

Mikroblasen**Gasgefüllte Polyelektrolytkapseln****

Dmitry G. Shchukin,* Karen Köhler, Helmuth Möhwald und Gleb B. Sukhorukov

In den letzten zehn Jahren stieg bei Werkstoffchemikern das Interesse an räumlich begrenzten, gezielt hergestellten Mikro- und Nanosystemen, die mit unterschiedlichsten Spezies (z.B. Katalysatoren, DNA, Arzneistoffen, Enzymen) gefüllt sind. Sie können in der Diagnostik, Katalyse, Therapie und im Bioingenieurwesen sowohl in wässrigen als auch in nichtwässrigen Medien Anwendung finden. Die bedeutendsten Beispiele derartiger Mikro- und Nanocontainer sind Liposomen,^[1] Micellen, Mikroemulsionen,^[2–5] Lipiddoppelschichten,^[6] Polymermikrokapseln^[7] und anorganische Einschlüsse.^[8–11] Die Vorteile dieser Strukturen liegen in ihrer geringen (und normalerweise variablen) Größe, ihrer niedrigen Toxizität und der regulierbaren Permeabilität der Mikrocontainerwand. Im Allgemeinen enthält das Lumen von Emulsionen, Liposomen und Kapseln etc. entweder eine Lösung oder festes Material. Die einzige Ausnahme unter den oben genannten Systemen sind die Ultraschallkontrastmittel (Lit. [12–14], für einen Überblick über kommerzielle Ultraschallkontrastmittel siehe Lit. [15]), deren Lumen mit Gas gefüllt ist. Die Herstellung der Ultraschallkontrastmittel basiert auf der spontanen Bildung einer Polydispersion aus Mikroblasen in einer Lösung, die ein Gemisch aus Block-Copolymeren oder anderen amphiphilen Verbindungen enthält. Dies geschieht entweder in einer Laborschüttelmaschine oder effektiver durch Ultraschallbehandlung.^[12–15] Die wesentlichen Nachteile dieser spontan gebildeten Mikroblasen sind zum einen ihre geringe Stabilität in Wasser oder in salzhaltigen Lösungen (max. 10–12 h) und zum anderen, dass sich Probleme bei der Modifizierung ihrer Hülle ergeben, wenn Materialien eingebracht werden müssen, die für das Erhalten zusätzlicher Funktionen nötig sind.

Polyelektrolytmultischichten sind eine effektive Barriere, um Gasdiffusion zu verhindern oder drastisch zu reduzieren.

[*] Dr. D. G. Shchukin, K. Köhler, Prof. Dr. H. Möhwald, Dr. G. B. Sukhorukov
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung
14424 Potsdam (Deutschland)
Fax: (+49) 331-567-9202
E-mail: dmitry.shchukin@mpikg.mpg.de
Dr. G. B. Sukhorukov
The IRC in Biomedical Materials
Queen Mary University of London
Mile End Road, London, E1 4NS (Großbritannien)

[**] D.S. dankt der Alexander von Humboldt-Stiftung für ein Forschungsstipendium. Die Autoren danken Dr. Jürgen Hartman und Rona Pitschke für die Transmissionselektronenmikroskopie-Messungen, Anne Heilig für die Rasterkraftmikroskopie-Messungen und Roy Knocke für die Raman-Spektren.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Wie von B. Tieke, M. L. Bruening, T. J. McCarthy et al.^[16–19] gezeigt, reduzieren Multischichten aus Poly(allylaminhydrochlorid), Polystyrolsulfonat, Polyacrylsäure, Polyethylenimin und Poly(diallyldimethylammoniumchlorid) die Diffusionsgeschwindigkeit von O₂, N₂, CO₂ und anderen Gasen um das bis zu 150-Fache gegenüber ihrer Diffusionsgeschwindigkeit in Wasser und können daher als Gastrennmembranen mit guter Selektivität für O₂ und N₂ genutzt werden.^[17] Die verminderte Gasdurchlässigkeit der Polyelektrolytmultischichten wird durch eine dichte und starre Packung der Polyelektrolyte erklärt.^[16] Mikrocontainer, die aus Polyelektrolytmultischichten bestehen oder zumindest Polyelektrolyte in ihrer Hülle enthalten, sollten also gute Hilfsmittel zum Einschluss von Gasen sein.

