

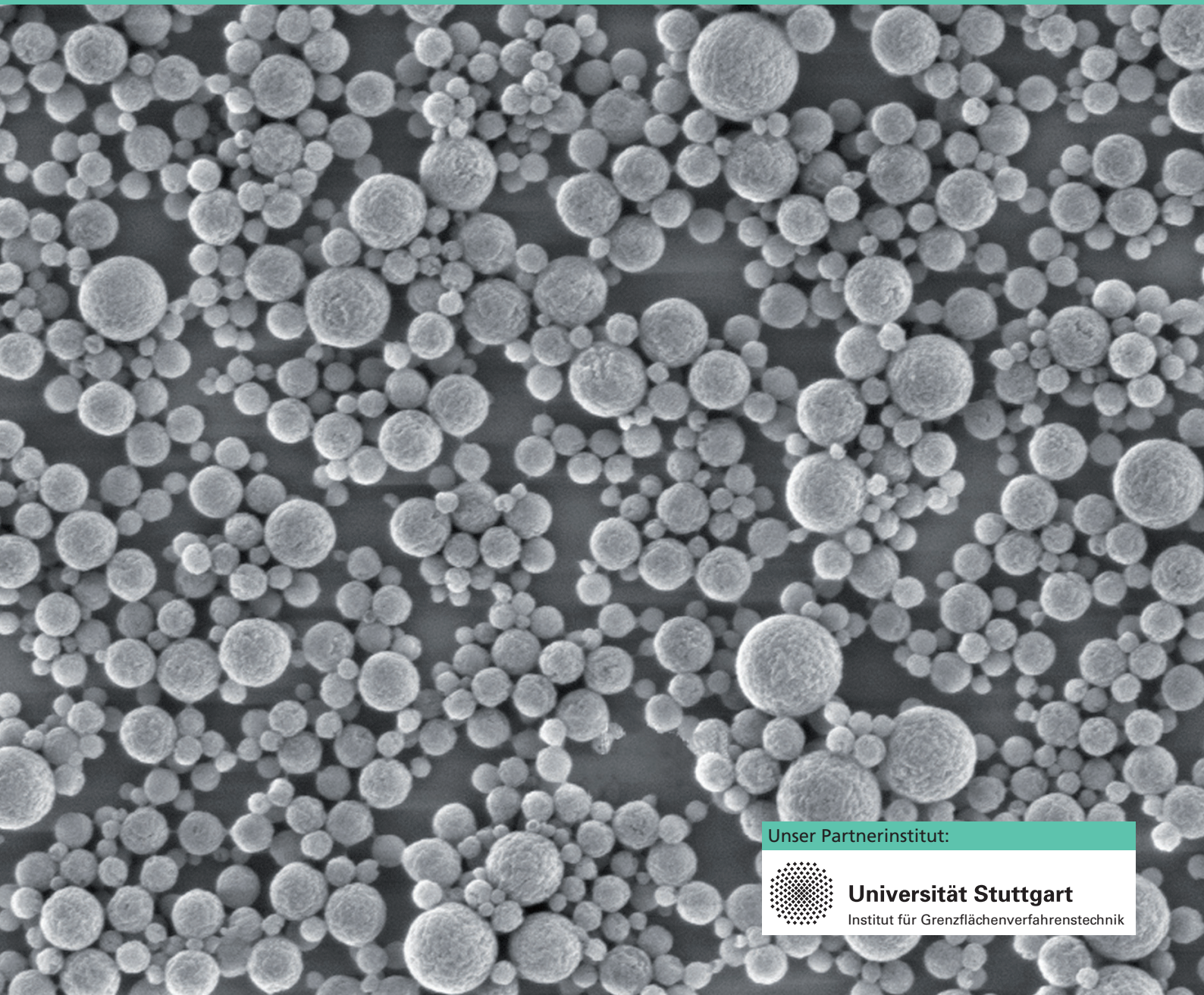


# Fraunhofer

IGB

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR GRENZFLÄCHEN- UND BIOVERFAHRENSTECHNIK IGB

## NANOCYTES® – MOLEKULAR GEPRÄGTE NANOPARTIKEL ALS SPEZIFISCHE ADSORBER



Unser Partnerinstitut:



**Universität Stuttgart**

Institut für Grenzflächenverfahrenstechnik

1



# NANOCYTES®

## MOLEKULAR GEPRÄGTE NANOPARTIKEL ALS SPEZIFISCHE ADSORBER

Eine Schlüsselaufgabe bei vielen Prozessen in Chemie, Pharmazie und Biotechnologie ist die spezifische Abtrennung von Molekülen aus Gemischen, entweder zur Gewinnung oder Aufreinigung von Stoffen oder zur Entfernung störender Begleitstoffe. Molekular geprägte Polymernanopartikel (*Nanoscopic Molecularly Imprinted Polymers*, NanoMIPs) wirken als künstliche Rezeptoren und sind als Adsorber für die Lösung dieser Fragestellungen hervorragend geeignet. Nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip erkennen die Nanopartikel spezifisch jeweils Biomoleküle und Wirkstoffe wie beispielsweise Aminosäuren, Peptide und Proteine, aber auch niedermolekulare Verbindungen oder Störstoffe wie Toxine und endokrine Substanzen. Die Spanne zukünftiger Anwendungsgebiete dieser neuen Materialien ist beinahe unbegrenzt. Über den Einsatz als synthetische Adsorber für selektive Aufreinigungs- und Trennprozesse hinaus, bietet die NANOCYTES®-Technologie zudem Lösungen für diagnostische Anwendungen in der Medizintechnik und für analytische Fragestellungen.

