

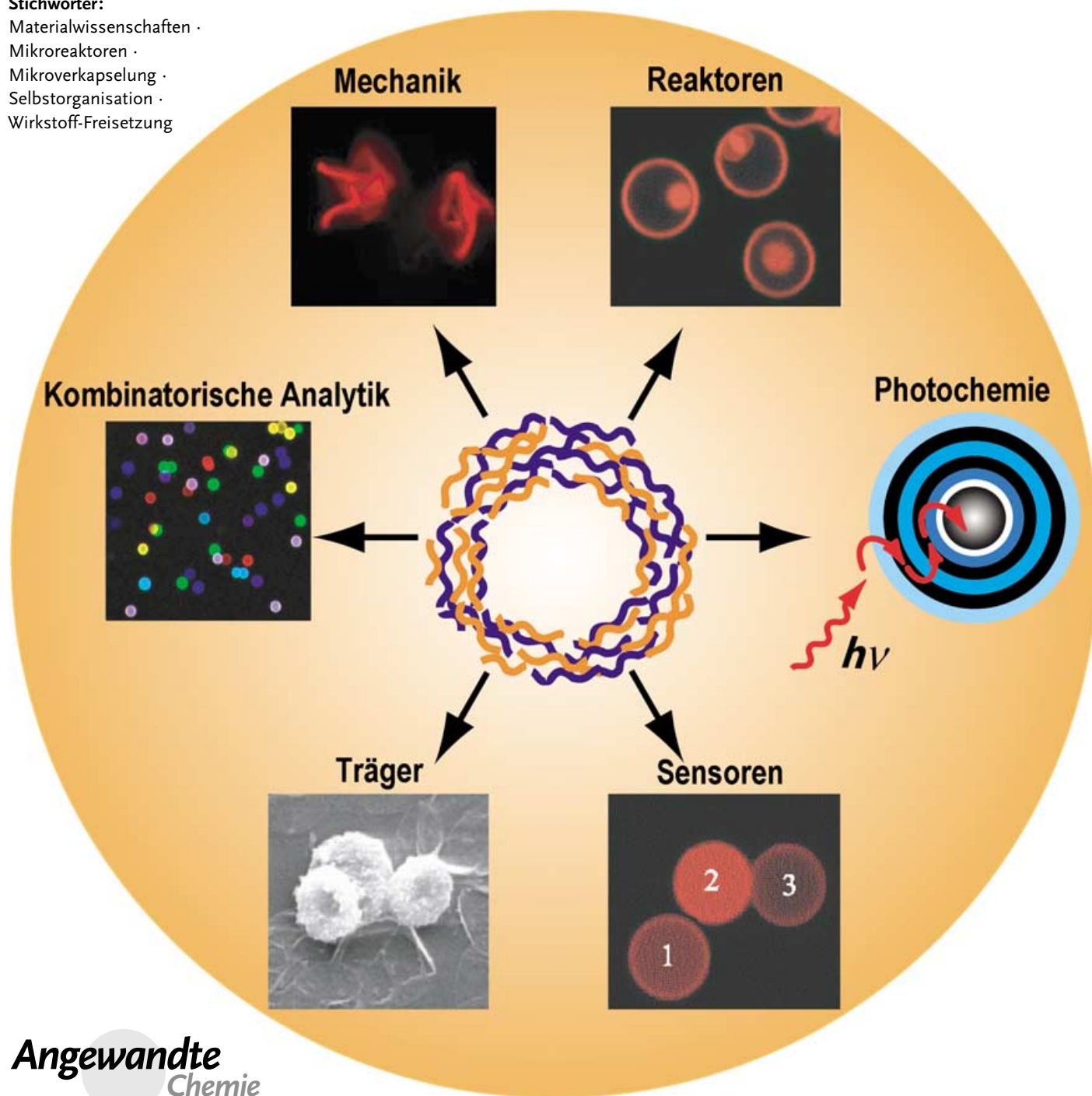
Materialwissenschaften

Maßgeschneiderte Polyelektrolyt-Mikrokapseln: von Multischichten zu smarten Kapseln

Claire S. Peyratout und Lars Dähne*

Stichwörter:

Materialwissenschaften ·
Mikroreaktoren ·
Mikroverkapselung ·
Selbstorganisation ·
Wirkstoff-Freisetzung



Angewandte
Chemie

Gegenstand dieses Aufsatzes sind neuartige Polyelektrolyt-Mikrokapseln, einschließlich ihrer Herstellung und Eigenschaften, insbesondere im Hinblick auf ihre mechanischen und Permeationseigenschaften. Die problemlose Präparation durch einen Layer-by-Layer-Selbstorganisationsprozess, die präzise Kontrolle der Wandstärke und die Flexibilität bei der Wahl der Einzelkomponenten machen die Kapseln für Anwendungen im Life-Science-Bereich und in den Materialwissenschaften interessant. Darüber hinaus können die Kapseln durch ein spezielles Design der inneren und äußeren Oberflächen als Mikroreaktoren für Präzipitations-, Kristallisations- und Polymerisationsreaktionen und in der enzymatischen und heterogenen Katalyse verwendet werden.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	3851
2. Herstellung von Polyelektrolytkapseln	3852
3. Kapseleigenschaften	3861
4. Füllen von Kapseln: Eigenschaften und potenzielle Anwendungen	3866
5. Zusammenfassung und Ausblick	3869

1. Einleitung

Eine Verkapselung von Materialien dient seit jeher dem Schutz von Feststoffen oder Flüssigkeiten vor zerstörenden Umwelteinflüssen. Ein uraltes Beispiel ist die Aufbewahrung von Wein in Lederbeuteln oder in Flaschen zum Schutz vor Luftsauerstoff. Die Natur selbst hat vielfältige Möglichkeiten der Verkapselung, z. B. in Form von Samen oder Vogeleiern, hervorgebracht. Besonders im mikroskopischen Bereich finden sich zahllose Beispiele, etwa pflanzliche und tierische Zellen.^[1] Hier wird neben dem Schutzaspekt eine weitere wichtige Funktion von Verkapselung deutlich: Die Permeationseigenschaften der Kapselwände ermöglichen eine selektive Aufnahme oder Abgabe von Stoffen.

Die Funktionalität natürlicher Kapselstrukturen geht weit über die bisherigen Möglichkeiten künstlicher Kapseln hinaus. Die in diesem Aufsatz präsentierten Beispiele sollen aufzeigen, dass die Arbeiten auf dem Gebiet der künstlichen Mikroverkapselung, besonders hinsichtlich der erzeugten Strukturen und Permeationseigenschaften, bereits in Richtung Herstellung künstlicher Zellen gehen, obwohl die ersten Mikroverkapselungstechniken erst vor ungefähr 30 Jahren beschrieben wurden. Heutzutage finden sich Mikrokapseln in vielen technischen Anwendungen, unter anderem in der Pharmazie und der Kosmetik, in der Lebensmittel-, Textil- und Klebstoffindustrie sowie in der Landwirtschaft.^[2–4]

Eines der ältesten Beispiele technischer Anwendungen findet sich in der Druckindustrie. Hier dienen farbstoffhaltige Kapseln, die durch Koazervation von Gelatine und Gummi arabicum erzeugt und in Papier eingelagert werden, als Ersatz für Kohlepapier bei Vervielfältigungsprozessen. Durch mechanischen Druck werden die bis dahin undurchlässigen Kapseln zerstört und der Farbstoff freigesetzt.^[5]

Das höchste Anwendungspotenzial haben Systeme aus Mikrokapseln gegenwärtig in der pharmazeutischen Industrie, da sie in der Lage sind, den vielfältigen Anforderungen hinsichtlich des Wirkungszeitpunktes und -ortes von Pharmaka bei ausreichender Wirkstoffkonzentration zu genügen. Ein einfaches Beispiel ist die Verhinderung eines unerwünschten Säureangriffs auf oral applizierte Pharmaka im

Magen. Der Schutz erfolgt hier durch die Verwendung von Gelatinekapseln, die bei den niedrigen pH-Werten im Magen unlöslich sind und so die gewünschte spätere Freisetzung des Wirkstoffes im Darmtrakt ermöglichen.^[6]

Ein weitaus schwierigeres Problem ist die verzögerte Freisetzung von Wirkstoffen im Körper. Normalerweise erreicht die zur Dämpfung eines Schmerzes notwendige Wirkstoffkonzentration von Analgetica nach oraler Aufnahme ein Maximum nach 20 bis 30 Minuten, danach sinkt der gewünschte Effekt schnell wieder ab. Für derartige Fälle wären Verkapselungstechniken wünschenswert, die eine gesteuerte Wirkstofffreisetzung im Magen-Darm-Trakt ermöglichen. Moderne Wirkstofftransportsysteme auf der Basis gekapselter Wirkstoffe in Alginat oder Poly(milchsäure-co-glycolsäure) (PLGA)^[4] ermöglichen eine kontinuierliche Wirkstofffreisetzung durch die langsame und steuerbare Zersetzung der Polymere.^[7]

Ein bislang ungelöstes Problem ist eine getriggerte Wirkstofffreisetzung, bei der die verkapselten Pharmaka ohne Verluste zum Zielorgan geführt und dann durch spezifische interne oder externe Stimuli freigesetzt werden. Die Testung unterschiedlicher Auslösesysteme auf der Basis von Mikrowellen, Laserlicht oder Magnetfeldern als Stimulus führte bislang nicht zum Erfolg.

Mehrere Ansätze wurden zur Fertigung von Nanokapseln entwickelt.^[8] Genutzt werden zum einen Systeme, die durch Selbstorganisation Nanokapseln bilden. Ein bekanntes Beispiel ist die Aggregation von Lipidmolekülen zu kugelförmigen Doppelschichtstrukturen (Vesikeln oder Liposomen).^[9,10]

[*] Dr. L. Dähne
Capsulation Nanoscience AG
Volmerstraße 7b, 12489 Berlin (Deutschland)
Fax: (+49) 30-6392-3601
E-mail: lars.daehne@capsulation.com

Dr. C. S. Peyratout
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung
14424 Potsdam (Deutschland)

[†] Ein Verzeichnis der hier verwendeten Abkürzungen findet sich am Ende des Aufsatzes.

Diese relativ instabilen Strukturen können als Vorstufen für die Vernetzung der Lipide zu stabilen Nanokapseln dienen. Die erforderliche chemische Funktionalisierung der Lipide führt jedoch zu einer eingeschränkten In-vivo-Anwendbarkeit. In ähnlicher Weise können amphiphile Blockcopolymere in wässriger Lösung zu vesikulären Strukturen aggregieren.^[11]

Ein zweiter Ansatz zur Erzeugung von Kapseln beruht auf der Suspensions- und Emulsionspolymerisation von Latexpartikeln. Für die nachträgliche Entfernung der Latextemplate sind jedoch drastische Reaktionsbedingungen wie längere Säure- oder Laugenbehandlungen bei hohen Temperaturen erforderlich.^[12,13]

Eine dritte Methode zur Nanoverkapselung basiert auf der Anwendung von Dendrimeren oder stark verzweigten Polymeren.^[14,15] Die Herstellung derartiger Systeme bleibt in jedem Falle eine kostenintensive und langwierige Prozedur, die den limitierenden Faktor für mögliche Anwendungen ausmacht.

Eine weitere Möglichkeit zur Herstellung von Kapseln ist der Aufbau von Membranen auf Templaten, die in einem Folgeschritt herausgelöst werden. Da die Auflösungsprodukte aus dem Kapselinneren entfernt werden müssen, bieten sich für diesen Ansatz semipermeable Membranen aus Polyelektrolytkomplexen an. Polyelektrolytkapseln wurden erstmalig durch tropfenweises Hinzufügen einer Lösung eines Polykations zur Lösung eines Polyanions hergestellt. An der Grenzfläche bildet der entstehende unlösliche Komplex die Kapselwand. Die Eigenschaften von Polyelektrolytkapseln werden durch die Konzentration der Lösung, die verwendeten Polymermaterialien und die Tropfengröße bestimmt. Der Durchmesser solcher Kapseln ist größer als 20 µm bei Wandstärken größer als 100 nm.^[16,17]

Die Fertigung spezieller Polyelektrolytkapseln geringerer Abmessungen wurde durch die Anwendung der Layer-by-Layer (LbL)-Technik^[18] möglich – diese Kapseln sind Gegenstand dieses Aufsatzes. Nach einer kurzen Einführung in die LbL-Technik werden Methoden und Materialien für die Herstellung der LbL-Mikrokapseln beschrieben. Anschließend werden entscheidende Eigenschaften, insbesondere die Permeabilität und die mechanische Stabilität, diskutiert und unterschiedliche Beladungstechniken vorgestellt.

2. Herstellung von Polyelektrolytkapseln

2.1. Polyelektrolytfilme auf planaren Oberflächen

Ein Kernbereich der Forschungen zu dünnen Polymerfilmen auf der Basis nichtkovalenter Wechselwirkungen ist der elektrostatische LbL-Schichtaufbau (siehe Übersichtsartikel Lit. [19–22,159]). Die LbL-Technik, Anfang der 90er Jahre entwickelt, basiert auf der alternierenden Adsorption mehrfach geladener kationischer und anionischer Spezies. Ihre Popularität verdankt die Methode der möglichen Erzeugung maßgeschneiderter dünner Polymerfilme mit einer nahezu unbegrenzten Zahl funktioneller Gruppen, die in die Filmstruktur eingebracht werden können. Diese Flexibilität wird durch einfache, preiswerte und leicht zugängliche Adsorptionsprozesse erreicht.

Die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Polyionen in Lösung und entgegengesetzt geladenen Grenzflächen bilden die Basis für die Herstellung von Filmen aus polyionischen dünnen Schichten. Während des Selbstorganisationsprozesses schreitet die Polymeradsorption bis zur vollständigen Umkehrung der Oberflächenladung fort, sodass im nächsten Schritt das entgegengesetzt geladene Polyion adsorbiert werden kann. Die alternierende Adsorption von Polykationen und Polyanionen kann nach Belieben wiederholt werden. Die Herstellung und die Eigenschaften von dünnen Filmen aus elektrostatisch aufgebauten Multischichtsystemen sind kürzlich umfassend besprochen worden,^[23–25] weshalb im vorliegenden Aufsatz nur geladene Komponenten beschrieben werden, die für die Kapselherstellung besonders relevant sind (Schema 1)

2.1.1. Multischichtmaterialien

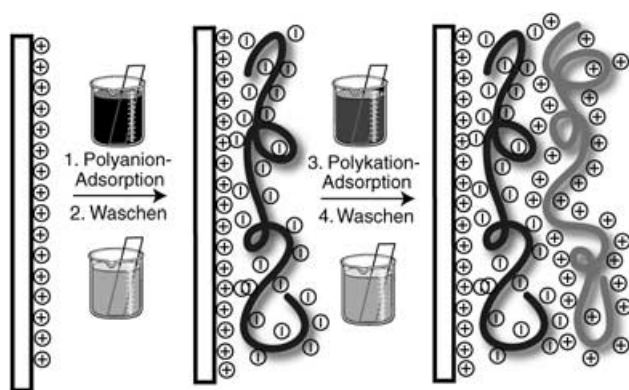
Eine Vielzahl von geladenen Polymeren, die mit der LbL-Technik zu dünnen Filmen angeordnet wurden, ist beschrieben worden. Die meisten der verwendeten Polyelektrolyte sind kommerziell erhältlich, Beispiele sind Poly(ethylenimin) (PEI), Poly(allylamin) (PAH), Poly(diallyldimethylammoniumchlorid) (PDADMAC), Poly(styrolsulfonat) (PSS), Poly(vinylsulfat) (PVS) und Poly(acrylsäure) (PAA) (Strukturen siehe Tabelle 2).



Claire S. Peyratout erwarb 1990 einen Abschluss an der Ecole Supérieure de Chimie Organique & Minérale (Paris). Ein Jahr zuvor begann sie ihr Promotionsstudium an der Purdue-Universität, Indiana, und beschäftigte sich dort unter der Leitung von Prof. D. R. McMillin mit Studien zur Rolle von Metallen in biologischen Systemen. Nach Abschluss der Promotion (1994) wechselte sie nach Strasbourg (Frankreich) und unterrichtete dort Physik und Chemie. Seit 1997 ist sie Forschungsassistentin am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung (Abteilung Prof. H. Möhwald). Ihr Forschungsschwerpunkt ist die Wechselwirkungen von Polyelektrolyten mit Farbstoffen und biologischen Molekülen.



Lars S. Dähne, geboren 1959 in Berlin, studierte Chemie an der Humboldt-Universität zu Berlin und promovierte 1991 in Organischer Chemie (Prof. J. Bendig). Nach Postdoc-Aufenthalt an der Universität Nagoya (Japan) bei Prof. J. Tanaka und der Technischen Universität Braunschweig (Prof. W. Grahn) wechselte er 1994 an das Institut für Physikalische Chemie der Freien Universität Berlin (Prof. H. Baumgärtel). Für seine dortigen Forschungen, die mit dem Preis der Otto-Röhm-Gedächtnisstiftung ausgezeichnet wurden, erhielt er 1998 die Habilitation. 1999 wechselte er an das Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung (Abteilung Prof. E. Donath/Prof. H. Möhwald). 2001 gründete er gemeinsam mit Kollegen die Firma Capsulation NanoScience AG.



Schema 1. Prinzip der Herstellung von Multischichtfilmen durch abwechselnde Adsorption von anionischen und kationischen Polyelektrolyten (mehrfache Wiederholung beider Schritte). Die Darstellung ist stark vereinfacht, in der Realität durchdringen sich die Schichten. (In veränderter Form aus Lit. [20].)

Der Einsatz von Funktionspolymeren als LbL-Materialien ist weitreichend und umfasst leitfähige, lichtleitende, nichtkonjugierte redoxaktive und reaktive Polymere, Polymerkomplexe, flüssigkristalline Polyelektrolyte, Polymere mit nichtlinearen optischen Eigenschaften sowie temperatursensitive und schaltbare Polymere und Dendrimere. Darüber hinaus werden gängige Polyelektrolyte, die durch wenige funktionelle Einheiten modifiziert sind, in Markierungsexperimenten oder zur Untersuchung von molekularen Erkennungsprozessen genutzt. Das zunehmende Angebot an kolloidalen Teilchen, die in Multischichten eingebaut werden können, macht den Einbau von Nanopartikeln in LbL-Filme zu einem umfassend bearbeiteten und schnell wachsenden Forschungsgebiet. Bislang sind stabile kolloidale Systeme aus Siliciumdioxid, Metalloxiden, Polyoxometallaten, Halbleitern und Fullerenen sowie auch Metallkolloide, supramolekulare Metallkomplexe, geladene Latexpartikel, Mikrokristalle, Tonplättchen und geladene anorganische Schichten zur Erzeugung von LbL-Schichten eingesetzt worden. Weiterhin finden natürlich vorkommende Polyelektrolyte wie Nucleinsäuren, Proteine, Polysaccharide, aber auch geladene supramolekulare biologische Ensembles wie Viren oder Membranfragmente Anwendung in der LbL-Technik. Die Motivation für derartige Untersuchungen ist die Nachahmung biologischer Funktionen, beispielsweise zur Biokompatibilisierung von Oberflächen, zur Sensorentwicklung oder für Untersuchungen von Enzymaktivitäten sowie zur molekularen Erkennung.

