained. The kinetic behavior of the free-radical copolymerization reactions were studied by reaction calorimetry. Furthermore, the VBPA-based polystyrene particles were used as a model system to prepare a particle monolayer onto titanium dioxide and silicon dioxide. The adhesion forces were determined by force-distance-measurements with AFM. Pure unfunctionalized polystyrene particles were used as a reference system. From the obtained force-distance-measurements it could clearly be seen, that the presence of phosphonate groups on the particle surface leads to highly increased adhesion forces between the particles and different metal oxide surfaces. Such particle-based layers can open new corridors in the field of bioactive implant coatings. Cell experiments with HeLa cells and MSCs showed that the viability and the differentiation behavior were not affected by the phosphonated particles. Experiments with the particle-based coatings are still in progress. For an effective drug release different phosphonate functionalized biodegradable polymeric particles were synthesized in widespread synthesis routes. Hydrophobic drugs (e.g. the

cytostatic drug paclitaxel) were brought into the polymeric materials. For the encapsulation of hydrophilic compounds (like the bisphosphonate pamidronate) functionalized polymeric capsules with a liquid aqueous core were synthesized in an inverse miniemulsion system and were transferred to an aqueous media. Biological cell-tests are currently in progress.

7 Literaturverzeichnis

(1) Griep-Raming, N.; Karger, M.; Menzel, H. *Langmuir* **2004**, *20*, 11811-11814.
(2) Steinmann, S. G. *Periodontology* **2000**, *17*, 7-21.
(3) Viornery, C.; Chevolot, Y.; Leonard, D.; Aronsson, B. O.; Pechy, P.; Mathieu, H. J.; Descouts, P.; Gratzel, M. *Langmuir* **2002**, *18*, 2582-2589.
(4) Gawalt, E. S.; Avaltroni, M. J.; Danahy, M. P.; Silverman, B. M.; Hanson, E. L.; Midwood, K. S.; Schwarzbauer, J. E.; Schwartz, J. *Langmuir* **2003**, *19*, 200-204.
(5) Textor, M.; Ruiz, L.; Hofer, R.; Rossi, A.; Feldman, K.; Hahner, G.; Spencer, N. D. *Langmuir* **2000**, *16*, 3257-3271.
(6) Nanci, A.; Wust, J. D.; Peru, L.; Brunet, P.; Sharma, V.; Zalzal, S.; McKee, M. D. *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *40*, 324-335.
(7) Gnauck, M.; Jaehne, E.; Blaettler, T.; Tosatti, S.; Textor, M.; Adler, H. J. P. *Langmuir* **2007**, *23*, 377-381.
