

Abstract

Zu Beginn der Arbeit wurden Experimente zur Stabilisierung von Calciumphosphat Nanopartikeln mit Polyaminosäuren (PAsp und PLys) durchgeführt. Hier kristallisierte sich heraus, dass verschiedene Kettenlängen der Aminosäuren keinen Einfluss auf die Partikelgröße haben, aber längere Ketten zu einheitlicheren DLS Ergebnissen führten. Im REM zeigten sich bei der PAsp-Reihe unter optimalen Bedingungen sphärische Nanopartikel mit einem Radius von 150 bis 250 nm. Das Polylysin bildete im optimalen Bereich kristalline Partikel, die 200 bis 300 nm groß waren. Die ζ -Potentiale lagen der Partikel lagen bei -18 mV (PAsp) und +30 mV (PLys). Dies bedeutet, dass die Polyaminosäuren eine gute statische Stabilisierung des Calciumphosphates erreichen konnten. Wegen des proteinähnlichen Aufbaues der Polyaminosäuren wurden Versuchsreihen mit Proteinen angesetzt, die das Calciumphosphat stabilisieren und gleichzeitig funktionalisieren sollten. Bei ähnlichen Bedingungen konnten allerdings alle drei eingesetzten Protein-Reihen (BSA, Ubiquitin und Lysozym) keinen Erfolg erzielen. Offensichtlich verhinderten die unterschiedlichen Ladungen der Proteinoberfläche sowie das Bilden von Knäueln in Lösung eine Anlagerung an das Calciumphosphat. Gleichzeitig wurde das Anlagern von mehreren Kristallisationskeimen an die Proteinoberfläche ermöglicht, was eine Agglomeration nach sich zog. Ein Linker ist also nötig, damit das Anlagern der Proteine an die Calciumphosphatoberfläche erfolgen kann. Hierzu wurde GDNT verwendet, welches zuvor charakterisiert wurde. Hierbei stellte sich heraus, dass es aus drei gleich großen Strukturen besteht, die noch aus verschiedenen Isomeren zusammengesetzt sind. Dieses Lipid konnte mit den Calcium- und Phosphatlösungen in Wasser keine stabilen Partikel bilden, da das Lipid in Wasser vor der Calciumphosphatzugabe Vesikel bildet. Die Übertragung der Experimente in Ethanol löste dieses Problem. Es bildeten sich keine Vesikel mehr, folglich konnte das Lipid nun die entstehenden Kristallisationskeime des Calciumphosphates umschließen. So konnten Nanopartikel mit einer Größe zwischen 40 und 90 nm hergestellt werden, die mehrere Monate in Dispersion stabil waren. Die Reinigung und Charakterisierung war aufgrund der niedrigen Konzentrationen sehr schwierig, genau wie die teilweise erfolgreiche Funktionalisierung mit den obigen Proteinen. Dieses Problem konnte mit einer Modifizierung des Lipides beseitigt werden. Das GDNT-P ermöglichte die Synthese von monodispersen Partikeln, welche eine Größe von 40 nm besaßen und in Wasser redispersierbar waren. Es bildeten sich Nanopartikel von ca. 10 nm Größe. Die Partikel konnten vor dem Redispersieren ebenfalls mit BSA, Ubiquitin und Lysozym funktionalisiert werden.

Im vorherigen Kapitel 5.1 wurde schon erwähnt, dass es in der Literatur nur wenige Experimente zu Lipiden gibt, die mit den Experimenten in der Arbeit verglichen werden können. Die in der Arbeit dargestellten Calciumphosphat-GDNT und -GDNT-P-Nanopartikel

haben im Vergleich zu anderen Nanopartikel-Systemen, die Proteine als Funktionalisierungssubstanz nutzen^[173,175,198], einen Vorteil durch das Ausbilden kleinerer Nanopartikel. Im Fokus der Proteinaktivität und Freisetzung könnten die leicht abbaubaren Calciumphosphate ebenfalls vorteilhaft sein. Es bestehen gute Aussichten, dass bei einer effizienten Proteinbeladung der Calciumphosphat-Lipid-Nanopartikel interessante Weiterführungen des Projektes möglich werden. Zunächst sollte jedoch die Beladungseffizienz über Experimente ermittelt werden, genau wie die Freisetzungseffizienz in Zellen. Hierzu müsste die Proteinaktivität nachgewiesen werden. Dies ist besonders interessant für die Calciumphosphat-GDNT-P-Partikel, welche mit den Partikelgrößen 40 nm reproduzierbar dargestellt werden konnten. Hier könnte die Abhängigkeit der Beladung/Freisetzung von der Partikelgröße untersucht werden. Auch die in Wasser redispergierten scheinbar nur ca.10 nm großen Nanopartikel können weiter untersucht werden.

Interessant ist auch eine Stabilität der Nanopartikel gegenüber Veränderungen des pH-Wertes. Diese sollte getestet werden, da das Lipid das Calciumphosphat bei sehr niedrigen pH-Werten vor dem Auflösen bewahren könnte. Viele der hyperthermophilen Bakterien, die das Lipid synthetisieren, leben in sehr saurer Umgebung. Hier lässt sich dann sofort eine weitere Idee umsetzen, denn da sich das ζ -Potential der Partikel und Proteine in Abhängigkeit des pH-Wertes ändert, kann die Ladung auf der Oberfläche beider Reaktionspartner so modifiziert werden, dass sich beide leichter und stabiler anlagern können. Lysozym ist ein Protein, dessen Ladung wenig vom pH-Wert abhängt, aber BSA hingegen zeigt sehr unterschiedliche Ladungen bei den verschiedenen pH-Werten^[177]. Die Ladung von BSA ist, absolut betrachtet, im sehr sauren pH-Bereich betragsmäßig fünfmal und bei sehr alkalischen pH-Werten siebenmal so hoch wie die des Lysozyms. Dies könnte die Stabilität der gebildeten Nanopartikel erhöhen, da Partikel mit einem hohen ζ -Potentialbetrag stabiler sind als Partikel mit niedrigen ζ -Potentialbeträgen.

Außerdem können auch die Lipide in wässriger Lösung zur Forschung an den sogenannten *Solid Lipid Nanoparticles* genutzt werden, da die Tetraetherlipide verhältnismäßig kleine Lipidvesikel bilden.

Letztlich kann auf ein erfolgreich umgesetztes Ziel zurückgeblickt werden. Die Nanopartikel-Stabilisierung über Lipide und Polyaminosäuren, sowie das Funktionalisieren der Partikel über Proteine verlief erfolgreich.