2.1.2. Substrate

Da für die Aufbringung von Polyionen nur eine minimale Oberflächenladung erforderlich ist, wurde bereits eine Vielzahl an Substraten verwendet. Die Oberflächenladung kann entweder bereits vorhanden sein oder durch Oberflächenbehandlung erzeugt werden. Hier sollen hauptsächlich Substrate aus Siliciumdioxid und Polystyrol (PS) erwähnt sein, die häufig in der Kapselherstellung Anwendung finden. Auch einige biologische Template wurden bereits verwendet: So wurden Multischichten auf stark zelladhäsiven biologischen

Oberflächen wie Extrazellulärmatrix oder Typ-I-Kollagen aufgebracht, um Zell- und Protein-Adhäsion auf solchen Oberflächen zu verhindern.^[26,27]

2.1.3. Permeabilität

Die Permeabilität von LbL-Schichten ist eine entscheidende Eigenschaft von Polyelektrolytkapseln, sodass wir hier einige Studien zu den Permeationseigenschaften planarer Polyelektrolytfilme vorstellen, die teilweise auf Kapselsysteme übertragbar sind. Rubner und Mitarbeiter untersuchten den Einfluss des pH-Wertes auf dünne Filme schwacher Polyelektrolyte wie PAA und PAH.^[28] In diesen Systemen kann die Ladungsdichte entlang der Ketten leicht durch Variation des pH-Wertes der zum Schichtaufbau verwendeten Polyelektrolytlösungen eingestellt werden. Auf diese Weise lässt sich die Schichtdicke der adsorbierten Schichten aus schwachen Polykationen und Polyanionen zwischen 5 und 80 Å variieren. Die Inkubation zuvor aufgebrachter Multischichten bei anderen pH-Werten hat starke und irreversible Änderungen der Filmmorphologie zur Folge. Beispielsweise zerstören bei Schichten aus schwachen Polysäuren (z.B. PAA) niedrige pH-Werte die ionische Bindung zwischen den Ketten durch Protonierung der Carboxylat-Gruppen und beeinflussen den Ladungsausgleich innerhalb der LbL-Filme. So entstehen mikroporöse Strukturen mit bis zu 100 nm großen Poren, die gegenüber den ursprünglichen Filmen eine zwei- bis dreifach höhere Schichtdicke aufweisen.^[29]

Kürzlich wurden die Füllkapazität und das Freisetzungverhalten von PAA/PAH-Filmen mithilfe des Indikatorfarbstoffes Methylenblau untersucht. Diese Filme, die bei pH-Werten von 2.5 aufgebaut wurden, akkumulierten den Farbstoff bei höheren pH-Werten aufgrund von entstehenden Bindungsstellen und einer permeablen Struktur der Multischichten. Die Autoren konnten die pH-sensitiven Beladungs- und Freisetzungsmechanismen des Farbstoffes in LbL-Filmen eindrucksvoll zeigen.^[30,31]

Der Einfluss der Salzkonzentration auf die Stabilität, die Permeabilität und die Schichtdicke von Multischichtfilmen aus einer schwachen Polysäure und einem stark dissoziierten Polykation wurde ebenfalls untersucht. Bereits gebildete Multischichten zerfallen bei hohen Salzkonzentrationen schnell und im Falle von Polyelektrolyten mit hohem Molekulargewicht beider Komponenten auch vollständig. Die Auflösung der durch Polymer-Polymer-Wechselwirkungen gebildeten LbL-Filme wird durch konkurrierende Bindung zu den externen Ionen des Salzes verursacht, wie durch elektrochemische Untersuchungen an Polyelektrolytbeschichteten Elektroden nachgewiesen wurde.^[32]

Die Permeabilität von LbL-Filmen für Ionen, Gase und gelöste Stoffe war ebenfalls Gegenstand verschiedener Untersuchungen. Als ein Beispiel sei die konduktometrische Bestimmung von Ionen-Permeabilitäten genannt.^[33] Die multi-bipolare Struktur von Polyelektrolytmembranen ermöglicht die Trennung von einfach und doppelt geladenen Ionen infolge des Donnan-Potentials. Die Permeabilitätsgeschwindigkeit der Ionen und die Selektivität werden durch Faktoren wie Salzkonzentration, pH-Wert und Ladungsdichte der Polymere bestimmt. Diese Effekte wurden in Abhängig-

keit von der Ladungsdichte und der Konzentration von Überschussladungen in Polyelektrolytmembranen untersucht.^[34]

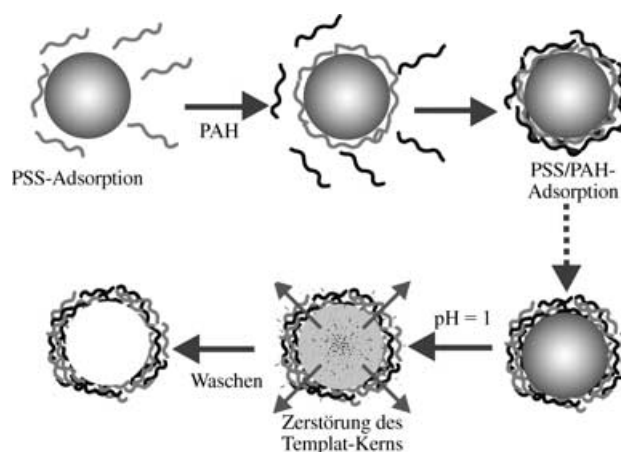
Die selektive und steuerbare Permeabilität der LbL-Filme hat zu einer Anwendung als Wasserstoffperoxid-Sensor geführt, der in Gegenwart interferierender Substanzen wie Ascorbinsäure, Harnsäure und Acetaminophen eingesetzt werden kann. Wasserstoffperoxid kann ungehindert durch die Polyelektrolytmembran zur Platinelektrode diffundieren, während die anderen Stoffe aufgrund ihrer größeren Abmessungen ausgeschlossen bleiben.^[35]

2.2. Beschichtung von kolloidalen Partikeln mit Polyelektrolyten

Die Techniken für die Erzeugung von Polyelektrolyt-Hohlkapseln wurden bereits separat beschrieben^[36–40] und sollen im folgenden Abschnitt nur vergleichend zusammengestellt werden.

Die Schwierigkeiten bei der Übertragung der LbL-Technik von makroskopisch planaren auf kolloidale Substrate resultieren hauptsächlich aus Problemen der Abtrennung des überschüssigen Polyelektrolyten von den beschichteten Kolloiden vor dem nächsten Beschichtungsschritt. Außerdem tritt bei der Zugabe von Polyelektrolyten zu den entgegengesetzt geladenen Partikeln häufig eine Ausflockung auf. Um solche unerwünschten Effekte zu verhindern, sollte das kolloidale Ausgangssubstrat, ebenso wie die verwendeten Polyelektrolytspezies, eine ausreichende Ladung tragen. Der Prozess sollte so geführt werden, dass die Partikel zu der Polyelektrolytlösung gegeben werden, darüber hinaus muss sichergestellt sein, dass die Menge der zu adsorbierenden Polyelektrolyte für die Beschichtung ausreichend ist. Sind diese Bedingungen nicht erfüllt, resultieren unvollständiges Schichtwachstum sowie Aggregation von Partikeln unterschiedlicher Ladungsdichte. Geeignete Adsorptionsbedingungen für die Abscheidung von Polyelektrolytschichten auf kolloidalen Partikeln konnten von Ansätzen zum Aufbau planarer Filme übernommen werden. Üblicherweise wird eine wässrige Lösung (1 mg mL^{-1}) eines Polyelektrolyten in 0.5 M NaCl innerhalb von mindestens 20 Minuten adsorbiert. Um einen Überschuss an Polyelektrolyt zu gewährleisten, sollte die benötigte Menge über die Kolloidoberfläche abgeschätzt werden. Trocknungsprozesse zwischen zwei aufeinanderfolgenden Abscheidungsschritten, die beim Aufbau planarer Filme oft ausgeführt werden, können bei der Beschichtung von Partikeln nicht angewendet werden.

Die LbL-Beschichtung kolloidaler Teilchen kann auf zwei Wegen erfolgen (Schema 2): Entweder ist die Menge an Polyelektrolyt für jeden Adsorptionsschritt genau für die Bildung einer vollständigen Schicht ausreichend, oder die Adsorption erfolgt in einem Überschuss Polyelektrolyt. In diesem Fall muss überschüssiges Polyelektrolyt vor der Zugabe der entgegengesetzt geladenen Komponente durch Zentrifugation oder Filtration entfernt werden, um die Bildung von Polyelektrolytkomplexen in der Lösung zu verhindern.^[41] Diese Vorgehensweise ermöglicht das sequenzielle Wachstum von Multischichten auf kolloidalen Partikeln.^[41–43] Polyelektrolyte können auch in einem einstufigen



Schema 2. Prinzip der Polyelektrolytabcheidung mit nachfolgender Zerstörung des Templat-Kerns am Beispiel der Erzeugung von PSS/PAH-Kapseln: Durch alternierenden Zusatz entgegengesetzt geladener Polyelektrolyte wird stufenweise ein Film auf der Oberfläche des Melaminformaldehyd (MF)-Templats aufgebaut. Vor dem Aufbringen der einzelnen Schichten wird durch Zentrifugations- und Waschzyklen überschüssiges Polyelektrolyt entfernt. Nach dem Aufbringen der gewünschten Zahl von Schichten wird der MF-Kern durch Salzsäure ($\text{pH } 1$) zerstört. Nach Waschen erhält man eine Suspension hohler Polyelektrolytkapseln.

Verfahren – durch kontrollierte Präzipitation^[44] – auf kolloidalen Templatoberflächen abgeschieden werden. Die Vor- und Nachteile dieser Techniken werden im Folgenden betrachtet.

Die aufeinanderfolgende Zugabe von Polyelektrolyten genau abgestimmter Konzentrationen kann sehr schnell erfolgen, weil die Polyelektrolyte innerhalb weniger Minuten adsorbiert werden und keine Waschschritte erforderlich sind. Außerdem treten keine Verluste an Polyelektrolyt auf.^[45] Die Wahrscheinlichkeit von Partikel-Aggregation und der Bildung freier Polyelektrolytkomplexe in der Lösung ist jedoch sehr hoch. Dieses Problem kann durch Verwendung stark verdünnter Partikel-Suspensionen und durch exakte Bestimmung der für die vollständige Bedeckung der Partikel erforderlichen Polyelektrolytmenge umgangen werden. Trotzdem kann Partikel-Aggregation, besonders bei Kolloiden im Submikrometerbereich, bei dieser Methode nicht vollständig verhindert werden. Häufig wird daher ein Überschuss an Polyelektrolyt eingesetzt, wobei nach der Adsorption jeder Schicht und vor der Zugabe der entgegengesetzt geladenen Komponente überschüssiges Polyelektrolyt aus der Partikelsuspension entfernt werden muss. Dies geschieht durch mindestens drei Waschzyklen mit reinem Wasser oder 0.1 M NaCl -Lösung. Die Abtrennung der Partikel aus der Lösung durch Zentrifugation wird bei kleinen Partikeln geringer Dichte häufig durch Sedimentations- und Redispersionsprobleme und den damit verbundenen Materialverlust und hohen Zeitaufwand beeinträchtigt. Alternativ kann eine Filtrationsmethode genutzt werden, die auf der Abtrennung des Polyelektrolyt-Überschusses durch größenangepasste Filter basiert.^[41] Da nicht permanent, sondern regelbar gerührt wird, ist die mechanische Belastung der Partikel gering. Das Flüssigkeitsvolumen über dem Filter kann durch

die Optimierung von Reagentienzufluss und Filtrationsgeschwindigkeit reguliert und das Filtrat leicht zurückgewonnen werden. Daher ist die Filtration bislang die einzige Methode, die sich automatisieren lässt und somit für den technischen Maßstab geeignet ist. Kleine Kolloide führen jedoch häufig zu Filterverstopfungen und damit zu steigendem Zeitaufwand und Partikelverlust.

Im einstufigen Verfahren wird die langsame Heterokoagulation von Polymeren in Gegenwart einer kolloidalen Partikelsuspension genutzt. Die Methode der kontrollierten Präzipitation (CP) kann bei Systemen angewendet werden, die einen unlöslichen Komplex aus dem Polyelektrolyten und mehrwertigen Ionen bilden. Die Löslichkeit des Polymers kann auch durch Verwendung geeigneter Lösungsmittel herabgesetzt werden.^[46] Diese schnelle Methode zur Herstellung von Polyelektrolytkapseln geht aber mit einem Verlust der definierten Schichtstruktur einher. Durch eine geeignete Wahl des Konzentrationsverhältnisses zwischen Polymeren und Partikeln und der optimalen Koagulationsgeschwindigkeiten kann eine Partikelbeschichtung mit definierten Mengen an präzipitierten Polymeren erzielt werden.^[44]

Das kontrollierte Schichtwachstum auf kolloidalen Systemen wurde mit verschiedenen Methoden analysiert. Mithilfe der Partikelelektrophorese kann die vollständige Ladungsumkehr bei der Beschichtung mit entgegengesetzt geladenem Polyelektrolyt durch Messung des ζ -Potentials gezeigt werden. Bei der Verwendung von Ampholyten oder schwach geladenen Molekülen tritt häufig statt einer Ladungsumkehr nur eine geringe Ladungsalternanz zwischen schwach und stark positiven (oder negativen) ζ -Potentialen auf. Durch Lichtstreuungsmessungen an Einzelpartikeln (SPLS) kann die Adsorption einzelner Schichten an monodispersen Partikeln nachgewiesen werden. Mit dieser Methode kann außerdem zwischen Einzelpartikeln und Aggregaten unterschieden werden.^[40]

Die Neutronen-Kleinwinkelstreuung wurde auf PAH/PSS-Multischichten auf deuterierten Latexpartikeln angewendet. Diese Methode ermöglicht eine direkte Bestimmung der Dicke von Polyelektrolyt-Multischichten auf kolloidalen Partikeln in Wasser. Ermittelt wurde eine mittlere Dicke der einzelnen Schichten von 16,6 Å, die unabhängig ist von der Krümmung der Kolloidoberfläche und nur wenig abhängig von der Zahl der adsorbierten Polyelektrolytlagen.^[47] Mithilfe der Transmissionselektronenmikroskopie konnte die Poly-

elektrolytbeschichtung speziell auf sehr kleinen Partikeln verfolgt werden.^[48,49] Die Kraftmikroskopie ermöglicht die Untersuchung des Oberflächenprofils, der Form und des Füllungsgrades sowie die Bestimmung des Durchmessers und der Schichtdicken von getrockneten und kollabierten Kapseln.^[50–52]

2.3. Template

Die Entfernung der gekapselten Template ist der entscheidende Schritt bei der Herstellung von Kapseln. An geeignete Template werden drei Anforderungen gestellt:

1. Sie müssen unter den Bedingungen des LbL-Prozesses stabil sein.
2. Unter den Bedingungen zur Templatauflösung dürfen die Multischichtstruktur nicht zerstört werden.
3. Die aufgelösten Teilchen müssen rückstandslos aus den Kapseln entfernenbar sein.

Darüber hinaus ist für die Mehrzahl der Anwendungen Monodispersität und eine sphärische Gestalt der Template wünschenswert.

Zur Kapselpräparation wurden unterschiedliche Template genutzt, darunter schwach vernetzte Melaminformaldehyd(MF)-Latices,^[18] organische und anorganische Kristalle,^[53–57] Siliciumdioxidpartikel,^[163] Polystyrol-Latices,^[58] Metallnanopartikel und -nanorods^[48,49,59] sowie biologische Template.^[50,60,61] Keines dieser Template erfüllt alle genannten Hauptbedingungen, sodass ein Forschungsbedarf hinsichtlich alternativer Spezies verbleibt. Häufig verwendete Templatkerne und ihre Eigenschaften sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Die Mehrheit der Kapseln wurde bislang mit MF-Template hergestellt. Schwach vernetzte, monodisperse MF-Template werden im Größenbereich 500–5000 nm hergestellt (Microparticles GmbH, Berlin). Sie sind oberhalb pH 5 stabil, was den Aufbau der Polyelektrolythülle bei neutralem pH-Wert ermöglicht. Die Template können mit 0,1M HCl in Sekunden zu protonierten MF-Oligomeren aufgelöst werden.^[62] Die On-line-Beobachtung der Zerstörung der MF-Template im konfokalen Laser-Rastermikroskop zeigt, dass die Kapseln während des Auflösungsprozesses anschwellen (Abbildung 1 a). Die Oligomere sind zu groß, um unge-

Tabelle 1: Zur Herstellung von hohlen Polyelektrolytkapseln genutzte Template.

Parameter	Melaminformaldehyd ^[18]	Polystyrol-Latex ^[58]	Siliciumdioxid ^[163]	Erythrocyten ^[162]	CdCO ₃ , MnCO ₃ , CaCO ₃	PLA/ PLGA ^[160]
Größe [µm]	0.3–10	0.1–5	0.03–100	5.5–7.5	3–8	0.2–20
Gestalt	sphärisch	sphärisch	sphärisch	diskotisch	kristallin, porös	sphärisch
Monodispersität	sehr gut	sehr gut	gut bis sehr gut	gut	mäßig	gering
kommerziell zugänglich	+	+	+	+	–	+ / –
Preis	sehr hoch	moderat	gering	gering	–	gering
Probleme beim Auflösungsprozess	mechanische Belastung, Rückstände	mechanische Belastung, Rückstände	Aggregation	chemische Belastung, Wandzerstörung	keine Belastung	Rückstände

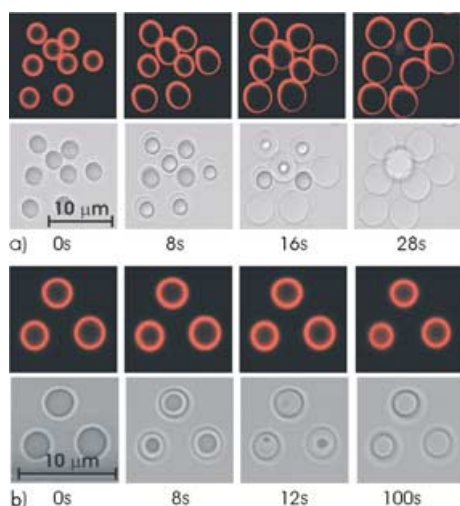


Abbildung 1. On-line-Beobachtung der Auflösung von Templatkernen durch konfokale Laser-Rastermikroskopie (CLSM). In der oberen, farbig dargestellten Reihe sind jeweils die fluoreszenzmarkierten Kapselwände abgebildet (Fluoreszenzkanal), in der unteren Reihe die Templatkerne (Transmissionskanal). a) Auflösung von MF-Partikeln (3.5 µm, beschichtet mit 12 PAH/PSS-Schichten) mit 0.1 M HCl. b) Auflösung von SiO₂-Partikeln (2.8 µm, beschichtet mit 16 PAH/PSS-Schichten) mit 1 M HF.