(8) Musyanovych, A.; Rossmanith, R.; Tontsch, C.; Landfester, K. *Langmuir* **2007**, *23*, 5367-5376.
(9) Rosenbauer, E.-M.; Landfester, K.; Musyanovych, A. *Langmuir* **2009**, *25*, 12084-91.
(10) Jagielski, N.; Sharma, S.; Hombach, V.; Mailander, V.; Rasche, V.; Landfester, K. *Macromol. Chem. Phys.* **2007**, *208*, 2229-2241.
(11) *Anorganische Chemie*; Riedel, E., Ed.; Walter de Gruyter: Berlin, 1999.
(12) Parks, G. A. *Chem. Rev.* **1965**, *65*, 177-&.
(13) Rossetti, F. F.; Bally, M.; Michel, R.; Textor, M.; Reviakine, I. *Langmuir* **2005**, *21*, 6443-6450.
(14) Sittig, C.; Textor, M.; Spencer, N. D.; Wieland, M.; Vallotton, P. H. *J. Mater. Sci.-Mater. M.* **1999**, *10*, 35-46.
(15) Emmerich, D. *Dissertation Univeristät Freiburg* **2002**.
(16) Plagge, A.; Adler, H. J.; Rohwerder, M.; Stratmann, M. *Thin Solid Films* **2008**, *516*, 2130-2137.
(17) Plagge, A.; Stratmann, M.; Kowalik, T.; Adler, H. J. *Adv. Engin. Mater.* **2000**, *2*, 376-378.
(18) Plagge, A.; Stratmann, M.; Kowalik, T.; Adler, H. J. *Macromol. Symp.* **1999**, *145*, 103-111.
(19) Dicke, C.; Hahner, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12619-12625.
(20) Hahner, G.; Hofer, R.; Klingenfuss, I. *Langmuir* **2001**, *17*, 7047-7052.
(21) Palegrosdemange, C.; Simon, E. S.; Prime, K. L.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 12-20.
(22) Siegers, C.; Biesalski, M.; Haag, R. *Chem.-Eur. J.* **2004**, *10*, 2831-2838.
(23) Ulman, A. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1533-1554.
(24) Busch, G. *Dissertation TU Dresden* **2004**.
(25) Eberhardt, C.; Raussen, W.; Thiemann, S.; Schwarz, M.; Bauss, F.; Kurth, A. A. *Z. Orthop. Grenzgeb.* **2005**, *143*, 645-651.
(26) McCafferty, E.; Wightman, J. P. *Surf. Interface Anal.* **1998**, *26*, 549-564.
(27) Gnauck, M. *Dissertation TU Dresden* **2009**.
(28) Luschtinetz, R.; Oliveira, A. F.; Frenzel, J.; Joswig, J. O.; Seifert, G.; Duarte, H. A. *Surf. Sci.* **2008**, *602*, 1347-1359.
(29) Lechner, M. D.; Gehrke, K.; Nordmeier, E. H. *Makromolekulare Chemie*; Birkhäuser Verlag: Basel, 2003.
(30) Dörfler, H.-G. *Grenzflächen und Kolloid-disperse Systeme*; Springer Verlag: Heidelberg, 2002.
(31) Landfester, K. *Macromol. Rapid Comm.* **2001**, *22*, 896-936.
(32) Landfester, K. *Advan. Mater.* **2001**, *13*, 765-768.
(33) Landfester, K.; Willert, M.; Antonietti, M. *Macromolecules* **2000**, *33*, 2370-2376.

