

Multikompartimentmaterialien durch einen kombinierten elektrohydrodynamischen Strahl**

Matthew C. George und Paul V. Braun*

Elektrospinnen · Fasern · Fluoreszenzsonden · Kolloide · Nanostrukturen

Seit Jahrhunderten werden mikro- und nanoskalige Mehrkomponentenstrukturen, z.B. mit Metallnanopartikeln dotierte Gläser oder kristalline Legierungen, als Volumenmaterialien verwendet. Neue Entwicklungen bei Top-Down- und Bottom-Up-Herstellungsprozessen ermöglichen nunmehr eine bessere Kontrolle über mikro- und nanoskalige Mehrkomponentenmaterialien. Solche mikrostrukturierten Mehrkomponentenmaterialien sind für die Bildgebung, für die Wirkstoff-Freisetzung, in Sensorsystemen und für die Gewebekonstruktion von Bedeutung. Ein einfaches Beispiel wäre ein Kern-Schale-Partikel, dessen Schale bei der Bildgebung für eine bessere Kompatibilität mit der Umgebung sorgt, das Freisetzungsprofil eines Wirkstoff-Freisetzungssystems steuern kann oder die Abstimmung der Absorption von plasmonischen Teilchen ermöglicht. Außer dem Kern-Schale-Aufbau gibt es zahlreiche weitere Möglichkeiten für noch komplexere Konfigurationen. Als Plattform für die Wirkstoff-Freisetzung und die Diagnostik wäre z.B. ein mikrostrukturiertes Material mit mehreren Kompartimenten von Interesse. Diese könnten es ermöglichen, 1) gezielt bestimmte Zellen anzusteuern, 2) den oder die gewünschten Wirkstoffe in der gewünschten Geschwindigkeit über die jeweils erforderliche Zeitdauer freizusetzen und 3) die behandelten Zellen für die diagnostische Auswertung zu markieren.

Mithilfe unterschiedlicher Techniken wurden mikrostrukturierte Mehrkomponentenmaterialien mit einer Kern-Schale-Architektur,^[1] mit Einbettungen,^[2] einem Janus-^[3] und/oder einem körnigen Aufbau hergestellt.^[4] In Abbildung 1 sind verschiedene Methoden für mikrostrukturierte Mehrkomponenten-Materialien gezeigt, deren Musterung mithilfe verschiedener Verfahren hergestellt wurde, und zwar durch mikrofluidischen Mantelstrom körniger Janus-Partikel (Abbildung 1a),^[4] direktes Laserschreiben mit einer eingeschlossenen kolloidalen Flüssigkeit (Abbildung 1b),^[5] Elek-

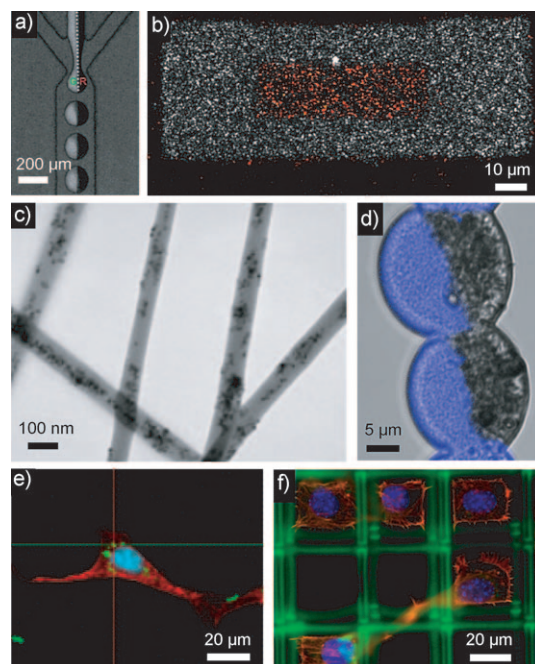


Abbildung 1. Mehrkomponenten-Mikrostrukturen mit einer Musterung, die erreicht wurde durch a) mikrofluidischen Mantelstrom körniger Janus-Partikel,^[4] b) direktes Laserschreiben eines Mikrohohlraums mit porösen Wänden und eingeschlossener kolloidaler Flüssigkeit (in Rot),^[5] c,d) Elektrospinnen anorganisch-organischer Zweikompartiment-Hybridfasern mit einem c) Kern-Hülle oder d) Janus-Aufbau,^[6,7] e) Elektrospray und zelluläre Aufnahme wasserstabiler, fluoreszenzmarkierter Janus-Partikel (Wiedergabe mit Genehmigung von Elsevier aus Lit. [8]) und f) den Aufbau von Gerüsten mit kompartimentierter Zellmorphologie durch robotergesteuertes direktes Drucken.^[14] Die Bilder in (a), (e) und (f) sind Fluoreszenzaufnahmen, (b) ist eine Aufnahme mit LSCM (Reflexionsmodus), (c) ist eine transmissionselektronenmikroskopische (TEM-)Aufnahme und (d) eine Überlagerung von Querschnittsaufnahmen mit LSCM (Fluoreszenzmodus) und mit differentieller Interferenzkontrastmikroskopie (DIC).