### Molekulare Erkennungsfunktion nach dem Vorbild der Natur

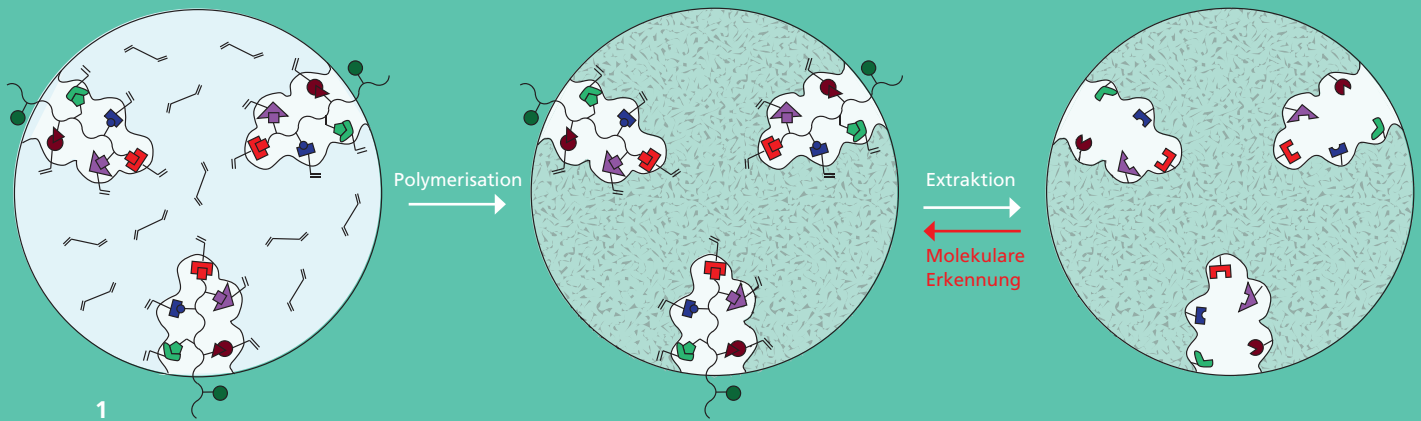
In der Natur werden Informationen durch stofflichen Kontakt übertragen: Hormone docken an spezifische Rezeptoren an und lösen exakte Signale aus. Oder schädliche Stoffe werden in einem Organismus von Antikörpern erkannt, maskiert und dann beseitigt.

Diese Moleküle verhalten sich wie Schlüssel und Schloss, allerdings aus elastischen Bausteinen (*induced fit*): Räumlich definiert angeordnete chemische Strukturen passen wie Positiv- und Negativabdruck desselben chemischen Musters zusammen. Die Natur hat dieses Prinzip zu faszinierender Anwendungsbreite ausgebaut. Aufgrund der begrenzten Haltbarkeit natürlicher Rezeptoren müssen diese fortwährend neu produziert werden – für technische Anwendungen ein massives Hindernis.

### Stabile nanostrukturierte Kunststoffe

Nach dem biomimetischen Prinzip des molekularen Prägens werden molekülspezifische Erkennungsstellen durch Abbildung von bestimmten Strukturen in Form eines chemischen Negativabdrucks in Kunststoffen erzeugt. So werden robuste und haltbare »künstliche Antikörper« zugänglich. In ihrer Funktionalität sind diese molekular geprägten Polymernanopartikel den biologischen Systemen nachempfunden. Ihre Stabilität ist jedoch der von biomolekularen Rezeptoren wie Antikörpern weit überlegen, so dass sie sich problemlos in technischen Prozessen einsetzen lassen. Die Stabilität dieser synthetischen Rezeptoren gewährleistet zusätzlich ein hohes Maß an Regenerierbarkeit und Wiederverwertbarkeit. Diese Tatsache macht ihren Einsatz in einer Vielzahl von technischen Anwendungen aus ökologischer und ökonomischer Sicht attraktiv.

NANOCYTES® ist eine eingetragene Marke der Fraunhofer-Gesellschaft.