hindert aus dem Kapselinneren zu gelangen. Die zeitweise hohe Konzentration an gelösten MF-Oligomeren im Inneren der Kapseln erzeugt einen osmotischen Druck, der zum Anschwellen der Kapseln und einer damit verbundenen hohen mechanischen Belastung der Polyelektrolytfilme führt. Dieser Effekt steigt stark mit der Zahl der aufgetragenen Schichten und dem Durchmesser des Templats an. Kapseln mit einem Durchmesser von 5 µm und acht bis zwölf Schichten schrumpfen nach dem Auflösungsprozess langsam wieder, während eine höhere Zahl von Schichten zur kompletten Zerstörung der Kapselwände führt. Die Größe der bei der Templatauflösung entstehenden Oligomere hängt stark von der Qualität und dem Alter der verwendeten MF-Chargen ab und kann zwischen 5000 g mol⁻¹ und 12000 g mol⁻¹ variieren. Demzufolge hängt auch die Kapselqualität stark von den verwendeten MF-Templaten ab, was generelle Aussagen zu den Permeabilitäts- und anderen Eigenschaften erschwert. An dieser Stelle sei deshalb auf die eingeschränkte Reproduzierbarkeit der Untersuchungen an MF-Kapseln hingewiesen. Darüber hinaus hängt die Einheitlichkeit der entstehenden Kapseln vom pH-Wert des Mediums zur Auflösung der Templatkerne ab, wobei ein optimaler Wert bei pH 1 gefunden wurde. Höhere Protonenkonzentrationen beschleunigen zwar den Auflösungsprozess, erzeugen aber einen großen MF-Oligomer-Gradienten und induzieren einen höheren osmotischen Druck. Geringere Protonenkonzentrationen hingegen fördern die weitere Vernetzung der MF-Oligomere und führen zu Rückständen mit höherem Molekulargewicht, deren geringe Diffusionsgeschwindigkeit durch die Kapselwand ebenfalls zu einem erhöhten osmotischen Druck führt.^[62] Aufgrund dieser Mechanismen sind im Allgemeinen 5–20 % der MF-Kapseln

nicht intakt. Die verbleibenden Kapseln zeigen merklich höhere Permeabilitäten als vergleichbare planare und mechanisch unbelastete Polyelektrolytfilme der gleichen Zusammensetzung und Dicke. Wie schon beschrieben wurde, ist die Permeabilität planarer Polyelektrolytfilme selbst für kleine Ionen, Farbstoffe oder Gase relativ gering.^[63,64] Die Wände von MF-Kapseln werden von Verbindungen mit Molekulargewichten bis 10000 g mol⁻¹ hingegen problemlos durchdrungen, während große Moleküle teilweise zurückgehalten werden (Abbildung 2b,c). Vermutlich führt die hohe mecha-

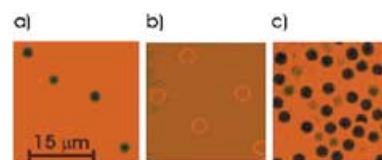


Abbildung 2. Permeabilität von Kapseln für unterschiedliche Sondenmoleküle bei neutralem pH-Wert. a) SiO₂-Kapseln (2.8 µm) in 10⁻⁴ M Rhodamin 6G; b) MF-Kapseln (4.1 µm) in 10⁻⁴ M Rhodamin 6G; c) MF-Kapseln in Rhodamin-markiertem PAH (2 × 10⁻² M, M_w = 70000 g mol⁻¹).

nische Belastung während der Templatauflösung zu Poren oder strukturell geschwächten Regionen in der Kapselwand, was die Permeabilität stärker beeinflusst als die intrinsische Diffusionsgeschwindigkeit in ungestressten Polyelektrolytfilmen. Diese Annahme wird durch die Beobachtung von Poren in den Kapselwänden nach Behandlung mit Säure gestützt.^[65] Um die Permeabilität von MF-Kapseln zu reduzieren, können nach dem Herauslösen der Template weitere Polyelektrolytschichten aufgebracht werden. Dadurch werden die Poren verschlossen und die Permeabilität wird selbst für kleine Farbstoffmoleküle herabgesetzt.^[66]

Ein weiterer Nachteil von MF-Kapseln sind MF-Rückstände, die wegen ihrer Abmessungen oder der Wechselwirkung mit den inneren PSS-Schichten im Kapselvolumen verbleiben und 20–50 % der Gesamtmasse der Kapseln ausmachen.^[51] Die Gegenwart von MF-Oligomeren und die Bildung von negativ geladenen Komplexen mit PSS-Molekülen der Kapselwand kann jedoch für den Einschluss von wasserlöslichen Substanzen wie Albumin und Peroxidase genutzt werden.^[67,68] Diese Einschlussmethode führt aber wegen der nicht kontrollierbaren Menge an MF-Oligomeren zu schlecht reproduzierbaren Ergebnissen.

In einigen Fällen wurden kolloidale PS-Latices als THF-lösliche Template genutzt.^[69] Ein Quellen von PS in THF führt zu einer Volumenzunahme und dadurch zu Kapselbrüchen. Der Anteil zerstörter Kapseln hängt daher stark von den Bedingungen der PS-Auflösung ab.

Eine Alternative zu MF-Templaten sind rote Blutkörperchen, die gegenüber konventionellen Templaten einige Vorteile aufweisen. Sie sind in nichtkugelförmiger Gestalt erhältlich, sind quasi monodispers und vergleichsweise kostengünstig. Ein Nachteil bei der Verwendung biologischer Zellen als Template ist die begrenzte Membranstabilität. Um eine Zerstörung zu verhindern, werden Human-Erythrocyten vor der Beschichtung mit Polyelektrolyt mit Glutaraldehyd

stabilisiert.^[50] Zur Auflösung der biologischen Template kann Natriumhypochlorit-Lösung bei pH 12 eingesetzt werden. Es wurde jedoch gefunden, dass unter diesen drastischen Bedingungen auch die Polyelektrolytwände oxidiert werden, was Verluste an positiver Ladung und an Polyelektrolytmaterial verursacht. Darüber hinaus erfolgt eine Vernetzung der Kapselwände.^[51] Das Ausmaß dieser Veränderungen hängt von der Temperatur, der Dauer des Auflösungsprozesses und der Konzentration der Natriumhypochlorit-Lösung ab. Man erhält also entweder intakte Kapselwände mit merklichen Erythrozyt-Rückständen im Kapselinneren, oder man akzeptiert eine weitgehende chemische Veränderung der Kapselwände.^[51]

Als vielversprechende Alternative wurden kürzlich SiO₂-Partikel als Template genutzt und anschließend in Flusssäure gelöst.^[163] Diese Partikel sind in einem breiten Größenbereich und oft auch mit einer hohen Monodispersität erhältlich. Die Template werden mit 1M Flusssäure in wenigen Sekunden zu SiF₆²⁻-Ionen abgebaut, die die Kapselwände während des Auflösungsprozesses problemlos durchdringen. Mit CLSM wurde dieser Prozess an 3 µm großen SiO₂-Partikeln mit 16 PAH/PSS-Schichten beobachtet (Abbildung 1b). Dieser Auflösungsprozess ist zwar ebenso schnell wie die Auflösung von MF-Template, verläuft aber ohne Anschwellen der Kapseln. Wegen der geringen mechanischen Belastung der Kapselwände bleibt die Polyelektrolyt-Schichtstruktur erhalten, was zu einer niedrigen Permeabilität führt. Im Unterschied zu MF-Kapseln durchdringen kleine Farbstoffmoleküle die SiO₂-basierten Kapseln nicht (Abbildung 2a), selbst Ionen dringen nur langsam ins Kapselinnere ein. Ein Nachteil dieser Systeme besteht aber in der Gefahr beim Umgang mit Flusssäure und in Aggregationsproblemen während des Auflösungsprozesses.

Eine aktuelle Entwicklung besteht in der Verwendung von anorganischen Template wie CdCO₃, CaCO₃ und MnCO₃, die mit geringer Dispersität im Größenbereich zwischen 2 und 8 µm herstellbar sind. Die Auflösung kann unter milden Bedingungen erfolgen, und die Reaktionsprodukte können das Kapselinnere problemlos verlassen. Allerdings sind diese Template häufig porös, sodass die ersten Polyelektrolytschichten ins Innere eindringen und auch dort eine Komplexbildung stattfindet.

2.4. Kapselmaterial

Die Existenz von geladenen Gruppen ist eine Grundvoraussetzung für Materialien zum Aufbau von Kapselwänden. Bei Polyelektrolyten sollten mindestens 50 % der Monomereinheiten eine Ladung tragen.^[70] Da das LbL-Verfahren für planare Filme im Allgemeinen auf kolloidale Oberflächen übertragbar ist, sind theoretisch alle dort genutzten Materialien auch für die Herstellung von Kapseln verwendbar. Jedoch gibt es bei der Kapselherstellung einige Beschränkungen, die aus der mechanischen Stabilität freistehender Polyelektrolytfilme und der Aggregationsproblematik der kolloidalen System resultieren. Dennoch ermöglicht die Vielzahl potenzieller Materialien eine große Variabilität der chemischen und physikalischen Kapseleigenschaften.

2.4.1. Funktionalisierte Polyelektrolyte

Ebenso wie bei den planaren Polyelektrolyt-Multischichtfilmen wurden kommerzielle synthetische Polyelektrolyte wie PSS, PAH^[18] und PDADMAC bisher am häufigsten in der Kapselherstellung eingesetzt (Tabelle 2).^[71] Die meisten Stu-

Tabelle 2: Eine Auswahl an Polyelektrolyten, die zur Herstellung von hohlen Kapseln verwendet werden.

Poly(styrolsulfonat), Natriumsalz (PSS)	
Poly(allylamin) (PAH)	
Poly(diallyldimethylammoniumchlorid) (PDADMAC)	
Poly(ethylenimin) (PEI)	
Poly(acrylsäure) (PAA)	
Poly(vinylsulfonat) (PVS)	
Nafion	
metallo-supramolekulare Polyelektrolyte (MEPE)	

dien befassten sich mit Kapseln aus der Materialkombination PAH/PSS, es wurden jedoch auch Kapseln auf der Basis anderer synthetischer Polyelektrolyte wie Poly(ethylenimin) oder Nafion präpariert (Tabelle 2).^[72,73] Wegen potenzieller Anwendungen von Kapseln in der pharmazeutischen Industrie werden auch zunehmend Forschungen zum Einsatz natürlicher vorkommender Polyelektrolyte wie Polysaccharide unternommen. Kürzlich wurden LbL-Kapseln auf der Basis von Carrageenan,^[74] Dextransulfat,^[75] Chitosan/Chitosansulfat,^[76] Natriumalginate, Carboxymethylcellulose^[77] und Protamin^[78] beschrieben.

Um die Kapselwände mit speziellen Eigenschaften auszustatten, wie Farbe oder Oberflächenstrukturen von biologischer oder technischer Relevanz, wurden funktionali-

sierte Polymere oder Materialien zum Schichtaufbau verwendet. Zur Untersuchung der Kapselwände mit CLSM wurden Polymere mit kovalent gebundenen Fluoreszenzsonden oder Copolymere von Farbstoffen und Polyelektrolyten in die Kapselwände eingebaut. Das Markieren von Kapseln mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen erschließt ein weites Anwendungsfeld in der In-vitro-Diagnostik. Anders als bei etablierten Partikelassays kann das Innere der Kapseln beispielsweise zur Immobilisierung von Antikörpern, Nucleotiden oder anderen biologisch relevanten Materialien genutzt werden. Für solche kombinatorischen Anwendungen wurde PAH mit je einem von vier Farbstoffen (Pyren, Fluorescein, Rhodamin6G, Bisindolenylpentamethin (Cy5)) modifiziert, die aufgrund ihrer gut getrennten Anregungswellenlängen und Emissionsspektren ausgewählt wurden. Eine Bibliothek von 15 Kapseln (PAH/PSS)₅ wurde durch Schichtaufbau mit unterschiedlichen Farbstoffkombinationen hergestellt (Abbildung 3).^[164] Durch den Aufbau nichtmarkierter Zwischen-

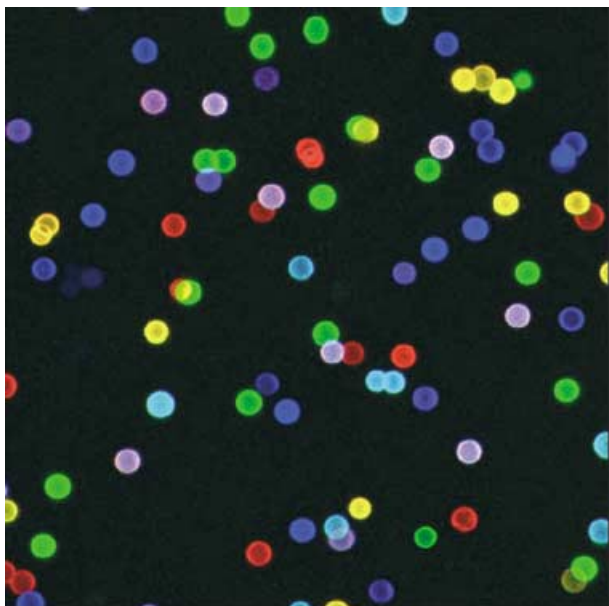


Abbildung 3. Bibliothek von 15 farbstoffmodifizierten Kapseln mit (PAH/PSS)₅-Schichten, hergestellt durch Schichtaufbau mit unterschiedlichen Farbstoffkombinationen. (In veränderter Form aus Lit. [164].)

schichten ist sichergestellt, dass unerwünschte Wechselwirkungen zwischen den Farbstoffen unterdrückt werden. Obwohl alle Kapseln gleiche Größen und Eigenschaften haben, können sie leicht mit CLSM oder Flow-Cytometrie unterschieden werden. Farbstoffmarkierte Kapseln weisen gegenüber kommerziellen farbstoffmarkierten Partikelbibliotheken folgende Besonderheiten auf:

1. Niedrige Sedimentationsgeschwindigkeit wegen der geringeren Masse;
2. geringe Wechselwirkungen zwischen den unterschiedlichen Farbstoffen;
3. die äußere und die innere Oberfläche der Kapseln können für chemische Reaktionen genutzt werden;

4. die kovalente Anbindung der Farbstoffe in der Kapselwand verhindert das Ausbluten des Farbstoffs;
5. die Kapseln sind gegen die meisten organischen Lösungsmittel stabil;
6. alle Farbstoffmoleküle können nahe der äußeren Oberfläche angeordnet werden, was einen effizienten Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) in modernen separationsfreien Partikelassays ermöglicht.^[79]

Kapseln mit anderen interessanten Eigenschaften sollen hier kurz genannt werden: Eine erhöhte Stabilität wurde durch Vernetzung von wasserlöslichen Jonen-Vorstufenpolymeren in der Wand erreicht. Aus den Fluoren-Einheiten in der Multischicht-Hülle resultieren lumineszierende konjugierte Oligofluorene.^[69] Ein Copolymer aus Polyanilin und PSS wurde zur Herstellung von Kapselwänden mit reduzierenden Eigenschaften zur Erzeugung von Metallpartikeln entwickelt.^[80]

Beim LbL-Aufbau von Polymeren mit photosensitiven Diazo-Gruppen wird die Ionenbindung zwischen den negativ geladenen PSS-Molekülen und den positiv geladenen Diazoharzen, die ursprünglich den Zusammenhalt der Schichten sicherstellt, in eine kovalente Vernetzung umgewandelt. Vernetzte Hohlkapseln sind in verschiedenen chemischen Umgebungen mechanisch stabiler als die entsprechenden ionischen Systeme.^[81] Photochrome Hohlkapseln wurden aus Azobenzol-Polyenen hergestellt. Die thermische *E/Z*-Relaxation der photochemisch erzeugten *cis*-Isomere verläuft in der einschränkende Geometrie der Polymere langsamer als in wässriger Lösung.^[74] Unterschiedliche ionen- und saureffekt-sensitive Fluorophore wurden ebenfalls in Kapseln eingeführt, die Autoren untersuchten jedoch nicht, ob die Fluoreszenzsonden auf der Oberfläche adsorbiert, in die Wand eingebaut oder im Kapselinneren immobilisiert waren.^[82–84]

2.4.2. Einbau kleiner Moleküle in die Kapselwand

Auf monodispersen Templaten wird eine begrenzte Adsorption von wasserunlöslichen niedermolekularen Spezies beobachtet. Eine interessante Frage betrifft die Möglichkeit des Einbaus von Verbindungen mit niedrigem Molekulargewicht und geringer Ladung als Bausteine im LbL-Selbstorganisationsprozess.

Die Adsorption von dreiwertigen Kationen Tb³⁺ oder Y³⁺ in Kombination mit PSS wurde durch Radtchenko et al.^[85] beschrieben. Die erhaltenen Multischichten sind jedoch nicht sehr stabil und dissoziieren bei steigender Temperatur oder bei physiologischer Salzkonzentration. Diese Eigenschaft und eine nachfolgende Beschichtung der wenig stabilen Kapseln eröffnet jedoch eine Möglichkeit zur Verkapselung von Makromolekülen in Polyelektrolytkapseln (Näheres siehe Abschnitt 4).

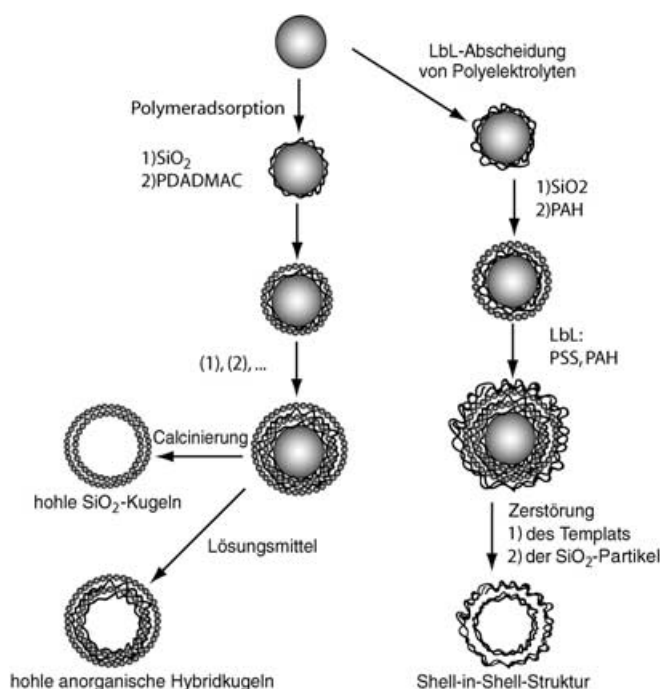
Ein genereller Aspekt ist der Einbau von wasserunlöslichen Verbindungen in LbL-Filme. Durch die alternierende Anwendung von wässriger Polyelektrolytlösung und nicht-wässriger Farbstofflösung konnten Dai et al.^[86] unterschiedliche wasserunlösliche organische Farbstoffe in die Kapselwände einbringen. Die Autoren konnten die Bildung von

Farbstoffaggregaten nach der Adsorption auf Polyelektrolyten spektroskopisch nachweisen. Zur Herstellung von LbL-Filmen aus nicht oder nur wenig geladenen Molekülen lassen sich offensichtlich auch hydrophobe und Van-der-Waals-Wechselwirkungen nutzen. In weiterführenden Experimenten konnte durch die definierte Anordnung von drei Cyanin-Farbstoffen, die entweder als Antenne, Übermittler oder Empfänger fungieren, innerhalb der Wände von hohlen Mikrokapseln eine zweistufige Energietransferkaskade erzeugt werden.^[87,88] Die Farbstoffe wurden in zwei unterschiedlichen Anordnungen eingebaut, die den FRET-Mechanismus entweder innerhalb einer Schicht oder durch die Schichten von außen nach innen ermöglichen.

