

DOI: 10.1002/ange.200500584

Multikompartiment-Micellen durch Selbstorganisation von linearen ABC-Triblock-Copolymeren in wässriger Lösung**

Stephan Kubowicz, Jean-François Baussard,
Jean-François Lutz, Andreas F. Thünemann,
Hans von Berlepsch und André Laschewsky*

Multikompartiment-Micellen mit einer wasserlöslichen Hülle und einem unterteilten, hydrophoben Kern sind neuartige Strukturen, die von großem Interesse für die Nanotechnologie, insbesondere die Nanobiotechnologie, sind.^[1,2] Mit seinen separaten Kompartimenten, die von unterschiedlichen, miteinander nicht kompatiblen Domänen gebildet werden, sollte sich der Micellkern z.B. zur selektiven Einlagerung und späteren Freisetzung hydrophober Wirkstoffe eignen, wobei die hydrophile Hülle diese Nanostrukturen im physiologischen Medium stabilisiert. Dementsprechend wurden in den letzten Jahren verschiedene Strategien für die Herstellung solcher Multikompartiment-Micellen vorgeschlagen.^[1,3–8] Bisher gibt es allerdings kaum Untersuchungen, die sich mit

[*] Dipl.-Phys. S. Kubowicz, Dr. J.-F. Baussard, Dr. J.-F. Lutz,
Prof. Dr. A. Laschewsky
Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung
Geiselbergstraße 69, 14476 Potsdam (Deutschland)
Fax: (+49) 331-977-5054
E-mail: andre.laschewsky@rz.uni-potsdam.de

Dipl.-Phys. S. Kubowicz
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung
Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam (Deutschland)

Dr. J.-F. Baussard
Department of Chemistry
Université catholique de Louvain
1 Place Louis Pasteur, 1348 Louvain-la-Neuve (Belgien)

Prof. Dr. A. F. Thünemann
Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung
Richard-Willstätter-Straße 11, 12489 Berlin (Deutschland)

Dr. H. von Berlepsch
Forschungszentrum für Elektronenmikroskopie
Freie Universität Berlin
Fabeckstraße 36a, 14195 Berlin (Deutschland)

Prof. Dr. A. Laschewsky
Institut für Chemie
Universität Potsdam
Karl-Liebknecht-Straße 24–25, 14476 Potsdam (Deutschland)

[**] Wir danken H. Ringsdorf (Universität Mainz), A. Jonas, B. Nysten und A. Pallandre (Université catholique de Louvain) für anregende Diskussionen und C. Böttcher (FU Berlin) für seine Unterstützung bei den Cryo-TEM-Experimenten. Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie, der Fraunhofer-Gesellschaft, der Max-Planck-Gesellschaft und der Französischen Gemeinschaft von Belgien (Action de Recherche Concertée, Convention n° 00/05–2619) für finanzielle Unterstützung.



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

der Morphologie solcher Micellen befassen, sodass nur wenig über ihre innere Struktur bekannt ist.^[2]

