

3. Einfluss der Molekülarchitektur von Polymeren auf die Stabilisierung von Eisenoxid-Partikeln

3.1. Einleitung

In der Literatur finden sich einige Untersuchungen zum Einfluss der Molekülarchitektur von Pfropfcopolymeren aus Poly-(lysin) und Poly-(ethylenoxid) (PEO) auf die Proteinadsorption von damit beschichteten Oberflächen¹ und auf ihre Anwendung als Schmierhilfsstoffe in wässrigen Systemen.² Pfropfcopolymere mit einem kürzeren Poly-(lysin)-Rückgrat von 20 kDa zeigten gegenüber längerem Poly-(lysin) eine effektivere Verminderung der Proteinadsorption. Die Dichte der gepfropften PEO-Ketten hatte dabei keinen Einfluss auf die Proteinadsorption. Eine verbesserte Schmierwirkung im Versuchsaufbau, bestehend aus einer Stahlkugel auf einer Glasplatte mit definierter Rauigkeit, zeigten Copolymere, bei denen das PEO ein höheres Molekulargewicht besaß und die Dichte der gepfropften PEO-Ketten auf dem Poly-(lysin)-Rückgrat gering war.

Untersuchungen der Proteinadsorption auf Polystyrol-Nanopartikeln, die mit Phenoxy-Dextran und Copolymeren aus Phenoxy-Dextran und PEO beschichtet wurden, ergaben, dass die Anzahl der Phenoxy-Gruppen im Dextran-Molekül die Proteinadsorption stärker beeinflusst als die Dichte der darauf gepfropften PEO-Ketten. Die Phenoxy-Gruppen bildeten dabei die Kontaktstellen des Polymers zur Oberfläche der Polystyrol-Partikel.³

Der Einfluss der Molekülarchitektur auf die Wechselwirkung von Polymeren mit Liposomen wurde von Polozova *et al.* am Beispiel von hydrophob modifizierten Poly-(*N*-isopropylacrylamiden) (PNIPAM) untersucht.⁴ Es zeigte sich, dass die Wechselwirkungen des Polymers mit den Liposomen davon abhingen, ob die hydrophob modifizierten Gruppen zufällig über die Polymerkette verteilt waren oder sich am Ende der PNIPAM-Kette befanden. Waren die hydrophoben Gruppen am Ende der Polymer-Ketten, so bildeten die Polymere überwiegend Assoziate mit den intakten Liposomen. Bei Polymeren mit hydrophoben Gruppen in der Polymer-Kette kam es zu einem Zerfall der Liposomen mit Bildung kleinerer Polymer-Lipid-Aggregate.

Deshpande *et al.* untersuchten den Einfluss von linearen und verzweigten Copolymeren aus Poly- bzw. Oligoethylenoxid und Dimethylaminoethylmethacrylaten (DMAEMA) auf die Komplexierung und Internalisierung von Plasmid-DNS an verschiedenen Zelllinien.⁵ Das Vorhandensein von PEO-Ketten und deren Länge sowie die Anordnung der Blöcke zueinander beeinflussten dabei

die physiko-chemischen Eigenschaften der DNS-Polymer-Komplexe und die Transfektionseffizienz in den getesteten Zelllinien.

In der Literatur finden sich keine systematischen Untersuchungen über die Stabilisierung von Nanopartikeln durch Copolymere unterschiedlicher Architektur und den Einfluss der Molekülarchitektur auf die Stabilität der mit Copolymeren beschichteten Partikel unter physiologischen Bedingungen.

Es soll daher hier untersucht werden, inwieweit sich Polymere aus Poly-(ethylenoxid) (PEO) und Poly-(glutaminsäure) bzw. Poly-(asparaginsäure) zur Stabilisierung von Maghemit-Nanopartikeln unter physiologischen Bedingungen eignen und welchen Einfluss die Molekülarchitektur von Homopolymeren, Block- und Pfropfcopolymeren auf die Partikelgröße und das Zetapotential der beschichteten Partikel hat. Dafür wurden systematisch Copolymere unterschiedlicher Struktur synthetisiert, um den Einfluss (1.) des PEO-Blocks, (2.) der Länge des Poly-(aminosäure)-Blockes und (3.) der Anordnung des PEO- und Poly-(aminosäure)-Blockes zueinander auf die pH-abhängige Stabilität der Partikel zu bestimmen.

Die Zugabe der anionischen Homopolymere zu den Eisenoxid-Partikeln sollte nur zu einer elektrostatischen Stabilisierung der Partikel führen, wohingegen die Verwendung der Pfropf- und Blockcopolymere eine Kombination aus sterischer Stabilisierung durch die PEO-Ketten und elektrostatischer Stabilisierung durch die anionischen Poly-(aminosäure)-Blöcke ermöglicht.

Um in dieser Arbeit die Stabilität unter physiologischen Bedingungen einzuschätzen, wurden die beschichteten Partikel in unterschiedlichen Lösungen untersucht. Als blutisotone Testlösung wurde physiologische Natriumchlorid-Lösung ($C_{NaCl} = 0.154 \text{ mol l}^{-1}$, pH 7.4) gewählt.

Die Maghemit-Partikel wurden mit unterschiedlichen Mengen an Polymeren beschichtet und der hydrodynamische Durchmesser der Partikel (1.) in Wasser direkt nach Beschichtung bei pH 3, (2.) in Wasser nach Einstellung des pH-Wertes auf 7.4 und (3.) in physiologischer Natriumchlorid-Lösung bei pH 7.4 vermessen. Für die bei pH 7.4 in Wasser stabilen Proben erfolgte eine Bestimmung des Zetapotentials. Zum Vergleich wurde zusätzlich der Einfluss des pH-Wertes auf die Größe der verwendeten unbeschichteten Maghemit-Nanopartikel so wie unter Zusatz von PEO untersucht. Als hydrodynamischer Durchmesser D_H ist jeweils der intensitätsgewichtete mittlere Durchmesser der Partikel (*z-average*) angegeben.

3.2. Ergebnisse und Diskussion

In Abbildung 3.1, Abbildung 3.2 und Abbildung 3.3 sind die Strukturformeln und die Molekülarchitekturen der untersuchten Polymere als Schemata zu sehen. Eine Übersicht über die Eigenschaften der Polymere zeigt Tabelle 3.1.

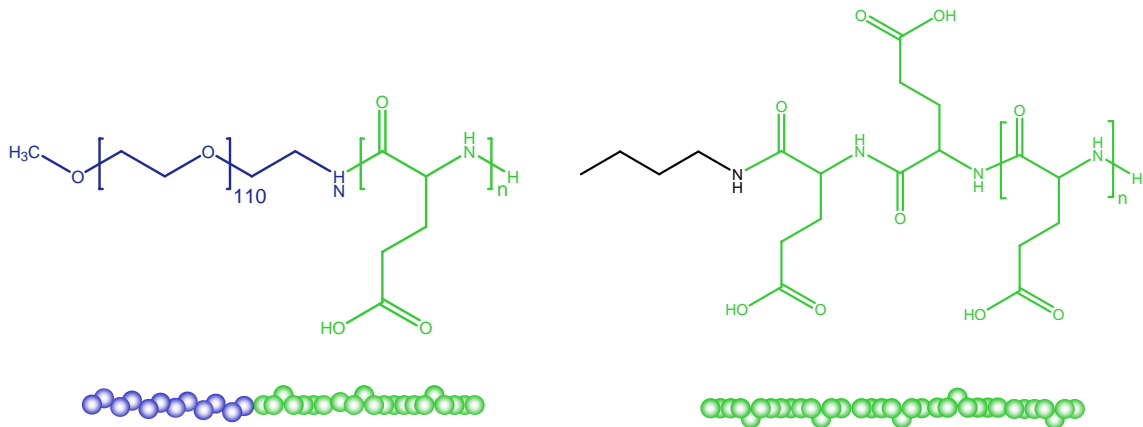


Abbildung 3.1 Zur Beschichtung verwendete Block- und Homopolymere aus Glutaminsäure: Blockcopolymer PEO-*b*-poly-(glutaminsäure)₂₇ (PEO-*b*-Glu₂₇) (links) und Homopolymer n-Butylamin-poly-(glutaminsäure)₂₇ (Glu₂₇) (rechts).

Alle Mengen an verwendeten Feststoffen, Flüssigkeiten und Lösungen wurden über ihre Masse bestimmt, das heißt, alle benötigten Mengen wurden bei Raumtemperatur eingewogen. Für unbeschichtete und beschichtete Partikeldispersionen beziehen sich alle Konzentrationsangaben auf 1 g der Dispersion. Daraus ergibt sich bei Umrechnung der Masse m eines eingewogenen Feststoffes in seine Stoffmenge n die Angabe von Konzentrationen in den Einheiten [mol g⁻¹], das heißt, Stoffmenge pro 1 g Partikeldispersion.