[*] Dr. M. C. George, Prof. P. V. Braun
Department of Materials Science and Engineering
Frederick Seitz Materials Research Laboratory
Beckman Institute for Advanced Science and Technology
University of Illinois at Urbana-Champaign
Urbana, IL 61801 (USA)
Fax: (+1) 217-333-2736
E-Mail: pbraun@illinois.edu
Homepage: <http://braingroup.beckman.illinois.edu/>

[**] Die Autoren werden vom U.S. Army Research Office, DAAD19-03-1-0227, unterstützt.

trospinnen anorganisch-organischer Hybridmaterialien mit Kern-Schale- und Seite-an-Seite-Konfiguration (Abbildung 1c,d)^[6,7] sowie Elektrospray und zelluläre Aufnahme wasserstabiler Janus-Partikel (Abbildung 1e).^[8] Synthesen von Partikeln aus Lösung lassen sich zwar gut aufskalieren, eignen sich aber nur schlecht dazu, mehrere Komponenten auf der Mikrometerebene willkürlich anzuordnen. Lithogra-

phische Standardverfahren sind wegen der Notwendigkeit schichtweiser additiver und subtraktiver Abläufe, die mit zunehmender Komplexität aufwändiger und unwirtschaftlicher werden, nur begrenzt einsetzbar. Techniken zum gezielten Aufbau sind deshalb beliebt geworden, da sie häufig mit relativ einfachen Baublöcken durchgeführt werden und die Erzeugung brauchbarer Mikrostrukturen keine wiederholte schichtweise Prozessierung erfordert. Das direkte Drucken mit einer robotergesteuerten Düse ist ein leistungsstarkes Verfahren, mit dem dreidimensionale Strukturen direkt erzeugt werden können. Die Methode hat derzeit aber noch einen geringen Durchsatz und ist noch nicht für die Coabscheidung mikrostrukturierter Mehrkomponentenmaterialien eingesetzt worden. Ein Verfahren zur Herstellung von Teilchen mit komplexer Mikrostruktur aus mehreren Komponenten beruht auf einem gemeinsamen mikrofluidischen laminaren Fluss verschiedener Eingabeströme in einer Seite-an-Seite- oder eingebetteten Konfiguration.^[2] Elektrosprinnen, Elektrospray und elektrohydrodynamische Strahldruckverfahren sind Methoden für den schnellen, zielgerichteten Aufbau mikro- und nanoskaliger Fasern, Partikel und Tröpfchen. Diese Techniken beruhen auf der Bildung eines elektrisch geladenen Flüssigkeitsstrahls und haben dank ihrer Einfachheit und Vielseitigkeit in den letzten zehn Jahren immer mehr Bedeutung erlangt. Insbesondere wurden Filtermembranen, „intelligente“ Textilien (smart fabrics), nanofaserverstärkte Composite, Sensoren, optische Baueinheiten, Enzym- und Katalysatorträger sowie Zellgerüste für die Gewebekonstruktion durch Elektrosprinnen hergestellt.^[6,9]