Funktionelle Polyelektrolyte aus der metallocupramolekularen Chemie sind ebenfalls zur Kapselpräparation verwendet worden. So wurden negativ geladene Makromoleküle und positiv geladene Koordinations-Polyelektrolyte, Fe^{II}-MEPE (Tabelle 2), alternierend auf schwach vernetzten MF-Partikeln abgeschieden. Die nachfolgende Zerstörung und Entfernung des MF-Templates ergab hohle Fe^{II}-MEPE/PSS-Kapseln, die anders als freies Fe^{II}-MEPE-Polymer überraschenderweise stabil gegen saure Lösung oder chelatisierende Reagentien sind.^[89,90]

2.4.3. Komposite aus organisch-anorganischen Nanopartikeln

Unterschiedliche anorganische Materialien, die in Form geladener Nanopartikel erzeugt werden können, sind als Schichtmaterialien im LbL-Prozess einsetzbar. SiO₂, TiO₂, Laponit^[91] und CdTe-Nanopartikel wurden bereits zur Herstellung von Kapseln verwendet. Weiterführende Übersichten zu Kern-Hülle-Partikeln finden sich in der Literatur.^[92–94]



Schema 3. Verfahren zur Herstellung von anorganischen hohlen Hybridkugeln und Shell-in-Shell-Strukturen. (In veränderter Form aus Lit. [98, 100].)

Der Einbau einer stabilen kolloidalen Dispersion geladener SiO₂-Nanopartikel als anionische Komponente der Kapselwand liefert organisch-anorganische Materialien mit einer regelmäßigen Beschichtung. Die Schichtdicke kann im Nanometerbereich gesteuert werden.^[95–97] Die Multischichten wurden durch die aufeinanderfolgende Abscheidung von Nanopartikeln und Polyelektrolyten auf kolloidalen Templaten unter Nutzung elektrostatischer Anziehungskräfte aufgebaut. Abhängig von der Wahl der Methode zur Entfernung des Templates werden entweder hohle organisch-anorganische Hybridkapseln (durch Auflösung des MF-Templates in HCl) oder hohle SiO₂-Kugeln (durch thermische Zerstörung (Calciniierung) der organischen Komponente) erhalten (Schema 3).^[98,99]

Spezielle Kapselarchitekturen, z.B. nanoporöse Kapselwände oder Shell-in-Shell-Strukturen wurden durch alternierende Adsorption von Polyelektrolyten und SiO₂ auf Melaminformaldehyd-Partikeln und nachfolgende Auflösung der MF-Template mit HCl und Zerstörung der zwischen den stabilen PAH/PSS-Wänden eingebetteten SiO₂-Partikelschichten hergestellt. Durch Markierung der inneren Hülle mit Fluorescein und der äußeren Hülle mit Rhodamin B konnte mit CLSM trotz des geringen Abstandes von nur ungefähr 50 nm zwischen innerer und äußerer Hülle unterschieden werden (Abbildung 4).^[100]

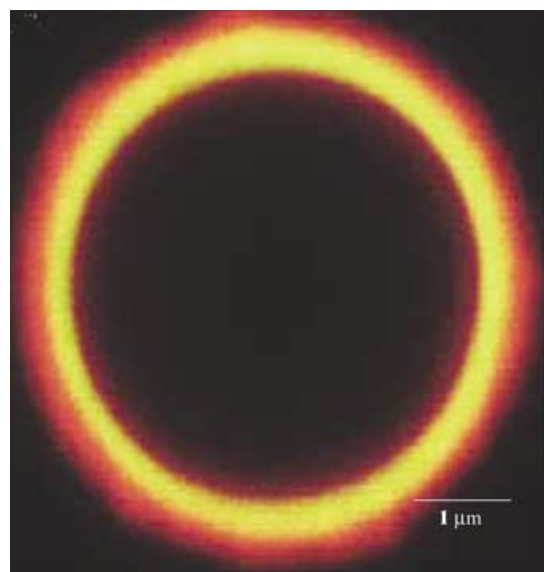


Abbildung 4. CLSM-Fluoreszenzabbildung einer Kapsel bestehend aus (PSS/PAH/PSS/PAH-FITC) (SiO₂/PAH/SiO₂) (PAH-TRITC/PSS/PAH/PSS/PAH) nach Entfernung der SiO₂-Schichten. Die rote Emission stammt von den Rhodamin-Molekülen der äußeren Schicht, die gelbe Emission von den Fluorescein-Molekülen der inneren Schicht. (In veränderter Form aus Lit. [100].)

2.4.5. Nanopartikel mit magnetischer, katalytischer und Fluoreszenzaktivität

Zur Erzeugung von magnetischer, katalytischer oder Fluoreszenzaktivität wurden funktionelle Nanopartikel in

Kapseln eingebracht. Eisenoxidpartikel mit superparamagnetischen Eigenschaften haben Anwendungspotenziale in Wirkstofftransportsystemen und in der Diagnostik, wobei die Partikel durch ein externes magnetisches Feld dirigiert werden können. Weiterhin ist die gesteuerte Freisetzung des Inhalts einer magnetischen Kapsel durch ein externes alternierendes Magnetfeld denkbar. Superparamagnetischer Magnetit (Fe_3O_4) wurde als Komponente in der Kapselwand^[101–104] oder als Teil des Kapselinneren verwendet.^[105] Wegen der Löslichkeit der magnetischen Partikel bei pH 1 konnten magnetische Kapseln auf der Basis von MF-Templaten bisher nicht direkt durch die schichtweise Adsorption von magnetischen Nanopartikeln und Polyelektrolyten hergestellt werden. Sie wurden entweder unter Verwendung von PS-Templaten, die in THF löslich sind, oder durch das Aufbringen einer zusätzlichen Schicht von Magnetit-Nanopartikeln auf hohlen MF-Kapseln hergestellt.^[104] Die Calcinierung von Kern-Hülle-Strukturen mit magnetischen Nanopartikeln bei erhöhter Temperatur liefert ebenfalls intakte magnetische Kugeln.^[103] Andere Kern-Hülle-Systeme, beispielsweise auf Titanbasis^[106,107] oder auf der Basis lumineszierender CdTe-Halbleiterkristalle,^[108,109] konnten ebenfalls hergestellt werden, es wurden jedoch bislang keine Hohlkapseln erzeugt. Durch Calcinierung von Kompositsystemen, die aus einem Polymerkern und einer LbL-Hülle aus PDAD-MAC und Gold-SiO₂-Nanopartikeln (Au@SiO_2) aufgebaut sind, konnten Hohlkugeln aus Au@SiO_2 hergestellt werden.^[103] Zur Erzeugung von neuartigen katalytischen Systemen wurden Edelmetalle, z.B. Silber, in das Innere der Kapseln oder in die Kapselwände eingelagert. Dazu wurden drei Vorgehensweisen beschrieben:

1. Einlagerung von Ag^+ in Polyelektrolyt-Multischichten mit nachfolgender Reduktion der Ionen durch Laserbestrahlung bei 480 nm (Abbildung 5);
2. Einschluss der Silberionen innerhalb einer Hülle aus einem PSS-Polyanilin-Copolymer;
3. Abscheidung des Metalls auf der kolloidalen Oberfläche durch chemische Reduktion (Silberspiegelreaktion).^[80]

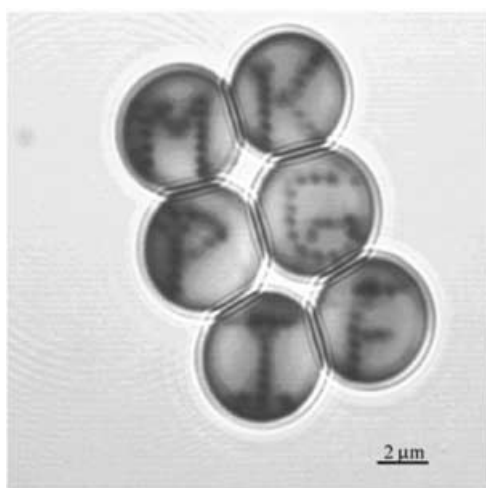


Abbildung 5. „Ag-Nanographik“: Jeder Silberpunkt auf der Kapseloberfläche wurde mit einem fokussierten CLSM-Laserstrahl geschwärzt. (Aus Lit. [80].)

2.4.6. Biochemische Funktionalisierung

Die LbL-Strategie ermöglicht die Herstellung funktionaler Filme auf Kolloiden mit einer hohen Dichte an Biomakromolekülen, die beispielsweise für Anwendungen als Multienzym-Biokatalysatoren interessant sein können. Während die Einlagerung von Biomolekülen in planare Filme bereits mehrfach beschrieben wurde, gab es bislang nur wenige Ansätze mit Kolloiden. Biokolloidale Partikel mit maßgeschneiderten enzymatischen Aktivitäten können über Protein-Multischichtarchitekturen auf Kolloidpartikeln hergestellt werden. Es wurden bereits Multischichtsysteme auf der Basis von Rinderserumalbumin,^[110] unmarkiertem^[110] oder fluoreszenzmarkiertem^[111] Immunglobulin, β -Glucosidase,^[112] Glucoseoxidase,^[113–116] Meerrettich-Peroxidase^[113] und Urease^[117] durch alternierende Abscheidung der Proteine und entgegengesetzt geladener Polymere erfolgreich auf Polystyrolpartikeln angeordnet. Diese Protein-Multischichtsysteme konnten mit Schichtdicken von einigen bis zu mehreren hundert Nanometern hergestellt werden.

Die Möglichkeiten zur Präparation von Hohlkapseln aus bioaktiven Molekülen sind jedoch wegen der drastischen Reaktionsbedingungen, die für die Auflösung der Template erforderlich sind, begrenzt. Auflösbare Hohlkapseln auf der Basis von Desoxyribonucleinsäure (DNA) und einem niedermolekularen organischen Molekül, z.B. dem natürlich vorkommenden Triamin Spermidin (SP), konnten durch Aufbau von DNA/SP-Multischichten auf Kolloiden und nachfolgende Entfernung des Templates hergestellt werden (Abbildung 6).

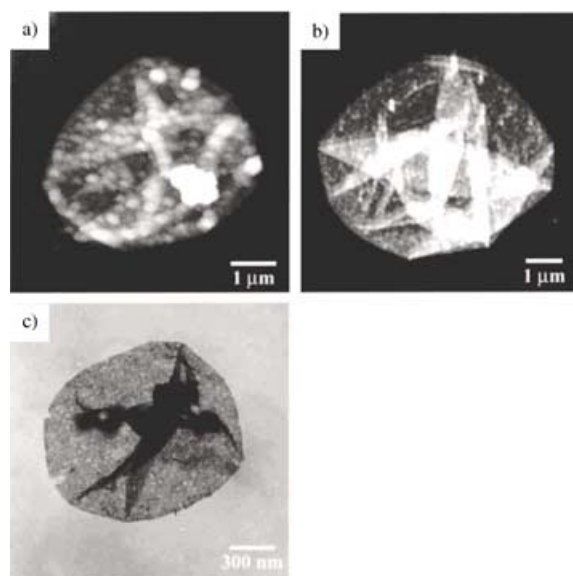


Abbildung 6. Kraftmikroskopie (AFM)-Bild einer biokompatiblen Hohlkapsel bestehend aus a) $(\text{DNA/SP})_2/\text{DNA}$ und b) $(\text{ALG/PL})_2/\text{ALG}$. Die Dimensionen der z-Achse (maximale Höhe) des AFM-Bildes betragen 250 nm (a) und 150 nm (b). Die Hohlkapseln wurden durch Abscheidung der entsprechenden Multischichten auf kolloidalen MF-Partikeln mit einem Durchmesser von 5.7 µm und nachfolgende Entfernung des Templatkerns mit einer HCl-Lösung bei pH 1.5–1.6 erhalten. c) Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)-Bild von hohlen $(\text{DNA/SP})_2/\text{DNA}$ -Kapseln, hergestellt aus DNA/SP-Schichten auf MF-Partikeln mit einem Durchmesser von 1.8 µm. (In veränderter Form aus Lit. [58].)

Die hohlen DNA/SP-Kapseln sind empfindlich gegen hohe Salzkonzentrationen und werden z.B. bei zwölfstündigem Aufbewahren in 5 M NaCl vollständig zerstört.^[58] Diese Instabilität wird durch die niedrige Ladung des Spermidins verursacht und kann durch die Verwendung von Molekülen mit anderer Ladung modifiziert werden.

Derartige Systeme sind für die Verkapselung und die kontrollierte Freisetzung verschiedener Substanzen interessant. So könnte beispielsweise die Freisetzung von verkapselten Farbstoffen, Pharmaka oder DNA aus den biokompatiblen DNA/SP-Kapseln durch Einbringen in eine zerstörend wirkende Umgebung, z.B. in das Blut oder in Zellen, gesteuert werden. Zuvor sind jedoch noch diverse Probleme im Zusammenhang mit der Präparation solcher sensibler Kapseln zu lösen: Einerseits muss der Aufbau bei einer minimalen Salzkonzentration erfolgen, andererseits müssen die Kapseln auch während des Auflösungsprozesses stabil bleiben.

Als Modelle für biologische Membranen wurden häufig Lipidvesikeln und planare Lipiddoppelschichten herangezogen. Ein Nachteil von Liposomen ist ihre relativ geringe Stabilität und strukturelle Uneinheitlichkeit. In der Natur werden die Biomembranen durch das polymere Netzwerk des Zellskeletts stabilisiert. Die Kombination von Lipiden und Polyelektrolytkapseln erzeugt ein künstliches System mit ähnlichen Eigenschaften, das geeignet ist, biologische Membranen zu simulieren. Untersuchungen an derartigen Lipidschicht-Polyelektrolyt-Kapseln können wichtige Beiträge zum Verständnis der Wechselwirkungen zwischen Membranen und Biopolymeren leisten. Schichten aus Dipalmitoyldiphosphatidsäure (DPPA) und Dipalmitoyldiphosphatidylcholin (DPPC) oder Sphingosin wurden entweder durch Adsorption vorgeformter Vesikeln oder durch ein Lösungsmittelaustauschverfahren auf die Oberfläche von Polyelektrolytkapseln aufgebracht. Abbildungen von Kapseln, die mit fluoreszierenden Lipiden beschichtet sind, zeigen innerhalb der Auflösung des konfokalen Mikroskops eine homogene Bedeckung der Kapseloberfläche mit DPPA/DPPC-Doppel- oder Multischichten.^[118]

Die elektrischen Eigenschaften von Lipid-Polyelektrolyt-Kompositkapseln wurden mithilfe der Elektrorotation untersucht. Die erhaltenen Leitfähigkeiten im Bereich von 10^{-4} – 10^{-1} mS m⁻¹ sind höher als die Werte für einfache Lipidmembranen. Die Leitfähigkeit steigt mit der Elektrolytkonzentration in der Volumenphase, was auf das Vorhandensein von Poren oder Defekten im Lipidfilm zurückgeführt wird, die ca. 0.01 % der gesamten Kapseloberfläche ausmachen.^[119]

2.4.7. Dendrimere

Bei planaren LbL-Filmen auf Glassubstraten wird typischerweise eine Grundierungsschicht aus stark verzweigtem Polyethylenimin aufgebracht. Dieses Polymer ermöglicht wegen seiner dendritischen Struktur den Aufbau hoher Ladungsdichten pro Volumeneinheit. Daher sollte auch ein Aufbau dendritischer Strukturen in die Kapselwand möglich sein, was kürzlich anhand von Poly(amidoamin) (4G-PAMAM), einem Dendrimer der 4. Generation, gezeigt werden konnte. Kern-Hülle-Partikel, die PAMAM-Multi-

schichten enthalten, adsorbieren und speichern negativ geladene Farbstoffe aufgrund starker elektrostatischer Wechselwirkungen mit den überschüssigen inneren Dendrimer-Ladungen, die nicht für die LbL-Wechselwirkungen genutzt werden. Durch die von der Salzkonzentration abhängige Bindung der Farbstoffe kann deren Freisetzung gesteuert werden.^[120]

Zur Herstellung von Hohlkapseln wurden PSS/(4G-PAMAM)-Multischichten auf kolloidale MF-Partikel aufgebracht, wobei nur geringe Ausbeuten dünnwandiger, hochporöser und empfindlicher Kapseln erhalten wurden. Die Ausbeute konnte durch Kompensation der elektrostatisch nicht abgesättigten negativen Ladungen von PSS in den Schichten durch die Bildung unlöslicher Komplexe mit kationischen Verbindungen etwas erhöht werden. Hierfür wurden die mit PSS/(4G-PAMAM) beschichteten MF-Partikel vor dem Herauslösen der Template mit dem fluoreszierenden kationischen Anthracyclin Doxorubicin (DOX) behandelt.^[121]

2.4.8. Stabilität der Polyelektrolytkapseln

Die typischen PAH/PSS-Kapseln sind in wässriger Lösung bei hoher Ionenstärke im Bereich pH 0–13 stabil, wobei interessanterweise die mit LbL erzeugten PAH/PSS-Kapseln bei hohen pH-Werten stabiler sind als durch Fällung gebildete PAH/PSS-Komplexe in Lösung. Der pH-Stabilitätsbereich für Kapseln aus Kombinationen schwächerer Polyelektrolyte kann erheblich schmaler sein. Wie bereits im Abschnitt 2.4.6 beschrieben wurde, können hohe Ionenstärken zu einer Auflösung von Kapseln aus Komponenten mit geringer Ladungsdichte führen. Aber auch PAH/PSS-Kapseln zeigen eine zunehmende Permeabilität mit steigender Ionenstärke, was auf eine Abschwächung der Bindung zwischen den Polyelektrolyten durch die Konkurrenz der Salzionen hinweist.^[150] PAH/PSS-Kapseln konnten ohne Verlust der Kapselform und -stabilität durch schrittweisen Lösungsmittelaustausch in unterschiedlichen organischen Medien suspendiert werden,^[122] wobei steigende Permeabilitäten in organischen Lösungsmitteln auf Veränderungen in der Wandstruktur schließen lassen.^[123] Die Stabilität in organischen Lösungsmitteln macht die Herstellung von Öl-in-Wasser-Emulsionen (siehe Abbildung 7) und Wasser-in-Öl-Emulsionen ohne Tensidzusatz möglich. Besonders beim Wirkstofftransport kann der Verzicht auf zusätzliche Emulgatoren vorteilhaft sein. Darüber hinaus sind derartige Mikrotröpfchen sehr stabil und hochgradig monodispers. Eine Verwendung unterschiedlicher, nichtmischbarer Lösungsmittel innerhalb und außerhalb der Kapseln könnte durch das nanoskalige unlösliche Polymernetzwerk auch für die Phasentransferkatalyse interessant sein.