(34) Boyd, J.; Sherman, P.; Parkinso.C *Journal of Colloid and Interface Science* **1972**, *41*, 359-&.
(35) Mahadeshwar, A. R.; Dixit, S. G. *J. Dispers. Sci. Technol.* **1998**, *19*, 43-61.
(36) Boyd, J.; Sherman, P.; Parkinso.C *J. Coll. Interf. Sci.* **1972**, *41*, 359-&.
(37) Landfester, K.; Bechthold, N.; Tiarks, F.; Antonietti, M. *Macromolecules* **1999**, *32*, 2679-2683.
(38) Gibanel, S.; Heroguez, V.; Gnanou, Y.; Aramendia, E.; Bucsi, A.; Forcada, J. *Polym. Advan. Technol.* **2001**, *12*, 494-499.
(39) Gessner, A.; Lieske, A.; Paulke, B. R.; Muller, R. H. *J. Biomed. Mater. Res-A* **2003**, *65A*, 319-326.
(40) Ramos, J.; Martin-Molina, A.; Sanz-Izquierdo, M. P.; Rus, A.; Borque, L.; Hidalgo-Alvarez, R.; Galisteo-Gonzalez, F.; Forcada, J. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2003**, *41*, 2404-2411.
(41) Holzapfel, V.; Musyanovych, A.; Landfester, K.; Lorenz, M. R.; Mailander, V. *Macromol. Chem. Phys.* **2005**, *206*, 2440-2449.
(42) Slawinski, M.; Meuldijk, J.; Van Herk, A. M.; German, A. L. *J. Appl. Polym. Sci.* **2000**, *78*, 875-885.
(43) Wittemann, A.; Haupt, B.; Ballauff, M. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 1671-1677.
(44) Bryde, S.; Grunwald, I.; Hammer, A.; Krippner-Heidenreich, A.; Schiestel, T.; Brunner, H.; Tovar, G. E. M.; Pfizenmaier, K.; Scheurich, P. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 1459-1467.
(45) Messerschmidt, S. K. E.; Musyanovych, A.; Altvater, M.; Scheurich, P.; Pfizenmaier, K.; Landfester, K.; Kontermann, R. E. *J. Controll. Release* **2009**, *137*, 69-77.
(46) Anikin, K.; Rocker, C.; Wittemann, A.; Wiedenmann, J.; Ballauff, M.; Nienhaus, G. U. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 5418-5420.
(47) Pitschke, M.; Fels, A.; Schmidt, B.; Heiliger, L.; Kuckert, E.; Riesner, D. *Coll. Polym. Sci.* **1995**, *273*, 740-752.
(48) Desai, M. C.; Stramiello, L. M. S. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7685-7688.
(49) Detar, D. F.; Silverst.R *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1020-&.
(50) Kreuter, J. *Vaccine Adjuvants: Preparation Methods and Research Protocols* **2000**, *42*, 105-119.
(51) Kreuter, J.; Mauler, R.; Gruschkau, H.; Speiser, P. P. *Exp. Cell. Bio.* **1976**, *44*, 12-19.
(52) Kreuter, J.; Nefzger, M.; Liehl, E.; Czok, R.; Voges, R. *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72*, 1146-1149.
(53) Wilkins, D. J. *Nature* **1964**, *202*, 798-&.
(54) Lorenz, M. R.; Kohnle, M. V.; Dass, M.; Walther, P.; Hocherl, A.; Ziener, U.; Landfester, K.; Mailander, V. *Macromol. Biosci.* **2008**, *8*, 711-727.
(55) Holzapfel, V.; Lorenz, M.; Weiss, C. K.; Schrezenmeier, H.; Landfester, K.; Mailander, V. *J. Phys.-Condens. Mat.* **2006**, *18*, S2581-S2594.
(56) Ethirajan, A.; Ziener, U.; Landfester, K. *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 2218-2225.
(57) Schachschal, S.; Pich, A.; Adler, H. J. *Coll. Polym. Sci.* **2007**, *285*, 1175-1180.
(58) Tamai, H.; Yasuda, H. *Coll. Interf. Sci.* **1999**, *212*, 585-588.
(59) Schachschal, S.; Pich, A.; Adler, H. J. *Langmuir* **2008**, *24*, 5129-5134.
(60) Rivas, B. L.; Pereira, E. D. *J. Appl. Polym. Sci.* **2003**, *89*, 1715-1721.
(61) Henke, A.; Jaehne, E.; Adler, H. J. P. *Macromol. Symp.* **2001**, *164*, 1-9.
(62) Landfester, K.; Tiarks, F.; Hentze, H. P.; Antonietti, M. *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 1-5.
(63) Paiphansiri, U.; Dausend, J.; Musyanovych, A.; Mailander, V.; Landfester, K. *Macromol. Biosci.* **2009**, *9*, 575-584.
(64) Landfester, K.; Musyanovych, A.; Mailander, V. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, *48*, 493-515.
(65) Baier, G.; Musyanovych, A.; Dass, M.; Theisinger, S.; Landfester, K. *Biomacromolecules*, *11*, 960-968.
(66) Sukhorukov, G.; Fery, A.; Mohwald, H. *Progr. Polym. Sci.* **2005**, *30*, 885-897.