Polyelektrolytmikrokapseln, die durch die schichtweise (Layer-by-Layer-, LbL-)Abscheidung^[20–22] von entgegengesetz geladenen Polyelektrolyten hergestellt werden,^[23] kann man sich als räumlich begrenzte Mikrovolumina mit gashaltigem Lumen vorstellen. Die Besonderheit der Polyelektrolytkapseln gegenüber anderen Mikrocontainern ist ihre Multifunktionalität und die einfache Modifizierbarkeit ihrer Hülle im Nanometerbereich. Makromoleküle, Arzneistoffe, Fluoreszenzmarker und Nanopartikel können durch die einstellbare Permeabilität der Kapselwand im Inneren der Kapsel angereichert werden.^[24,25] Polyelektrolytkapseln mit gashaltigem Lumen (Kern) könnten als Kontrastmittel für die Ultraschalldiagnostik, als gasdisperse Container, Bestandteile von Brennstoffzellen und für die chemische Katalyse von Interesse sein.

Hier zeigen wir die Verwendung von Polyelektrolytmultischichten zur Einkapselung von Luft und somit die Herstellung von Polyelektrolytkapseln mit gashaltigem Lumen; zugleich ist dies ein Beispiel für die Anwendung der LbL-Technik zur Abscheidung von Polyelektrolyten an sphärischen Wasser/Luft-Grenzflächen (unter Nutzung eines „Luftkerns“ als Vorlage). Die entstehenden, Luft enthaltenden Polyelektrolytkapseln haben alle Eigenschaften von Luft-in-Wasser-Mikroemulsionen, sind aber stabiler als diese, können leicht gehandhabt werden und durch Filtration oder Zentrifugation von einer Lösung in die andere überführt werden. Neben der Reduktion der Gasdiffusion und der damit höheren Stabilität können Polyelektrolytmultischichten zusätzliche Funktionen (molekulare Erkennung, magnetische und/oder fluoreszierende Eigenschaften) tragen, was zu charakteristischen Merkmalen der „Luftkapseln“ führt.

Wir verbinden auf diese Weise die Selbstorganisation von Gasmikroblasen in wässrigen Medien mit dem schrittweisen LbL-Aufbau entgegengesetzt geladener Polyelektrolyte auf den entstehenden „Luftkernen“. Im ersten Schritt wurde eine Luftpolymerdispersion in Wasser entsprechend dem Verfahren aus Lit. [12, 13] durch Selbstorganisation hergestellt (Abbildung 1a). Diese anfängliche Luftsuspension ist 4–5 h stabil. Anschließend wurden abwechselnd Poly(allylaminhydrochlorid) (PAH) und Polystyrolsulfonat (PSS) auf dem „Luftkern“ adsorbiert, wobei mit einer positiv geladenen PAH-Schicht begonnen wurde (Abbildung 1b,c). Die entstehenden Kapseln mit eingeschlossener Luft haben eine niedrigere Dichte als Wasser und können damit leicht durch Zentrifugation bei niedrigen Umdrehungszahlen (< 500 U min⁻¹) oder durch