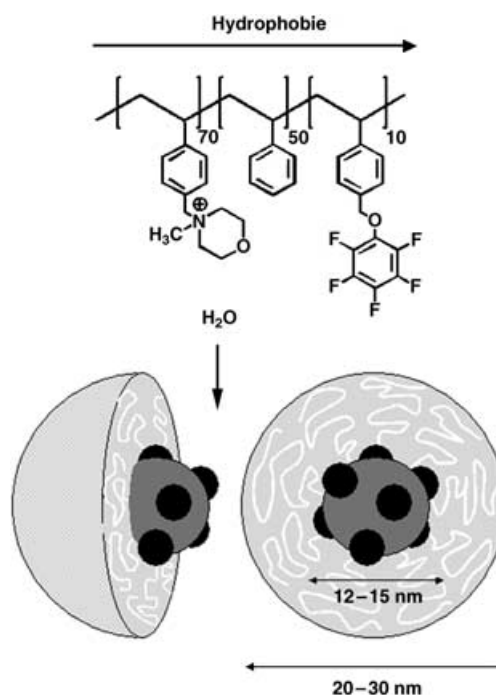
Der direkteste Weg zur Herstellung von Multikompartiment-Micellen in wässriger Lösung ist die Selbstorganisation synthetischer amphiphiler Blockcopolymere, die ein hydrophiles Segment und zwei miteinander inkompatible hydrophobe Segmente aufweisen. Copolymere aus unterschiedlich polaren Segmenten, die kovalent miteinander verbunden sind, z.B. amphiphile Block-, Pfropf-, Stern-Block- oder Mikroarm-Sternkopopolymere, organisieren sich oft spontan zu geordneten Überstrukturen.^[9] Derartige Selbstorganisationsprozesse werden durch Abstoßungskräfte zwischen den unterschiedlichen Segmenten angetrieben. Im Festkörper führt die thermodynamische Inkompatibilität zwischen den verschiedenen miteinander verbundenen Segmenten zu geordneten und entmischten Phasen mit Dimensionen im Nanometerbereich,^[10] und in Lösung bilden sich durch die unterschiedliche Affinität der einzelnen Segmente zum Lösungsmittel dispergierte Aggregate. Sowohl im Festkörper als auch in Lösung hängt die Morphologie der selbstorganisierten Strukturen von der molekularen Struktur des Copolymers ab (Zahl der Segmente, Segmentlänge, Blocksequenz, Zusammensetzung und dreidimensionale Struktur).^[9] Je komplexer die Struktur des Blockcopolymers dabei ist, desto schwieriger wird in der Regel auch die Analyse der gebildeten Überstrukturen. Dies gilt besonders für Lösungen, da hier auch die Dynamik der gebildeten Aggregate zu berücksichtigen ist.

Für Copolymere aus nur zwei unterschiedlichen Segmenten (AB) sind die Faktoren, die die Selbstorganisation in Lösung steuern, wohlbekannt. Die wichtigsten Morphologien, wie kugelförmige Micellen,^[11] wurmartige Micellen^[12] oder Vesikel,^[13] sind gut untersucht. Für komplexere Makromoleküle wie ABC-Triblock-Copolymere ist die Selbstorganisation in Lösung dagegen noch wenig erforscht, obwohl bereits einige Morphologien sowohl in wässriger als auch in organischer Lösung untersucht wurden. Im einfachsten Fall, wenn zwei der drei Segmente ABC im Lösungsmittel löslich sind, bilden sich Micellen mit einem unlöslichen Kern und einer löslichen Hülle, die aus einer Mischung von zwei Polymersegmenten besteht.^[14–16] Sind aber zwei der drei Segmente unlöslich, lässt sich die resultierende Morphologie der Aggregate nicht mehr so einfach beschreiben. Bezüglich der allgemeinen Gestalt der Überstruktur wurden kugelförmige Micellen^[15–23] und Vesikel^[19,24] aus ABC-Copolymeren mit zwei unlöslichen Segmenten beschrieben. Die Morphologie des Kerns ist allerdings nur schwer aufzuklären.

Wenn die beiden Blöcke, die den Kern bilden, groß genug und thermodynamisch inkompatibel sind, ist zu erwarten, dass sie sich in unterschiedliche Phasen auftrennen und so zwei oder mehr unterschiedliche Kompartimente im Micellkern bilden. Dabei können für den Multikompartiment-Kern in Abhängigkeit von der molekularen Struktur der Segmente diverse Morphologien erwartet werden, wie „Kugel in Kugel“ (Kern-Schale-Modell, zwiebelähnlich) oder „Kugel auf Kugel“ (vergleichbar einer Himbeere). In der Vergangenheit konnten über die Struktur derartiger micellarer Kerne aber nur Vermutungen angestellt werden (wobei in den meisten Fällen ein Kern-Schale-Aufbau postuliert wurde), da insbe-