Elektrosprinnen, Elektrospray und elektrohydrodynamische Strahldruckverfahren beruhen auf dem Ausstoß eines elektrohydrodynamischen Strahls aus einem Tröpfchen an der Spitze einer elektrisch geladenen Spritze oder Kapillare sowie dem Auffangen des ausgestoßenen Materials auf einer Gegenelektrode. Das Flüssigkeitströpfchen (beim Drucken mit einem elektrohydrodynamischen Strahl oft als Tinte bezeichnet) kann aus einem komplexen Fluid oder einer einfachen Lösung oder Schmelze bestehen. Bei einem typischen Elektrosprayprozess bewirken Instabilitäten infolge der hohen Oberflächenladung des Strahls sowie die große Weglänge zwischen Emitter- und Kollektorelektrode den Zerfall des aus einer niedrigviskosen Flüssigkeit ausgestoßenen Strahls in winzige Tröpfchen. Beim Drucken mit einem elektrohydrodynamischen Strahl vermeidet man den Zerfall normalerweise dadurch, dass man Emitter und Kollektor nahe aneinander rückt, und beim Elektrosprinnen durch die Erhöhung der Viskosität des Fluids. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels oder dem Abkühlen der Flüssigkeit erstarrt der geladene Strahl zu einem Faden, der auf der Gegenelektrode aufgefangen wird. Lösungsmittelverdampfung sowie die Faserstreckung infolge elektrostatischer Abstoßung ermöglichen eine verlässliche Kontrolle über den Faserquerschnitt im Bereich von mehreren zehn Mikrometern bis zu weniger als 100 nm. Zur Ausrichtung der Fasern kann man für eine schnelle Bewegung der Kollektroboberfläche relativ zur Düse sorgen (normalerweise wird ein rotierender Zylinder oder der Rand einer rotierenden Scheibe verwendet) oder eine gespaltene Kollektor-Gegenelektrode verwenden, mit der der Faden in die gewünschte Richtung gelenkt werden kann.^[6,9]

Xia und Li haben das Elektrosprinnen koaxialer Mehrkomponentenfasern mit Kern-Schale-Profil demonstriert. Die Autoren verwendeten hierfür ein elektrohydrodynamisches Verfahren auf Basis eines kombinierten Strahls von eingebetteten Kapillaren.^[6] Die verwendete Methode ähnelt dem Mikrofluidikverfahren zur Erzeugung von Kern-Schale-Partikeln. Lahann und Mitarbeiter übertrugen vor kurzem das Konzept des kombinierten (Seite an Seite) mikrofluidischen Flusses auf Elektrospray- und Elektrosprinnverfahren.^[8,10–12] Bei ihrem Elektrosprayprozess mit kombiniertem Strahl werden mehrere viskose Polymerlösungen bei niedrigen Flussgeschwindigkeiten in nebeneinander liegende Kapillaren oder Spritzen gepumpt und bei einer niedrigen Reynolds-Zahl in einer Röhre zusammengebracht, sodass ein laminarer Fluss entsteht. Die spezifische geometrische Anordnung der flüssigen Phasen bleibt im Innern des Tröpfchens erhalten, das sich am Röhrenaussgang bildet. Das Anlegen einer Spannung von mehreren kV über die Spritzen oder Kapillaren an die Flüssigkeit bewirkt den Ausstoß eines elektrohydrodynamischen Strahls. Da der laminare Fluss trotz Streckung und Zerfall des Strahls sowie Lösungsmittelverdampfung erhalten bleibt, können Kolloidpartikel aufgefangen werden, in deren einzelnen Kompartimenten die unterschiedlichen eingespeisten Polymere zu finden sind. Lahann und Mitarbeitern gelang es mithilfe dieses Elektrospray-Verfahrens mit kombiniertem Strahl (Abbildung 2), Kügelchen mit zwei oder drei Einzelkompartimenten zu er-

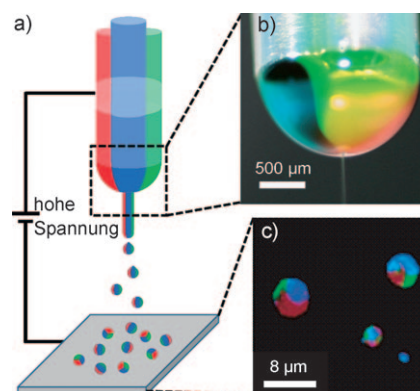


Abbildung 2. Herstellung von Kügelchen in einem Elektrospray-Prozess mit kombiniertem Strahl: a) Schema, b) hängendes Tröpfchen und Emission eines elektrohydrodynamischen Strahls, c) Partikel mit drei Kompartimenten. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [11].

zeugen, die verschiedene verankerte Farbstoffe oder Biomoleküle für den möglichen Einsatz als multifunktionelle Imaging-Sonden enthielten. Die Autoren demonstrierten die selektive Funktionalisierung eines Einzelkompartiments mit der sehr starken Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung.^[10–12] Die Kurzzeitbiokompatibilität sowie Zellaufnahme (Abbildung 1e) der Multikompartiment-Imaging-Sonden wurden ebenfalls demonstriert.^[8]