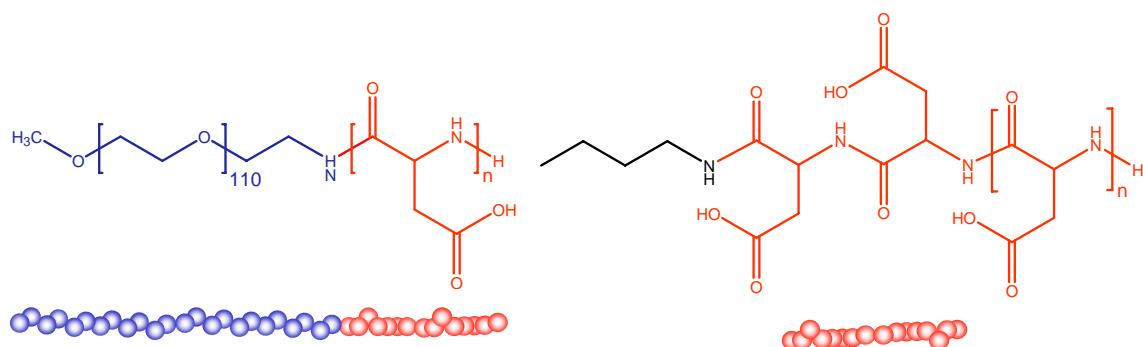


Abbildung 3.2 Zur Beschichtung verwendete Block- und Homopolymere aus Asparaginsäure: Blockcopolymer PEO-*b*-poly-(asparaginsäure)₉ (PEO-*b*-Asp₉) (links) und Homopolymer n-Butylamin-poly-(asparaginsäure) (Asp₉) (rechts).

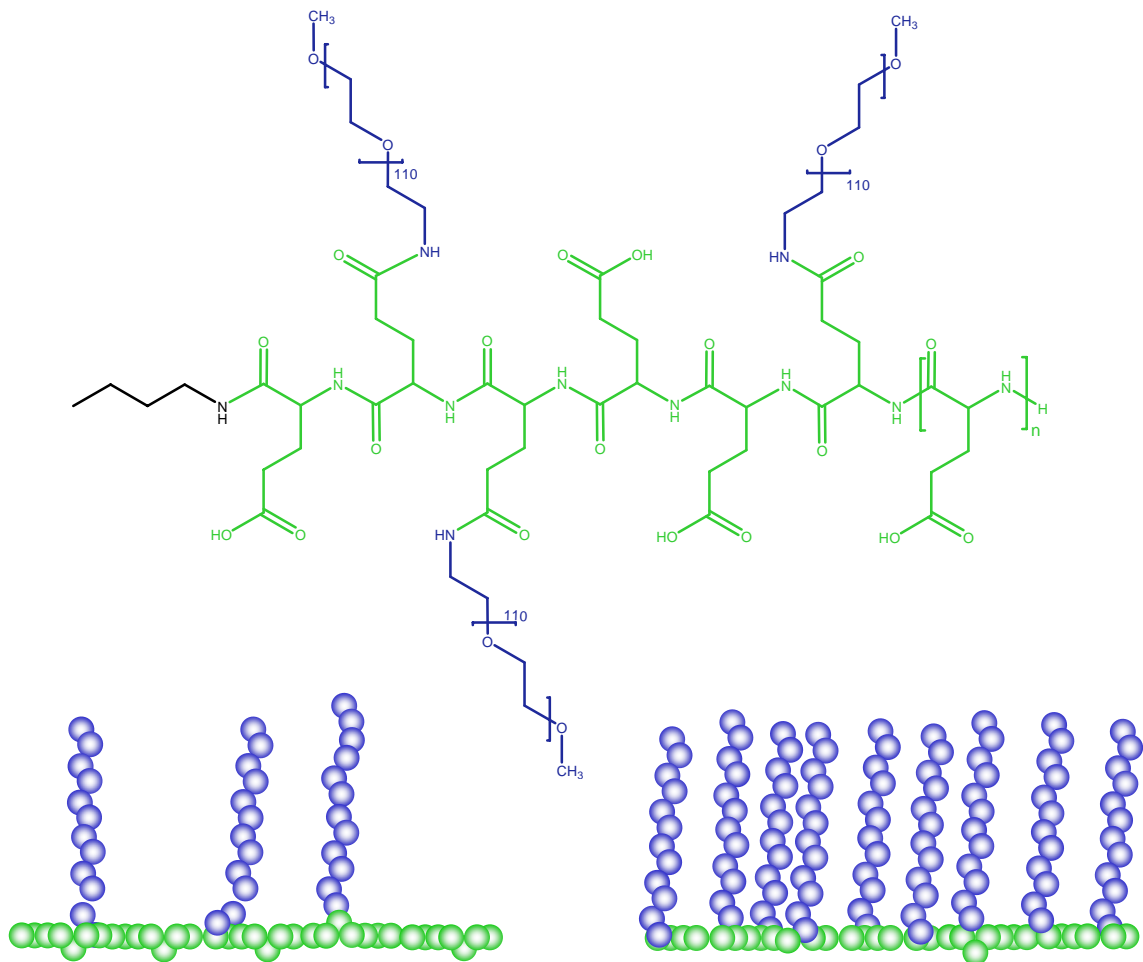


Abbildung 3.3 Strukturformel eines Pfropfcopolymers aus Poly-(glutaminsäure) mit aufgepfropften PEO-Blöcken und schematische Darstellung von n-Butylamin-poly-(glutaminsäure)₃₀-*graft*-PEO₃ (Glu₃₀-*g*-PEO₃) mit 3 Blöcken PEO (unten links) und n-Butylamin-poly-(glutaminsäure)₃₀-*graft*-PEO₉ (Glu₃₀-*g*-PEO₉) mit 9 Blöcken PEO (unten rechts).

Zur besseren Übersichtlichkeit werden zuerst die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchungen für Maghemit-Partikel mit und ohne PEO vorgestellt, danach die Ergebnisse der Stabilitäten für Polymer beschichtete Partikel unterteilt nach pH-Wert 3 und 7.4 und am Schluss die Abhängigkeit der Partikelgröße von der Kettenlänge der Blockcopolymeren.

Polymerbezeichnungen		Architektur	PEO-Blöcke	Aminosäure-einheiten	M_n [g mol ⁻¹]	M_w/M_n
α -Methoxy- ω -amino-poly-(ethylenoxid)	PEO	Homopolymer	1	0	5000	1.1
Poly-(glutaminsäure) ₂₇	Glu ₂₇	Homopolymer	0	27	3600	-
Poly-(glutaminsäure) ₃₀ -graft-PEO ₃	Glu ₃₀ -g-PEO ₃	Pfropfcopolymer	3	30	18500	1.3
Poly-(glutaminsäure) ₃₀ -graft-PEO ₉	Glu ₃₀ -g-PEO ₉	Pfropfcopolymer	9	30	47500	1.5
PEO- <i>block</i> -poly-(glutaminsäure) ₂₇	PEO- <i>b</i> -Glu ₂₇	Blockcopolymer	1	27	8500	1.2
Poly-(asparaginsäure) ₉	Asp ₉	Homopolymer	0	9	1100	-
PEO- <i>block</i> -poly-(asparaginsäure) ₉	PEO- <i>b</i> -Asp ₉	Blockcopolymer	1	9	5900	1.2

Tabelle 3.1 Zur Beschichtung der Nanopartikel verwendete Polymere. M_n , Anzahl der PEO-Blöcke und Anzahl der Aminosäure-Einheiten bestimmt durch ¹H-NMR, M_w/M_n bestimmt durch Größenausschlusschromatographie.

3.2.1. Maghemit-Nanopartikel mit und ohne PEO

Abbildung 3.4 zeigt den hydrodynamischen Durchmesser und Polydispersitätsindex (PDI) von unbeschichteten Maghemit-Partikeln in Wasser als Funktion des pH-Wertes. Der Durchmesser der Maghemit-Partikel beträgt 51 nm bei pH 2.7 und steigt auf 69 nm bei pH 4.1 an. Gleichzeitig mit der Erhöhung des Partikeldurchmessers zeigt sich ein Anstieg des PDI der Proben von 0.14 auf 0.22 bei pH 4.1.

Bei weiterer Anhebung des pH-Wertes wurde die Probe sofort instabil, die Maghemit-Partikel sedimentierten und der Überstand der Lösung war klar und farblos. Der pH-Wert der Probe betrug dabei 5.2. Wurde der pH-Wert weiter angehoben, so blieben die Maghemit-Partikel bis zu einem pH-Wert von 9.5 völlig sedimentiert. Bei einer weiteren Anhebung des pH-Wertes in den stärker basischen Bereich lagen sie dann wieder als stabile Dispersion vor. Die Dispersionen mit basischem pH-Wert blieben aber nur kurze Zeit stabil, nach 2 Tagen waren sie völlig sedimentiert.

In wässriger Lösung sind Maghemit-Partikel durch die Ausbildung einer Schicht aus Eisenhydroxiden geladen und elektrostatisch stabilisiert (siehe Abbildung 2.6). Die Dichte der Oberflächenladung variiert mit der Veränderung des pH-Wertes. Die Partikel sind im sauren pH-Bereich positiv geladen und besitzen eine negative Ladung im basischen pH-Bereich. Ausgehend vom pH-Wert 2.7 wird bei einer Anhebung des pH-Wertes die Dichte der Oberflächenladungen

verringert, bis die Maghemit-Partikel bei einem pH-Wert von ca. 5 nicht mehr ausreichend elektrostatisch stabilisiert sind, aggregieren und sedimentieren. Bei einem pH-Wert von ca. 10 sind die Partikel wieder soweit durch negative Oberflächenladungen geladen, dass sich erneut eine Partikel-Dispersion bilden kann.

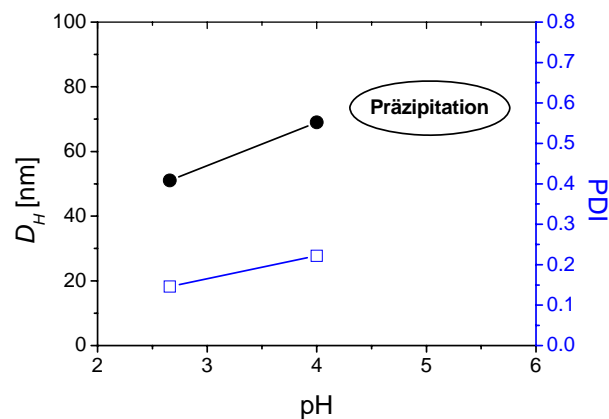


Abbildung 3.4 Hydrodynamischer Durchmesser (●) und Polydispersitätsindex (□) von unbeschichteten Maghemit-Partikeln in Wasser. Durchmesser und Polydispersitätsindex sind als Funktion des pH-Wertes angegeben.