sondere mikroskopische Beobachtungen fehlten. Vor kurzem veröffentlichten Lodge et al.^[25] nun die erste überzeugende Visualisierung von durch Selbstorganisation von Mikroarm-Sternkopolymeren gebildeten Multikompartiment-Micellen in wässriger Lösung mithilfe der Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie (Cryo-TEM); die Befunde wiesen auf eine Coexistenz getrennter Domänen innerhalb des hydrophoben Micellkerns hin. Die genaue Morphologie des nanostrukturierten Kerns ließ sich jedoch nicht feststellen.

Hier wird die Selbstorganisation eines linearen ABC-Triblock-Copolymers, Poly(4-methyl-4-(4-vinylbenzyl)morpholin-4-iumchlorid)-*block*-Polystyrol-*block*-Poly(pentafluorphenyl-4-vinylbenzylether) (PVBm-*b*-PS-*b*-PFPVB), in wässriger Lösung vorgestellt (Schema 1). Das Copolymer



Schema 1. Molekulare Struktur des Triblock-Copolymers PVBm-*b*-PS-*b*-PFPVB und eine mögliche Morphologie der beobachteten Multikompartiment-Micellen in wässriger Lösung. hellgrau: hydrophiler Block mit Morpholinium-Einheiten, dunkelgrau: hydrophober Kohlenwasserstoff-Block, schwarz: hydrophober fluorkohlenstoffreicher Block.

besteht aus einem langen kationischen hydrophilen Block, PVBm, und zwei kurzen aufeinander folgenden hydrophoben Blöcken: einem Kohlenwasserstoff-Block (PS) und einem gemischten Kohlenwasserstoff/Fluorkohlenstoff-Block (PFPVB). Die Kombination von Kohlenwasserstoff- und Fluorkohlenstoff-Blöcken wurde gewählt, weil solche Segmente in der Regel nicht miteinander kompatibel sind und somit die Aufteilung in unterschiedliche Domänen begünstigen.^[1] Darüber hinaus sollte dieses Design zu Kompartimenten mit merklich unterschiedlichen Eigenschaften führen,^[1,3,5,6] was für eine Anwendung z.B. als Wirkstoffträger wünschenswert ist.

Das Copolymer PVBm-*b*-PS-*b*-PFPVB wurde durch Umsetzen des Zwischenprodukts Poly(vinylbenzylchlorid)-

b-PS-*b*-PFPVB mit *N*-Methylmorpholin unter Bildung eines quartären Amins erhalten. Diese Triblock-Copolymer-Vorstufe war zuvor über eine dreistufige Reversible-Addition-Fragmentation-Transfer(RAFT)-Polymerisation unter Verwendung von Benzylthiobenzoat als Kettenüberträger synthetisiert worden. Zur Herstellung der Multikompartiment-Micellen wurde PVBM-*b*-PS-*b*-PFPVB zuerst in einer Mischung aus Dioxan und Wasser gelöst und anschließend stufenweise gegen Wasser dialysiert. Die Wahl des organischen Colösungsmittels und die Methode seiner Entfernung aus der wässrigen Lösung beeinflussen dabei maßgeblich die Selbstorganisation des Copolymers.^[26]

Abbildung 1 zeigt eine typische Cryo-TEM-Aufnahme der erhaltenen wässrigen micellaren Lösung. Auf dem Bild