3. Kapseleigenschaften

3.1. Permeabilität

Die Permeabilität der Polyelektrolyt-Mikrokapseln ist für die kontrollierte Freisetzung des gekapselten Materials der

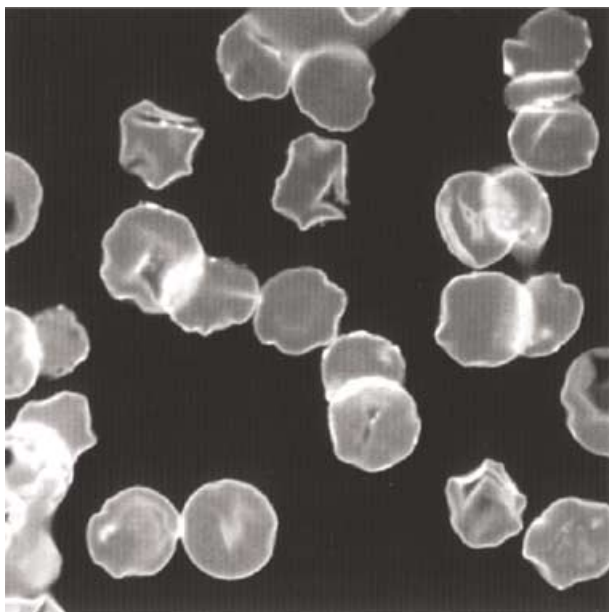


Abbildung 7. Öl-in-Wasser-Suspension. Konfokale Aufnahme von Polyelektrolytkapseln aus (PSS/PAH)₁₀-Schichten, die durch einen Lösungsmittelaustauschprozess mit Rhodamin-B-markiertem Octanol gefüllt und in Wasser resuspendiert wurden. Abbildungsgröße: 50×50 µm. (In veränderter Form aus Lit. [122].)

entscheidende Faktor. Für Permeabilitätsuntersuchungen an Kapseln können zwei Ansätze genutzt werden. Der erste Ansatz beruht auf einer Verkapselung löslicher Materialien und der anschließenden Messung der Freisetzung aus dem Kapselinneren. Diese Methode hat den Nachteil, dass die Kapselherstellung und die Freisetzung bei unterschiedlichen Gleichgewichtsbedingungen (pH, Lösungsmittel) erfolgen und dass eine Variation der chemischen Umgebung die Permeabilität erheblich beeinflussen kann. Weiterhin führt die Auflösung der Template zu einem osmotischen Druck im Kapselinneren, was sich besonders bei hohen Sättigungskonzentrationen bemerkbar macht, da hohe Druckdifferenzen erhöhte Freisetzungsgeschwindigkeiten ergeben.

Die zweite Möglichkeit für Permeabilitätsuntersuchungen besteht in der Zugabe von fluoreszenzmarkierten permeationsfähigen Substanzen zu einer Kapselsuspension. Das Eindringen der Fluoreszenzfarbstoffe ins Kapselinnere kann mit CLSM verfolgt werden, wobei die Permeabilität einzelner Kapseln untersucht werden kann. Wegen der breiten Verteilung der Kapselpermeabilitäten sind für generelle Aussagen jedoch statistische Auswertungen einer Vielzahl von Kapseln nötig. Diese Methode wurde für die ersten Permeabilitätsuntersuchungen an MF-Kapseln mit (PSS/PAH)₄ genutzt. Anhand von Untersuchungen mit fluoreszenzmarkierten PAH-Molekülen wurde ein ungefährender Grenzwert von 5000 g mol⁻¹ angegeben.^[18] Spätere Untersuchungen zeigten jedoch, dass weitere Faktoren wie Ionenstärke, pH-Wert, Kapselalter und Lösungsmittel die Permeabilität stark beeinflussen. Die Permeabilität differiert auch zwischen einzelnen Chargen in Abhängigkeit vom Templatdurchmesser und vom Prozess der Templatauflösung, der, wie bereits in Kapitel 2.3

beschrieben wurde, die Größe der entstehenden MF-Oligomere bestimmt, die durch die Kapselwand nach außen gelangen müssen.

3.1.1. Permeabilität als Funktion der Ionenstärke

Die Struktur der Multischichten und damit auch die Permeabilität hängen stark von der während der Adsorption und den Waschprozessen eingestellten Ionenstärke und dem pH-Wert ab. Diese Effekte wurden schon an planaren Filmen ausführlich untersucht.^[32, 64, 124–129]

Die Salzkonzentration der Polyelektrolytlösungen ist ein essenzieller Parameter des LbL-Prozesses.^[132, 126, 127] So fanden von Klitzing und Mitarbeiter einen linearen Anstieg der Schichtdicke von PAH/PSS-Filmen mit der Quadratwurzel der Salzkonzentration.^[126] Mit Kraftmikroskopie wiesen Fery et al. bei Variation der Ionenstärke beträchtliche Strukturänderungen auf der Oberfläche von PAH/PAA-Filmen nach: Waschprozesse mit reinem Wasser zwischen den einzelnen Adsorptionsschritten führten zu Filmen mit merklicher Oberflächenrauigkeit (effektive Rauigkeit von ca. 17 nm für Filme aus zehn Schichten), wohingegen relativ glatte (effektive Rauigkeit 1 nm) und homogene PAH/PAA-Multischichtfilme resultierten, wenn die Salzkonzentration während der Adsorptions- und Waschprozesse konstant gehalten wurde. Die Inkubation dieser Filme in reinem Wasser führte zu intrinsischen und regulären nanometergroßen Poren.^[128]

Typische (PSS/PAH)₄-Kapseln auf MF-Templaten zeigen ein semipermeables Verhalten. In reinem Wasser sind sie für markiertes PAH mit einem Molekulargewicht über 15000 g mol⁻¹ nicht permeabel, während Farbstoffe wie Fluorescein und Rhodamin leicht eindringen können (Abbildung 2b,c). Bei Erhöhung des Salzgehaltes auf Konzentrationen über 10⁻² M werden die Kapseln selbst für PAH mit einem Molekulargewicht von 70000 g mol⁻¹ permeabel.^[150] Daraus wurde abgeleitet, dass sich bei Erhöhung der Salzkonzentration die elektrostatische Wechselwirkung zwischen den Polyelektrolyten durch die konkurrierenden Ionen des Salzes abschwächt.^[32] Die Intercalation von Salzionen verstärkt das Anschwellen der Kapselwand, hervorgerufen durch die osmotische Einlagerung von Wasser. Die Wandstruktur zeigt nur noch einen losen Zusammenhalt und die Maschenweite wird größer, was steigende Diffusionsgeschwindigkeiten des Sondenmoleküls PAH induziert. Die Öffnung der Kapselwand ist jedoch reversibel, denn nach Entfernung des Salzes sind die Kapseln erneut für das Polymer undurchlässig. Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse wurde ein Verfahren zur Beladung von Kapseln mit Polymeren entwickelt, das die Salzkonzentration zum Schalten der Kapselpermeabilität nutzt.^[150]

Analoge Untersuchungen wurden an Kapseln auf der Basis von Erythrozyt-Templaten durchgeführt.^[75] Die Ergebnisse zeigen einen ähnlichen Trend, wurden jedoch anders interpretiert: Wegen der Verwendung stark oxidierender Agentien zur Entfernung des Templats entstehen große Poren oder Defekte in der Kapselwand, die ein Eindringen von Makromolekülen ermöglichen. Bei niedrigen Salzkonzentrationen verhindert die elektrostatische Abstoßung zwischen den permeierenden Molekülen (Humanserumalbumin)

und der geladenen Oberfläche der Kapseln ein Eindringen der Moleküle. Hohe Ionenstärken hingegen schirmen die Ladungen ab und ermöglichen eine Permeation durch die Poren. Diese Hypothese wird durch den Befund gestützt, dass neutrale Moleküle wie Dextran unabhängig von der Ionenstärke eindringen können. Ausschließlich elektrostatische Effekte werden als Erklärung für die Ionenstärkenabhängigkeit der Permeabilität von Polymeren bei Chitosan/Chitosansulfat-Kapseln genannt.^[76] Gegen diese Erklärung spricht jedoch die mehrfach nachgewiesene starke Abhängigkeit der Permeabilität von der Schichtzahl der Kapseln. Übereinstimmend mit den Ergebnissen aus den Diffusionsuntersuchungen beobachteten Antipov et al., dass die Freisetzung von verkapselten Fluorescein-Mikrokristallen aus PSS/PAH-Kapseln mit steigender Salzkonzentration stark beschleunigt wird.^[130]

Eine Diffusion unabhängig von der Salzkonzentration wurde für den Wirkstoff Ibuprofen, gekapselt in unterschiedlichen Typen von Polyelektrolyt-Multischichten, beschrieben.^[73] Allerdings wurden diese Ergebnisse für Salzkonzentrationen zwischen 0.25 und 1 M erhalten, die weit oberhalb der bis dahin untersuchten Ionenstärken liegen.^[150]

3.1.2. Permeabilität in Abhängigkeit von der Filmdicke

Verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe, z. B. Pyren- und Fluorescein-Mikropartikel, wurden mit PSS/PAH-Schichten unterschiedlicher Zahl beschichtet. Die Verkapselung erfolgte unter Bedingungen, bei denen die Farbstoffe schwer löslich sind.^[54,57,131] Durch Zusatz von Ethanol zu gekapseltem Pyren oder durch Änderung des pH-Wertes einer Fluorescein-Dispersion konnten die Template gelöst und die Fluoreszenzfarbstoffe aus den Mikrokapseln freigesetzt werden. Der Verlauf der Freisetzungskurve als Funktion der Dicke der Multischichten wurde fluoreszenzspektroskopisch quantifiziert. Die kristallinen Anteile des Fluoresceins und des Pyrens beeinflussen wegen der Selbstlöschung im festen Zustand das Fluoreszenzsignal der Lösung nicht. Die für PSS/PAH-gekapseltes Fluorescein erhaltenen Ergebnisse ergaben steigende Freisetzungsgeschwindigkeiten bei zunehmender Ionenstärke und zunehmendem pH-Wert und sinkende Freisetzungsgeschwindigkeiten bei zunehmender Zahl der aufgetragenen Schichten.^[57] Eine Verkapselung mit bis zu sechs Schichten beeinflusst die Farbstoffauflösung kaum, während eine weitergehende Beschichtung in einer merklichen Verlangsamung der Freisetzung resultiert. Der Diffusionskoeffizient pro Schicht sinkt bis zu einer Zahl von zehn aufgetragenen Schichten und erreicht dann einen konstanten Wert von ca. $10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Für planare PAH/PSS-Filme wurden demgegenüber Diffusionskoeffizienten zwischen 10^{-18} und $10^{-20} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ gemessen.^[132] Als Erklärung für diese Abweichungen führten die Autoren unterschiedliche Präparationsprozesse und eine Vernachlässigung von Poren beim Messprinzip an planaren Filmen an. Allerdings wurden die Freisetzungsgeschwindigkeiten für Fluorescein-Partikel in Pufferlösungen gemessen, um den pH-Wert konstant zu halten. Die daraus resultierenden höheren Ionenstärken können bereits die Ursache für eine höhere Permeabilität sein. Außerdem kann der osmotische Druck, der durch die

gesättigte Fluoresceinlösung im Kapselinneren einerseits und das umgebende reine Wasser andererseits entsteht, die Freisetzungsgeschwindigkeiten erhöhen. Messungen bei niedriger Ionenstärke ergaben um zwei Größenordnungen geringere Diffusionskoeffizienten und zeigten einen Gerade-ungerade-Effekt in Abhängigkeit von der Ladung der äußeren Schicht. Bei hohen Schichtzahlen nivelliert sich dieser Effekt (Abbildung 8).

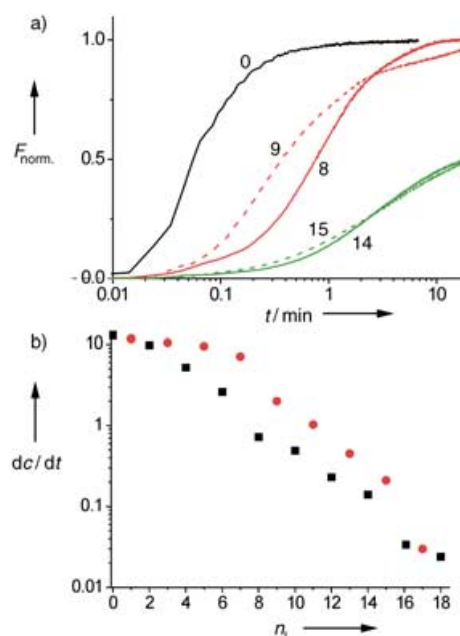


Abbildung 8. a) Freisetzungskurven für Fluoresceinkristalle (Durchmesser 4–6 μm), verkapselt mit 0, 9, 8, 15 und 14 Polyelektrolytschichten; gestrichelte Kurven markieren eine positive Oberflächenladung. Die Freisetzung erfolgte in Natriumtetraboratpuffer ($c = 6 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$, pH 9.16); $c_{\text{Fl, (100% Freisetzung)}} = 1.4 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$. b) Abhängigkeit der maximalen Freisetzungsgeschwindigkeit dc/dt von der Zahl der Schichten n_i und der Oberflächenladung. Quadrate markieren PSS (negativ) als äußere Schicht und Kreise PAH (positiv) als äußere Schicht. Deutlich ist der Gerade-ungerade-Effekt bei mittlerer Schichtdicke zu erkennen.

Donath und Mitarbeiter beschrieben einen ähnlichen Ansatz mit dem Wirkstoff Ibuprofen (IB) als Modellschubstanz,^[73,77] wobei die pH-abhängige Löslichkeit von Ibuprofen zur Variation des Konzentrationsgradienten genutzt wurde. Die Freisetzungsgeschwindigkeit steigt mit der Löslichkeit von IB, die durch den pH-Wert der Volumenphase bestimmt wird. Bei pH 7.4 hat der Wirkstoff eine sehr hohe Löslichkeit, sodass IB rasch freigesetzt wird. Bei pH 1.4 (sehr niedrige Löslichkeit von IB) dauert die Freisetzung mehrere Stunden bei einer Geschwindigkeit proportional zur Wanddicke. Diese Resultate stützen ein Modell, nach dem zwei Freisetzungsmechanismen wirken: Freisetzung durch Diffusion bei pH 1.4 und druckabhängig bei pH 7.4 durch eine porenähnliche Struktur. Auf molekularer Ebene sind die Polyelektrolytfilme nicht vollständig glatt und können nanoskopische Poren aufweisen, die durch den pH-Wert oder die Salzkonzentration beeinflusst werden können.^[28,29,133]

Wir untersuchten die Diffusion von Farbstoffen in Hohlkapseln, die nach Herauslösen der MF-Template durch zusätzliche Multischichten modifiziert wurden.^[66] Bereits wenige Schichten versiegeln die Kapselwände und verhindern das Eindringen von Makromolekülen. Das Aufbringen von acht zusätzlichen Schichten auf die Kapseln ergab eine stark verringerte Permeabilität selbst für kleine Farbstoffmoleküle. Dieses Ergebnis eröffnet neuartige Möglichkeiten zur Beladung und zur vollständigen Immobilisierung von Polymeren im Kapselinneren durch die Adsorption weniger zusätzlicher Schichten.

3.1.3. Permeabilität in Abhängigkeit vom pH-Wert

Antipov et al. nutzten die bereits geschilderte pH-Sensitivität schwacher Polyelektrolyte zur Kontrolle der Permeabilität der Wände von PAH/PSS-Kapseln und zur Verkapselung von Makromolekülen.^[123] Die PAH/PSS-Kapseln wurden bei neutralen pH-Werten hergestellt und konnten durch Änderungen des pH-Wertes zwischen einem durchlässigen und einem nichtdurchlässigen Zustand geschaltet werden. Makromoleküle können bei niedrigen pH-Werten ins Kapselinnere gelangen und werden bei pH-Werten > 7 zurückgehalten. Dieser reversible Vorgang ermöglicht es, verschiedene Substanzen bei milden Bedingungen innerhalb weniger Minuten einzukapseln. Die Autoren erklären dieses Schaltverhalten mit Protonierungs-Deprotonierungs-Vorgängen der schwachen Polybase PAH. pH-Änderungen beeinflussen die Wechselwirkungen innerhalb der PAH/PSS-Kapselwände und erzeugen im Film lokale Ladungen und Defekte. Leider konnte dieses Verhalten bislang nicht vollständig reproduziert werden. Mehrere unabhängig durchgeführte Untersuchungen zur Erhöhung der Permeabilität von PSS/PAH-Kapseln durch Verringerung des pH-Wertes verliefen nicht erfolgreich.

3.1.4. Permeabilität in Abhängigkeit von den Wandmaterialien

Donath und Mitarbeiter untersuchten die Permeation von Ibuprofen durch Kapselwände aus unterschiedlichen Polyelektrolytmaterialien.^[73] Die Permeabilität wird hauptsächlich durch die Ladungsdichte der Polymere, die die Kapselwände bilden, und die Hydrophobie der Substanzen, die durch die Kapselwände diffundieren, beeinflusst. Als Erklärung wurde eine These von Tieke und Mitarbeitern^[33,63] angeführt, die sich aus der Ionenpermeabilität planarer Polyelektrolyt-Multischichtfilme ableitet. Demnach werden für die Permeation durch Polyelektrolyt-Multischichtmembranen zwei Typen von Hohlräumen genutzt, und zwar kleine, stark hydrophobe und große, weniger hydrophobe Cavitäten. Polyelektrolyt-Multischichten mit einer hohen Ladungsdichte tendieren zur Ausbildung kleiner hydrophober Hohlräume, während solche geringer Ladungsdichte große Hohlräume bilden. Der Modellwirkstoff Ibuprofen sollte als relativ hydrophobes Molekül nach der Erwartung eher durch die großen, weniger hydrophoben Hohlräume transportiert werden. Wahrscheinlich können nur Polyelektrolyt-Multischichten mit hoher Ladungsdichte und optimalen Ladungsabständen ausschließlich kleine hydrophobe Hohlräume

bilden, ansonsten weisen Polyelektrolyt-Multischichten allgemein große Hohlräume auf. Permeabilitätsuntersuchungen von größeren Molekülen könnten diese Hypothese stützen.

PAH/PSS-Kapseln auf MF-Basis haben eine geringere Permeabilität als PDADMAC/PSS-Kapseln, die für Polymere mit Molekulargewichten von bis zu $2 \times 10^6 \text{ g mol}^{-1}$ durchlässig sind. Obwohl PSS und PDADMAC hohe Ladungsdichten aufweisen, bilden sie offensichtlich besonders große Poren (Näheres siehe Abschnitt 3.2.5 zur Beschreibung der Strukturen der Kapselwände).

3.2. Mechanische Eigenschaften

Die mechanischen Eigenschaften von Polyelektrolytkapseln in wässriger Lösung spielen für viele Anwendungen eine wichtige Rolle. Trotz dieser Bedeutung wurden bisher nur wenige systematische Untersuchungen der mechanischen Eigenschaften durchgeführt. Im Allgemeinen kann in LbL-Filmen eine höhere mechanische Stabilität erreicht werden als in Fluidmembranen oder Liposomen. Darüber hinaus können die mechanischen Eigenschaften durch die Verwendung unterschiedlicher Polyelektrolytkombinationen und durch die Erhöhung der Zahl der abgeschiedenen Schichten über einen weiten Bereich variiert werden. Die kovalente Vernetzung der elektrostatisch gebundenen Polyelektrolyte kann die Kapselstabilität ebenfalls erhöhen, wobei ein Übergang von plastischem zu elastischem Verhalten ausgelöst wird. Im Folgenden werden Methoden beschrieben, mit denen die mechanischen Eigenschaften von Hohlkapseln untersucht wurden.