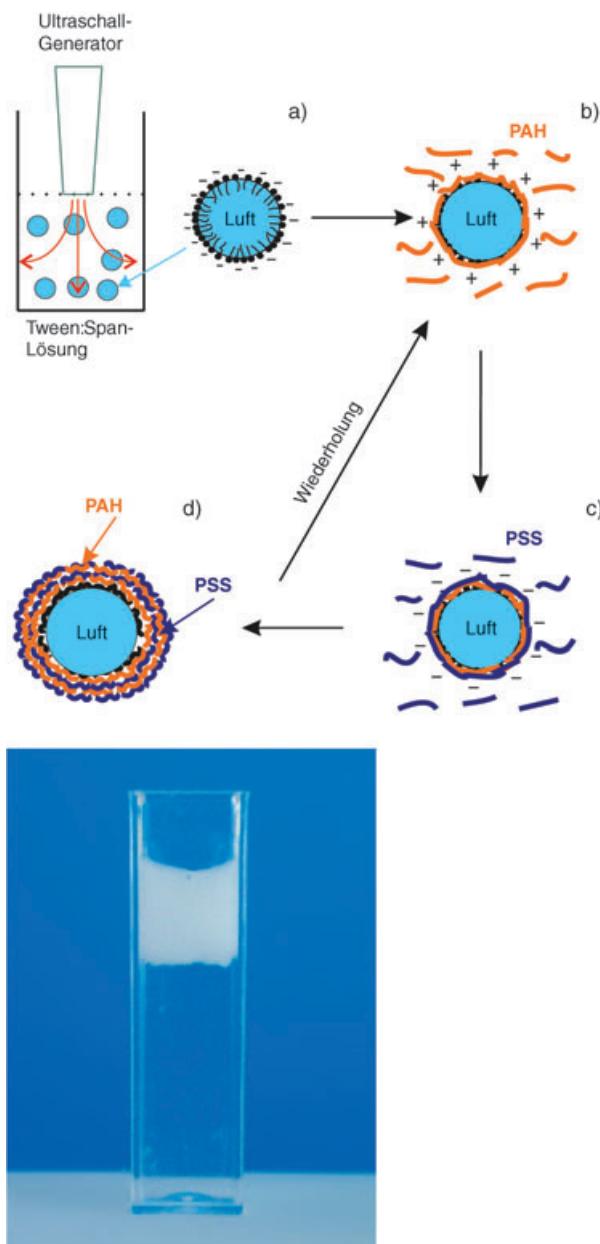


Abbildung 1. Herstellung von Polyelektrolytkapseln auf einem „Luftkern“. Das Gemisch aus den Emulgatoren Tween und Span, das zur Bildung der Mikroluftblasen verwendet wird (a), wird durch den elektrostatischen Aufbau von PAH/PSS-Multischichten weiter stabilisiert (b, c, d). Unten ist ein Photo der luftgefüllten Polyelektrolytkapseln in wässriger Lösung nach der Zentrifugation gezeigt.

„inverse“ Sedimentation im oberen Teil des Gefäßes angereichert werden (siehe Photo in Abbildung 1). Höhere Rotationsgeschwindigkeiten führen zur Koaleszenz und Zerstörung der Kapseln. Ausführlichere Informationen zur Kapselherstellung sind in den Hintergrundinformationen zu finden.

Das ζ -Potential (Malvern Zetasizer 4) der Tween:Span-Mikroluftblasen ist zu Beginn leicht negativ (Abbildung 2 a). Weitere elektrophoretische Messungen geben die Ladung der mit Polyelektrolytmultischichten umhüllten Mikroluftblasen nach der Abscheidung jeder einzelnen Schicht an. Abbildung 2 a zeigt einen starken Anstieg der Oberflächenladung

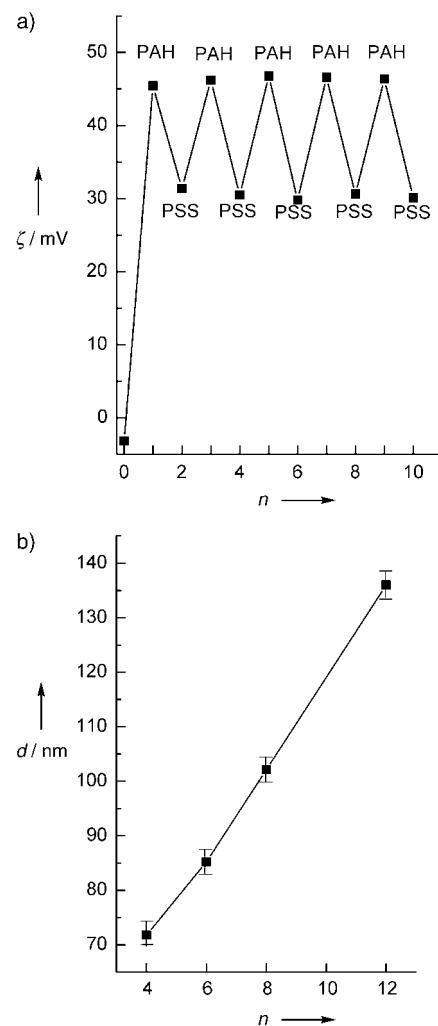


Abbildung 2. a) ζ -Potential als Funktion der Schichtenzahl n für die luftgefüllten Polyelektrolytkapseln. b) Dicke d der Kapselwand als Funktion der Schichtenzahl n (aus AFM-Messungen bestimmt).