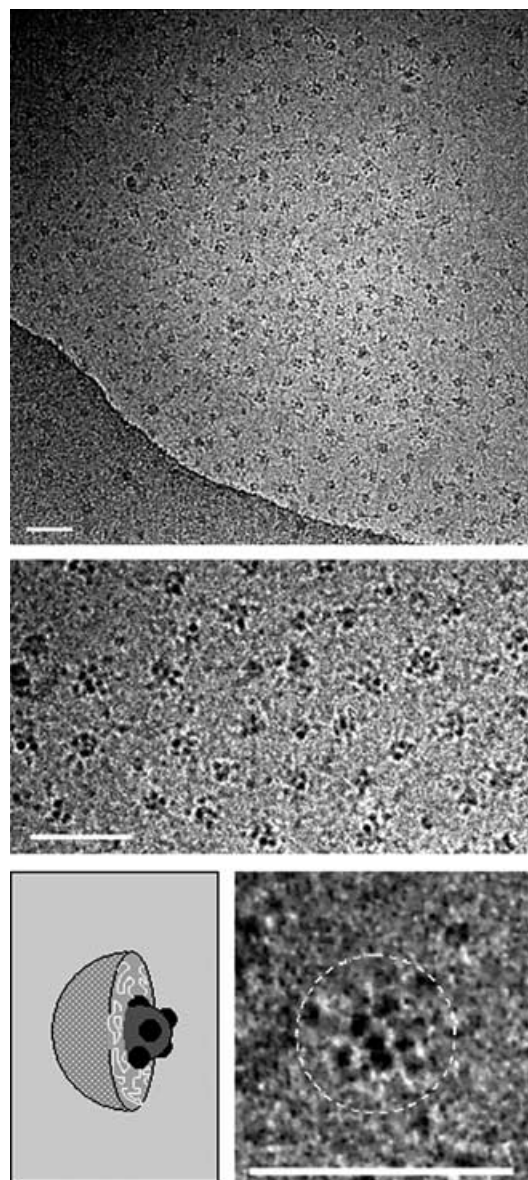


Abbildung 1. Cryo-TEM-Aufnahmen in unterschiedlicher Vergrößerung sowie schematische Darstellung der Struktur der Multikompartiment-Micellen, die durch Selbstorganisation des Triblock-Copolymers PVBM-*b*-PS-*b*-PFPVB in wässriger Lösung entstehen. Die Hülle der Micellen ist in der Cryo-TEM-Aufnahme nicht sichtbar. Maßstab = 50 nm.

sind gleichmäßig verteilte dunkelgraue, kreisförmige Objekte mit einem Durchmesser von 12–15 nm zu erkennen. Dies sind die hydrophoben Micellkerne, die sich aus mehreren Domänen zusammensetzen: Innerhalb des Micellkerns sind deutlich dunkle runde Bereiche mit einem mittleren Durchmesser von 3.4 ± 0.2 nm zu erkennen. Der starke Kontrast der Aufnahme lässt sich auf die elektronenreichen Fluor-Atome zurückführen.^[25] Typischerweise wurden vier bis zehn dieser Domänen pro Micellkern gefunden. Die wasserlösliche Micellhülle (PVBM) ist wegen ihres niedrigen Elektronenkontrastes nicht direkt zu erkennen – aus dem Abstand zwischen den einzelnen Objekten kann jedoch ein Gesamtdurchmesser der Micellen von 20–30 nm abgeschätzt werden.

Die beobachtete Kern-Morphologie ähnelt einer „himbeerartigen“ Morphologie, wie sie von Stadler et al. als Resultat der Selbstorganisation des Triblock-Copolymers Polystyrol-*b*-Polybutadien-*b*-Poly(methylmethacrylat) (SBM) im Festkörper gefunden wurde.^[27] Die gleiche Morphologie kann auch bei micellaren Strukturen auftreten, wie von Pascault et al. gezeigt.^[28,29] Bei ihren Arbeiten wurden Micellen aus SBM in einem reaktiven Epoxy-Amin-Gemisch dispergiert, das anschließend polymerisiert wurde. Die ursprüngliche Micellmorphologie wurde so in einer Polymermatrix fixiert und konnte dann mit TEM untersucht werden. In Abbildung 1 zeigen wir das erste Beispiel für eine ähnliche Morphologie bei Micellen, die in wässriger Lösung hergestellt wurden. Anhand der Cryo-TEM-Bilder lässt sich allerdings nicht endgültig entscheiden, ob sich die dunklen Fluorkohlenstoff-Domänen tatsächlich auf der Oberfläche des Kohlenwasserstoffkerns befinden (himbeerartige „Kugel-auf-Kugel“-Morphologie wie in Schema 1 gezeigt und von Stadler et al.^[27] beschrieben) oder ob die dunklen Domänen im Kohlenwasserstoffkern eingebettet sind („Kugel-in-Kugel“-Morphologie). Die letztgenannte Struktur ist intuitiv eher zu erwarten, da der fluorierte Block der C-Block in der Sequenz ABC ist.