Der isoelektrische Punkt der unbeschichteten Maghemit-Partikel liegt also in einem pH-Bereich von ca. 5 bis 9.5. Dieser Bereich stimmt mit der in der Literatur erwähnten Lage des isoelektrischen Punktes für Maghemit-Partikel überein.⁶

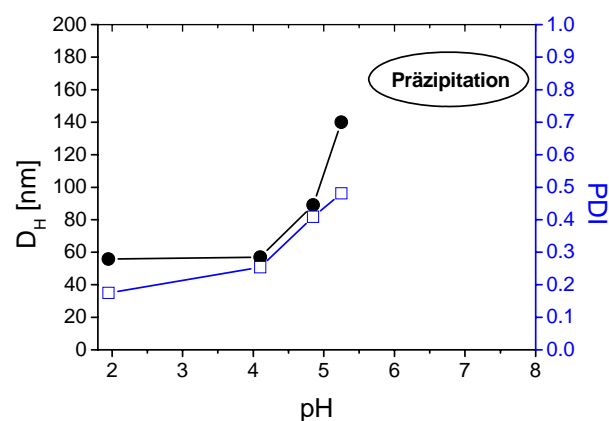


Abbildung 3.5 Hydrodynamischer Durchmesser (●) und Polydispersitätsindex (□) von Maghemit-Partikeln in Wasser mit Zusatz von $2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ PEO. Durchmesser und Polydispersitätsindex sind als Funktion des pH-Wertes angegeben.

Abbildung 3.5 zeigt den hydrodynamischen Durchmesser D_H und den PDI von Maghemit-Partikeln unter Zusatz von PEO ($c_{PEO} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$) in Wasser als Funktion des pH-Wertes. Der Durchmesser der Partikel beträgt 56 nm bei pH 1.9 und 57 nm bei pH 4.1. Bei Erhöhung des pH-Wertes steigt D_H auf 89 nm bei pH 4.9 und 140 nm bei pH 5.2 an.

Gleichzeitig mit der Erhöhung der Partikeldurchmessers zeigt sich ein Anstieg des PDI der Proben von 0.18 auf 0.25 bei pH 4.1 und 0.48 bei pH 5.2. Bei weiterer Erhöhung des pH-Wertes wurde die Probe sofort instabil, die Maghemit-Partikel sedimentierten und der Überstand der Lösung war klar und farblos. Der pH-Wert der Probe betrug dabei pH 5.5.

Der Zusatz von PEO führte zu einer Stabilität der Partikel bis zum pH-Wert 5.2, während Maghemit-Partikel ohne PEO-Zusatz bei diesem pH-Wert schon sedimentierten. Allerdings fielen die Maghemit-Partikel mit PEO bereits bei einer nur geringen Erhöhung des pH-Wertes auf 5.5 vollständig aus. Der Zusatz von $c_{PEO} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ hat also nur einen sehr geringen Einfluss auf die pH-abhängige Stabilität der Maghemit-Partikel.

Die Maghemit-Partikel sind unbeschichtet und mit einem Zusatz von $c_{PEO} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ in einem pH-Bereich, der für die Anwendung der Partikel *in vivo* benötigt wird, nicht stabil.

3.2.2. Stabilität bei pH 3 in Wasser

Alle Proben der Eisenoxid-Partikel mit Polymer waren über den getesteten Konzentrationsbereich an Polymer optisch klar. Es trat bei keiner Probe eine Sedimentation der Partikel auf.

Polymer	$D_{H \text{ MAX}}$ in Wasser pH 3 [nm]	c_{PEO} am $D_{H \text{ MAX}}$ [mol g ⁻¹]	$c_{\text{Aminosäure}}$ am $D_{H \text{ MAX}}$ [mol g ⁻¹]
GLU ₂₇	2600	-	2×10^{-6}
GLU ₃₀ -g-PEO ₃	149	8.3×10^{-8}	8.3×10^{-7}
GLU ₃₀ -g-PEO ₉	D_H konstant ohne Maximum		
PEO- <i>b</i> -GLU ₂₇	99	4.4×10^{-8}	1.2×10^{-6}
Asp ₉	3233	-	1.8×10^{-6}
PEO- <i>b</i> -Asp ₉	164	5.6×10^{-8}	5×10^{-7}

Tabelle 3.2 Hydrodynamischer Durchmesser $D_{H \text{ MAX}}$ der beschichteten Maghemit-Partikel in Wasser beim pH-Wert 3 und Konzentration an Polymer für $D_{H \text{ MAX}}$. Die Polymerkonzentration ist bezogen auf die Menge PEO und Aminosäure angegeben.

Mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung konnte eine deutliche Veränderung der Partikelgröße in Abhängigkeit von der zugegebenen Polymermenge detektiert werden. Es gab mit einer Ausnahme bei allen getesteten Polymeren einen Bereich des Partikelwachstums, ohne dass es dabei zu einer Sedimentation der Partikel kam. Tabelle 3.2 zeigt eine Übersicht über die maximale Partikelgröße $D_{H \text{ Max}}$ und die Menge an zugegebenem Polymer, bezogen auf die Menge PEO und Aminosäure an diesem Punkt.

3.2.2.1. Homopolymer Glu_{27} und Blockcopolymer $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$

Die Polymere Glu_{27} und $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ besitzen einen Poly-(aminosäure)-Block aus 27 Glutaminsäure-Einheiten, an dem sich bei $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ zusätzlich ein PEO-Block anschließt (Strukturformeln siehe Abbildung 3.1).

In Abbildung 3.6 ist der D_H der beschichteten Maghemit-Partikel direkt nach der Beschichtung in Wasser bei pH 3 als Funktion der Konzentration an Glutaminsäure-Einheiten angegeben. Als Vergleich wurden zusätzlich Proben ohne Polymer hergestellt und die Partikelgröße der Maghemit-Partikel gemessen. Es kommt bei Glu_{27} zu einem starken Anstieg der Partikelgröße bis in den Mikrometerbereich. Bei $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ steigt die Partikelgröße dagegen nur bis auf 100 nm an. Die maximale Partikelgröße $D_{H \text{ MAX}}$ tritt für Glu_{27} bei $c_{\text{Glutaminsäure}} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ und für $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ bei $1.2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ auf.

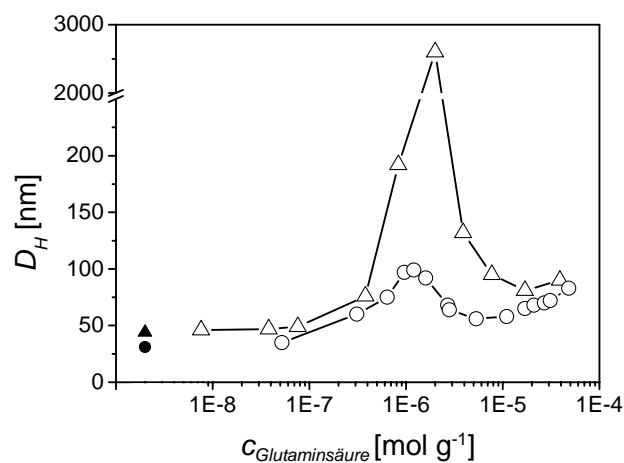


Abbildung 3.6 Hydrodynamische Durchmesser D_H beschichteter Nanopartikel bei pH 3 in Wasser als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu_{27} (Δ) und $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ (\circ). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure). Zusätzlich ist als Vergleich die Größe der unbeschichteten Maghemit-Partikel angegeben (ausgefüllte Symbole).

Die Beschichtung mit Glu_{27} führt zu einer Stabilisierung der Maghemit-Partikel. Es tritt zwar keine Sedimentation der Partikel auf, die Partikelgröße steigt aber

bis in den Mikrometerbereich an. Das Ansteigen der Partikelgröße bei niedrigen Polymer-Konzentrationen und die bessere Stabilisierung bei höheren Polymer-Konzentrationen könnten durch die anfänglich nur wenig mit Polymer belegten Partikeloberflächen verursacht werden. Bei einem niedrigen Belegungsgrad mit Polymer könnten zuerst räumlich begrenzte Areale auf der Partikeloberfläche mit neutraler oder negativer Ladung entstehen. Durch diese negativen Zonen kann es zur Anziehung der positiven, noch nicht mit Polymer besetzten Oberflächen anderer Partikel und einer Bildung kleinerer Aggregate kommen. Dieser Vorgang wird als Mosaikhaftung oder *patching* bezeichnet.⁷ Ein Ansteigen der Polymer-Konzentration führt dann insgesamt zu einer Abschwächung der elektrostatischen Stabilisierung der Partikel durch das gegensätzlich geladenen Glu_{27} und ein Partikelwachstum. Bei höheren Konzentrationen an Polymer werden die Partikel schließlich umgeladen und besitzen einen höheren Belegungsgrad, was wieder zu einer besseren Stabilisierung der Partikel und kleineren Partikelgrößen führt.