3.2.1. Anwendung eines externen osmotischen Drucks

Wegen der Undurchlässigkeit von Kapseln für große Moleküle kann durch den Zusatz von geladenen Polymeren zur umgebenden Lösung ein hoher äußerer osmotischer Druck erzeugt werden, der hauptsächlich durch die Konzentration der Gegenionen bestimmt wird. Lösungen von NaPSS mit einem Molekulargewicht von 70000 g mol^{-1} wurden Suspensionen von kugelförmigen PAH/PSS-Kapseln zugeetzt. Oberhalb einer spezifischen Konzentration von PSS oder eines kritischen Drucks P_c wurde ein Übergang von sphärischen zu sichelförmigen Kapseln beobachtet (Abbildung 9). Ein theoretisches Modell wurde entwickelt, das die Abhängigkeit dieses kritischen osmotischen Drucks P_c vom Elastizitätsmodul und von der Zahl der Schichten sowie von geometrischen Parametern der Kapseln beschreibt. Da die Wandstärken und Abmessungen in definierter Weise variierbar sind, konnte das Modell verifiziert und Elastizitätsmoduln zwischen 500 und 700 MPa in Abhängigkeit vom untersuchten System bestimmt werden. Diese Werte sind für makroskopische plastische Materialien typisch und spiegeln die starken lokalen Wechselwirkungen zwischen Polyanionen und Polykationen wider.^[134]

Untersuchungen unterschiedlicher Polyelektrolytsysteme zeigen, dass die Elastizität ebenfalls stark von den verwendeten Materialien abhängt. PSS/PDADMAC-Kapseln zeigen beispielsweise eine merklich geringere Elastizität als PSS/

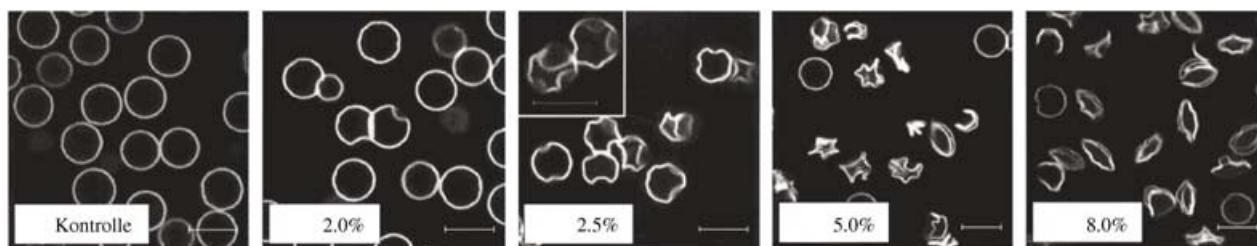


Abbildung 9. Durch äußeren osmotischen Druck verursachte Deformation von Polyelektrolytkapseln: CLSM-Abbildung von Kapseln aus zehn Schichten PSS/PDADMAC als Funktion der Konzentration von PSS ($M_w = 70\,000 \text{ g mol}^{-1}$) in der Volumenphase. Die PSS-Konzentrationen sind als Gew.-% angegeben. Skalierung: $5 \mu\text{m}$. (In veränderter Form aus Lit. [71].)

PAH-Kapseln.^[71] Ein höhere Stabilität gegen äußeren Druck wurde mit den in Abschnitt 2.4.3 beschriebenen Shell-in-Shell-Kapseln erreicht, die bei gleicher Schichtzahl wie bei den normalen Vergleichskapseln und gleichem osmotischem Druck die sphärische Kapselform beibehalten. Bei diesem System wird eine doppelwandige Kapsel durch den osmotischen Druck der dazwischenliegenden PAH-Lösung von 50 nm Dicke stabilisiert.^[100]

3.2.2. Anwendung eines internen osmotischen Drucks

Umgekehrt zur Anwendung eines äußeren Drucks wurden Mikrokapseln mit Polyelektrolyten beladen und ihr Quellverhalten bei Variation der äußeren Polyelektrolytkonzentration untersucht. Eine Beladung von Kapseln mit einer 1 M PSS-Lösung durch eine „ship in a bottle“-Synthese (siehe Abschnitt 4.1) führt in wässriger Lösung bis zu einer Verdreifachung des Kapseldurchmessers (Abbildung 10), bevor die

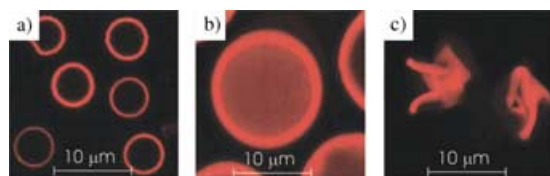


Abbildung 10. Auswirkung eines internen osmotischen Drucks auf PSS/PAH-Kapseln. CLSM-Bilder gleicher Kapseln vor (a) und nach der Füllung durch Polymerisation mit 1 M Styrolsulfonat-Lösung (b) sowie nach Schrumpfung dieser Kapseln durch osmotischen Druck, hervorgerufen durch 2 M PDADMAC-Lösung in der Volumenphase (c). (Aus Lit. [52].)

Kapseln platzen. Deformationen dieses Ausmaßes sind nicht reversibel. Die Verringerung des osmotischen Drucks durch Salz- oder Polyelektrolytzusatz zur umgebenden Lösung führt daher nicht zu einem Schrumpfen der aufgeblähten Kapseln, sondern zur Deformation der sphärischen Struktur, was auf einen nichtelastischen Prozess hinweist. (Abbildung 10b,c).^[52]

Bei geringerem Anschwellen der Kapseln wurde dagegen ein teilweise reversibles elastisches Verhalten beschrieben. Kapseln, die mit der Methode der kontrollierten Präzipitation gefüllt und in Wasser aufgebläht wurden, zeigten eine Schrumpfung bis zu einer gewissen Größe, wenn der äußere osmotische Druck wieder erhöht wurde.^[85] Ein weiterer

Hinweis auf ein elastisches Verhalten konnte durch detaillierte Untersuchungen der Auflösung von MF-Templaten erhalten werden (siehe Abbildung 1). Nach einem Anschwellen der Kapseln von 4 auf $6 \mu\text{m}$ während der Auflösung schrumpften die Kapseln langsam wieder auf ihre ursprüngliche Größe zurück, nachdem die MF-Oligomere aus dem Inneren herausdiffundiert waren.^[62,135]

3.2.3. Untersuchungen mit einer Mikropipette

Die Deformierbarkeit und die osmotischen Eigenschaften von PSS/PAH-Kapseln auf der Basis von löslichen MF-Templaten wurden mithilfe der Mikropipettenteknik untersucht.^[136] Die Polyelektrolyt-Mikrokapseln reagieren auf das Ansaugen mit einer Mikropipette mit einer plastischen Deformation. Dabei wurde ein oberer Grenzwert des Plastizitätsmoduls D_p von ungefähr 5 kPa abgeschätzt. Ein Lipidzusatz zu den Polyelektrolytschichten verändert die mechanischen Eigenschaften merklich. Nach der mechanischen Deformation durch die Mikropipette regenerierte sich die Form der Kapseln vollständig. Daraus wurde geschlossen, dass aufgebrachte Lipidschichten eine höhere Plastizität mindestens in der Größenordnung der angewandten mechanischen Kräfte bewirken.^[136]

3.2.4. Nanostrukturen von Kapseln: eine indirekte Methode zur Abschätzung der mechanischen Eigenschaften

Anhand der Nanostrukturen getrockneter Kapseln auf Glimmer wurden mithilfe der Rasterkraftmikroskopie (SFM) Rückschlüsse auf die Kapselstabilität gezogen.^[137,138] Die getrockneten Polyelektrolytkapseln zeigen bei hoher Auflösung eine körnige Struktur, die aufgelagerten Polyelektrolytkomplexen zugeschrieben wird. Bei PSS/PDADMAC-Kapseln werden signifikant größere Körner ($124 \pm 10 \text{ nm}$) als bei PSS/PAH-Kapseln ($50\text{--}100 \text{ nm}$) beobachtet.^[71] Wie in Abschnitt 3.2.1 erwähnt, ist die Elastizität von PSS/PDADMAC-Kapseln geringer als die Elastizität von PSS/PAH-Kapseln, weshalb die Autoren auf eine Korrelation zwischen der Korngröße der Aufwachsungen und der Stabilität und Elastizität der Kapseln schlossen.

3.2.5. Einfluss von Temperprozessen auf die Wandstruktur

Ebenfalls mit Rasterkraftmikroskopie an getrockneten Kapseln wurde der Temperatureinfluss auf die Wandstruktur

von PSS/PAH-Kapseln untersucht.^[139] Eine Erwärmung auf 70°C führt zu einem temperaturinduzierten Schrumpfen der Kapseln, wobei mit Verringerung des Kapseldurchmessers die Wandstärke zunimmt. Diese Größenveränderungen werden durch einen Übergang zu einer stärker verknäulten Anordnung der einzelnen Polyelektrolytmoleküle in den Multischichten erklärt. Durch Auflösungs- und Reorientierungsprozesse von Ionenpaaren entsteht eine voluminösere Konfiguration der Polymere. Es muss jedoch angemerkt werden, dass diese Annahmen auf einer relativ schwachen experimentellen Basis stehen. Getemperte Kapseln aus PDADMAC/PSS zeigen beispielsweise ein umgekehrtes Verhalten: Der Durchmesser nimmt beim Tempern bereits bei 40°C zu, bei einer weiteren Temperaturerhöhung auf 70°C zersetzen sich diese Kapseln.^[140] Offensichtlich ist die elektrostatische Anziehungskraft zwischen PDADMAC und PSS geringer als zwischen PAH und PSS, was die bereits beschriebene höhere Permeabilität von PDADMAC/PSS-Kapseln bestätigt (siehe Abschnitt 3.2.1). Diese schwächeren Wechselwirkungen werden auf topologische Restriktionen zwischen den beiden starren und voluminösen Polymeren zurückgeführt.^[140]

Wir zeigten durch FRAP-Experimente (FRAP = fluorescence recovery after photobleaching), dass durch kurzzeitiges Tempern bei 80°C die Geschwindigkeit des Eindringens von Fluorescein in PSS/PAH-Kapseln um bis zu drei Größenordnungen verringert wird. Eine Umorientierung von Polymerketten wird auch als Mechanismus für die Ausheilung der bei der Templatauflösung gebildeten Poren in der Kapselwand angeführt.^[141]

4. Füllen von Kapseln: Eigenschaften und potenzielle Anwendungen

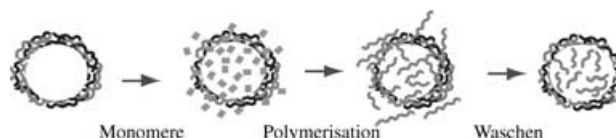
4.1. Verkapselung von Makromolekülen und Kristallen

Die einfachste Methode zur Verkapselung besteht darin, die einzuschließende Substanz als Templat zu nutzen. Hauptproblem hierbei ist die Herstellung kolloidaler Kristalle geringer Dispersität im gewünschten Größenbereich und mit einer voluminösen Form: Lange Nadeln oder amorphe Materialien sind als Template ungeeignet. Darüber hinaus muss das Material unter den Bedingungen der Polyelektrolytabcheidung eine geringe Löslichkeit haben. Bei wasserlöslichen Substanzen werden wirkstoffgesättigte Polyelektrolyt- und Waschlösungen verwendet, was die Auflösung der Template verhindert. Wenn diese Vorbedingungen erfüllt sind, lassen sich Polyelektrolytschichten auf solchen kolloidalen Materialien abscheiden. So konnten beispielsweise Proteinaggregate und Farbstoffkristalle gekapselt werden. Bei schwach geladenen Kolloiden kann das Aufbringen einer Grundierung aus Tensiden oder Blockcopolymeren zur Erhöhung der Oberflächenladung erforderlich sein.^[56,131]

Die Füllung von hohlen Kapseln zur Herstellung von monodispersen verkapseltem Material ist eine schwierige Aufgabe. Es wurde gefunden, dass die Präzipitation von Molekülen mit niedrigem Molekulargewicht hauptsächlich an den Kapseloberflächen oder in der Lösung, aber nicht im

Kapselinneren erfolgt.^[143,144] Zur Lösung dieses Problems können funktionelle Makromoleküle im Inneren von Kapseln immobilisiert werden. Dabei entstehen gegenüber der Volumenphase geänderte physikalische Eigenschaften (pH-Wert, Ionenstärke, Hydrophobie), die zu einer bevorzugten Präzipitation auch kleinerer Moleküle durch attraktive Wechselwirkungen mit der Polymerfüllung im Kapselinneren führen. Zur permanenten Immobilisierung von Makromolekülen innerhalb von Kapseln stehen drei Methoden zur Verfügung:

Eine elegante Verkapselungstechnik für synthetische Makromoleküle nutzt die semipermeablen Eigenschaften von Polyelektrolytkapseln zur Polymersynthese in Gegenwart von Kapseln (Schema 4).^[52] Bei diesem „ship in a bottle“-



Schema 4. Füllung von Polyelektrolyt-Mikrokapseln mit Polymeren durch „ship in a bottle“-Synthese.

Verfahren werden die Monomere in Gegenwart von vorgeformten, ungefüllten Kapseln zur Reaktion gebracht. Die kleinen Monomermoleküle und der Initiator Kaliumperoxydisulfat diffundieren ins Kapselinnere. Durch Temperaturerhöhung wird die Polymerisation innerhalb und außerhalb der Kapseln gestartet. Während die kleinen Monomermoleküle ins Kapselinnere diffundieren konnten, gelangen die synthetisierten Makromoleküle nicht mehr nach außen. Durch nachfolgendes Wegwaschen der außerhalb entstandenen Polymere können Kapseln isoliert werden, die Polymere in hohen Konzentrationen enthalten (Abbildung 10). Obgleich diese Methode schon in verschiedenen Polymersynthesen angewendet wurde, sind einige Schwierigkeiten zu bedenken. Abhängig von der Oberflächenladung der Kapselwand wird eine inhomogene Verteilung des Initiators beobachtet, die zu einer überproportionalen Polymerbildung in den Kapselwänden oder an den Oberflächen der Wände führt, wodurch wiederum die Eigenschaften der Kapselwände modifiziert werden. Hohe Konzentrationen an PSS in der Kapselwand führen beispielsweise nach Zusatz organischer Kationen zu einer Zerstörung der Kapselwand und der Freisetzung der verkapselten Makromoleküle.^[52]

Eine weitere Methode zur Verkapselung von Makromolekülen beruht auf einem zweistufigen Prozess. Im ersten Schritt werden die zur Befüllung vorgesehenen Polymere auf einem Templat abgeschieden. Eine geeignete Methode ist die Komplexbildung des Polyelektrolyten mit mehrwertigen Ionen, denn Multischichten aus Polyanionen und mehrfach geladenen Metall-Ionen wie Tb^{3+} und Y^{3+} sind instabil und können leicht zerstört werden.^[85] In einem zweiten Schritt werden klassische, stabile LbL-Polyelektrolyt-Multischichten aufgebracht. Das Templat wird unter Zerstörung der Metallionen-Polymer-Schichten aufgelöst, wobei die kleinen mehrwertigen Ionen in die Volumenphase diffundieren und die verbleibenden großen Polymere das Kapselinnere füllen.^[145]

Dextran, PSS und PAH wurden bereits mit dieser Technik verkapselt.

Eine weitere Methode zur Verkapselung von Makromolekülen besteht in der Beladung vorgeformter Kapseln durch umgebungsabhängiges Schalten der Kapselpermeabilität durch pH-Änderungen^[65,121,149] oder Variation der Ionenstärke^[150] (siehe auch die Abschnitte 3.1.1 und 3.1.3). Mit dieser Methode lassen sich jedoch nur geringe Mengen verkapseln.

Physikochemische Unterschiede der Polymerlösung im Inneren der Kapseln und dem äußeren Medium können genutzt werden, um kleine Moleküle oder Nanopartikel selektiv im Inneren zu akkumulieren oder zu präzipitieren. Superparamagnetische Fe_3O_4 - oder fluoreszierende CdTe-Nanopartikel unterschiedlicher Größe und Emissionswellenlänge wurden durch elektrostatische Wechselwirkungen mit dem Polymer im Inneren immobilisiert.^[105,146,147] Durch Auswahl unterschiedlich geladener Thiole zur Stabilisierung der Nanopartikel wurde ihre Oberflächenladung an das Polymer angepasst (Abbildung 11). Die Menge der immobilisierten Nanopartikel hängt dabei von der Konzentration der Nanokristallsuspension und der Konzentration an freien Polyelektrolytmolekülen im Inneren der Kapseln ab.^[146] Allerdings ist zu erwarten, dass die Nanopartikel in Gegenwart höherer Salzkonzentrationen oder von Stoffen mit höherer Affinität zum eingeschlossenen Polymer langsam wieder herausdiffundieren, was eine vorgeschlagene Verwendung in kombinatorischen Bibliotheken einschränkt.

Durch Ausnutzung eines Polaritätsgradienten zwischen der Umgebung und dem Inneren der polymergefüllten Kapseln konnten schwer wasserlösliche Wirkstoffe, z. B. der Farbstoff Disperse Red 1, verkapselt werden.^[148] Der Polaritätsgradient entsteht durch die Hydratation der Polyelektrolytladungen, sodass in einem Gemisch aus Wasser und z. B. Aceton der Wasseranteil im Inneren der Kapseln deutlich höher als in der umgebenden Lösung ist.

Eine selektive Präzipitation im Kapselinneren wurde bei einigen Farbstoffen und anorganischen Salzen, z. B. Fluorescein, Rhodamin, Pseudoisocyanin, Calciumcarbonat und Bariumcarbonat, durch langsame Erhöhung der Sättigungskonzentration durch Austausch des Lösungsmittels, des Gegenions^[10] oder durch Änderung des pH-Wertes in Gegenwart von MF-Kapseln erreicht. Dabei spielen wahrscheinlich Wechselwirkungen mit den im Inneren der Kapseln verbliebenen MF-Oligomeren eine Rolle. Ein pH-Gradient bei Kapseln, die mit Polystyrolsulfonsäure befüllt waren, wurde zur selektiven Präzipitation von organischen Säuren wie 6-Carboxyfluorescein genutzt. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, dass die Kapseln komplett mit kugelförmigen Farbstoff-Präzipitaten gefüllt waren.^[143,144] Durch elektrostatische Wechselwirkungen mit PSS konnten J-Aggregate des kationischen Farbstoffs Pseudoisocyanin im Inneren von Kapseln erzeugt und nachfolgend mit Tetraphenylborat in Form fluoreszierender Nanopartikel ausgefällt werden.^[10]

4.2. Verkapselung von Biomolekülen

Eine Verkapselung von aktiven Biomolekülen kann vielen Zwecken dienen. Polyelektrolytkapseln können eingelagerte Proteine vor hochmolekularen Denaturierungsreagentien oder Bakterien schützen. Weiterhin ermöglichen sie die Steuerung der Permeabilität für kleine Moleküle, die entweder in die Kapseln eindringen oder sie verlassen, um mit den Biomolekülen im Kapselinneren zu reagieren. Aktuelle Anwendungsmöglichkeiten fänden sich als Mikroenzymreaktoren, in der Biosensorik,^[142] der Gentransfektion^[151] und der Polymerasekettenreaktion (PCR) von DNA.

Eine zentrale Methode zur Verkapselung von Enzymen ist die direkte Beschichtung von Enzymkristallen oder -aggregaten mit der LbL-Technik.^[152,153] Die Größe der Protein-Primäraggregate, die Aggregatmorphologie und die hierarchische Umordnung zu Sekundäraggregaten können durch Präparationsparameter wie Proteinkonzentration, Ionenstärke, Dauer der Salzbehandlung und Eigenschaften der für die Kapselbildung verwendeten Polyelektrolyte bestimmt werden, was bei der Verwendung von Enzymkristallen als Templaten nicht möglich ist.