Jüngst erzeugten Lahann und Mitarbeiter durch Elektrosprinnen mit kombiniertem Strahl ausgerichtete, biologisch abbaubare Multikompartiment-Mikrofasern aus Poly(lactid-co-glycolid) mit einer geringen Polydispersität.^[7] Der an-

schließende Kryoschnitt der Fasern in Multikompartimentpartikel (Abbildung 3) öffnet einen Zugang zu multifunktionalen Imaging-Sonden und/oder für die gezielte Wirkstoff-Freisetzung.^[13] Weiterhin lassen sich Plättchen aus ausge- richteten Fasern als mikrostrukturierte Zellgerüste verwen-

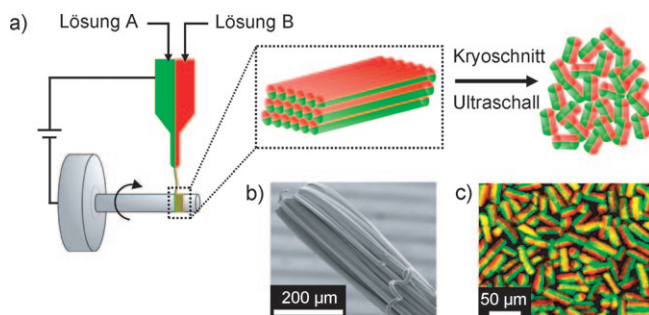


Abbildung 3. a) Schema des Elektrosplinnens von Fasern mit zwei Kompartimenten und Kryoschnitten in zylindrische Partikel; b) raster-elektronenmikroskopisches (SEM-)Bild eines Faserbündels; c) Fluoreszenzaufnahme von Partikeln mit zwei Kompartimenten. Wiedergabe aus Lit. [13].

den. Typische elektrogessponnene Materialien für Zellgerüste haben eine zufällige Orientierung; neue Studien zeigten aber, dass sich die Zellen infolge chemischer und physikalischer Mikromusterbildung (siehe Abbildung 1 f für ein Beispiel für physikalische Musterbildung) anordnen und ausrichten können,^[14] was die zelluläre Signalübertragung und Migration beeinflussen kann.^[15] Eine aktuelle Arbeit von Lahann et al. hatte die Erzeugung von Mehrkomponenten-Zellgerüsten mit einer mikroskaligen physikalischen und chemischen Ausrichtung zum Ziel.^[7] Die mit konfokaler Laserrastermikroskopie (LSCM) im Fluoreszenzmodus erstellten Aufnahmen in Abbildung 4 zeigen eingefrorene Abschnitte ausge-

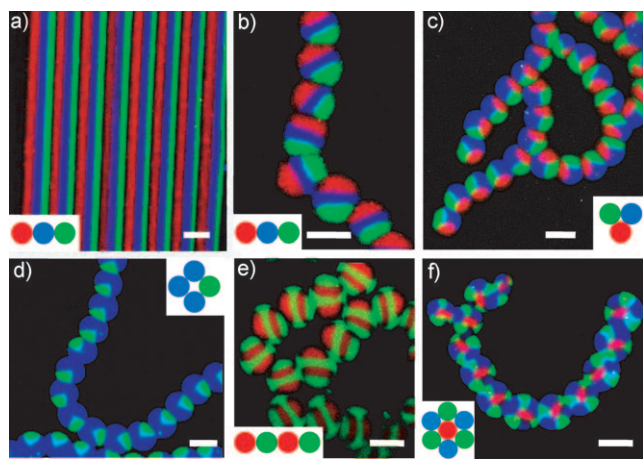


Abbildung 4. LSCM-Bilder im Fluoreszenzmodus von eingefrorenen Abschnitten a) ausgerichteter Plättchen und b)–f) loser Bündel aus elektrogessponnenen Multikompartimentmikrofasern mit einer a,b) nebeneinander liegenden, c) an ein Kreisdiagramm erinnernden, d) asymmetrischen, e) gestreiften und f) rosettenartigen Anordnung der Kompartimente. Die Einschübe zeigen jeweils den Aufbau des kombinierten Strahls. Maßstäbe = 20 µm. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [7].