(67) Yang, S. G.; Zhang, Y. J.; Yuan, G. C.; Zhang, X. L.; Xu, J. A. *Macromolecules* **2004**, *37*, 10059-10062.
(68) Chu, L. Y.; Yamaguchi, T.; Nakao, S. *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 386-389.
(69) Crespy, D.; Stark, M.; Hoffmann-Richter, C.; Ziener, U.; Landfester, K. *Macromolecules* **2007**, *40*, 3122-3135.
(70) Taira, S.; Du, Y. Z.; Kodaka, M. *Biotechnol. Bioeng.* **2006**, *93*, 396-400.
(71) Musyanovych, A.; Schmitz-Wienke, J.; Mailander, V.; Walther, P.; Landfester, K. *Macromol. Biosci.* **2008**, *8*, 127-139.
(72) Urban, M.; Musyanovych, A.; Landfester, K. *Macromol. Chem. Phys.* **2009**, *210*, 961-970.
(73) Landfester, K.; Montenegro, R.; Scherf, U.; Guntner, R.; Asawapirom, U.; Patil, S.; Neher, D.; Kietzke, T. *Advan. Mater.* **2002**, *14*, 651-655.
(74) Gonsalves, K. E.; Jin, S.; Baraton, M. I. *Surface-Controlled Nanoscale Materials for High-Added-Value Applications* **1998**, *501*, 233-238.
(75) Edlund, U.; Albertsson, A. C. *Degradable Aliphatic Polyesters* **2002**, *157*, 67-112.
(76) Kohori, F.; Sakai, K.; Aoyagi, T.; Yokoyama, M.; Sakurai, Y.; Okano, T. *J. Control. Release* **1998**, *55*, 87-98.
(77) Liggins, R. T.; Hunter, W. L.; Burt, H. M. *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 1458-1463.
(78) Chen, H.; Kim, S.; He, W.; Wang, H.; Low, P. S.; Park, K.; Cheng, J. X. *Langmuir* **2008**, *24*, 5213-5217.
(79) Burt, H. M.; Zhang, X. C.; Toleikis, P.; Embree, L.; Hunter, W. L. *Colloid Surfaces B* **1999**, *16*, 161-171.
(80) Kellinsalmi, M.; Monkkonen, H.; Monkkonen, J.; Leskela, H. V.; Parikka, V.; Hamalainen, M.; Lehenkari, P. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **2005**, *97*, 382-391.
(81) Yoshinari, M.; Oda, Y.; Ueki, H.; Yokose, S. *Biomaterials* **2001**, *22*, 709-715.
(82) Fisher, J. E.; Rodan, G. A.; Reszka, A. A. *Endocrinology* **2000**, *141*, 4793-4796.
(83) Bechthold, N.; Landfester, K. *Macromolecules* **2000**, *33*, 4682-4689.
(84) Chern, C. S.; Liou, Y. C. *J Polym. Sci. Pol. Chem.* **1999**, *37*, 2537-2550.
(85) Chern, C. S.; Liou, Y. C. *Polymer* **1999**, *40*, 3763-3772.
(86) Nomura, M.; Suzuki, K. *Aqu. Polym. Dispers.* **2004**, *124*, 7-13.
(87) Bechthold, N. *Dissertation Universität Potsdam* **2000**.
(88) Harkins, W. D. *J. Chem. Phys.* **1945**, *13*, 381-382.
(89) Smith, W. V.; Ewart, R. H. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 592-599.
(90) Adam, G.; Läuger, P.; Stark, G. *Physikalische Chemie und Biophysik*; Springer: Berlin, 1995.
(91) Bockenhoff, K.; Fischer, W. R. *Fresen. J. Anal. Chem.* **2001**, *371*, 670-674.
(92) Nagel, W. *Elektronenmikroskopische Laborpraxis*; Springer Verlage, 1981.
(93) Butt, H. J.; Cappella, B.; Kappl, M. *Surfac. Sci. Rep.* **2005**, *59*, 1-152.
(94) Kappl, M.; Butt, H. J. *Part. Part. Syst. Char.* **2002**, *19*, 129-143.
(95) Ploscaru, M.; Kokalj, S. J.; Uplaznik, M.; Vengust, D.; Turk, D.; Mihailovic, D. *Physica Status Solidi B-Basic Solid State Physics* **2006**, *243*, 3325-3328.
(96) Ducker, W. A.; Senden, T. J.; Pashley, R. M. *Langmuir* **1992**, *8*, 1831-1836.
(97) Ducker, W. A.; Senden, T. J.; Pashley, R. M. *Nature* **1991**, *353*, 239-241.
(98) Zogg, A.; Stoessel, F.; Fischer, U.; Hungerbuhler, K. *Thermochim. Acta* **2004**, *419*, 1-17.
(99) Papadaki, M.; Nawada, H. P.; Gao, J.; Fergusson-Rees, A.; Smith, M. *J. Hazard. Mater.* **2007**, *142*, 705-712.
(100) Informationsbroschüre; Thermal Hazard Technology.
(101) Hurley, S. L.; Mittleman, M. L.; Wilkie, C. A. *Polym. Degrad. Stabil.* **1993**, *39*, 345-354.
(102) Khalil, M. I.; Waly, A.; Farag, S.; Hebeish, A. *J. Appl. Polym. Sci.* **1991**, *43*, 2303-2309.
(103) Böhme, M. *Dissertation TU Clausthal* **2001**.
(104) Ziegler, A.; Landfester, K.; Musyanovych, A. *Coll. Polym. Sci.* **2009**, *287*, 1261-1271.