## PRINZIP DES MOLEKULAREN PRÄGENS VON POLYMERNANOPARTIKELN

Das molekulare Prägen von Polymernanopartikeln ist ein Verfahren, in dem eine polymerisierbare Mischung – bestehend aus funktionellen Monomeren und Vernetzer – mit nicht-polymerisierbaren Zielmolekülen zu nanoskopisch kleinen Polymerkügelchen (NanoMIPs) umgesetzt werden. Hierbei wirken diese Zielmoleküle wie molekulare Stempel, sogenannte Template. Sie hinterlassen, nachdem sie nach erfolgter Polymerisation aus dem Polymernetzwerk entfernt wurden, jeweils spezifische sowohl räumlich-physikalische wie chemische Abdrücke in der Kunststoffoberfläche der Polymernanopartikel. In den nanostrukturierten Polymeren entstehen hierdurch spezifische Erkennungsstellen für die Zielmoleküle – künstliche Rezeptornanopartikel sind geschaffen.

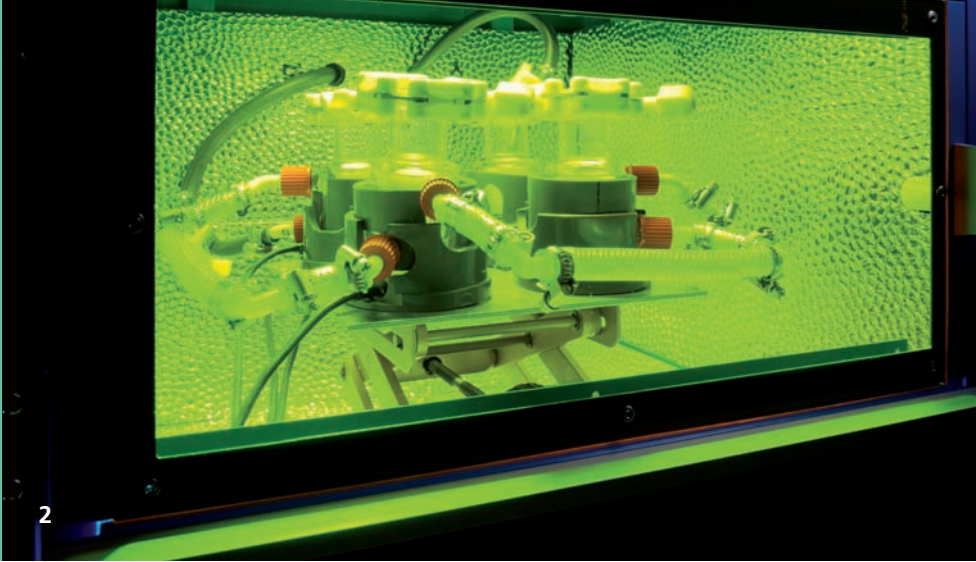
Für die Herstellung selektiver Nanopartikel zur molekularen Erkennung großer Biomoleküle oder komplexer Verbindungen werden als Template Zielmolekül-Fragmente im Prägeprozess eingesetzt. Hierbei werden solche Bereiche im Molekül ausgewählt, die für das Zielmolekül spezifisch und räumlich gut zugänglich sind. Die Bindung an die selektive Nanopartikelmatrix erfolgt später über das entsprechende Fragment des Gesamtmoleküls.

### Selektive Nanopartikel mittels Miniemulsionspolymerisation

Am Fraunhofer IGB werden molekular geprägte Polymernanopartikel durch Miniemulsionspolymerisation mit typischen Partikelgrößen im Bereich von 50 nm bis 500 nm dargestellt. Bei diesem Verfahren handelt es sich um eine Heterophasenpolymerisation, bei der unter Einwirkung hoher Scherkräfte,

Einsatz von Tensiden sowie von Co-Stabilisatoren zwei nicht mischbare, flüssige Phasen homogen und stabil emulgiert werden. Die hierdurch erzeugten Nanotröpfchen aus Monomer, Templatmolekül und osmotischem Reagenz bilden Nanoreaktoren, in denen die Polymerisation stattfindet. Es resultieren Polymernanopartikel, die in ihrer Größe und Morphologie direkte Abbildungen der Emulsionströpfchen sind. Diese vom Fraunhofer IGB patentierte Technik der Synthese molekular geprägter Polymernanopartikel bietet gegenüber sonst verbreiteten Methoden zur Polymernanopartikelsynthese wie Emulsionspolymerisation oder Fällungspolymerisation den Vorteil, dass die Synthese – obwohl komplex – einstufig mit quantitativer Ausbeute und unabhängig von der Diffusion der Edukte erfolgt.

Neben der klassischen Miniemulsionspolymerisation, die für das molekulare Prägen hydrophober Moleküle eingesetzt wird, lässt sich der Prozess in einer inversen Miniemulsionspolymerisation durchführen. Mit dieser Technik können Nanopartikel für die molekulare Erkennung hydrophiler Moleküle, beispielsweise Peptide und Proteine, hergestellt werden.