Die Instabilität der Partikel bei niedrigen Polymer-Konzentrationen könnte auch durch *depletion* (Verarmung) verursacht sein. *Depletion* tritt auf, wenn die Konzentration an Polymer in der flüssigen Phase größer ist als an der Oberfläche der Partikel, die Polymere adsorbieren nicht an der Partikeloberfläche. Die Polymerkonzentration in der Nähe der Oberfläche ist im Gegensatz zur Adsorption geringer als im Volumen der Lösung. Nähern sich zwei Partikel einander, so kommt es zwischen ihnen zur Ausbildung einer Zone, aus der das in der Lösung befindliche Polymer ausgeschlossen ist. Es entsteht dabei ein osmotischer Druck, der zu einer Anziehung der Partikel führt. Ob Adsorption oder *depletion* auftritt, kann aus dem Verlauf der Grenzflächenspannung abgeschätzt werden. Steigt die Grenzflächenspannung fest/flüssig an, tritt *depletion* auf.⁸

Ein Auftreten des Partikelwachstums durch das Phänomen der Brückenbildung ist unwahrscheinlich, da alle hier verwendeten Polymere nur ein geringes Molekulargewicht besitzen.

Die Einführung des PEO-Blocks am Homopolymer Glu_{27} bewirkt eine verbesserte Stabilisierung der beschichteten Partikel im Vergleich mit Glu_{27} . Für $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ tritt bei pH 3 nur noch ein leichtes Anwachsen der Partikelgröße auf maximal 100 nm auf. Die Partikel können jetzt zusätzlich zu ihrer Oberflächenladung durch Einführung der PEO-Ketten sterisch stabilisiert sein. Die durch Ladungen und Ladungsausgleich hervorgerufenen Effekte haben dadurch einen geringeren Einfluss auf die Partikelstabilität. Ein Auftreten von *depletion*-Effekten wäre aber auch hier möglich.

3.2.2.2. Homopolymer Glu₂₇, Pfropfcopolymere Glu_{30-g}-PEO₃ und Glu_{30-g}-PEO₉

Die Polymere Glu_{30-g}-PEO₃ und Glu_{30-g}-PEO₉ bestehen aus einem Poly-(glutaminsäure)-Block, auf den jeweils eine unterschiedliche Anzahl von PEO-Blöcken aufgepfropft wurde: Glu_{30-g}-PEO₃ besitzt 3 PEO-Blöcke, Glu_{30-g}-PEO₉ 9 Blöcke PEO. (Abbildung 3.3). Die Stabilisierung durch diese beiden Pfropfcopolymere wurde mit der Stabilisierung durch das Homopolymer Glu₂₇ (siehe Abschnitt 3.2.2.1) verglichen.

In Abbildung 3.7 ist der D_H der beschichteten Maghemit-Partikel direkt nach Zugabe der Polymere in Wasser bei pH 3 als Funktion der Konzentration an Glutaminsäure angegeben. Zum Vergleich wurden zusätzlich Proben ohne Polymer hergestellt.

Es tritt bei Glu₂₇ (\diamond) und Glu_{30-g}-PEO₃ (Δ) ein Anstieg der Partikelgröße auf. Bei Glu₂₇ steigt die Partikelgröße bis in den Mikrometer-Bereich auf 2600 nm, während bei Glu_{30-g}-PEO₃ die Partikelgröße zwischen 60 nm und 149 nm liegt. Die maximale Partikelgröße $D_{H \text{ MAX}}$ tritt für Glu_{30-g}-PEO₃ bei $c_{\text{Glutaminsäure}} = 8.3 \times 10^{-7} \text{ mol g}^{-1}$ und für Glu₂₇ bei $c_{\text{Glutaminsäure}} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ auf. Dagegen zeigt Glu_{30-g}-PEO₉ über den gesamten vermessenen Konzentrationsbereich an Polymer eine Partikelgröße von 53 nm bis 83 nm, ohne ein ausgeprägtes Maximum zu besitzen.

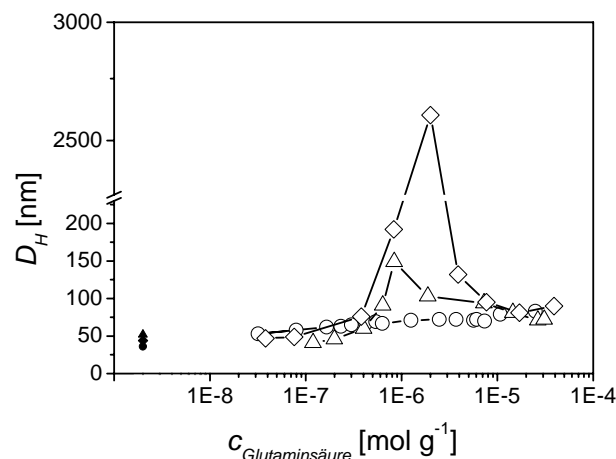


Abbildung 3.7 Hydrodynamische Durchmesser beschichteter Nanopartikel bei pH 3 in Wasser als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu₂₇ (\diamond), Glu_{30-g}-PEO₃ (Δ) und Glu_{30-g}-PEO₉ (\circ). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure). Als Vergleich ist die Größe der Maghemit-Partikel ohne Polymere angegeben (ausgefüllte Symbole).

Die Pfropfcopolymere zeigen eine bessere Stabilisierung der Maghemit-Partikel als das Homopolymer Glu_{27} . Die Einführung der PEO-Ketten bewirkt eine deutliche Verringerung des Partikelwachstums, wobei die Stabilisierung durch $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_9$ mit 9 PEO-Ketten pro Polymermolekül effektiver ist als durch $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_3$ mit 3 PEO-Ketten pro Polymermolekül. Die Einführung von 9 Ketten PEO pro Homopolymer-Kette führt zu einer gleichmäßigen Partikelgröße über den vermessenen Konzentrationsbereich an Polymer.

3.2.2.3. Homopolymer Asp_9 und Blockcopolymer $\text{PEO-}b\text{-Asp}_9$

Die Polymere Asp_9 und $\text{PEO-}b\text{-Asp}_9$ besitzen einen Poly-(aminosäure)-Block aus 9 Asparaginsäure-Einheiten, an dem sich bei $\text{PEO-}b\text{-Asp}_9$ zusätzlich ein PEO-Block anschließt.

In Abbildung 3.8 ist der D_H der beschichteten Maghemit-Partikel direkt nach der Beschichtung in Wasser bei pH 3 als Funktion der Konzentration an Asparaginsäure-Einheiten angegeben.

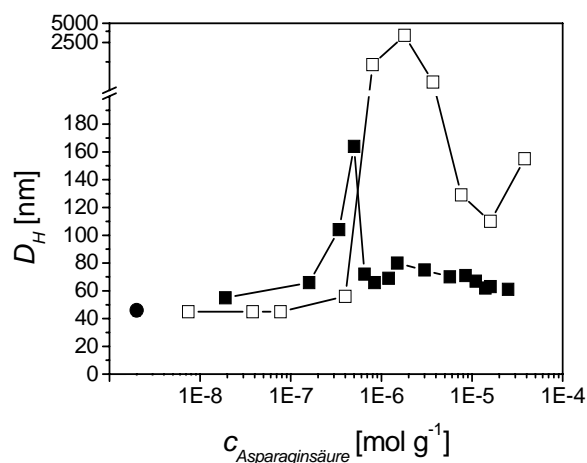


Abbildung 3.8 Hydrodynamischer Durchmesser beschichteter Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Asp_9 (\square) und $\text{PEO-}b\text{-Asp}_9$ (\blacksquare). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(asparaginsäure). Die Nanopartikel wurden bei pH 3 in Wasser vermessen. Als Vergleich ist die Größe der unbeschichteten Maghemit-Partikel angegeben (\bullet).

Die Beschichtung mit Asp_9 führt wie bei Glu_{27} zu einer Stabilisierung der Maghemit-Partikel. Es tritt auch hier keine Sedimentation der Partikel auf, die Partikelgröße steigt aber ebenfalls bis in den Mikrometerbereich. Das Ansteigen der Partikelgröße bei Erhöhung der Polymerkonzentration kann analog zu dem Verhalten der Partikel mit dem Homopolymer Glu_{27} (Abschnitt 3.2.2.1) durch ein Ausgleichen der Oberflächenladung der Maghemit-Partikel, Instabilisierung bei

einer geringen Belegungsdichte oder *depletion*-Effekte zwischen mehreren Partikeln erklärt werden.

Die Einführung des PEO-Blocks am Homopolymer Asp₉ bewirkt auch hier eine verbesserte Stabilisierung der beschichteten Partikel. Es tritt bei pH 3 nur noch ein leichtes Anwachsen der Partikelgröße bis zu 160 nm auf. Die Partikel können jetzt zusätzlich zu ihrer Oberflächenladung durch Einführung der PEO-Ketten sterisch stabilisiert sein. Die durch Ladungen und Ladungsausgleich hervorgerufenen Effekte haben dadurch einen geringeren Einfluss auf die Partikelstabilität. Ein Auftreten von *depletion*-Effekten wäre aber auch hier möglich.

3.2.3. Stabilität bei pH 7.4 in Wasser und in physiologischer Natriumchlorid-Lösung

Die Stabilität der beschichteten Partikel änderte sich mit der Verschiebung des pH-Wertes von pH 3 auf einen pH-Wert von 7.4. Bei Erhöhung des pH-Wertes von 3 auf 7.4 sedimentierte ein Teil der Proben spontan. Die Partikel sedimentierten dabei innerhalb weniger Sekunden völlig, so dass ein klarer farbloser Überstand mit einem Sediment aus Eisenoxid-Partikeln entstand.

Um die Stabilisierung durch die verschiedenen Polymere vergleichbar zu machen, wurde der D_H für bei pH 7.4 stabile Partikel mit der geringsten benötigten Polymermenge verwendet. In Tabelle 3.3 ist der D_H und das entsprechende Zetapotential für stabile beschichtete Partikel mit der geringsten benötigten Polymer-Konzentration in Wasser bei pH 7.4 zu sehen. Die Polymer-Konzentration ist angegeben bezogen auf die Menge PEO und auf die Menge an Aminosäure-Einheiten.