(105) Tauer, K. *Macromolecules* **1998**, *31*, 9390-9391.
(106) Landfester, K.; Eisenblatter, J.; Rothe, R. *Jct Research* **2004**, *1*, 65-68.
(107) Lorenz, S.; Hauser, C. P.; Autenrieth, B.; Weiss, C. K.; Landfester, K.; Mailaender, V. **2010**, *DOI: 10.1002/mabi.201000099*.
(108) Geyer, G. *Ultrahistochemie*; VEB Fischer-Verlag: Jena, 1972.
(109) Tosatti, S.; Michel, R.; Textor, M.; Spencer, N. D. *Langmuir* **2002**, *18*, 3537-3548.
(110) Retsch, M.; Zhou, Z. C.; Rivera, S.; Kappl, M.; Zhao, X. S.; Jonas, U.; Li, Q. *Macromol. Chem. Phys.* **2009**, *210*, 230-241.
(111) Tautzenberger, A.; Lorenz, S.; Kreja, L.; Zeller, A.; Musyanovych, A.; Schrezenmeier, H.; Landfester, K.; Mailander, V.; Ignatius, A. *Biomaterials*, *31*, 2064-2071.
(112) Loudet, A.; Burgess, K. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891-4932.
(113) Karolin, J.; Johansson, L. B. A.; Strandberg, L.; Ny, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7801-7806.
(114) Dausend, J. *Dissertation Universität Ulm* **2009**.
(115) Vorlop, K. D.; Muscat, A.; Beyersdorf, J. *Biotechnol. Tech.* **1992**, *6*, 483-488.
(116) Borsus, J. M.; Jerome, R.; Teyssie, P. *J. Appl. Polym. Sci.* **1981**, *26*, 3027-3043.
(117) Kowalik, T.; Adler, H. J. P.; Plagge, A.; Stratmann, M. *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 2064-2069.
(118) Brandrup, J.; Immergut, E. H. *Polymerhandbook*; Wiley Interscience, 1989.
(119) Norrish, R. G. W.; Smith, R. R. *Nature* **1942**, *150*, 336-337.
(120) Reynhout, X. E. E.; Meuldijk, J.; Drinkenburg, B. A. H. *Aqu. Polym. Dispers.* **2004**, *124*, 64-67.
(121) Romero-Cano, M. S.; Martin-Rodriguez, A.; de las Nieves, F. J. *Langmuir* **2001**, *17*, 3505-3511.
(122) Theisinger, S.; Schoeller, K.; Osborn, B.; Sarkar, M.; Landfester, K. *Macromol. Chem. Phys.* **2009**, *210*, 411-420.
(123) Slawinski, M.; Schellekens, M. A. J.; Meuldijk, J.; Van Herk, A. M.; German, A. L. *J. Appl. Polym. Sci.* **2000**, *76*, 1186-1196.
(124) Vorwerg, L.; Gilbert, R. G. *Macromolecules* **2000**, *33*, 6693-6703.
(125) Hutter, J. L.; Bechhoefer, J. *Rev. Sci. Instrum.* **1993**, *64*, 1868-1873.
(126) Autran, C.; de la Cal, J. C.; Asua, J. M. *Macromolecules* **2007**, *40*, 6233-6238.
(127) Slawinski, M.; Meuldijk, J.; Herk, A. M. V.; German, A. L. 2000; Vol. 78, p 875-885.
(128) Slawinski, M.; Schellekens, M. A. J.; Meuldijk, J.; Herk, A. M. V.; German, A. L. 2000; Vol. 76, p 1186-1196.
(129) Monika, G.; Roque, J. M.; Itxaso, B.; María, P.; María, J. B.; José, M. A. 2009; Vol. 47, p 4871-4885.
(130) Wyman, P.; Crook, V. L.; Hunt, B. J.; Ebdon, J. R. *Des. Monomers Polym.* **2004**, *7*, 301-309.
(131) Strandberg, C.; Rosenauer, C.; Wegner, G. *Macromol. Rapid Comm.*, *31*, 374-379.
(132) Bingol, B.; Meyer, W. H.; Wagner, M.; Wegner, G. *Macromol. Rapid Comm.* **2006**, *27*, 1719-1724.