richteter Plättchen und loser Faserbündel aus elektrogessponnenen Multikompartiment-Mikrofasern, deren Kompartimente in unterschiedlichen Anordnungen vorliegen. Lahann und Mitarbeiter demonstrierten die hervorragende Steuerbarkeit der Organisation dieser Kompartimente sowie der Größe der Fasern (und Partikel) durch 1) das selektive Entfernen eines Kompartiments infolge von Löslichkeitsunterschieden im Polymer-Ausgangsmaterial,^[13] 2) die Fähigkeit, eine anorganische Phase (Eisenoxid) innerhalb eines Kompartiments für mögliche Anwendungen in der Bildgebung zu sequestrieren (Abbildung 1 d),^[7] 3) die selektive Funktionalisierung eines Kompartiments mit aktiven Biomolekülen mithilfe von Klickreaktionen^[13] und 4) die Fähigkeit, durch eine einfache Biokonjugation ein Kompartiment selektiv mit einem Zielmolekül zu markieren.^[12,13]

Einige technische Hürden sind noch zu überwinden, bevor das erklärte Ziel einer Herstellung von Mehrkomponenten-Zellgerüsten für biologische Studien mit einer mikroskaligen physikalischen und chemischen Ausrichtung erreicht werden kann. Zur Verbesserung der Porosität in dicken Fasermatten für Studien zur zellulären Migration und Signalübertragung in drei Dimensionen muss mindestens eine der Komponenten der mikrostrukturierten Fasern entfernt werden (was für Partikel bereits demonstriert wurde).^[13] Die erforderliche Porosität ließe sich auch in einem mattenartigen Design mit über Kreuz angeordneten Fasern erreichen, indem man ein Paar geteilter Elektroden in gekreuzter Konfiguration verwendet.^[6] Ein Nachteil des Elektrosplinnens besteht darin, dass man die Fasern nicht frei platzieren kann. Weiterhin kann die Fernordnung gestört werden, falls der Strahl oder der Faden auf dem Weg zwischen Emittor und Kollektor rotiert. Das Ergebnis wäre ein stapelfehlerähnlicher Defekt, bei dem nicht alle Kompartimente in die gleiche Richtung orientiert wären. Die Anwendung von Prinzipien der verwandten Techniken des Aufbaus durch direktes Schreiben und des Druckens mit elektrohydrodynamischem Strahl könnte eine bessere Steuerung der Faserplatzierung ermöglichen. Zum Beispiel kann eine miniaturisierte Emittordüse nahe an die Oberfläche des Kollektors herangerückt werden, und die Emitterspannung kann während des Abtastens zwischen zwei Werten ober- und unterhalb des kritischen Wertes für die Erzeugung eines elektrohydrodynamischen Strahls wechseln.^[16] Auf diese Weise könnten komplexe Strukturen aus gestreiften Fasern oder Partikeln erzeugt werden, deren Länge und Orientierung in der Ebene frei wählbar wären. Diese Strukturen könnten nicht nur für biologische Studien, sondern auch für andere Gebiete wie die Elektronik interessant sein. Mögliche Probleme dieses Verfahrens wären unter anderem ein Vermischen oder Verschmieren nach dem Auftreffen auf das Substrat. Entscheidend wäre ein passendes Design von Tinte und System, das einerseits ein rasches Erstarren vor dem Auftreffen garantiert und andererseits ein Festsetzen auf der Spitze verhindert. Höherviskose (möglicherweise sogar vernetzte) Polymerlösungen oder Tinten könnten erforderlich sein. Eine alternative Methode zur Steuerung der Faserplatzierung wären elektromagnetische Kondensor- und Objektivlinsen (wie bei der Rasterelektronenmikroskopie), um den Strahl/Faden an den gewünschten Ort zu lenken. Es wurde bereits berichtet, dass sich die Sta-

bilität des Strahls mit Ringelektroden verbessert.^[17] Das Einfügen eines magnetischen Kompartiments in die Faser könnte eine stabile Steuerung der Orientierung des Strahls/Fadens über den gesamten Weg zum Kollektorsubstrat hinweg ermöglichen. Dies könnte auch den Weg zu helicalen Multikompartimentfasern ebnen.

Die praktische Anwendbarkeit der frühen, durch die Arbeitsgruppe von Lahann und andere demonstrierten Elektrospray-Verfahren^[18] ist hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der Partikelgröße und der Architektur begrenzt. Das vor kurzem demonstrierte Kryoschneiden von Multikompartimentfasern (Abbildung 3) ist für die Herstellung von Mehrkomponenten-Mikropartikeln mit geringer Polydispersität interessant. Mögliche Anwendungen wären multifunktionelle zelluläre Imaging-Sonden und die zielgerichtete Wirkstoff-Freisetzung (siehe z.B. Abbildung 1e). Ein höherer Durchsatz kann vielleicht erzielt werden, wenn die Fasern nicht mehr mit einer seriellen Abtrenntechnik, sondern mit Zweistrahlinterferenzlithographie in einem einzelnen, parallel durchgeführten Arbeitsschritt zu zylindrischen Partikeln verarbeitet würden. Natürlich setzt dies voraus, dass die Polymere in den einzelnen Kompartimenten der Fasern auch für die Photolithographie geeignet sind. Für eine gleichförmige Trennung könnte eine Feinabstimmung der Empfindlichkeit der einzelnen Kompartimente erforderlich sein. Der Durchsatz könnte auch durch simultanes Elektrosponnen aus mehreren Düsen erhöht werden.^[19]