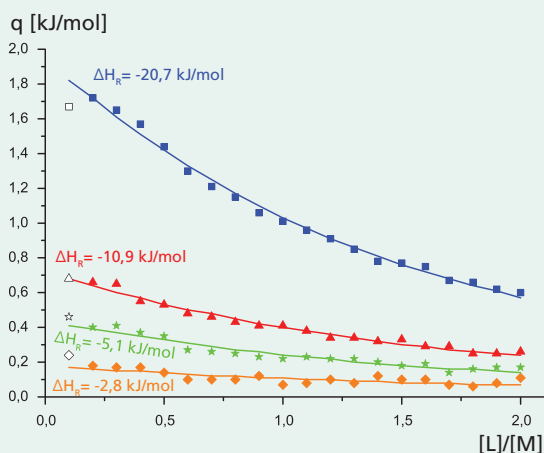


© BioRegio STERN/Lichtenscheidt

### Strukturselektive Nanopartikel – Spezifische Adsorber für Aminosäurederivate

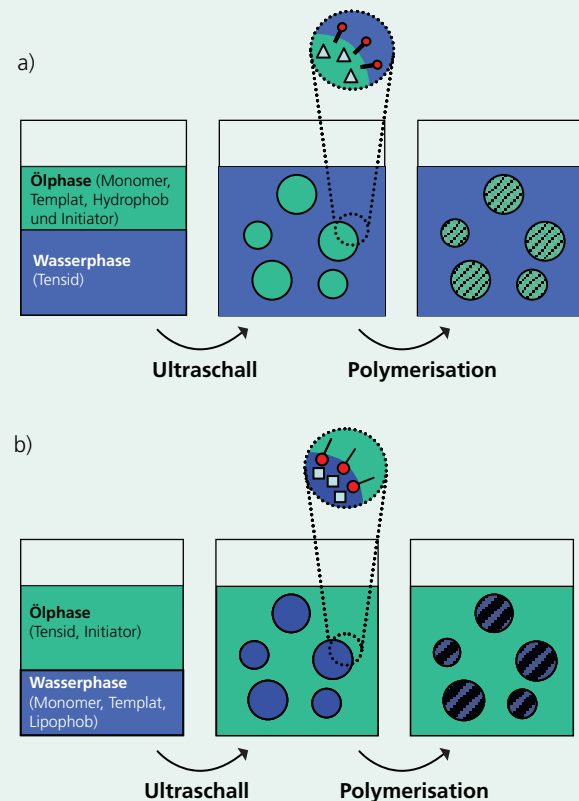
Am Fraunhofer IGB werden unter anderem erfolgreich selektive Nanopartikel zur molekularen Erkennung von Aminosäurederivaten, zum Beispiel L-Boc-Phenylalaninanilid (L-BFA), dargestellt. Durch eine photochemisch induzierte Copolymerisation in Anwesenheit des Zielmoleküls L-BFA entstehen stabile, koagulatfreie molekular geprägte Poly(Ethylenglycol-dimethacrylat-co-Methacrylsäure)-Partikel. Die Selektivität der Nanopartikel wurde durch Untersuchung der Wechselwirkung zwischen dem synthetischen Rezeptor und verschiedenen Liganden mit HPLC und Mikrokalorimetrie nachgewiesen.

#### Nachweis der Strukturselektivität von L-BFA-geprägten Polymernanopartikeln mittels Mikrokalorimetrie.



- L-BFA an L-BFA-NanoMIPs
- ▲ L-Boc-Tryptophan an L-BFA-NanoMIPs
- ★ L-Boc-Phenylalanin an L-BFA-NanoMIPs
- ◆ L-Boc-Tyrosin an L-BFA-NanoMIPs

#### Prozessschritte bei der klassischen (a) und der inversen (b) Miniemulsionspolymerisation.



- 1 Prinzip des molekularen Prägens von Polymernanopartikeln.
- 2 Miniaturisierte und parallelisierte Glasreaktoren zur Optimierung der Nanopartikelherstellung.
- 3 UV-initiierte Miniemulsionspolymerisation im Tauchlampenreaktor.



# MASSGESCHNEIDERTE REZEPTOR-NANOPARTIKEL UND IHRE EINSATZGEBIETE

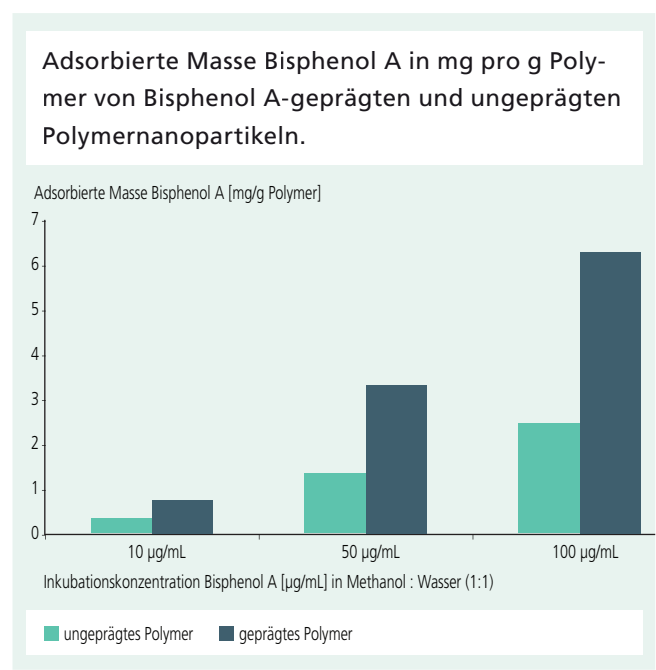
In ihrer Funktion als künstliche Rezeptoren eignen sich molekular geprägte Polymernanopartikel für den Einsatz in einer Vielzahl unterschiedlichster technischer Anwendungen. Am Fraunhofer IGB werden in aktuellen Forschungsprojekten selektive Adsorber zur Entfernung von Umweltschadstoffen aus Abwässern, zur Gewinnung wertvoller Minorkomponenten ebenso wie künstliche Rezeptoren zur Insulin-Aufreinigung entwickelt.