Abkürzungsverzeichnis

Allgemeine Abkürzungen

AA	Acrylsäure
AEMH	Aminoethylmethacrylat
AFM	Atomkraftmikroskopie
BMA	Butylmethacrylat
CTMA	Cetylmethyltriammonium
D	Polydispersität
D,L-Lactid	(3S)-cis-3,6-Dimethyl-1,4-Dioxan-2,5-dion
EDC	N-Ethyl-N'-Dimethylaminopropylcarbodiimid
EELS	Electron Energy Loss Spectroscopy
Et_3N	Triethylamin
EMA	Ethylmethacrylat
EMAP	Ethylenglykolmethacrylatphosphat
EO	Ethylenoxid
ESI	Element Specific Imaging
FSG	Feststoffgehalt
HAP	Hydroxyapatit
HD	Hexadecan
HEMA	Hydroxyethylenglykolmethacrylat
HMDA	1,6-Diaminohexan
HS	Harnstoff
LMA	Laurylmethacrylat
MAPHOS	Methylmethacrylatphosphonat
MMA	Methylmethacrylat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernspinresonanz)
PCD	Particle Charge Detection (Partikelladungsdetektor)
PDADMAC	Poly(diallyldimethyl-ammoniumchlorid)
PDI	Polydispersitätsindex
PES-Na	Natrium-Polyethylensulfat
PMI	N-(2,6-diisopropylphenyl)perylen-3,4-dicarbonacidimid
$POCl_3$	Phosphorylchlorid
PVPS	Poly(vinylphosphonsäure)
REM	Rasterelektronenmikroskop

rpm	Rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
S	Styrol
SDS	Natrium-Dodecylsulfat
SEMA	2-Sulfoethylmethacrylat
Sulfo-NHS	N-Hydroxysulfosuccinimid
TDI	Toluol-2,4-Diisocyanat
TEM	Transmissionelektronenmikroskopie
THF	Tetrahydrofuran
V-59	2,2'-Azobis(2-methylbutyronitril)
VBPS	Vinyl(benzylphosphonsäure)
VPS	Vinylphosphonsäure

Symbole

$[M]_P$	Monomerkonzentration in den Partikeln
M_0	Molekulargewicht der Monomere
x	Fraktioneller Umsatz
ρ	Dichte
$\bar{n}$	Mittlere Anzahl an Radikalen pro Tröpfchen
k_P	Geschwindigkeitskonstante des Kettenwachstums
N_p	Anzahl an Tröpfchen/Partikeln pro ml
N_A	Avogadro-Konstante (6,022142 x 10^{23} mol^{-1})
D_z	Partikelgröße bestimmt mit DLS
Q_R	Wärmemenge
V	Volumen
ΔH_p	Molekulare Reaktionswärme
t	Zeit

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken die zu dem Gelingen dieser Arbeit auf vielfältige Weise beigetragen haben:

Zu allererst gilt mein Dank Frau Prof. Katharina Landfester für die freundliche Aufnahme in ihren Arbeitskreis, die sehr interessante und facettenreiche Themenstellung und die hilfreichen Diskussionen während der gesamten Zeit in Ulm und Mainz.

Weiterhin gilt mein Dank meiner Projektleiterin Dr. Anna Musyanovych für ihre stetige Unterstützung und die sehr gute Betreuung der Arbeit. Vielen Dank liebe Anna!

Herrn PD Dr. Ulrich Ziener danke ich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Mein Dank gilt auch:

Der Landesstiftung Baden-Württemberg für die finanzielle Unterstützung.

Allen Projektpartnern aus den verschiedenen Abteilungen der Uni Ulm für die gute Zusammenarbeit im Rahmen des Projektes der Landesstiftung Baden-Württemberg: Andrea Tautzenberger und Prof. Anita Ignatius, Annina Steinbach und Prof. Dirk Volkmer. Ein besonderer Dank geht hier an Steffen Lorenz und PD Dr. Volker Mailänder! Danke lieber Steffen für die Hilfe bei verschiedenen biologischen Fragestellungen.