nach Abscheidung der ersten PAH-Schicht (ca. 50 mV). Bei den folgenden Schichten ändert sich das ζ -Potential alternierend um je ca. 15 mV. Während der Abscheidung der positiv und negativ geladenen Polyelektrolyte tritt damit also keine Umladung der Mikroblasenoberfläche auf. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass während der Abscheidung der ersten PAH-Schicht PAH-Moleküle tief in die anfängliche Tween:Span-Hülle eindringen und eine verzweigte dicke Schicht mit einer positiven Überschussladung bilden, die durch die folgende PSS-Schicht nicht vollständig kompensiert werden kann. Die nächsten PAH/PSS-Schichten verändern das ζ -Potential gleichmäßig mit denselben Werten für gleich geladene Schichten.

Um einen zusätzlichen Nachweis für das Wachstum der PAH/PSS-Multischichten auf den Mikroluftblasen zu erhalten, wurden rasterkraftmikroskopische (AFM) Messungen an luftgefüllten Kapseln mit unterschiedlicher Schichtenzahl durchgeführt. Wie aus Abbildung 2 b ersichtlich, erhöht sich die mittlere Dicke der Kapselhülle, die aus den Höhenmessungen erhalten wird, stetig mit der Schichtenzahl; pro Schicht kann ein Zuwachs von rund 8 nm beobachtet

werden. Dies bestätigt eindeutig den LbL-Aufbau von entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten auf der Oberfläche der Mikroluftblasen. Allerdings ist es nicht möglich, AFM-Untersuchungen an luftgefüllten Kapseln mit weniger als vier Schichten durchzuführen, da diese beim Trocknen nicht stabil sind – es wurden nur Polyelektrolytreste gefunden. Extrapolationen der AFM-Daten ergeben eine durchschnittliche Dicke von ca. 48 nm für die erste Tween:Span/PAH-Schicht. Damit ist diese sechsmal höher als die Dicke der danach abgeschiedenen Polyelektrolytschichten, was gut mit dem starken Anstieg des ζ -Potentials nach Ablagerung der ersten Schicht vereinbar ist (Abbildung 2a).

Ebenso wie das AFM-Bild (Abbildung 3) zeigen auch die Rasterelektronenmikroskopie(SEM)-Aufnahmen (Abbil-

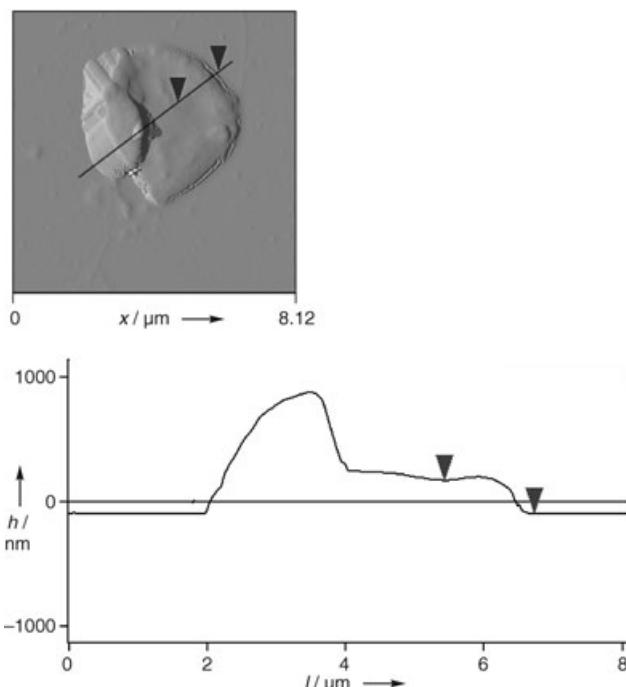


Abbildung 3. AFM-Aufnahme und Höhenprofil (Höhe h gegen Länge l) von Luft-(PAH/PSS)₆-Mikrokapseln. Vertikaler Abstand der Spitz zu Probe: 271.84 nm.