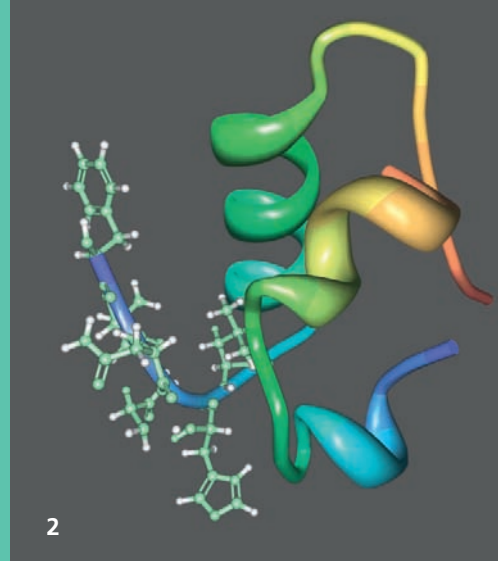
## Synthetische Adsorber zur Entfernung von Umweltschadstoffen

Wasser ist Grundlage allen Lebens auf der Erde, sauberes und hygienisch einwandfreies Wasser ist deshalb Voraussetzung für die menschliche Gesundheit. In den letzten Jahren wurde ein Anstieg hormonell («endokrin») wirksamer Substanzen in der Umwelt beobachtet. Über das Abwasser beispielsweise gelangen diese Stoffe in die Kläranlagen, wo sie selbst in den biologischen Stufen nicht oder nicht effektiv abgebaut werden. Sogar in Trinkwasser wurden sie nachgewiesen. Endokrin wirksame Substanzen greifen in das Hormonsystem von Mensch und Tier ein und können zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen führen, insbesondere zu Störungen der Fortpflanzungsfähigkeit.

Am Fraunhofer IGB verfolgen wir daher den Ansatz, selektive Adsorber für die Entfernung endokrin wirksamer Substanzen herzustellen. Zu diesen Verbindungen gehören unter anderem Alkylphenole in Industriewaschmitteln und Shampoos, polychlorierte Biphenyle (PCB) in Dichtungsmassen und Hydrauliköl, Bisphenol A, welches vor allem in der Kunststoffindustrie in

großen Mengen eingesetzt wird. Bisphenol A (BPA) zeigt eine östrogene Wirkung. Es wurde bereits im Klärschlamm kommunaler deutscher Kläranlagen, in Deponiesickerwasser und auch im Trinkwasser nachgewiesen. Am Fraunhofer IGB entwickeln wir nano- und mikrostrukturierte NanoMIPs beispielhaft gegen den weit verbreiteten Stoff Bisphenol A. In einem von der Europäischen Union geförderten Projekt, welches in Zusammenarbeit mit der Universität Stuttgart bearbeitet wird, konnten wir an Modelllösungen die Spezifität der molekular geprägten Polymere nachweisen.





### Synthetische Adsorber zur Gewinnung wertvoller Minorkomponenten

Die effiziente und vollständige Nutzung pflanzlicher Rohstoffe ist aus ökologischer wie auch aus ökonomischer Sicht sinnvoll. Pflanzen, die zur Biodieselherstellung genutzt werden wie beispielsweise Raps, werden heute bereits im großen Maßstab angebaut. Rapsöl enthält neben den für die Biodieselherstellung genutzten Triglyceriden – wie andere Pflanzenöle auch – jedoch weitere wertvolle Bestandteile. Zur spezifischen Adsorption dieser Minorkomponenten können vorteilhaft molekular geprägte Materialien eingesetzt werden. Am Fraunhofer IGB verfolgen wir den Ansatz, selektive Adsorber für die Gewinnung von alpha-Tocopherol (Vitamin E) aus Pflanzenölen herzustellen. Ziel ist es, das wertvolle alpha-Tocopherol zu extrahieren, bevor die Pflanzenöle zu Biodiesel weiterverarbeitet werden. Hiermit soll eine neue Wertschöpfungsmöglichkeit für kleine und mittelständische Unternehmen erschlossen werden, zu deren Kerngeschäft die Produktion von Phytoextrakten zählt.