Allen Mitarbeitern der Polymeranalytik in Mainz für die Analyse zahlreicher Proben.

Für die gute Zusammenarbeit in verschiedenen Projekten, danke ich Dr. Anitha Ethirajan, Katrin Schöller, Kilian Schuller, Dr. Julia Dausend, Dr. Martin Dass und Dr. Andrey Turshatov.

Dr. Michael Kappl und Uwe Rietzler aus dem Arbeitskreis von Herrn Prof. Butt am MPIP für die Einführung in die AFM-Technik und die Diskussion der Ergebnisse. Gunnar Glaßer (MPIP), Reinhard Weih (Uni Ulm) sei für die Einführung und Unterstützung bei allen REM und TEM-Messungen und Gabi Herrmann (MPIP) für das Besputtern der Wafer und der AFM-Spitzen gedankt.

Prof. Dr. Claudia Sayer und Prof. Dr. Pedro Araujo (UFSC-Florianopolis/Brasilien) danke ich für viele hilfreiche Diskussionen und die schöne Zeit in Florianopolis, sowie die Hilfe bei der Beantwortung verschiedener reaktionskalorimetrischer Fragestellungen. Hier geht auch ein großes Dankeschön an Fernanda, Narrihma, Thiago und Cristiane für die Hilfe und die vielen gemeinsamen Unternehmungen in Florianopolis.

Hannes Keller danke ich für die Zusammenarbeit mit dem Reaktionskalorimeter im Rahmen seiner Diplomarbeit und Christian Wohnhaas für die Synthese verschiedener Partikel während seines Praktikums in der OCIII.

Vielen herzlichen Dank auch an alle Mitarbeiter der OCIII für die Unterstützung und die schöne Zeit in Ulm. Besonders danke ich Dr. Maria-Verena Kohnle, Dr. Nico Steiert, Christine Urban, Magdalene Zimmermann, Günther Weber und Mike Wendel.

Außerdem danke ich ganz herzlich allen Mitarbeiter des AK Landfester am MPI in Mainz. An dieser Stelle möchte ich besonders meinen Bürokollegen Christoph „Paulchen“ Hauser, Max Siebert, Niki Vogel und Daniel Klinger für die gemeinsame Zeit in Büro 0.311 danken. Es war eine schöne Zeit mit Euch. Ich wünsche Euch viel Erfolg weiterhin! Liebes Paulchen, denk an die „W-L-Balance“!

Ein großes DANKE auch an alle Exil-Ulmer in Mainz, besonders: Eugen, Daniela, Anika, Hendrik, Eva, Christoph, Max, Renate, Steffen, und den „fast Ulmern“ Rüdiger, Niki und Daniel für viele schöne gemeinsame Stunden. Daniela, Hendrik, Anika und Grit -vielen Dank für die gemeinsamen Mittagspausen. Liebe Grit, dir danke ich besonders für die schöne gemeinsame Zeit in Brasilien und für viele weitere fachliche und private Gespräche und Erlebnisse.

Zum Schluss geht mein privater Dank an meine lieben Eltern ohne deren Unterstützung das Studium und damit diese Arbeit nicht möglich gewesen wären. VIELEN DANK! Besonders möchte ich auch meinem Mann Alexander danken. Lieber Alex, danke für deine andauernde Unterstützung und deine unerschöpfliche Geduld. Schön, dass es dich gibt!

Veröffentlichungen

A. Ziegler, K. Landfester, A. Musyanovych
Synthesis of Phosphonate Functionalized Polystyrene and Poly(methyl methacrylate) Particles and their Kinetic Behavior in Miniemulsion Polymerization, Coll. Polym. Sci (2009), 287:1261–1271

A. Tautzenberger, S. Lorenz, L. Kreja, A. Zeller, A. Musyanovych, H. Schrezenmeier, K. Landfester, V. Mailänder, A. Ignatius
Effect of functionalised fluorescence-labelled nanoparticles on mesenchymal sterm cell differentiation, Biomaterials (2010) 31(8):2064-71