dung 4a) eine kontinuierliche Morphologie des Kapselfilms mit Falten, die sich durch den Kollaps der Kapselhülle bilden. Getrocknete Luft-PAH/PSS-Kapseln bilden nach dem Kollaps flache Gebilde, die aber rauer und voluminöser sind (Abbildung 4a) als die flachen Strukturen getrockneter wassergefüllter Kapseln.^[26] Dieser Unterschied lässt sich über einen unterschiedlich verlaufenden Kollaps erklären: Die Deformation der Hülle wassergefüllter Kapseln geschieht allmählich während der Wasserverdunstung aus dem Kapselinneren, woraus glatte und flache Filme resultieren. Im Unterschied dazu fallen die luftgefüllten Kapseln sofort in sich zusammen, wenn die umgebende Lösung eingetrocknet ist. In diesem Fall werden daher weniger geordnete, voluminösere Strukturen gebildet.

Konfokalmikroskopische Aufnahmen (Leica TCS SP, 100 \times -Öl-Immersionsobjektiv) der luftgefüllten Kapseln

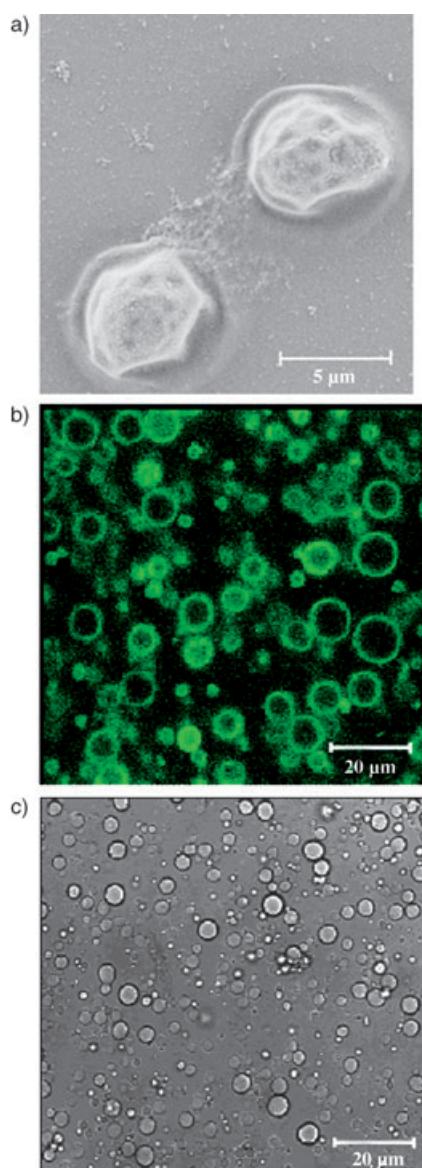


Abbildung 4. a) SEM-Aufnahme von Luft-(PAH/PSS)₆-Mikrokapseln. b), c) Konfokalmikroskopieaufnahme von Luft-(PAH/PSS)₆-Mikrokapseln, aufgenommen im Fluoresceinisothiocyanat(FITC)-Kanal (Signal von FITC-markiertem PAH) und in Transmission.

sind in Abbildung 4b,c als Fluoreszenzbild und Transmissionssichtung dargestellt. Auf diesen Bildern ist erkennbar, dass die Kapseln polydispers sind (Kapseldurchmesser 1–20 μm); sie sind rund und nicht aggregiert. Die detektierte Fluoreszenz stammt nur von der Kapselwand, d.h., das FITC-markierte PAH befindet sich nur in der Kapselhülle und nicht im Volumen. Die luftgefüllten PAH/PSS-Kapseln können durch fünfminütige Erwärmung, verursacht durch die Mikroskoplampe, aufgeblasen werden, da das gasförmige Lumen (Kern) einen hohen thermischen Ausdehnungskoeffizienten hat. Bei höheren Temperaturen führt dies zur Explosion der Kapseln und damit zu ihrer Zerstörung (Abbildung 5).