### Künstliche Insulin-Rezeptoren

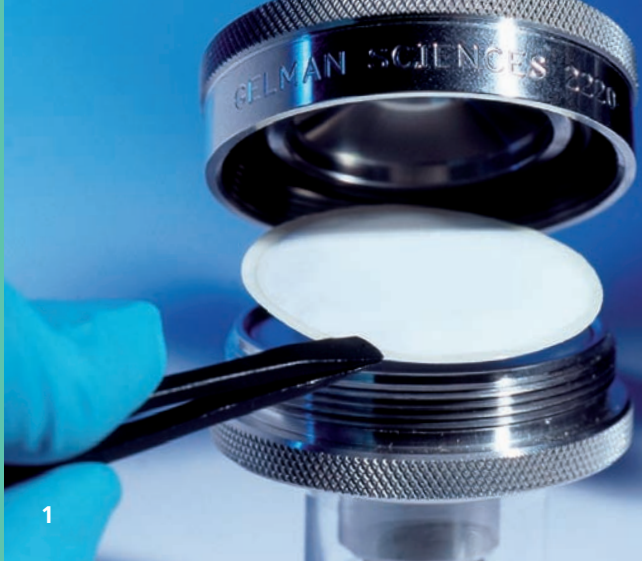
Die Behandlung chronischer Erkrankungen erfordert hochwirksame Medikamente mit minimalen Nebenwirkungen. Das Peptidhormon Insulin nimmt bei der Therapie von Diabetes-Erkrankungen eine Schlüsselrolle ein. Da die Zahl der Erkrankungen an Diabetes mellitus stetig steigt, müssen auch zunehmend größere Mengen an Insulin produziert werden. Insulin wird heutzutage großtechnisch mit rekombinanten Mikroorganismen hergestellt. Um die Eiweißmoleküle als Wirkstoffe

nutzen zu können, müssen sie in einem vielstufigen Verfahren zeit- und kostenaufwendig aufgereinigt werden. Bis zu 50 Prozent der Herstellungskosten von Protein-Therapeutika entstehen durch komplexe Aufreinigungsprozesse.

Mit Hilfe wirkungsvoller künstlicher Adsorber oder Rezeptoren, die das Insulin reversibel binden, könnte die Aufreinigung erheblich vereinfacht und dadurch wirtschaftlicher werden. Hierzu erforschen wir die Darstellung molekular geprägter Nanopartikel, die mit hoher Spezifität und Selektivität Insulin binden könnten. Die Arbeiten sind Teil des Programms »Neue Materialien aus der Bionik« der Landesstiftung Baden-Württemberg. Bis zur Anwendbarkeit der künstlichen Rezeptoren bei der Aufreinigung während der Insulinproduktion mag es noch ein weiter Weg sein. Die derzeitigen hohen Kosten für die Insulinaufreinigung und der dringende Bedarf an Insulin – im Jahre 2007 brachte der Insulinmarkt einen Weltumsatz von 5 Mrd. US \$ – motiviert unsere Forschung nachhaltig.

**1** Peptidsequenzen werden geprägt und erzeugen proteinspezifische Bindestellen.

**2** 3-D-Struktur von Insulin. Hervorgehoben wurde die für die Prägung eingesetzte Peptidsequenz aus dem N-Terminus der B-Kette.



# MOLEKULAR GEPRÄGTE NANOPARTIKEL IN DER TECHNISCHEN ANWENDUNG

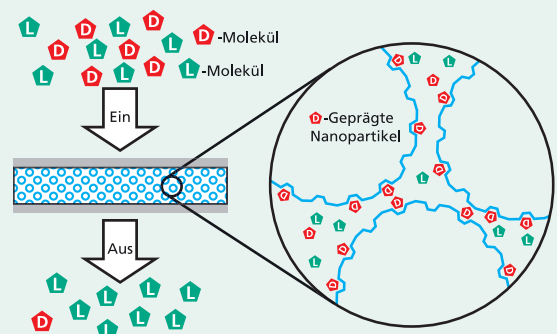
Die mit unserer NANOCYTES®-Technologie erzeugten nanostrukturierten Materialien sind in vielfältigen Verarbeitungsstufen einsetzbar: Als Kolloid oder Suspension in einer Flüssigphase dispergiert, als Schicht in einer Kompositmembran oder als ultradünne Matrix auf optischen Sensoren oder Chipoberflächen. Zudem können NanoMIPs mit magnetisierbaren Kernen ausgestattet werden, so dass wertstoffbeladene Partikel leicht mittels Magnetabscheidern abgetrennt werden können. Mit unserer Technologie machen wir Nanopartikel für den technischen Einsatz als spezifische Adsorber in einer Reihe von Anwendungen verfügbar.