Die hier beschriebenen Arbeiten sind ein wesentlicher Fortschritt bei der Entwicklung mikrostrukturierter Mehrkomponentenmaterialien und von besonderer Bedeutung für die biologische Bildgebung, Wirkstoff-Freisetzung, Gewebekonstruktion und Kolloidphysik. Andere hochinteressante Materialien, die in letzter Zeit mit traditionellen Elektrospray- und Elektrosponn-Verfahren abgeschieden wurden, sind lebende Zellen und (infolge eines Energietransfers) weiß lumineszierende DNA-Nanofasern.^[20,21] Der nächste Schritt könnte das Drucken benachbarter Kompartimente sein, in denen lebende Zellen und unterschiedliche Wirkstoffe für das Screening von Gradienteneffekten und kombinatorischen

Effekten enthalten sind; denkbar ist auch die Herstellung weiß lumineszierender rot-grün-blauer Multikompartimentstrukturen.

Online veröffentlicht am 8. Oktober 2009

- [1] A. Burns, H. Ow, U. Wiesner, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 1028.
- [2] R. K. Shah, H. C. Shum, A. C. Rowat, D. Lee, J. J. Agresti, A. S. Utada, L.-Y. Chu, J.-W. Kim, A. Fernandez-Nieves, C. J. Martinez, D. A. Weitz, *Mater. Today* **2008**, 11, 18.
- [3] A. Perro, S. Reculosa, S. Ravaine, E. Bourgeat-Lami, E. Duguet, *J. Mater. Chem.* **2005**, 15, 3745.
- [4] R. F. Shepherd, J. C. Conrad, S. K. Rhodes, D. R. Link, M. Marquez, D. A. Weitz, J. A. Lewis, *Langmuir* **2006**, 22, 8618.
- [5] M. C. George, A. Mohraz, M. Piech, N. S. Bell, J. A. Lewis, P. V. Braun, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 66.
- [6] D. Li, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2004**, 16, 1151.
- [7] S. Bhaskar, J. Lahann, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 6650.
- [8] M. Yoshida, K. H. Roh, J. Lahann, *Biomaterials* **2007**, 28, 2446.
- [9] A. Greiner, J. H. Wendorff, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 5770; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 5670.
- [10] K. H. Roh, D. C. Martin, J. Lahann, *Nat. Mater.* **2005**, 4, 759.
- [11] K. H. Roh, D. C. Martin, J. Lahann, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 6796.
- [12] K. H. Roh, M. Yoshida, J. Lahann, *Langmuir* **2007**, 23, 5683.
- [13] S. Bhaskar, J. Hitt, S.-W. L. Chang, J. Lahann, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 4659; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 4589.
- [14] R. A. Barry III, R. F. Shepherd, J. N. Hanson, R. G. Nuzzo, P. Wiltzius, J. A. Lewis, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 2407.
- [15] S. Mitragotri, J. Lahann, *Nat. Mater.* **2009**, 8, 15.
- [16] J.-U. Park, M. Hardy, S. J. Kang, K. Barton, K. Adair, D. k. Mukhopadhyay, C. Y. Lee, M. S. Strano, A. G. Alleyne, J. G. Georgiadis, P. M. Ferreira, J. A. Rogers, *Nat. Mater.* **2007**, 6, 782.
- [17] J. M. Deitzel, J. D. Kleinmeyer, J. K. Hirvonen, N. C. Beck Tan, *Polymer* **2001**, 42, 8163.
- [18] H. Chen, Y. Zhao, Y. Song, L. Jiang, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 7800.
- [19] Y. Srivastava, M. Marquez, T. Thorsen, *Biomicrofluidics* **2009**, 3, 012801.
- [20] K. Albert, A. Sumathy, I. Scott, R. M. Jean, N. J. Suwan, *Biomed. Mater.* **2008**, 025008.
- [21] Y. Ner, J. G. Grote, J. A. Stuart, G. A. Sotzing, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 5236; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 5134.