Raman-Spektren (CRM200, Witec) von den luftgefüllten Polyelektrolytkapseln und dem umgebenden Wasser sind in Abbildung 6a gezeigt. Die für die Polyelektrolytkapseln

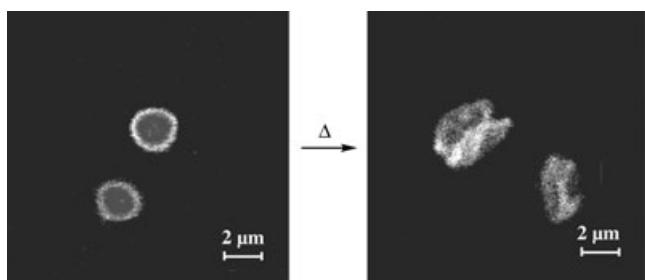


Abbildung 5. Konfokalmikroskopieaufnahme von Luft-(PAH/PSS)₆-Mikrokapseln, aufgenommen im FITC-Kanal (Signal von FITC-markiertem PAH) vor und nach dem Erhitzen durch die Mikroskoplampe.

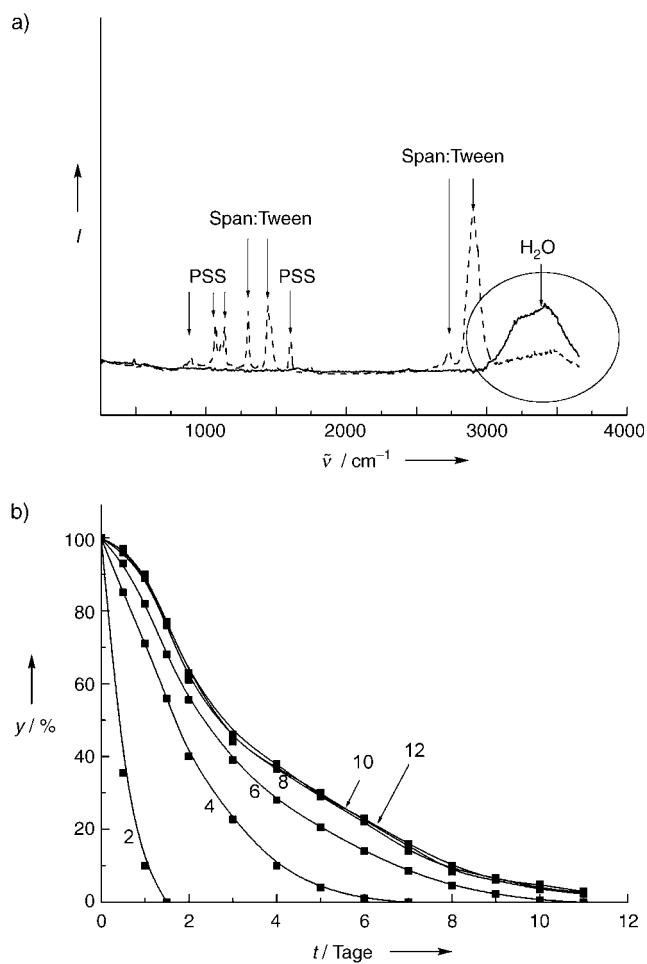


Abbildung 6. a) Raman-Konfokalmikroskopiespektrum von einer luftgefüllten Polyelektrolytkapsel (gestrichelt) und der umgebenden Wasserphase (durchgezogen). b) Anteil y intakter luftgefüllter Polyelektrolytkapseln, bestimmt durch Auszählen der Kapseln von Konfokalmikroskopieaufnahmen. Die Zahlen an den Kurven geben die Zahl der auf den Mikroluftblasen abgeschiedenen PAH- und PSS-Schichten an.