Polymer	Zetapotential [mV]	D_H [nm]	C_{PEO} [mol g ⁻¹]	$C_{Aminosäure}$ [mol g ⁻¹]
Glu ₂₇	-71	115	0	3.9×10^{-6}
Glu ₃₀ -g-PEO ₃	-34	82	2×10^{-7}	2×10^{-6}
Glu ₃₀ -g-PEO ₉	-3	67	1.3×10^{-7}	4.2×10^{-7}
PEO- <i>b</i> -Glu ₂₇	-26	66	1×10^{-7}	2.7×10^{-6}
Asp ₉	-65	171	0	3.7×10^{-6}
PEO- <i>b</i> -Asp ₉	-16	112	3.8×10^{-8}	3.4×10^{-7}

Tabelle 3.3 Hydrodynamischer Durchmesser D_H und Zetapotential der beschichteten Maghemit-Partikel in Wasser beim pH-Wert 7.4. Angegeben ist D_H und das Zetapotential für Partikel mit der jeweils geringsten benötigten Menge an Polymer, um in Wasser bei pH-Wert 7.4 stabile Partikel zu erhalten.

In Tabelle 3.3 ist der D_H für stabile beschichtete Partikel mit der geringsten benötigten Polymer-Konzentration in physiologischer Natriumchlorid-Lösung bei pH 7.4 zu sehen. Die Polymer-Konzentration ist bezogen auf die Menge PEO und auf die Menge an Aminosäure-Einheiten.

Polymer	D_H [nm]	c_{PEO} [mol g ⁻¹]	$c_{Aminosäure}$ [mol g ⁻¹]
Glu ₂₇	97	0	3.9×10^{-6}
Glu ₃₀ - <i>g</i> -PEO ₃	82	2×10^{-7}	2×10^{-6}
Glu ₃₀ - <i>g</i> -PEO ₉	70	1.3×10^{-7}	4.2×10^{-7}
PEO- <i>b</i> -Glu ₂₇	57	1×10^{-7}	2.7×10^{-6}
Asp ₉	206	0	3.7×10^{-6}
PEO- <i>b</i> -Asp ₉	136	3.8×10^{-8}	3.4×10^{-7}

Tabelle 3.4 Hydrodynamischer Durchmesser D_H der beschichteten Maghemit-Partikel in 0.154 molarer NaCl-Lösung beim pH-Wert 7.4. Angegeben ist D_H für Partikel mit der jeweils geringsten benötigten Menge an Polymer, um in 0.154 molarer NaCl-Lösung bei pH-Wert 7.4 stabile Partikel zu erhalten.

Alle beschichteten Partikel, die bei pH 7.4 in Wasser stabil waren, blieben auch in 0.154 molarer NaCl-Lösung bei pH 7.4 stabil, es trat bei keinem der untersuchten Polymere eine Sedimentation oder ein Partikelwachstum durch den Zusatz von Natriumchlorid auf. Die benötigte geringste Polymermenge, um bei pH 7.4 stabile Partikel zu erhalten, war für das einzelne Polymer immer gleich, sowohl in Wasser als auch in physiologischer Natriumchlorid-Lösung (vergleiche Tabelle 3.3 und Tabelle 3.4).

3.2.3.1. Homopolymer Glu₂₇ und Blockcopolymer PEO-*b*-Glu₂₇

Die mit Glu₂₇ stabilisierten Partikel sind in Wasser und 0.154 molarer NaCl-Lösung bei pH 7.4 ab einer $c_{Glutaminsäure} = 3.9 \times 10^{-6}$ mol g⁻¹ stabil, die mit PEO-*b*-Glu₂₇ beschichteten Partikel ab einer $c_{Glutaminsäure} = 2.7 \times 10^{-6}$ mol g⁻¹ (Abbildung 3.9). Die Größe der mit PEO-*b*-Glu₂₇ beschichteten Partikel liegt sowohl in Wasser als auch in NaCl-Lösung unterhalb der mit Glu₂₇ stabilisierten Partikel.

In Abbildung 3.10 ist im Vergleich das Zetapotential und D_H von mit Glu₂₇ und PEO-*b*-Glu₂₇ stabilisierten Partikeln in Wasser zu sehen. Die mit PEO-*b*-Glu₂₇ stabilisierten Partikel zeigen bei gleicher Konzentration an Glutaminsäure-einheiten ein sehr viel weniger negatives Zetapotential als mit Glu₂₇ stabilisierte Partikel.

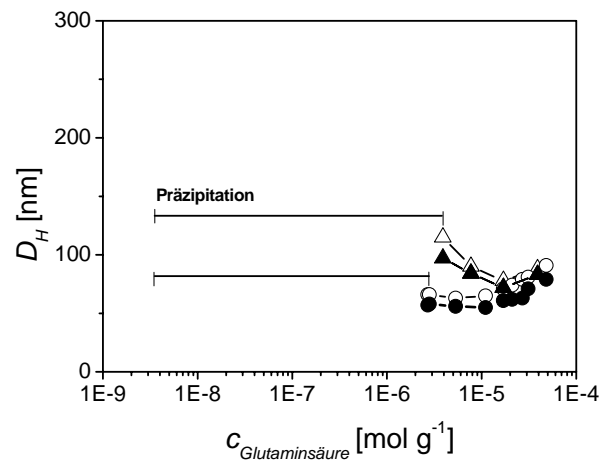


Abbildung 3.9 Hydrodynamischer Durchmesser D_H beschichteter Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu_{27} (Δ) und $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ (\circ). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure). Die beschichteten Maghemit-Partikel wurden in Wasser bei pH 7.4 vermessen (offene Symbole) und in 0.154 molarer NaCl-Lösung bei pH 7.4 (gefüllte Symbole).

Durch die PEO-Ketten von $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ liegt im Vergleich zu Glu_{27} beschichteten Partikeln bei der Messung des Zetapotentials die Scherebene weiter von der Oberfläche der Partikel entfernt. Die PEO-Ketten ragen als „Haare“ von der Oberfläche der Partikel weg, so dass weniger der diffusen Schicht abgeschert werden kann und somit das gemessene Zetapotential einen geringeren Betrag aufweist.

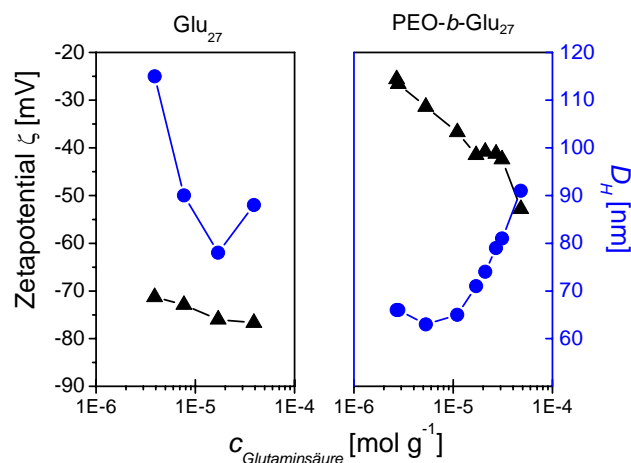


Abbildung 3.10 Zetapotential ζ (\blacktriangle) und hydrodynamischer Durchmesser D_H (\bullet) mit Glu_{27} (links) und $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ (rechts) beschichteter Maghemit-Partikel bei pH 7.4 in Wasser. Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure).

Das Zetapotential von mit PEO-*b*-Glu₂₇ stabilisierten Partikeln sinkt von -26 mV um einen Betrag von 27 mV auf -53 mV ab, gleichzeitig steigt die Größe der Partikel an. Diese Effekte können durch ein Ansteigen der Polymeradsorption bei höherer Polymer-Konzentration erklärt werden. Mit steigender Polymeradsorption nimmt die Anzahl der negativen Ladungen auf dem Partikel zu, so dass das Zetapotential zu negativeren Werten abfällt. Gleichzeitig wird die Belegungsdichte der Partikel immer größer und die PEO-Ketten gehen von einer Knäuel-Konformation in eine gestrecktere Konformation über und vergrößern dadurch den gemessenen hydrodynamischen Durchmesser der Partikel.

Das Zetapotential der mit Glu₂₇ stabilisierten Partikel bleibt annähernd konstant und sinkt nur um 6 mV von -71 mV auf -77 mV. Die Partikelgröße sinkt dabei zunächst stark ab, um bei $c_{\text{Aminosäure}} = 2 \times 10^{-5} \text{ mol g}^{-1}$ wieder anzusteigen. Dieses Verhalten könnte durch ein Auflösen kleinerer Aggregate hervorgerufen werden.

3.2.3.2. Homopolymer Glu₂₇, Pfropfcopolymere Glu₃₀-*g*-PEO₃ und Glu₃₀-*g*-PEO₉

Die Stabilität der Partikel bei pH 7.4 in Wasser und 0.154 molarer NaCl-Lösung beginnt für die drei Polymere bei unterschiedlichen Konzentrationen an Glutaminsäureeinheiten (Abbildung 3.11).