## Stoffselektive Nanopartikel-Kompositmembranen

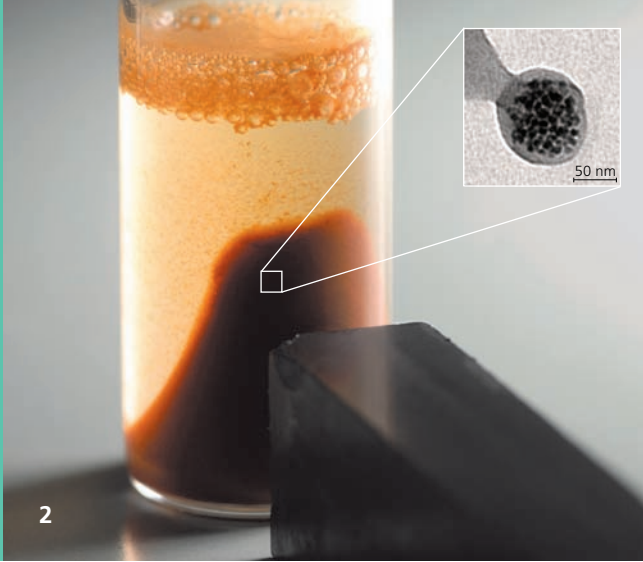
Am Fraunhofer IGB haben wir eine Kompositmembran für hochselektive Trennprozesse entwickelt. Hierbei fungieren molekular geprägte Nanopartikel mit ihrer großen spezifischen Oberfläche als effektive Selektoren. Diese Sandwich-Kompositmembranen bestehen aus Träger- und Deckmembranen und dem selektiven Herzstück, einer Schicht aus molekular geprägten Polymernanopartikeln. In der Membran werden durch Schichtdicke und Füllgrad die Trennkapazität und die Flusseigenschaften eingestellt. Entscheidende Vorteile unseres modularen Ansatzes sind die einfache Herstellung der Kompositmembran, die exzellente chemische Qualität der Selektoren sowie die extrem hohe Oberflächendichte der Prägestellen.

Die Membranen werden quasi-kontinuierlich oder im Kreislauf betrieben. Anschließend können die gebundenen Stoffe mittels entsprechender Verfahrensschritte mit einem getrennten Stoffstrom zurückgewonnen werden. Die sehr hohe spezifische Oberfläche dieses Systems von ca. 80 m<sup>2</sup> je g Partikel ermöglicht auch bei mikroskopisch dünnen Schichten hohe Trennleistungen. Durch Modellierung des gesamten Trennprozesses können wir neben der kontrollierten Herstellung auch eine maßgeschneiderte Konzeption selektiver Trennmembranen realisieren.

### Schematischer Aufbau und Funktionsweise einer stoffselektiven Kompositmembran mit molekular geprägten Polymernanopartikeln als Selektoren.







### Selektive ultradünne Partikelschichten

Die nanostrukturierten Polymerpartikel können für diagnostische und analytische Anwendungen als ultradünne Matrix – beispielsweise mit Print- oder Maskentechniken – auf unterschiedliche Trägermaterialien (Glas, Silizium, Polymere) aufgebracht werden. Derartige mikrostrukturierte Nanopartikel-Schichten bilden dreidimensionale Reaktionsräume für die Anbindung von Analytmolekülen mit einer vielfach größeren Oberfläche als der belegten Grundfläche. Eine stabile Anbindung der Partikel an das Substrat wird über eine haftungsvermittelnde Polyelektrolytschicht oder über kovalente Bindungen gewährleistet. Die Bindekapazität der Schichten wird über die Packungsdichte der Partikelfilme eingestellt.

### Molekular geprägte Hybridnanopartikel

Zur Erweiterung des technischen Anwendungsspektrums unserer selektiven Adsorber verfolgen wir am Fraunhofer IGB ein weiteres Konzept. Molekular geprägte Nanopartikel werden beispielsweise mit magnetisierbaren Kernen ausgestattet, um sie im Aufreinigungs- bzw. Trennprozess – mit dem gebundenen Zielmolekül – über einen Magnetabscheider aus einer Mischung entfernen zu können. Die Herstellung der selektiven Hybridnanopartikel erfolgt über eine Polymerisation in Anwesenheit von Magnetitpartikeln ( $\varnothing$  5-10 nm) im Mehrfachemulsionsverfahren.

**1** *Edelstahlmodul mit integrierter Kompositmembran für den Einsatz der Membranen in neuen Trennprozessen.*

**2** *Nanopartikel mit Polymer-schale und magnetisierbarem Kern (Magnetit), welche durch einen Magneten (rechts) angezogen werden.*

**3** *Nanopartikel-Mikroarray auf einem Silizium-Chip.*

## VORTEILE DER NANOCYTES®-TECHNOLOGIE

Die patentierte proprietäre Fraunhofer-Technologie ermöglicht, bisherige Schwachpunkte des molekularen Prägens wie mangelnde Kontrolle über Morphologie und chemische Zusammensetzung des erzeugten Materials zu beheben. Durch das angewandte Verfahren wird der Prägeprozess an der Polymeroberfläche deutlich besser kontrolliert. Zudem wird das molekulare Prägen in wässrigen Systemen ermöglicht, welches die Voraussetzung für das Prägen von biologischen Makromolekülen ist.

Mit der NANOCYTES®-Technologie werden künstliche, nanostrukturierte Rezeptoren erzeugt, die für Anwendungen in Diagnostik, Sensorik und Downstream Processing prädestiniert sind. Die molekular geprägten Polymernanomonolithe können, beispielsweise mit magnetisierbaren Kernen oder Farbstoffen, je nach kundenspezifischer Anforderung modifiziert werden.