Caruso et al. beschrieben die Beschichtung von Katalasekristallen mit der LbL-Methode (Abbildung 12).^[152] Trotz

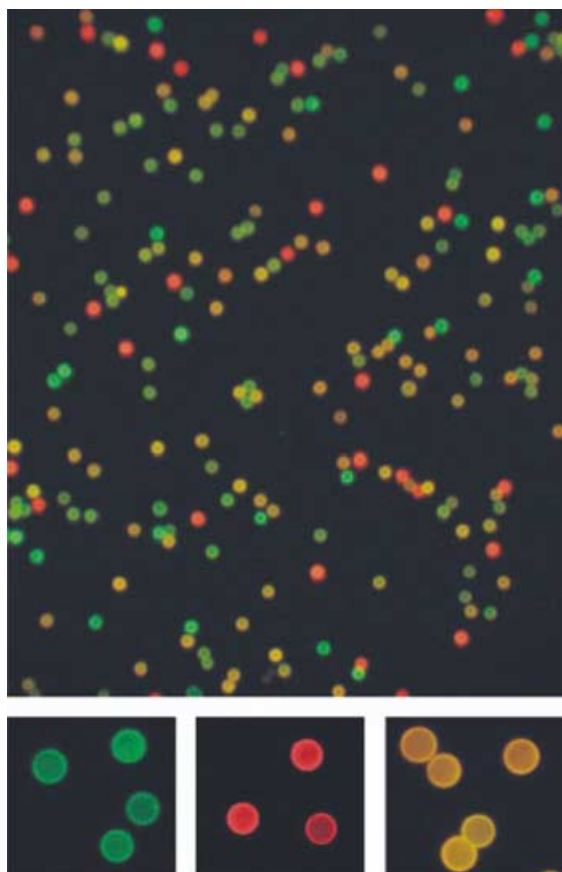


Abbildung 11. Oben: Fluoreszenzbild einer Mischung von Kapseln, beladen mit CdTe-Nanokristallen unterschiedlicher Größe. Die Mischung enthält sowohl einfarbmarkierte (Emissionswellenlängen 548, 558, 581, 615 und 633 nm) als auch mehrfarbmarkierte Mikrobeads (Mischungen der fünf angegebenen Wellenlängen). Unten: Vergrößerung der grün, rot und orangefarben codierten Kapseln (Fünffarbmarkierung). (Aus Lit. [146].)

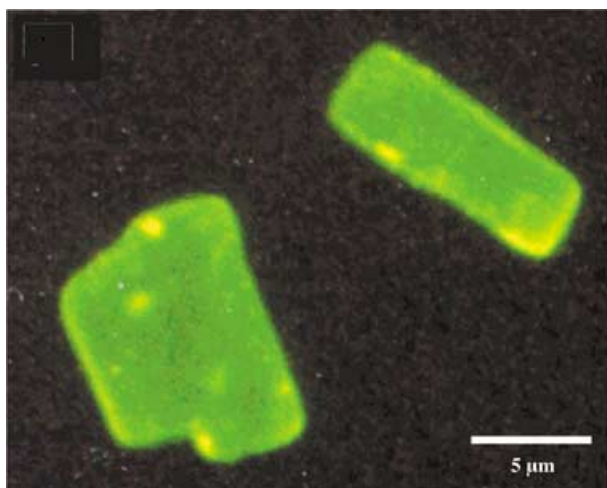


Abbildung 12. Fluoreszenzbild eines Katalasekristalls, beschichtet mit acht (PSS/FITC-PAH)₄-Polyelektrolytschichten. (In veränderter Form aus Lit. [152].)

24 h Protease-Exposition blieb die Aktivität des gekapselten Enzyms vollständig erhalten. Folglich ist ein dünner Polymerfilm mit einer Dicke von ca. 8 nm ausreichend, um die Proteolyse der verkapselten Katalase zu verhindern.

Die selektive Permeabilität der Kapselwände für Substanzen und Inhibitoren mit unterschiedlichen Molekulargewichten und unterschiedlichen Löslichkeiten wurde mithilfe des Modellenzym Chymotrypsin untersucht. Bei Zusatz eines Inhibitors mit niedrigem Molekulargewicht (Phenylsulfonfylfluorid (PMSF), $M_w = 174 \text{ g mol}^{-1}$) zu einer Suspension Chymotrypsin-gefüllter Kapseln wurde das verkapselte Enzym zu 70 % desaktiviert. Bei Verwendung eines Inhibitors mit hohem Molekulargewicht (des Proteins BPTI, $M_w = 6500 \text{ g mol}^{-1}$) sinkt der Desaktivierungsgrad auf 13 %. Diese Resultate demonstrieren erneut den semipermeablen Charakter der Kapselwände.^[154]

Lactat-Dehydrogenase wurde ebenfalls mit der LbL-Methode in Polyelektrolytschichten verkapselt. Die Verkapselung dieses Enzyms beeinflusste seine Affinität gegen das Substrat Pyruvat nicht. Gegenüber der freien Form des Enzyms zeigt die verkapselte Lactat-Dehydrogenase in verdünnter Lösung eine längere Lebensdauer (1–2 Tage gegenüber 30 Minuten) und eine höhere Stabilität gegen basische Denaturierung. Die Änderungen der katalytischen Eigenschaften der verkapselten Lactat-Dehydrogenase werden vermutlich durch einen Anstieg der effektiven pK -Werte der Aminosäuren verursacht, die durch die Polyelektrolytschichten des Enzyms beeinflusst werden.^[155]

Eine Verwendung von Enzymaggregaten und -kristallen hat den Nachteil, dass die Größe und die Gestalt der erhaltenen Partikel stark von den präparierten Enzymtemplaten abhängig ist. Daher wurde zur Beladung hohler monodisperser Kapseln mit Enzymen das Konzept der Verkapselung von Makromolekülen durch die schaltbare Permeabilität der Kapselwände genutzt (siehe Abschnitt 4.1). Die Größenverteilung und die Form der Kapseln kann dadurch einfacher vorherbestimmt werden, außerdem lassen

sich die teilweise drastischen Prozeduren der Enzympräzipitation vermeiden.

Tiourina et al. beschrieben die Einlagerung des proteolytischen Enzyms α -Chymotrypsin in hohle PSS/PAH-Kapseln. Die Verkapselung des Enzyms erfolgte bei pH 4, eine nachfolgende Waschprozedur bei pH 8 verschließt die Poren. Das eingeschlossene Protein behält seine hohe Aktivität (50–60 %) und Lagerfähigkeit. Die Enzymfunktionalität blieb bei Raumtemperatur mehr als eine Woche lang erhalten. Die Polyelektrolythülle schützte die Proteinase α -Chymotrypsin vor Inhibitoren, wie dem Enzym BPTI mit hohem Molekulargewicht, während kleine Moleküle das Enzym im Kapselinneren ungehindert erreichen können.^[156]

Urease wurde durch einen ähnlichen Prozess in PSS/PAH-Kapseln eingelagert. Hier bestimmte die Wahl des Lösungsmittels die Permeabilität der Kapseln.^[142] Lvov et al. nutzten den Umstand, dass die Polyelektrolytwechselwirkungen von der Lösungsmittelpolarität abhängen. Bei einem Zusatz von Ethanol zu einer Urease/Mikrokapsel-Suspension öffnen sich Poren in den Polyelektrolyt-Kapselwänden, was zum Eindringen der Urease führt (Abbildung 13, Mitte).

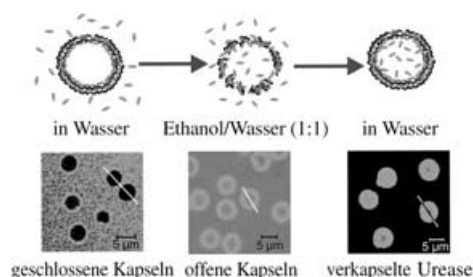


Abbildung 13. Permeation und Verkapselung von Urease-FITC in Multischichtkapseln. Links: in Wasser (die Fluoreszenz ist nur im Überstand sichtbar); Mitte: in einer Mischung Wasser/Ethanol (1:1) (fluoreszierende Spezies befinden sich sowohl innerhalb als auch außerhalb der Kapsel); rechts: verkapselte Urease, resuspendiert in Wasser (die fluoreszierenden Spezies befinden sich im Inneren der Kapseln). Oben: schematische Darstellung; unten: konfokales Fluoreszenzbild. (In veränderter Form aus Lit. [142].)

Nach einer Resuspension der gefüllten Kapseln in reinem Wasser schließen sich die Poren wieder, und das Enzym ist verkapselt (Abbildung 13, rechts). In diesem Beispiel behält die verkapselte Urease nur 13 % ihrer Enzymaktivität gegenüber der freien Urease in Ethanol. Diese Verringerung ist vermutlich auf Schwierigkeiten beim Eindringen des Substrats in die Kapseln zurückzuführen. Das Problem, dass nur ein geringer Teil des in Lösung befindlichen Enzyms verkapselt wird, lässt sich lösen, indem im Kapselinneren zusätzliche Polyelektrolytmoleküle eingebracht werden, die eine Bindung und Präzipitation begünstigen. So konnten Verkapselungseffizienzen bis zu 90 % erreicht werden.^[67,68]

Mithilfe derartiger Urease-gefüllter PSS/PAH-Polyelektrolytkapseln konnte die biomimetische Synthese von Calciumcarbonat ausschließlich im Kapselinneren ausgeführt werden. Die Carbonat-Ionen wurden durch Urease-katalysierte Harnstoffzersetzung im Inneren der Kapseln erzeugt.

Der Zusatz von Calcium-Ionen verursachte einen Niederschlag von Calciumcarbonat, der das gesamte Kapselvolumen ausfüllte. Durch die problemlose Möglichkeit zur Variation experimenteller Parameter wie Wandstärke, interne Zusammensetzung und Diffusionsgeschwindigkeit von außen nach innen ist dieses System auf der Basis von Polyelektrolytkapseln gut zur Untersuchung grundlegender Aspekte von Biomineralisationsprozessen geeignet.^[157]

5. Zusammenfassung und Ausblick

Seit der Einführung des LbL-Verfahrens zur Erzeugung dünner Polyelektrolytfilme vor etwa zehn Jahren^[158] wurden beeindruckende Fortschritte zur Weiterentwicklung dieser Methode und zum Verständnis der theoretischen Hintergründe erzielt, aber auch wichtige Erfolge im Anwendungsbereich, woraus eine Vielzahl an Patenten für potenzielle Anwendungen hervorgegangen ist, z. B. zur Beschichtung von Kontaktlinsen.^[159] Ein Meilenstein war 1998 die Verwendung derartiger Filme zur Erzeugung von Hohlkapseln. Die primären Vorteile der neuartigen Polyelektrolytkapseln sind ihre Modularität und ihre vielseitige Verwendbarkeit bezüglich Materialien und Eigenschaften. Dies führte in den vergangenen Jahren zu einer rasanten Entwicklung in breit gefächerten Forschungs- und Anwendungsfeldern, wie anhand der ausgewählten Beispiele dieses Aufsatzes deutlich gemacht wurde. Wegen der kurzen Entwicklungszeit dieser Technik und der nahezu unendlichen Möglichkeiten zur Variation der Präparationsparameter sind noch viele Fragen offen. Viele interessante Anwendungsmöglichkeiten konnten zwar aufgezeigt werden, für eine breite Nutzung der Resultate sind aber wesentliche Verbesserungen hinsichtlich Reproduzierbarkeit und weiterführende Untersuchungen unerlässlich. Gegenwärtig ist noch unklar, ob alle vorgeschlagenen Anwendungen, die in diesem Aufsatz erwähnt wurden, auch wirklich mithilfe von LbL-Kapseln realisiert werden können. So ist z. B. die Permeabilität für kleine Moleküle generell noch zu groß, um eine kontrollierte verzögerte Freisetzung aus dem Kapselinneren zu ermöglichen. Außerdem ist wegen der breiten Verteilung der Kapselpermeabilitäten selbst innerhalb einer Charge nur eine ungenaue Diskriminierung von Molekülen aufgrund ihres Molekulargewichts möglich.

Bei zukünftigen Entwicklungen auf der Basis von LbL-Kapseln werden biologische Anwendungen stark im Vordergrund stehen. Zur Verbesserung der Biokompatibilität wird insbesondere eine Synthese bioabbaubarer, biokompatibler, monodisperser und formstabiler Template intensiv erforscht.^[160] Die Verwendung von Kapseln als biomimetische Systeme zur Untersuchung der physikalischen Prinzipien, die den Zelladhäsionsprozessen zugrunde liegen, ist angedacht. Eine andere bedeutende Entwicklung ist die Modifizierung der Kapseloberfläche zur Erkennung spezifischer Materialien oder Oberflächen. Für diese Zwecke kann die Oberfläche im einfachsten Falle positive oder negative Ladungen tragen oder mit biochemischen Funktionalitäten versehen werden, z. B. mit Proteinen, speziellen Rezeptoren oder DNA-

Sequenzen. Dies ebnet den Weg für die Erzeugung von Kapseln mit speziellen Adhäsionseigenschaften, die ein großes Anwendungspotenzial für diagnostische oder Wirkstofftransportprozesse haben.

Eine weitere interessante Entwicklung ist die Modifikation von Kapseln mit Liposomen, was eine Kombination der hohen Kapselstabilität mit der geringen Permeabilität der Liposomen ermöglicht. Die Kapseln können mit Lipiddoppelschichten beschichtet werden und umgekehrt. Derartige Lipiddoppelschicht/Polymerschicht-Kompositsysteme sind den Lipiddoppelschicht/Cytoskelett-Kompositsystemen biologischer Zellen bereits sehr ähnlich. Eine weitere Möglichkeit zur Nachahmung biologischer Prozesse wäre der Einbau von Ionenkanälen und Rezeptoren in solche Kapsel-Liposome.^[161] Die Verkapselung von DNA für die nichtvirale Gentherapie ist ebenso eine zukünftige Entwicklung wie die Verwendung von Mikrokapseln als Käfige zur Separierung von Materialien und als Template für Biomineralisationsprozesse.

Um das Potenzial der neuen Kapseltechniken zu verdeutlichen, soll dieser Aufsatz mit einer Zusammenfassung der Nachteile und besonders der Vorteile der LbL-Kapseln gegenüber anderen, in Anwendung befindlichen Kapseln beschlossen werden.

Nachteile:

- Hohe Permeabilität für kleine Moleküle
- Häufige Aggregationserscheinungen speziell bei kleinen Kapseln (Durchmesser < 1 μm)
- Ungenügende Reproduzierbarkeit der Resultate
- Unbekannte Langzeitstabilität
- Zeitaufwändige Herstellungsprozesse

Vorteile:

- Einstellbare Semipermeabilität
- Hohe chemische Stabilität
- Ausgedehnter Größenbereich (100 nm bis 15 μm)
- Monodispersität
- Sehr wenig Wandmaterial im Verhältnis zum Kapselvolumen
- Möglichkeit zur Mehrfachfunktionalisierung der Kapselwand und der Kapseloberfläche mit einer transversalen Auflösung im Nanometerbereich
- Spezielle Modifikation der physikochemischen Eigenschaften des Kapselinneren ist möglich
- Kapselherstellung aus bioabbaubaren und FDA-erprobten Materialien ist möglich (FDA = Food and Drug Administration)

Die Liste der Vor- und Nachteile könnte durch spezifischere Faktoren beliebig erweitert werden. Die oben angeführten Punkte zeigen jedoch bereits deutlich, dass LbL-Kapseln andere Verkapselungstechniken nicht vollständig verdrängen werden, aber zu neuen Anwendungen besonders im Hochtechnologiebereich führen könnten. Die Untersuchungen an LbL-Polyelektrolytkapseln stehen erst am Anfang, doch kann jetzt schon abgeschätzt werden, dass auf diesem faszinierenden Gebiet noch viele neue Entwicklungen und Überraschungen zu erwarten sind, mit deren Hilfe gegenwärtige Nachteile überwunden werden können.

Abkürzungen

4G-PAMAM	Poly(amidoamin) der 4. Generation
ALG	Alginat
BPTI	Rinderpankreas-trypsin-Inhibitor
FRET	Förster-Resonanzenergietransfer
IB	Ibuprofen
LbL	Layer-by-Layer
CLSM	konfokale Laser-Rastermikroskopie
MB	Methylenblau
MEPE	metallo-supramolekularer Polyelektrolyt
MF	Melaminformaldehyd
PAA	Polyacrylsäure
PAH	Poly(allylamin)
PDADMAC	Poly(diallyldimethylammoniumchlorid)
PEI	Poly(ethylenimin)
PL	Polylysin
PLA	Poly(D,L-milchsäure)
PLGA	Poly(D,L-milchsäure-co-glycolsäure)
PS	Polystyrol
PSS	Poly(styrolsulfonat)
PVS	Poly(vinylsulfat)
SP	Spermidin
THF	Tetrahydrofuran

Wir danken Prof. Dr. Helmut Möhwald, Prof. Edwin Donath und Dr. Gleb Sukhorukov für anregende Diskussionen und Kommentare während der Anfertigung des Manuskripts. C.S.P. dankt der Max-Planck-Gesellschaft für ein Graduiertenstipendium. Alexej Antipov danken wir für seine Hilfe bei der Anfertigung des graphischen Materials und Dr. Katrin Hoffmann für die Übersetzung des Manuskripts ins Deutsche. Darüber hinaus danken wir dem Fonds der Chemischen Industrie für die finanzielle Unterstützung.