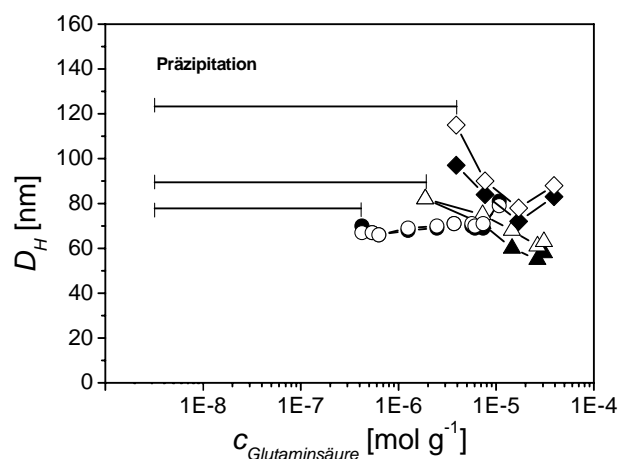


Abbildung 3.11 Hydrodynamische Durchmesser D_H der mit Poly(glutaminsäure) beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu₂₇ (◇), Glu₃₀-*g*-PEO₃ (△) und Glu₃₀-*g*-PEO₉ (○). Nanopartikel wurden gemessen bei pH 7.4 in Wasser (offene Symbole) und physiologischer Kochsalzlösung (gefüllte Symbole). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure).

Partikel mit Glu_{27} sind ab $c_{\text{Glutaminsäure}} = 3.9 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ stabil, $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_3$ stabilisiert die Maghemit-Partikel ab $c_{\text{Glutaminsäure}} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ und $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_9$ ab $c_{\text{Glutaminsäure}} = 4.2 \times 10^{-7} \text{ mol g}^{-1}$.

Die mit $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_9$ beschichteten Partikel zeigen in Wasser und NaCl-Lösung eine konstante Größe zwischen 66 nm bis 71 nm, die bei $c_{\text{Glutaminsäure}} = 1 \times 10^{-5}$ auf 79 nm bzw. 83 nm ansteigt. Dagegen fällt die Partikelgröße bei mit $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_3$ beschichteten Partikeln in Wasser von 82 nm auf 63 nm und in Natriumchlorid-Lösung von 82 nm auf 53 nm. Die Größe der mit Glu_{27} stabilisierten Partikel sinkt in Wasser und NaCl-Lösung bis zu einer Konzentration an Glutaminsäure-Einheiten von $1.7 \times 10^{-5} \text{ mol g}^{-1}$ ab, um dann wieder anzusteigen. Das Verhalten der mit Glu_{27} stabilisierten Partikel wurde bereits in Abschnitt 3.2.2.1 besprochen.

Das Zetapotential der in Wasser bei pH 7.4 stabilen Partikel ist in Abbildung 3.12 zu sehen. Die Partikel zeigen bei gleicher Konzentration an Glutaminsäure-Einheiten für jedes Polymer unterschiedliche Zetapotentiale. Die Kurvenverläufe für Glu_{27} und $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_9$ sind nur leicht fallend. Das Zetapotential von mit Glu_{27} stabilisierten Partikeln sinkt um 6 mV von -71 mV auf -77 mV und von mit $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_9$ stabilisierten Partikeln um 9 mV von -3 mV auf -12 mV. Das Zetapotential für $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_3$ steigt dagegen mit zunehmender Konzentration an Glutaminsäure von -34 mV auf -19 mV.

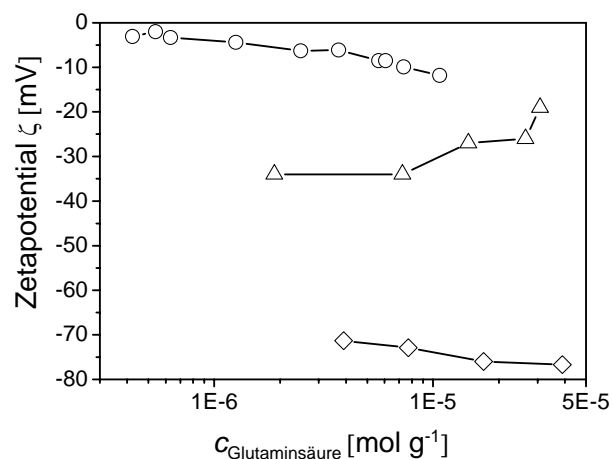


Abbildung 3.12 Zetapotential der mit Poly(glutaminsäure) beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu_{27} (\diamond), $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_3$ (Δ) und $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_9$ (\circ). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure).

Durch die PEO-Ketten befindet sich die Scherebene bei der Messung des Zetapotentials in einem größeren Abstand zur Partikeloberfläche und somit weisen die gemessenen Zetapotentiale von $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_3$ und $\text{Glu}_{30}\text{-g-PEO}_9$

geringere Beträge im negativen Bereich auf als das Zetapotential von mit Glu₂₇ stabilisierten Partikeln. Glu₃₀-*g*-PEO₉ hat einen 3-mal höheren Anteil an PEO-Ketten und die damit stabilisierten Partikel ein noch weniger negatives Zetapotential, verglichen mit Glu₃₀-*g*-PEO₃, was darauf schließen lässt, dass die PEO-Ketten von Glu₃₀-*g*-PEO₉ sich in einer gestreckteren Konformation befinden.

3.2.3.3. Homopolymer Asp₉ und Blockcopolymer PEO-*b*-Asp₉

Die mit Asp₉ stabilisierten Partikel sind sowohl in Wasser als auch in 0.154 molarer Natriumchlorid-Lösung bei pH 7.4 ab einer $c_{\text{Asparaginsäure}} = 3.9 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ stabil, die mit Blockcopolymer PEO-*b*-Asp₉ beschichteten Partikel ab einer $c_{\text{Asparaginsäure}} = 3.4 \times 10^{-7} \text{ mol g}^{-1}$.

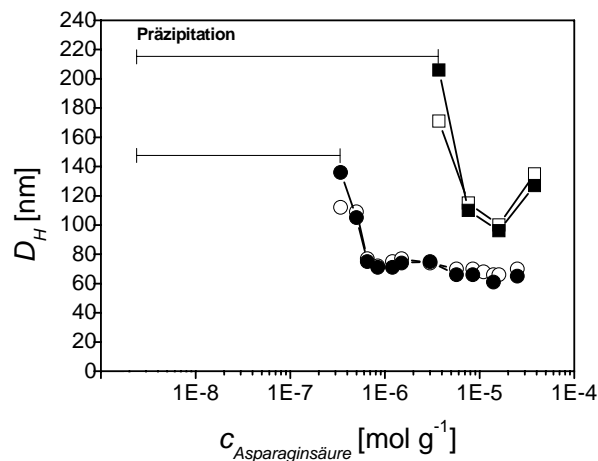


Abbildung 3.13 Hydrodynamischer Durchmesser D_H beschichteter Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Asp₉ (\square) und PEO-*b*-Asp₉ (\circ). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly(asparaginsäure). Die Partikel wurden in Wasser bei pH 7.4 (offene Symbole) und in 0.154 molarer NaCl-Lösung bei pH 7.4 (gefüllte Symbole) vermessen.

Für PEO-*b*-Asp₉ sinkt die Partikelgröße in Wasser ebenso wie in NaCl-Lösung zuerst auf 71 nm ab und bleibt dann konstant. Bei Asp₉ kommt es dagegen nach einem Absinken der Partikelgröße auf 100 nm (Wasser) bzw. 96 nm (NaCl-Lösung) wieder zu einem Anstieg auf 135 nm (Wasser) bzw. 127 nm (NaCl-Lösung). Das Zetapotential der in Wasser bei pH 7.4 stabilen Proben ist in Abbildung 3.14 und Abbildung 3.15 zu sehen.

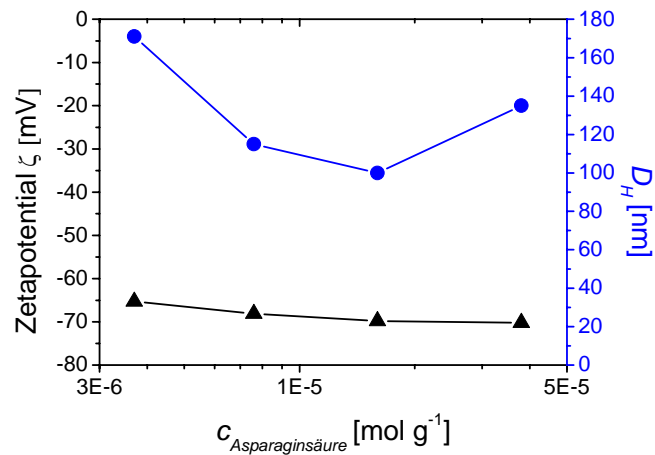


Abbildung 3.14 Zetapotential (▲) und D_H (●) der mit Asp_9 beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration. Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomer-Einheiten der Poly-(asparaginsäure).

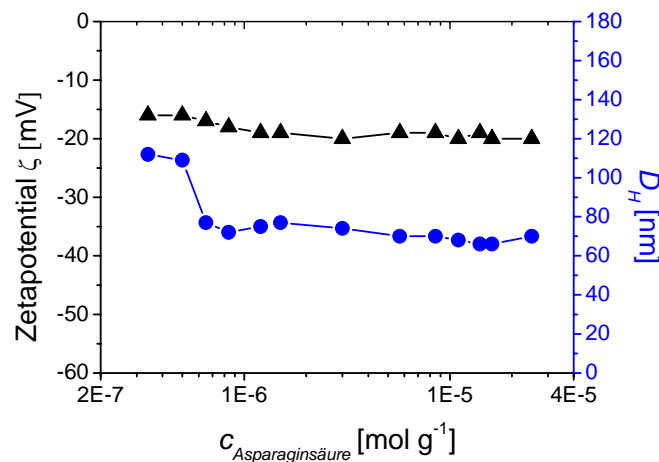


Abbildung 3.15 Zetapotential (▲) und D_H (●) der mit $\text{PEO-}b\text{-Asp}_9$ beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration. Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomer-Einheiten der Poly-(asparaginsäure).