### Vorteile der NanoMIPs

- Hohe Bindekapazität
- Hohe Selektivität
- Hohe chemische und thermische Stabilität
- Regenerierbarkeit und Wiederverwertbarkeit
- Kosteneffizientes Herstellungsverfahren

1 Rasterkraftmikroskopische Aufnahme molekular geprägter Nanopartikel.

## Unsere Leistungen im Überblick

- Entwicklung und Synthese molekular geprägter Nanopartikel
- Durchführung von Machbarkeitsstudien
- Oberflächenbeschichtungen mit Nanopartikeln
- Konzeption und Herstellung selektiver Kompositmembranen
- Charakterisierung der Trenneigenschaften
- Entwicklung von Hybridmaterialien

## Besondere Laborausstattung

- MALDI TOF/TOF-Massenspektrometer (Bruker Ultraflex II)
- Thermogravimetrische Analyse (TGA) und Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)
- Simultane Thermoanalyse (STA)
- Gelpermeationschromatographie (GPC) mit 4 Detektoren
- Mikroelektrophorese (Zetapotential)
- Dynamische Lichtstreuung (DLS, Nanosizer, Messbereich: 0,1 nm bis 10 µm)
- Statische Lichtstreuung (SLS, Mastersizer, Messbereich: 50 nm bis 2 mm)
- Ellipsometrie
- Mikroskopie, Rasterelektronenmikroskopie (REM), Rasterkraftmikroskopie (AFM)
- Photoelektronenspektroskopie (ESCA)
- Nano-Sprühtrockner zur Formulierung von Partikeln
- Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie (HPLC)
- Titrationsmikrokalorimetrie

### Kontakt

**Dr. Achim Weber**

Telefon +49 711 970-4022

achim.weber@igb.fraunhofer.de

**Priv.-Doz. Dr. Günter Tovar**

Telefon +49 711 970-4109

guenter.tovar@igb.fraunhofer.de

**Fraunhofer-Institut für  
Grenzflächen- und  
Bioverfahrenstechnik IGB**

Nobelstraße 12  
70569 Stuttgart  
Telefon +49 711 970-4401  
Fax +49 711 970-4200  
info@igb.fraunhofer.de

**Institut für Grenzflächen-  
verfahrenstechnik IGVT  
Universität Stuttgart**

Nobelstraße 12  
70569 Stuttgart  
Telefon +49 711 970-4401  
Fax +49 711 970-4006

**Institutsleiter IGB und IGVT**

Prof. Dr. Thomas Hirth  
Telefon +49 711 970-4400  
thomas.hirth@igb.fraunhofer.de

[www.igb.fraunhofer.de](http://www.igb.fraunhofer.de)  
[www.uni-stuttgart.de/igvt](http://www.uni-stuttgart.de/igvt)

**Fraunhofer IGB Kurzprofil**

Das Fraunhofer IGB entwickelt und optimiert Verfahren und Produkte für die Geschäftsfelder Medizin, Pharmazie, Chemie, Umwelt und Energie. Wir verbinden höchste wissenschaftliche Qualität mit professionellem Know-how in den Kompetenzfeldern Grenzflächentechnologie und Materialwissenschaft, Molekulare Biotechnologie, Physikalische Prozesstechnik, Umweltbiotechnologie und Bioverfahrenstechnik sowie Zellsysteme – stets mit Blick auf Wirtschaftlichkeit und Nachhaltigkeit. Komplettlösungen vom Labor- bis zum Pilotmaßstab gehören dabei zu den Stärken des Instituts. Kunden profitieren auch vom konstruktiven Zusammenspiel der verschiedenen Disziplinen am IGB, das in Bereichen wie Medizintechnik, Nanotechnologie, industrieller Biotechnologie oder Abwasserreinigung neue Ansätze eröffnet. Mit mehr als 80 Forschungseinrichtungen in Deutschland ist die Fraunhofer-Gesellschaft Europas führende Organisation für anwendungsorientierte Forschung.

[www.igb.fraunhofer.de](http://www.igb.fraunhofer.de)

**Gebündelte Kompetenz durch Vernetzung**

Das Fraunhofer IGB arbeitet eng mit dem Institut für Grenzflächenverfahrenstechnik IGVT der Universität Stuttgart zusammen. Dies ermöglicht die Durchgängigkeit der Projekte von der Grundlagenforschung bis zur Anwendung. Das Fraunhofer IGB ist ebenso aktiv in der Fraunhofer-Allianz Nanotechnologie engagiert, dessen Leitthemen auch Schwerpunkte am IGB sind: NANOCYTES®-Technologie – Design spezieller Nanopartikel als Trägersubstanzen für Biotechnik und Medizin – sowie der Einsatz von Carbon Nanotubes für aktorische Anwendungen bis hin zu multifunktionellen Schichten für den Automobilbereich.

[www.nano.fraunhofer.de](http://www.nano.fraunhofer.de)