A. Zeller, A. Musyanovych, M. Kappl, A. Ethirajan, M. Dass, D. Markova, M. Klapper, K. Landfester,
Nanostructured Coatings by Adhesion of Phosphonated Poly(styrene) Nanoparticles onto Titanium Surface for Implant Material Applications,
ACS Applied Material and Interfaces (2010), *2(8)***,** 2421-2428

A. Zeller, G. Baier, H. Keller, A. Musyanovych, K. Landfester, C. Sayer, P.H. Araujo
Kinetics of Miniemulsion (Co-)polymerization of Styrene with the Hydrophilic Comonomers Acrylic Acid (AA) and Vinylphosphonic acid (VPA) using an Oil-Soluble Initiator,
in Vorbereitung

G. Baier, C. Costa, A. Zeller, D. Baumann, C. Sayer, P.H. Araujo, V. Mailänder, A. Musyanovych, K. Landfester
Investigation of Thermodynamic Parameters of Bovine Serum Albumin (BSA) Adsorption on Differently Charged Polystyrene Nanoparticles using Isothermal Titration Calorimetry. Cellular uptake of Nanoparticles before and after BSA adsorption, (2010) eingereicht

A. Tautzenberger, L. Kreja, A. Zeller, S. Lorenz, A. Musyanovych, H. Schrezenmeier, K. Landfester, V. Mailänder, A. Ignatius
Direct and indirect effects of functionalised fluorescence-labelled nanoparticles on human osteoclast formation and activity, Biomaterials (2010), akzeptiert.

Vorträge

A. Zeller, A. Musyanovych, K. Landfester

Kinetic Studies of Copolymerization Reactions of Styrene with different hydrophilic or hydrophobic Comonomers in Miniemulsion Systems

Institutsseminar am 20. Oktober 2010, Departamento de Engenharia Química e Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasilien

A. Ziegler, S. Lorenz, V. Mailänder, K. Landfester, A. Musyanovych

Phosphonated Polymeric Nanoparticles by Miniemulsion Technique for Biomedical Applications like Titanium Implant Coatings

44th Meeting of the German Colloid Society, 28.-30 September 2009, Hamburg, Deutschland

A. Ziegler, S. Lorenz, V. Mailänder, K. Landfester, A. Musyanovych

Phosphonated Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications

Kolloquium der Landesstiftung Baden-Württemberg, 10./11. September 2009, Sonnenbühl-Erpfingen, Deutschland

Poster

A. Ziegler, V. Mailänder, K. Landfester, A. Musyanovych

Synthesis of Phosphonate and Phosphate Functionalized Polymer Particles via Miniemulsion Technique for Biomedical Applications

28.-30. April 2008, MPI-Meeting, Wiesbaden-Naurod, Germany

A. Ziegler, K. Landfester, V. Mailänder, A. Musyanovych

Phosphonate & Phosphate Functionalized Polymer Particles for Biomedical Applications obtained in Miniemulsion Polymerization

28.-30. September 2008, GdCH-Konferenz “Bio & Polymers- New Polymer Technologies with water”, Aachen, Germany

A. Ziegler, A. Höcherl, S. Lerch, H. Keller, V. Mailänder, A. Musyanovych, K. Landfester

Functional Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications

15./16. Juni 2009, 25 Jahrfeier des Max-Planck-Institutes für Polymerforschung, Mainz, Germany

A. Ziegler, S. Lorenz, A. Musyanovych, V. Mailänder, K. Landfester

Phosphonated Polymeric Nanoparticles and their Interaction with Stem Cells for Drug Delivery in Hard Tissue Implantation

07. Juli 2009, Forschungstag der Landesstiftung Baden-Württemberg, Stuttgart, Germany

Erklärung

Diese Dissertation wurde in der Zeit von November 2007 bis Juli 2008 im Arbeitskreis Organische Chemie III – Makromolekulare Chemie und Organische Materialien der Universität und von August 2008 bis August 2010 im Arbeitskreis Physikalische Chemie der Polymere des Max-Planck-Instituts für Polymerforschung in Mainz erstellt.

Ich versichere hiermit, dass ich diese Arbeit selbstständig angefertigt habe und keine anderen als die angegeben Quellen und Hilfsmittel benutzt sowie die wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Ulm, den _____

Anke Zeller