Das Zetapotential liegt für beide Polymere im negativen Bereich und hat bei gleicher $c_{\text{Aminosäure}}$ für mit $\text{PEO-}b\text{-Asp}_9$ stabilisierte Partikel immer einen geringeren Betrag als für mit Asp_9 stabilisierte Partikel. Durch die PEO-Ketten von $\text{PEO-}b\text{-Asp}_9$ wird im Vergleich zu mit Asp_9 beschichteten Partikeln bei der Messung des Zetapotentials die Scherebene weiter von der Oberfläche der Partikel entfernt liegen. Zetapotential und Partikelgröße bleiben ab $c_{\text{Asparaginsäure}} = 6 \times 10^{-7} \text{ mol g}^{-1}$ konstant, was ein Hinweis darauf ist, dass auch

bei einer Erhöhung der Polymerkonzentration kein weiteres Polymer auf der Oberfläche der Partikel adsorbiert.

Das Zetapotential der mit Asp₉ stabilisierten Partikel bleibt konstant und beträgt -65 mV bis -70 mV. Die Partikelgröße sinkt dabei zuerst stark ab, um bei $c_{\text{Aminosäure}} = 1.6 \times 10^{-5} \text{ mol g}^{-1}$ wieder anzusteigen. Dieses Verhalten könnte durch ein Auflösen kleinerer Aggregate hervorgerufen werden.

Vergleicht man den Verlauf des Zetapotentials und die Partikelgröße von mit Glu₂₇ und Asp₉ stabilisierten Maghemit-Partikeln (Abbildung 3.16), so zeigen die stabilisierten Partikel ein ähnliches negatives Zetapotential bei unterschiedlichen Partikelgrößen. Die Form der Kurven und die Mindestmenge an Aminosäure-Einheiten zur Stabilisierung der Partikel ist aber für beide Aminosäuren gleich. Unabhängig von der Aminosäure und der Länge der Homopolymere wird jeweils eine Konzentration von $c_{\text{Aminosäure}} = 4 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ benötigt, um bei pH 7.4 stabile Maghemit-Partikel zu erhalten.

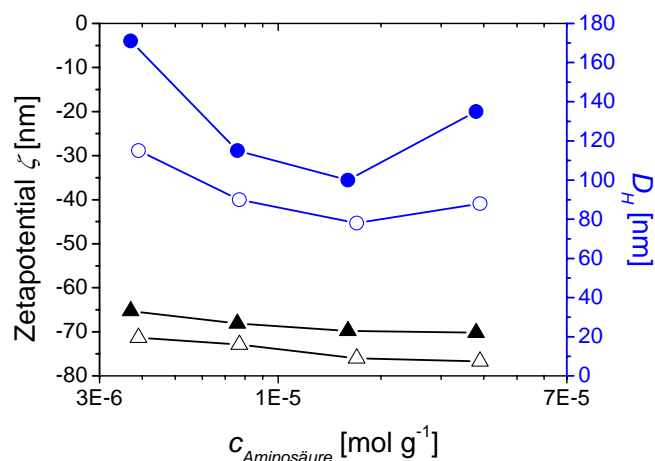


Abbildung 3.16 Zetapotential (▲ und △) und D_H (● und ○) der mit Asp₉ (gefüllte Symbole) und Glu₂₇ (offene Symbole) beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration. Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(aminosäure).

Bei den Copolymeren aus Glutaminsäure und PEO ergibt der Vergleich der geringsten benötigten Polymermengen, um beim pH-Wert 7.4 stabile Partikel zu erhalten, dass, bezogen auf die Menge an PEO, stabile Partikel erst ab einer $c_{\text{PEO}} = 1 \text{ bis } 2 \times 10^{-7} \text{ mol g}^{-1}$ entstehen (Abbildung 3.17), unabhängig davon, ob es sich bei dem Polymer um ein Block- oder ein Pfropfcopolymer handelt. Ein Einfluss der Konzentration an Glutaminsäure auf die mit Blockcopolymeren aus PEO und Glutaminsäure stabilisierten Partikel konnte nicht festgestellt werden.

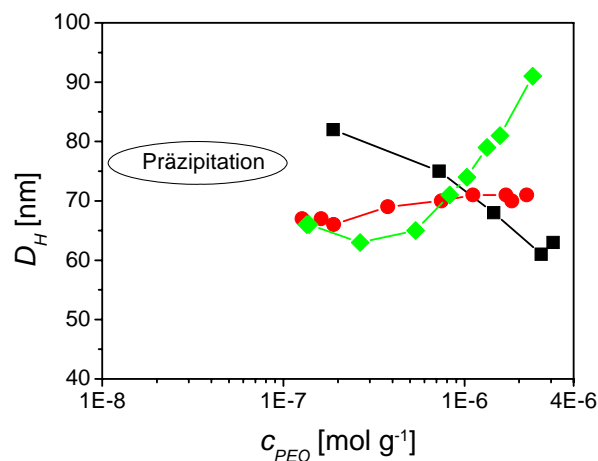


Abbildung 3.17 Hydrodynamischer Durchmesser D_H der Maghemit-Partikel in Wasser bei pH 7.4 als Funktion der Konzentration an PEO für die Polymere $\text{Glu}_{30}\text{-}g\text{-PEO}_3$ (■), $\text{Glu}_{30}\text{-}g\text{-PEO}_9$ (●) und $\text{PEO-}b\text{-Glu}_{27}$ (◆).

Für die Aminosäure Asparaginsäure können keine Aussagen über den Zusammenhang von Partikelstabilität und Konzentration an PEO bzw. Asparaginsäure gemacht werden, da nur zwei Polymere mit Asparaginsäure zur Verfügung standen.

3.2.4. Einfluss von PEO-*b*-poly-(glutaminsäure) mit unterschiedlichen Blocklängen

Um den Einfluss der Länge des Poly-(glutaminsäure)-Blocks auf die Größe der stabilisierten Partikel zu untersuchen, wurden Maghemit-Partikel mit dem Blockcopolymer PEO-*b*-poly-(glutaminsäure) beschichtet, wobei der Poly-(glutaminsäure)-Block 2, 6, 10 und 25 Glutaminsäure-Einheiten besaß. Die Polymerkonzentration betrug dabei, bezogen auf die PEO-Blöcke, jeweils $c_{PEO} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$.

Unabhängig von der Länge des Poly-(glutaminsäure)-Blocks waren alle beschichteten Maghemit-Partikel bei pH 7.4 in Wasser stabil. Weder am Tag der Herstellung noch 55 Tage später konnte eine Sedimentation beobachtet werden. In Tabelle 3.5 sind die gemessenen Werte für D_H am Tag der Beschichtung zu sehen.

PEO hat das Bestreben, in Lösung und auch gebunden an Oberflächen eine Knäuel-Konformation einzunehmen. Wird die Besetzungsdichte auf Oberflächen zu hoch für die Ausbildung einer Knäuel-Konformation, geht das PEO in eine gestreckte Mäander-Konformation über. Es wurde daher die theoretische Länge der Blockcopolymere berechnet, wenn PEO in Mäander-

Konformation oder als Knäuel vorliegt (Länge des PEO in Mäander-Konformation 20 nm, als Knäuel 2.5 nm, Länge einer Glutaminsäureeinheit im Polypeptid in der trans-Konformation 0.36 nm^9) sowie die theoretische Größe von damit beschichteten Maghemit-Partikeln, unter der Annahme, dass ein unbeschichtetes Partikel einen $D_H = 37 \text{ nm}$ besitzt und sich das Polymer nur als Monolage auf der Oberfläche befindet. Die Ausbildung einer α -Helix durch den Glutaminsäure-Block und eine dadurch veränderte Länge des Poly-(glutaminsäure)-Blocks wurde nicht berücksichtigt, da für die Ausbildung einer Helix eine Mindestanzahl von 20 Aminosäuren vorhanden sein muss und dies nur für das längste der untersuchten Polymere zutrifft.^{10,11}

Polymer	Glutaminsäure	PEO _{Mäander} mit Glutaminsäure-Block [nm]	theoret. D_H beschichteter Partikel mit PEO _{Mäander} [nm]	PEO _{Knäuel} mit Glutaminsäure-Block [nm]	theoret. D_H beschichteter Partikel mit PEO _{Knäuel} [nm]	D_H [nm]
PEO- <i>b</i> -Glu ₂	2	20.7	78.5	3.24	43.5	55
PEO- <i>b</i> -Glu ₆	6	22.2	81.4	4.72	46.4	58
PEO- <i>b</i> -Glu ₁₀	10	23.7	84.4	6.2	49.4	74
PEO- <i>b</i> -Glu ₂₅	25	29.3	95.5	11.8	60.5	88

Tabelle 3.5 Hydrodynamischer Durchmesser D_H beschichteter Partikel am Tag der Beschichtung in Abhängigkeit von der Anzahl der Glutaminsäureeinheiten im Polymer. Die Polymerkonzentration betrug jeweils $2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$. Zusätzlich angegeben sind die berechneten Werte für die Länge der Polymerketten und der D_H damit beschichteter Partikel, wenn PEO in Mäander-Konformation oder als Knäuel vorliegt.