beobachteten Banden im Bereich von 700–3000 cm⁻¹ lassen sich den Schwingungsmodi von PSS, Span und Tween zuordnen.^[27] Die Intensität der breiten OH-Schwingungsbande bei 3200–3600 cm⁻¹ ist für die Kapseln bedeutend niedriger als für die umgebende Lösung. Der gasförmige Kern der Kapseln hat in diesem Bereich kein Raman-Signal. Die niedrige

Intensität der Peaks bei 3200–3600 cm⁻¹ wird von Wassermolekülen innerhalb der Polyelektrolythülle hervorgerufen. Nach Estrela-Lopis et al.^[28] können bis zu 40% (v/v) Wasser in den Multischichten eingeschlossen sein. Damit belegen neben den Konfokalaufnahmen auch die Raman-Messungen die Luft/PAH/PSS-Struktur der untersuchten Polyelektrolytkapseln.

Luftgefüllte Polyelektrolytkapseln haben in wässriger Lösung eine höhere Stabilität als Gassuspensionen, die für die Ultraschallkontrastierung entwickelt wurden,^[12–15] und auch als die anfängliche Tween:Span-Suspension. Konfokalmikroskopiemessungen zeigen, dass die Stabilität der Kapseln kontinuierlich mit der Zahl der Polyelektrolytschichten zunimmt. Dazu wurde die Zahl intakter Kapseln nach einer bestimmten Zeit ermittelt und durch die Gesamtzahl hergestellter Kapseln geteilt. Nach acht oder mehr Polyelektrolytschichten wird dieser Effekt kleiner, und nach zwölf Schichten wird kaum noch eine weitere Stabilisierung beobachtet (Abbildung 6b). Das könnte an einer lockereren Packungsdichte der Polyelektrolytmoleküle bei höheren Schichtzahlen und einer gleichzeitigen Verstärkung der ersten drei bis vier Schichten durch die folgenden Schichten liegen. Die ersten Polyelektrolytschichten sind dicht gepackt und verringern deshalb den Massetransfer durch die Hülle, sodass bis zu einem gewissen Grad die Auflösung des gasförmigen Kerns in Wasser verhindert wird.^[29] Die letzten Schichten haben eine porösere Struktur, was nur einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Gasdiffusion hat. Ähnliche Einflüsse der Schichtdicke auf die Permeabilität wurden von Antipov et al.^[30] für herkömmliche „wassergefüllte“ Kapseln gefunden.

In der vorliegenden Arbeit wurde der elektrostatische LbL-Aufbau von Polyelektrolytmultischichten auf die Oberfläche von Mikroluftblasen (Kern) übertragen. Die entstehenden Polyelektrolythüllen stabilisieren die gesamte Luft-Mikrosuspension gegen den Zerfall in wässrigen Medien. Die luftgefüllten Poly(allylaminhydrochlorid)/Polystyrolsulfonat-Mikrokapseln weisen eine breite Größenverteilung (1–20 μm) auf, haben einen gasgefüllten Innenraum und sind mindestens eine Woche stabil. Eine mögliche Anwendung dieser Kapseln könnte in der Verwendung als Kontrastmittel in der Ultraschalldiagnostik liegen. Des Weiteren könnten luftgefüllte Kapseln durch den hohen Dichtegradienten entlang der Wasser/Polyelektrolyt/Luft-Grenzfläche sensitiv auf Ultraschallwellen geringer Energie reagieren – damit ist eine Anwendung als Transportvehikel denkbar, das die in der Hülle eingeschlossenen Substanzen am Zielort durch Ultraschall „fernsteuert“ freisetzt. Durch die Einlagerung von anorganischen Nanopartikeln (fluoreszent, magnetisch, bioaktiv) als eine der Wandkomponenten (Schicht) oder durch das Ausführen von chemischen Reaktionen direkt in der Kapselhülle könnten den luftgefüllten Polyelektrolytkapseln zusätzliche Funktionen verliehen werden. Ultraschallsensitive Kapseln mit Luftkern und Polyelektrolythülle, die durch Arznei- oder Metallnanopartikel modifiziert sind, werden derzeit untersucht.