Des Weiteren stellt sich die Frage, ob die in der TEM-Aufnahme dunkel erscheinenden, hydrophoben Domänen aus den kompletten PFPVB-Blöcken oder nur aus deren fluorierten Resten bestehen. Berechnungen des molekularen Volumens des Copolymers ergaben, dass nur das zweite Szenario mit den durch Cryo-TEM bestimmten Strukturgrößen in Einklang ist (siehe Hintergrundinformationen): Für dieses Szenario ergeben die Berechnungen einen globalen theoretischen Micelldurchmesser von 20.5 nm (wobei ein Quellen der hydrophilen Hülle durch die Aufnahme von Wasser nicht berücksichtigt wurde) und einen Durchmesser des vollständigen hydrophoben Kerns von 13.8 nm, was gut mit den experimentellen Werten aus den Cryo-TEM-Untersuchungen übereinstimmt. Nimmt man dagegen an, dass die dunklen Bereiche aus den kompletten PFPVB-Blöcken (Kohlenwasserstoff- und Fluorkohlenstoffanteile) gebildet werden, ergibt sich aus den Berechnungen ein zu kleiner Durchmesser sowohl für den Micellkern als auch für die gesamte Micelle. Demzufolge werden die dunklen Domänen ausschließlich von den Fluorkohlenstoff-Fragmenten der PFPVB-Blöcke gebildet und die sie umgebenden dunkelgrauen Regionen des Micellkerns enthalten den Kohlenwasserstoffanteil der PFPVB-Blöcke sowie die PS-Blöcke.

Die Größe der Micellen wurde zusätzlich mithilfe der statischen Lichtstreuung untersucht (siehe Hintergrundinformationen). Die dabei gemessene Streukurve entspricht der Streuung von kugelförmigen Objekten mit einem Gyrationradius R_g von 14.5 nm, was mit den Ergebnissen der Berechnungen und den Cryo-TEM-Untersuchungen gut übereinstimmt. Die Streukurven sprechen – ebenfalls in Einklang mit den Cryo-TEM-Bildern – für eine relativ breite Verteilung der Micellgröße, was wegen der vergleichsweise hohen Polydispersität des Blockcopolymers auch zu erwarten war ($M_w/M_n = 1.7$).

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Selbstorganisation des linearen amphiphilen Triblock-Copolymers PVBm-*b*-PS-*b*-PFPVB in wässriger Lösung zu Multikompartiment-Micellen mit einem Durchmesser von 20–30 nm führt. Mithilfe der Cryo-TEM-Technik ist die Aufteilung des Micellkerns in nanometergroße Kompartimente, die durch die Koexistenz fluorkohlenstoffreicher Domänen mit einer kohlenwasserstoffreichen Region entstehen, deutlich zu erkennen. Diese neuartigen, nanostrukturierten Kolloide könnten als Modelle und Mimetika für biologische Strukturen wie die von globulären Proteinen fungieren und bieten zudem interessante Möglichkeiten für die Anwendung in der Nanotechnologie.