Die errechneten Partikelgrößen wurden als Mindestgröße (PEO in Knäuel-Konformation) und maximale Größe (PEO in Mäander-Konformation) in die Tabelle 3.5 und Abbildung 3.18 miteinbezogen. Wie aus Abbildung 3.18 ersichtlich ist, zeigen die beschichteten Maghemit-Partikel in Abhängigkeit von der Anzahl der Glutaminsäureeinheiten des verwendeten Blockcopolymers unterschiedliche hydrodynamische Durchmesser D_H . Zusätzlich ist die Größe der unbeschichteten Maghemit-Partikel bei pH 2 angegeben. Da die unbeschichteten Maghemit-Partikel bei pH Werten über 4 sedimentieren und die Beschichtung der Partikel bei pH 2 erfolgt, wird die Größe der unbeschichteten Partikel bei pH 2 zum Vergleich angegeben.

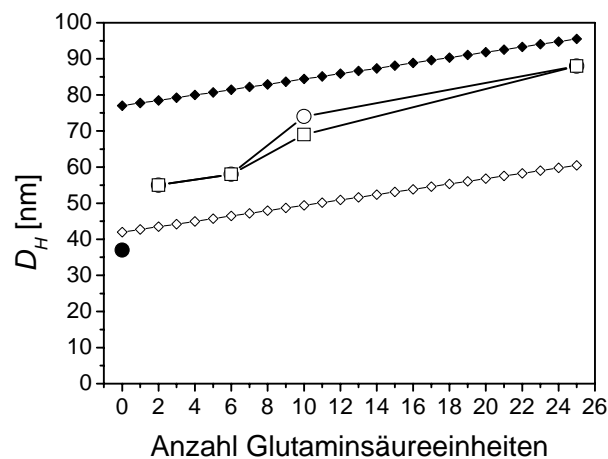


Abbildung 3.18 Hydrodynamischer Durchmesser D_H von mit PEO-*b*-poly-(glutaminsäure) beschichteten Maghemit-Nanopartikeln. Die Partikel wurden vermessen am Tag ihrer Herstellung in Wasser bei pH 7.4 (○) und nach 55 Tagen (□). Als Vergleich wurden die unbeschichteten Maghemit-Partikel (●) vermessen. Zusätzlich wurde D_H für beschichtete Maghemit-Partikel berechnet, wenn der PEO-Block der PEO-*b*-poly-(glutaminsäure) in unterschiedlichen Konformationen vorliegt: Knäuel (◇) und Mäander (◆).

Es ist eine Abhängigkeit der gemessenen Werte für D_H von der Anzahl der Glutaminsäureeinheiten des Poly(glutaminsäure)-Blocks zu erkennen. Die gemessenen Werte für D_H liegen im Bereich zwischen den berechneten Partikelgrößen für die beiden möglichen Konformationen (Knäuel und Mäander) des PEO-Blocks. Die Partikel sind auch nach einer Lagerung von 55 Tagen bei Raumtemperatur beim pH-Wert 7.4 stabil.

Unabhängig von der Länge des Poly-(glutaminsäure)-Blocks waren alle beschichteten Maghemit-Partikel bei pH 7.4 in Wasser stabil. Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass bei der Stabilisierung der Eisenoxid-Partikel vor allem die sterische Stabilisierung durch das PEO dominiert und die Glutaminsäure-Einheiten nur zur Verankerung des Polymers auf der Partikeloberfläche dienen. Eine elektrostatische Stabilisierung und die Veränderungen der Oberflächenladungen durch die anionischen Glutaminsäure-Einheiten spielen dann für die Stabilität der beschichteten Partikel keine Rolle.

3.3. Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde untersucht, inwieweit sich Polymere aus Poly-(ethylenoxid) (PEO) und Poly-(glutaminsäure) bzw. Poly-(asparaginsäure) zur Stabilisierung von Maghemit-Nanopartikeln unter physiologischen Bedingungen eignen und welchen Einfluss die Molekülarchitektur von Homopolymeren, Block- und Pfropfcopolymeren auf die Partikelgröße und das Zetapotential der beschichteten Partikel haben.

Es zeigte sich, dass Homopolymere aus Glutaminsäure und Asparaginsäure Maghemit-Partikel stabilisieren können und in 0.154 molarer NaCl-Lösung bei pH 7.4 stabile Partikeldispersionen entstehen. Die entstehenden Partikel sind dabei unabhängig von der Art der Aminosäure und der Kettenlänge des Homopolymers ab einer Konzentration $c_{\text{Aminosäure}} = 3 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ stabil und weisen auch bei höheren Konzentrationen an Aminosäuren konstante Zetapotentiale im Bereich von -70 mV auf. Es ist daher mit diesen Polymeren nicht möglich, unter physiologischen Bedingungen stabile Partikel mit unterschiedlichem Zetapotential herzustellen.

Werden die Homopolymere der Aminosäuren durch Ketten aus Poly-(ethylenoxid) (PEO) ergänzt, so verändert sich der stabilisierende Effekt deutlich. Die Verwendung von Blockcopolymeren aus PEO und Poly-(aminosäure)n zur Beschichtung der Maghemit-Partikeln führt zu einer verbesserten Stabilisierung der Partikel unter physiologischen Bedingungen im Vergleich zu den Homopolymeren.

Die Verwendung der Copolymere ermöglicht dabei eine Kombination aus sterischer Stabilisierung (PEO-Ketten) und elektrostatischer Stabilisierung durch die anionischen Poly-(aminosäure)-Blöcke. Durch Veränderung der Länge des anionischen Poly-(aminosäure)-Blocks und der Menge der zur Beschichtung verwendeten Copolymere ist es möglich, unter physiologischen Bedingungen stabile Partikel mit unterschiedlichem Zetapotential zu erhalten.

Es zeigte sich außerdem, dass bei den Copolymeren aus PEO und Glutaminsäure die Stabilität der Partikel entscheidend vom PEO-Block beeinflusst wird. Unabhängig von der Art des Copolymers (Block- oder Pfropfcopolymer) und der Anzahl der PEO-Ketten im Polymer benötigt eine effektive Stabilisierung der Maghemit-Partikel eine Konzentration an PEO zwischen 1 bis $2 \times 10^{-7} \text{ mol g}^{-1}$. Es konnte gezeigt werden, dass auch PEO-Ketten mit nur einer sehr geringen Anzahl an Glutaminsäure-Einheiten (2 bzw. 6 Einheiten) effektiv Eisenoxid-Partikel stabilisieren können. Die Glutaminsäure-Einheiten fungieren dabei offensichtlich nur als „Anker“ für die PEO-Ketten, um sie auf der Oberfläche der Partikel zu fixieren.

Für die Aminosäure Asparaginsäure können keine derartigen Aussagen gemacht werden, da nur zwei Polymere mit Asparaginsäure zur Verfügung standen.

Um die Ursachen der auftretenden Instabilitäten der untersuchten Systeme genauer zu bestimmen, müssen weitergehende Untersuchungen an diesen Systemen durchgeführt werden. Dazu gehören zum Beispiel die Veränderung der Grenzflächenspannung durch die Polymere oder die Aufnahme von Adsorptionsisothermen.

Mit Hilfe der bioabbaubaren und biokompatiblen Copolymere aus PEO und Glutamin- bzw. Asparaginsäure lassen sich also unter physiologischen Bedingungen stabile Maghemit-Partikel im Größenbereich von 100 nm und mit variabel einstellbarer Oberflächenladung herstellen, die für eine *in-vivo*-Applikation geeignet sind.

Referenzen

- ¹ Kenausis, G. L.; Vörös, J.; Elbert, D. L.; Huang, N.; Hofer, R.; Ruiz-Taylor, L.; Textor, M.; Hubbell, J. A.; Spencer, N.; Poly(L-lysine)-g-poly(ethylene glycol) layers on metal oxide surfaces: Attachment mechanism and effects of polymerarchitecture on resistance to protein adsorption. *Journal of Physical Chemistry B* **2000**, 104, 3298-3309
- ² Müller, M.; Lee, S.; Spikes, H. A.; Spencer, N.; The influence of molecular architecture on the macroscopic lubrication properties of the brush-like copolyelectrolyte poly(L-lysine)-g-poly(ethylene glycol) adsorbed on oxide surfaces. *Tribology Letters* **2003**, 15 (4), 395-405
- ³ De Sousa Delgado, A.; Leonard, M.; Dellacherie, E.; Surface properties of polystyrene nanoparticles coated with dextrans and dextran-PEO copolymers. Effect of polymer architecture on protein adsorption. *Langmuir* **2001**, 17, 4386-4391
- ⁴ Polozova, A.; Yamazaki, A.; Brash, J. L.; Winnik, F. M.; Effect of polymer architecture on the interactions of hydrophobically-modified poly-(N-isopropylamides) and liposomes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **1999**, 147, 17-25
- ⁵ Deshpande, M. C.; Davies, M. C.; Garnett, M. C.; Williams, P. M.; Armitage, D.; Bailey, L.; Vamvakaki, M.; Armes, S. P.; Stolnik, S.; The effect of poly(ethylene glycol) molecular architecture on cellular interaction and uptake of DNA complexes. *Journal of Controlled Release* **2004**, 97, 143-156
- ⁶ Jarlbring, M.; Surface Reactions in Aqueous Suspensions of Fluorapatite and Iron Oxides. Dissertation **2006**, Luleå University of Technology, Division of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Geosciences
- ⁷ Müller, P.; Untersuchungen zur Wechselwirkung von Mikropartikelsystemen mit Faserstoffsuspensionen. Dissertation **2001**
- ⁸ Dörfler, H. D.; Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme, Springer Verlag **2002**, 210-214
- ⁹ Van Holde, K. E.; Johnson, W. C.; Ho, P. S.; Physical Biochemistry **2005**, 38-40
- ¹⁰ Harada, A.; Cammas, S.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1996**, 29, 6183-6188
- ¹¹ Rinaudo, M.; Domard, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 6360-6364