Eingegangen am 27. Dezember 2002,
veränderte Fassung am 12. Dezember 2003
Online veröffentlicht am 15. Juni 2004

- [1] A. R. Hemsley, P. C. Griffiths, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. A* **2000**, 358, 547–564.
- [2] L. Brannonpeppas, *ACS Symp. Ser.* **1993**, 520, 42–52.
- [3] J. Jung, M. Perrut, *J. Supercrit. Fluids* **2001**, 20, 179–219.
- [4] G. Rafler, *Spektrum der Wissenschaft* **1994**, 122–124.
- [5] L. Schleicher, B. K. Green, US Patent 2730456, **1956**.
- [6] K. M. Wasan, *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2001**, 27, 267–276.
- [7] A. Prokop, D. Hunkeler, A. C. Powers, R. R. Whitesell, T. G. Wang, *Adv. Polym. Sci.* **1998**, 136, 53–73 (*Microencapsulation/Microgels/Iniferters*).
- [8] W. Meier, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29, 295–303.
- [9] S. Lutz, F. Essler, S. Panzner in *Controlled Release Society 29th Annual Meeting*, **2002**, S. 271.
- [10] C. Peyratout, H. Möhwald, L. Dähne, *Adv. Mater.* **2003**, 15, 1722–1726.
- [11] S. Förster, T. Plantenberg, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 712–739; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 689–714.
- [12] A. Renken, D. Hunkeler, *Polimery* **1998**, 43, 530–539.
- [13] D. Hunkeler, *Trends Polym. Sci.* **1997**, 5, 286–293.
- [14] A. Manna, T. Imae, K. Aoi, M. Okada, T. Yogo, *Chem. Mater.* **2001**, 13, 1674–1681.
- [15] A. Sunder, M. Krämer, R. Hanselmann, R. Mühaupt, H. Frey, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 3758–3761; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 3552–3555.
- [16] H. Dautzenberg, U. Schuldt, G. Grasnack, P. Karle, P. Müller, M. Löhr, M. Pelegrin, M. Piechaczyk, K. V. Romb, W. H. Günzburg, B. Salmons, R. M. Saller, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1999**, 875, 46–63 (*Bioartificial Organs II: Technology, Medicine, and Materials*).
- [17] H. Dautzenberg, U. Schuldt, D. Lerche, H. Woehlecke, R. Ehwald, *J. Membr. Sci.* **1999**, 162, 165–171.
- [18] E. Donath, G. B. Sukhorukov, F. Caruso, S. A. Davis, H. Möhwald, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2324–2327; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2202–2205.
- [19] G. Decher, *Compr. Supramol. Chem.* **1996**, 9, 507–552.
- [20] G. Decher, *Science* **1997**, 277, 1232–1237.
- [21] G. Decher, M. Eckle, J. Schmitt, B. Struth, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1998**, 3, 32–39.
- [22] W. Knoll, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1996**, 1, 137–143.
- [23] P. Bertrand, A. Jonas, A. Laschewsky, R. Legras, *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, 21, 319–348, zit. Lit.
- [24] X. Arys, A. Jonas, A. Laschewsky, R. Legras in *Supramolecular Polymers*, Marcel Dekker, New York, **2000**, S. 505–563, zit. Lit.
- [25] P. T. Hammond, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1999**, 4, 430–442, zit. Lit.
- [26] D. L. Elbert, C. B. Herbert, J. A. Hubbell, *Langmuir* **1999**, 15, 5355–5362.
- [27] P. Schwinte, J. C. Voegel, C. Picart, Y. Haikel, P. Schaaf, B. Szalontai, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105, 11906–11916.
- [28] J. D. Mendelsohn, C. J. Barrett, V. V. Chan, A. J. Pal, A. M. Mayes, M. F. Rubner, *Langmuir* **2000**, 16, 5017–5023.
- [29] S. S. Shiratori, M. F. Rubner, *Macromolecules* **2000**, 33, 4213–4219.
- [30] A. J. Chung, M. F. Rubner, *Langmuir* **2002**, 18, 1176–1183.
- [31] M. F. Rubner in *Multilayer Thin Films* (Hrsg.: G. Decher, J. B. Schlenoff), Wiley-VCH, **2003**, S. 133–154.
- [32] S. T. Dubas, J. B. Schlenoff, *Macromolecules* **2001**, 34, 3736–3740.
- [33] L. Krasemann, B. Tieke, *Langmuir* **2000**, 16, 287–290.
- [34] B. Tieke, F. van Ackern, L. Krasemann, A. Toutianoush, *Eur. Phys. J. E* **2001**, 5, 29–39.
- [35] T. Hoshi, H. Saiki, S. Kuwazawa, C. Tsuchiya, Q. Chen, J. Anzai, *Anal. Chem.* **2001**, 73, 5310–5315.
- [36] H. Möhwald, H. Lichtenfeld, S. Moya, A. Voigt, H. Bäuml, G. Sukhorukov, F. Caruso, E. Donath, *Macromol. Symp.* **1999**, 145, 75–81.
- [37] H. Möhwald, *Colloids Surf. A* **2000**, 171, 25–31.
- [38] H. Möhwald, E. Donath, G. B. Sukhorukov in *Multilayer Thin Films*, Wiley-VCH, New York, **2003**, S. 363–392.
- [39] G. B. Sukhorukov, *Stud. Interface Sci.* **2001**, 11, 384–414 (*Novel Methods to Study Interfacial Layers*).
- [40] G. B. Sukhorukov, *MML Series* **2002**, 5, 111–147.
- [41] A. Voigt, H. Lichtenfeld, G. B. Sukhorukov, H. Zastrow, E. Donath, H. Bäuml, H. Möhwald, *Ind. Eng. Chem. Res.* **1999**, 38, 4037–4043.
- [42] E. Donath, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1999**, 47, 400–403.
- [43] G. B. Sukhorukov, E. Donath, H. Lichtenfeld, E. Knippel, M. Knippel, A. Budde, H. Möhwald, *Colloids Surf. A* **1998**, 137, 253–266.
- [44] V. Dudnik, G. B. Sukhorukov, I. L. Radtchenko, H. Möhwald, *Macromolecules* **2001**, 34, 2329–2334.
- [45] G. B. Sukhorukov, E. Donath, S. Davis, H. Lichtenfeld, F. Caruso, V. I. Popov, H. Möhwald, *Polym. Adv. Technol.* **1998**, 9, 759–767.
- [46] A. Voigt, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Mater. Eng.* **2000**, 282, 13–16.

- [47] I. Estrela-Lopis, S. Leporatti, S. Moya, A. Brandt, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir* **2002**, *18*, 7861–7866.
- [48] D. I. Gittins, F. Caruso, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 6846–6852.
- [49] K. S. Mayya, D. I. Gittins, A. M. Dibaj, F. Caruso, *Nano Lett.* **2001**, *1*, 727–730.
- [50] B. Neu, A. Voigt, R. Mitlöhner, S. Leporatti, C. Y. Gao, E. Donath, H. Kiesewetter, H. Möhwald, H. J. Meiselman, H. Bäuml, *J. Microencapsulation* **2001**, *18*, 385–395.
- [51] S. Moya, L. Dähne, A. Voigt, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, *Colloids Surf. A* **2001**, *183*, 27–40.
- [52] L. Dähne, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5431–5436.
- [53] F. Caruso, W. J. Yang, D. Trau, R. Renneberg, *Langmuir* **2000**, *16*, 8932–8936.
- [54] A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, E. Donath, H. Möhwald, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 2281–2284.
- [55] D. Trau, W. J. Yang, M. Seydack, F. Caruso, N. T. Yu, R. Renneberg, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 5480–5486.
- [56] Z. F. Dai, A. Voigt, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 756–762.
- [57] A. I. Petrov, A. V. Gavryushkin, G. B. Sukhorukov, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 868–875.
- [58] C. Schüler, F. Caruso, *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 921–926.
- [59] D. I. Gittins, F. Caruso, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 1947–1948.
- [60] A. Diaspro, D. Silvano, S. Krol, O. Cavalleri, A. Gliozzi, *Langmuir* **2002**, *18*, 5047–5050.
- [61] E. Donath, S. Moya, B. Neu, G. B. Sukhorukov, R. Georgieva, A. Voigt, H. Bäuml, H. Kiesewetter, H. Möhwald, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 5481–5485.
- [62] C. Y. Gao, S. Moya, H. Lichtenfeld, A. Casoli, H. Fiedler, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Mater. Eng.* **2001**, *286*, 355–361.
- [63] L. Krasemann, A. Toutianoush, B. Tieke, *J. Membr. Sci.* **2001**, *181*, 221–228.
- [64] S. T. Dubas, J. B. Schlenoff, *Langmuir* **2001**, *17*, 7725–7727.
- [65] G. B. Sukhorukov, A. A. Antipov, A. Voigt, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 44–46.
- [66] G. Ibarz, L. Dähne, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Rapid Commun.* **2002**, *23*, 474–478.
- [67] C. Y. Gao, X. G. Liu, J. C. Shen, H. Möhwald, *Chem. Commun.* **2002**, 1928–1929.
- [68] C. Y. Gao, E. Donath, H. Möhwald, J. C. Shen, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3943–3947; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3789–3793.
- [69] M. K. Park, C. J. Xia, R. C. Advincula, P. Schütz, F. Caruso, *Langmuir* **2001**, *17*, 7670–7674.
- [70] K. Glinel, A. Moussa, A. Jonas, A. Laschewsky, *Langmuir* **2002**, *18*, 1408–1412.
- [71] C. Y. Gao, S. Leporatti, S. Moya, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir* **2001**, *17*, 3491–3495.
- [72] Z. F. Dai, H. Möhwald, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4751–4755.
- [73] X. P. Qiu, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Mater. Eng.* **2001**, *286*, 591–597.
- [74] B. D. Jung, J. D. Hong, A. Voigt, S. Leporatti, L. Dähne, E. Donath, H. Möhwald, *Colloids Surf. A* **2002**, *198*, 483–489.
- [75] R. Georgieva, S. Moya, M. Hin, R. Mitlöhner, E. Donath, H. Kiesewetter, H. Möhwald, H. Bäuml, *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 517–524.
- [76] G. Berth, A. Voigt, H. Dautzenberg, E. Donath, H. Möhwald, *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 579–590.
- [77] X. P. Qiu, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir* **2001**, *17*, 5375–5380.
- [78] O. P. Tiourina, G. B. Sukhorukov, *Int. J. Pharm.* **2002**, *242*, 155–161.
- [79] H. Härmä, *Technol. Rev.* **2002**, *126*, 1–30.
- [80] A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, Y. A. Fedutik, J. Hartmann, M. Giersig, H. Möhwald, *Langmuir* **2002**, *18*, 6687–6693.
- [81] I. Pastoriza-Santos, B. Schöler, F. Caruso, *Adv. Funct. Mater.* **2001**, *11*, 122–128.
- [82] T. A. Duchesne, J. Q. Brown, K. B. Guice, S. R. Nayak, Y. M. Lvov, M. J. McShane in *Proceedings of SPIE*, Vol. 4624, **2002**, S. 66–75.
- [83] T. A. Duchesne, J. Q. Brown, K. B. Guice, Y. M. Lvov, M. J. McShane, *Sens. Mater.* **2002**, *14*, 293–308.
- [84] M. J. McShane, J. Q. Brown, K. B. Guice, Y. M. Lvov, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2002**, *2*, 411–416.
- [85] I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, S. Leporatti, G. B. Kholmutoy, E. Donath, H. Möhwald, *J. Colloid Interface Sci.* **2000**, *230*, 272–280.
- [86] Z. F. Dai, A. Voigt, S. Leporatti, E. Donath, L. Dähne, H. Möhwald, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1339–1342.
- [87] Z. F. Dai, L. Dähne, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir* **2002**, *18*, 4553–4555.
- [88] Z. F. Dai, L. Dähne, E. Donath, H. Möhwald, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 11501–11508.
- [89] F. Caruso, C. Schüler, D. G. Kurth, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3394–3399.
- [90] D. G. Kurth, F. Caruso, C. Schüler, *Chem. Commun.* **1999**, 1579–1580.
- [91] R. A. Caruso, A. Sussha, F. Caruso, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 400–409.
- [92] F. Caruso, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 11–22.
- [93] F. Caruso, *Aust. J. Chem.* **2001**, *54*, 349–353.
- [94] F. Caruso in *Nano-Surface Chemistry* (Hrsg.: M. Rosoff), Marcel Dekker, New York, **2002**, S. 505–526.
- [95] F. Caruso, H. Lichtenfeld, M. Giersig, H. Möhwald, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8523–8524.
- [96] F. Caruso, H. Möhwald, *Langmuir* **1999**, *15*, 8276–8281.
- [97] F. Caruso, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 413–419.
- [98] F. Caruso, R. A. Caruso, H. Möhwald, *Science* **1998**, *282*, 1111–1114.
- [99] F. Caruso, R. A. Caruso, H. Möhwald, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3309–3314.
- [100] Z. F. Dai, L. Dähne, H. Möhwald, B. Tiersch, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 4191–4194; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4019–4022.
- [101] G. B. Sukhorukov, E. Donath, S. Moya, A. S. Sussha, A. Voigt, J. Hartmann, H. Möhwald, *J. Microencapsulation* **2000**, *17*, 177–185.
- [102] A. Voigt, N. Buske, G. B. Sukhorukov, A. A. Antipov, S. Leporatti, H. Lichtenfeld, H. Bäuml, E. Donath, H. Möhwald, *J. Magn. Magn. Mater.* **2001**, *225*, 59–66.
- [103] F. Caruso, M. Spasova, A. Sussha, M. Giersig, R. A. Caruso, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 109–116.
- [104] F. Caruso, A. S. Sussha, M. Giersig, H. Möhwald, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 950–953.
- [105] D. G. Shchukin, I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 86–90.
- [106] K. S. Mayya, D. I. Gittins, F. Caruso, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3833–3836.
- [107] X. Y. Shi, T. Cassagneau, F. Caruso, *Langmuir* **2002**, *18*, 904–910.
- [108] A. Rogach, A. Sussha, F. Caruso, G. Sukhorukov, A. Kornowski, S. Kershaw, H. Möhwald, A. Eychmüller, H. Weller, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 333–336.
- [109] I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, N. Gaponik, A. Kornowski, A. L. Rogach, H. Möhwald, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1684–1687.
- [110] F. Caruso, H. Möhwald, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6039–6046.
- [111] W. J. Yang, D. Trau, R. Renneberg, N. T. Yu, F. Caruso, *J. Colloid Interface Sci.* **2001**, *234*, 356–362.
- [112] F. Caruso, H. Fiedler, K. Haage, *Colloids Surf. A* **2000**, *169*, 287–293.

- [113] F. Caruso, C. Schüller, *Langmuir* **2000**, *16*, 9595–9603.
- [114] C. Schüller, F. Caruso, *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, *21*, 750–753.
- [115] M. Fang, P. S. Grant, M. J. McShane, G. B. Sukhorukov, V. O. Golub, Y. M. Lvov, *Langmuir* **2002**, *18*, 6338–6344.
- [116] P. S. Grant, M. Fang, Y. M. Lvov, M. J. McShane in *Proceedings of SPIE*, Vol. 4624, **2002**, S. 47–54.
- [117] Y. Lvov, F. Caruso, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4212–4217.
- [118] S. Moya, E. Donath, G. B. Sukhorukov, M. Auch, H. Bäuml, H. Lichtenfeld, H. Möhwald, *Macromolecules* **2000**, *33*, 4538–4544.
- [119] R. Georgieva, S. Moya, S. Leporatti, B. Neu, H. Bäuml, C. Reichle, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir* **2000**, *16*, 7075–7081.
- [120] A. J. Khopade, F. Caruso, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 415–418.
- [121] A. J. Khopade, F. Caruso, *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 1154–1162.
- [122] S. Moya, G. B. Sukhorukov, M. Auch, E. Donath, H. Möhwald, *J. Colloid Interface Sci.* **1999**, *216*, 297–302.
- [123] A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, S. Leporatti, I. L. Radtchenko, E. Donath, H. Möhwald, *Colloids Surf. A* **2002**, *198*, 535–541.
- [124] J. J. Harris, J. L. Stair, M. L. Bruening, *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 1941–1946.
- [125] J. J. Harris, M. L. Bruening, *Langmuir* **2000**, *16*, 2006–2013.
- [126] R. Steitz, V. Leiner, R. Siebrecht, R. von Klitzing, *Colloids Surf. A* **2000**, *163*, 63–70.
- [127] Y. Lvov, G. Decher, H. Möhwald, *Langmuir* **1993**, *9*, 481–486.
- [128] A. Fery, B. Schöler, T. Cassagneau, F. Caruso, *Langmuir* **2001**, *17*, 3779–3783.
- [129] T. R. Farhat, J. B. Schlenoff, *Langmuir* **2001**, *17*, 1184–1192.
- [130] A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Langmuir* **2003**, *19*, 2444–2448.
- [131] X. Y. Shi, F. Caruso, *Langmuir* **2001**, *17*, 2036–2042.
- [132] R. von Klitzing, H. Möhwald, *Macromolecules* **1996**, *29*, 6901–6906.
- [133] J. Hiller, J. D. Mendelsohn, M. F. Rubner, *Nat. Mater.* **2002**, *1*, 59–63.
- [134] C. Gao, E. Donath, S. Moya, V. Dudnik, H. Möhwald, *Eur. Phys. J. E* **2001**, *5*, 21–27.
- [135] C. Y. Gao, S. Moya, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, *203*, 953–960.
- [136] H. Bäuml, G. Artmann, A. Voigt, R. Mitlöhner, B. Neu, H. Kiesewetter, *J. Microencapsulation* **2000**, *17*, 651–655.
- [137] S. Leporatti, A. Voigt, R. Mitlöhner, G. Sukhorukov, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir* **2000**, *16*, 4059–4063.
- [138] C. Y. Gao, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 7144–7149.
- [139] S. Leporatti, C. Gao, A. Voigt, E. Donath, H. Möhwald, *Eur. Phys. J. E* **2001**, *5*, 13–20.
- [140] C. Y. Gao, S. Leporatti, S. Moya, E. Donath, H. Möhwald, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 915–920.
- [141] G. Ibarz, L. Dähne, E. Donath, H. Möhwald, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 4059–4062.
- [142] Y. Lvov, A. A. Antipov, A. Mamedov, H. Möhwald, G. B. Sukhorukov, *Nano Lett.* **2001**, *1*, 125–128.
- [143] G. Sukhorukov, L. Dähne, J. Hartmann, E. Donath, H. Möhwald, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 112–115.
- [144] G. B. Sukhorukov, A. S. Susha, S. Davis, S. Leporatti, E. Donath, J. Hartmann, H. Möhwald, *J. Colloid Interface Sci.* **2002**, *247*, 251–254.
- [145] I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Colloids Surf. A* **2002**, *202*, 127–133.
- [146] N. Gaponik, I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, H. Weller, A. L. Rogach, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 879–882.
- [147] I. L. Radchenko, M. Giersig, G. B. Sukhorukov, *Langmuir* **2002**, *18*, 8204–8208.
- [148] I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Int. J. Pharm.* **2002**, *242*, 219–223.
- [149] G. B. Sukhorukov, M. Brumen, E. Donath, H. Möhwald, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 6434–6440.
- [150] G. Ibarz, L. Dähne, E. Donath, H. Möhwald, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1324–1327.
- [151] R. Dallüge, A. Haberland, S. Zaitsev, M. Schneider, H. Zastrow, G. Sukhorukov, M. Böttger, *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1576*, 45–52.
- [152] F. Caruso, D. Trau, H. Möhwald, R. Renneberg, *Langmuir* **2000**, *16*, 1485–1488.
- [153] W. Jin, X. Y. Shi, F. Caruso, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8121–8122.
- [154] N. G. Balabushevitch, G. B. Sukhorukov, N. A. Moroz, D. V. Volodkin, N. I. Larionova, E. Donath, H. Möhwald, *Biotechnol. Bioeng.* **2001**, *76*, 207–213.
- [155] M. E. Bobreshova, G. B. Sukhorukov, E. A. Saburova, L. I. Elfimova, L. I. Shabarchina, B. I. Sukhorukov, *Biofizika* **1999**, *44*, 813–820.
- [156] O. P. Tiourina, A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, N. L. Larionova, Y. Lvov, H. Möhwald, *Macromol. Biosci.* **2001**, *1*, 209–214.
- [157] A. A. Antipov, D. G. Shchukin, Y. A. Fedutik, I. Zhanavskina, V. Klechkovskaya, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Macromol. Rapid Commun.* **2003**, *24*, 274–277.
- [158] Das Prinzip der elektrostatischen LbL-Abscheidung wurde erstmals beschrieben in: R. K. Iler, *J. Colloid Interface Sci.* **1966**, *21*, 569–594.
- [159] G. Decher in *Multilayer Thin Films* (Hrsg.: G. Decher, J. B. Schlenoff), Wiley-VCH, New York, **2003**, S. 1–46.
- [160] D. B. Shenoy, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 265–272.
- [161] O. P. Tiourina, I. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *J. Membr. Biol.* **2002**, *190*, 9–16.
- [162] E. Donath, S. Moya, B. Neu, G. B. Sukhorukov, R. Georgieva, A. Voigt, H. Bäuml, H. Kiesewetter, H. Möhwald, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 5481–5485.
- [163] L. Dähne, B. Baude, Patentanmeldung Az102004013637.8, **2004**.
- [164] L. Dähne, B. Baude, A. Voigt, Patent WO2004/014540A1, **2003**.