Eingegangen am 10. Dezember 2004,
veränderte Fassung am 23. Februar 2005
Online veröffentlicht am 21. April 2005

Stichwörter: Emulsionen · Grenzflächen · Mikroblasen ·
Polyelektrolyte · Selbstorganisation

- [1] A. Graff, M. Winterhalter, W. Meier, *Langmuir* **2001**, *17*, 919.
- [2] B. J. Forrest, L. W. Reeves, *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 1.
- [3] R. Ball, A. D. J. Haymet, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 4753.
- [4] S. Klingelhofer, W. Heitz, M. Antonietti, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10116.
- [5] M. V. Seregin, L. M. Bronstein, M. Antonietti, *Chem. Mater.* **1997**, *9*, 923.
- [6] W. Shenton, S. Mann, H. Cölfen, A. Bacher, M. Fisher, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 456; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 442.
- [7] E. D. Sudol, M. S. El-Aasser in *Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers* (Hrsg.: P. A. Lovell, M. S. El-Aasser), Wiley, Chichester, England, **1997**, S. 699.
- [8] G. A. Ozin, S. Oliver, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 943.
- [9] G. J. de A. A. Soler-Illia, C. Sanchez, B. Lebeau, J. Patarin, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4093.
- [10] M. Vettraino, B. Ye, X. He, D. M. Antonelli, *Aust. J. Chem.* **2001**, *54*, 85.
- [11] M. Wark, M. Ganschow, Y. Rohlfing, G. Schulz-Ekloff, D. Wohrle, *Stud. Surf. Sci. Catal.* **2001**, *135*, 160.
- [12] D. M. El-Sherif, M. A. Wheatley, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2003**, *66*, 347.
- [13] D. H. Kim, M. J. Costello, P. B. Duncan, D. Needham, *Langmuir* **2003**, *19*, 8455.
- [14] A. L. Klibanov, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1999**, *37*, 139.
- [15] a) F. Calliada, R. Campani, O. Bottinelli, A. Bozzini, M. G. Sommaruga, *Eur. J. Radiol.* **1998**, *27*, 157; b) E. G. Schutt, D. H. Klein, R. M. Mattrey, J. G. Riess, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3336; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3218.
- [16] K. P. Xiao, J. J. Harris, A. Park, C. M. Martin, V. Pradeep, M. L. Bruening, *Langmuir* **2001**, *17*, 8236.
- [17] J.-M. Levasalmi, T. J. McCarthy, *Macromolecules* **1997**, *30*, 1752.
- [18] L. Krasemann, B. Tieke, *Mater. Sci. Eng. C* **1999**, *8–9*, 513.
- [19] F. van Ackern, L. Krasemann, B. Tieke, *Thin Solid Films* **1998**, *327–329*, 762.
- [20] G. Decher, J. D. Hong, J. Schmitt, *Thin Solid Films* **1992**, *210/211*, 831.
- [21] J. S. Shi, F. Hua, T. H. Cui, Y. M. Lvov, *Chem. Lett.* **2003**, *32*, 316.
- [22] M. Olek, J. Ostrander, S. Jurga, N. Kotov, K. Kempak, M. Giersig, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 1889.
- [23] G. B. Sukhorukov, E. Donath, S. Davis, H. Lichtenfeld, F. Caruso, V. I. Popov, H. Möhwald, *Polym. Adv. Technol.* **1998**, *9*, 759.
- [24] G. Ibarz, L. Dahne, E. Donath, H. Möhwald, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1324.
- [25] A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Langmuir* **2003**, *19*, 2444.
- [26] G. B. Sukhorukov, D. G. Shchukin, W. F. Dong, H. Möhwald, V. V. Lulevich, O. I. Vinogradova, *Macromol. Chem. Phys.* **2004**, *205*, 530.
- [27] B. Schrader, *Raman Infrared Atlas of Organic Compounds*, 2. Aufl., VCH, Weinheim, **1989**.
- [28] I. Estrela-Lopis, S. Leporatti, S. Moya, A. Brandt, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir* **2002**, *18*, 7861.
- [29] M. A. Borden, M. L. Longo, *Langmuir* **2002**, *18*, 9225.
- [30] A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, E. Donath, H. Möhwald, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 2281.