Eingegangen am 16. Februar 2005,
veränderte Fassung am 29. März 2005
Online veröffentlicht am 20. Juli 2005

Stichwörter: Amphiphile · Blockcopolymere · Kolloide · Micellen · Selbstorganisation

- [1] A. Laschewsky, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2003**, 8, 274.
- [2] J.-F. Lutz, A. Laschewsky, *Macromol. Chem. Phys.* **2005**, 206, 813.
- [3] K. Stähler, J. Selb, F. Candau, *Langmuir* **1999**, 15, 7565.
- [4] R. Weberskirch, J. Preuschen, H. W. Spiess, O. Nuyken, *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, 201, 995.

- [5] A. Kotzev, A. Laschewsky, R. H. Rakotoaly, *Macromol. Chem. Phys.* **2001**, 202, 3257.
- [6] A. Kotzev, A. Laschewsky, P. Adriaenssens, J. Gelan, *Macromolecules* **2002**, 35, 1091.
- [7] Z. Li, M. A. Hillmyer, T. P. Lodge, *Macromolecules* **2004**, 37, 8933.
- [8] F. Boschet, C. Branger, A. Margaillan, T. E. Hogen-Esch, *Polym. Int.* **2005**, 54, 90.
- [9] S. Förster, T. Plantenberg, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 712; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 688.
- [10] F. S. Bates, *Science* **1991**, 251, 898.
- [11] G. Riess, *Prog. Polym. Sci.* **2003**, 28, 1107.
- [12] Y. Y. Won, H. T. Davis, F. S. Bates, *Science* **1999**, 283, 960.
- [13] D. E. Discher, A. Eisenberg, *Science* **2002**, 297, 967.
- [14] C. S. Patrickios, A. B. Lowe, S. P. Armes, N. C. Billingham, *J. Polym. Sci. Part A* **1998**, 36, 617.
- [15] Y. Cai, S. P. Armes, *Macromolecules* **2004**, 37, 7116.
- [16] V. Sfika, C. Tsitsilianis, A. Kiri, G. Gorodyska, M. Stamm, *Macromolecules* **2004**, 37, 9551.
- [17] W. Y. Chen, P. Alexandridis, C. K. Su, C. S. Patrickios, W. R. Hertler, T. A. Hatton, *Macromolecules* **1995**, 28, 8604.
- [18] J. Kriz, B. Masar, J. Plestil, Z. Tuzar, H. Pospisil, D. Doskocilova, *Macromolecules* **1998**, 31, 41.
- [19] G.-E. Yu, A. Eisenberg, *Macromolecules* **1998**, 31, 5546.
- [20] Q. Ma, K. L. Wooley, *J. Polym. Sci. Part A* **2000**, 38, 4805.
- [21] J.-F. Gohy, N. Willet, S. K. Varshney, J.-X. Zhang, R. Jérôme, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 3314; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3214.
- [22] J.-F. Gohy, B. G. G. Lohmeijer, S. K. Varshney, B. Decamps, E. Leroy, S. Boileau, U. S. Schubert, *Macromolecules* **2002**, 35, 9748.
- [23] J.-F. Gohy, E. Kousakoun, N. Willet, S. K. Varshney, R. Jérôme, *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, 25, 1536.
- [24] A. K. Brannan, F. S. Bates, *Macromolecules* **2004**, 37, 8816.
- [25] Z. Li, E. Kesselman, Y. Talmon, M. Hillmyer, T. Lodge, *Science* **2004**, 306, 98.
- [26] N. S. Cameron, M. K. Corbierre, A. Eisenberg, *Can. J. Chem.* **1999**, 77, 1311.
- [27] U. Breiner, U. Krappe, T. Jakob, V. Abetz, R. Stadler, *Polym. Bull.* **1998**, 40, 219.
- [28] S. Ritzenthaler, F. Court, L. David, E. Girard-Reydet, L. Leibler, J. P. Pascault, *Macromolecules* **2002**, 35, 6245.
- [29] S. Ritzenthaler, F. Court, E. Girard-Reydet, L. Leibler, J. P. Pascault, *Macromolecules* **2003**, 36, 118.