

Biokompatible Katalysatoren für die ringöffnende Polymerisation und Herstellung bioabbaubarer Implantatstrukturen

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
Doktor der Naturwissenschaften
der Technischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau

vorgelegt von
Cordula Hege
(Dipl. Chem.)

Freiburg
18. Mai 2016

Dekan der technischen Fakultät: Prof. Dr. Georg Lausen
Betreuer: Prof. Dr. Jürgen Rühle
Cobetreuer: Dr. Stefan Schiller
Kooperationspartner: Fraunhofer IOSB

Die Arbeiten wurden in der Zeit von Juli 2009 bis 2014 unter der Leitung von Prof. Dr. Jürgen Rühle und Dr. Stefan Schiller am Freiburg Institute for Advanced Studies (FRIAS) und sowie dem Institut für Makromolekulare Chemie durchgeführt. 2015 wurden abschließende Untersuchungen am Fraunhofer IOSB in Ettlingen ausgeführt.

Beginn des Promotionsverfahrens:
Tag der mündlichen Prüfung:

Prüfungskommission

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
2	Grundlagen	10
2.1	Darstellung von Polylactonen und Polylactiden	10
2.1.1	Monomere und Eigenschaften der Polymere	10
2.1.2	Mechanismus der ringöffnende Polymerisation	13
2.1.3	Katalysatoren	18
2.2	Regenerative Medizin	26
2.2.1	Allgemeines zur regenerativen Medizin	26
2.2.2	Einführung und Grundbegriffe	28
2.2.3	Biokompatibilität	30
2.3	Herstellung poröser Polymerstrukturen	32
2.3.1	Methoden zur Herstellung poröser Strukturen	32
3	Ziel und Strategie	36
4	Neue Katalysatoren für die ringöffnende Polymerisation	42
4.1	Variationsmöglichkeiten der Reaktionsansätze	42
4.1.1	Polymerisationen bei 140°C oder höher	44
4.2	Variation der Reaktionsbedingungen	59
4.2.1	Lösungsmittelreaktionen	59
4.2.2	Genauere Untersuchung der Bulkreaktionen	69
4.2.3	Diskussion der Ergebnisse der Polymerisationsvariationen	80
4.3	Diskussion der Ergebnisse der Polymerisationen	83
4.3.1	Katalysatoren	83
4.3.2	Initiatoren	88
4.3.3	Abschließende Zusammenfassung	89
5	Scaffolds	91
5.1	Herstellung der porösen 3D-Scaffolds	91
5.2	Eigenschaften der Scaffolds	94
5.2.1	Bildanalyse der Poren	94
5.2.2	Porosität und Interkonnektivität der Scaffolds	104
5.2.3	Mechanische Eigenschaften	105
5.3	Degradation der Scaffolds	107
5.4	Zelluntersuchungen	111
5.4.1	2D-Untersuchungen: Zellkompatibilität	111
5.4.2	3D-Untersuchungen: Einwachsverhalten der Zellen	123
5.5	Zusammenfassung der Scaffoldergebnisse	127
6	Wachstumskammer	130
6.1	Grundlegendes über die Wachstumskammern	130

6.2	Mechanische Untersuchung der Wachstumskammern	132
6.3	Lagerungsversuche	140
6.4	Diskussion	141
7	Zusammenfassung	143
7.1	Ausblick	148
8	Material und Methoden	149
8.1	Chemikalien	149
8.2	Experimentelle Durchführung	152
8.2.1	Polymerisation	152
8.2.2	Funktionalisierungen	153
8.2.3	Herstellung von Filmen und Scaffolds	154
8.2.4	Wachstumskammer	158
	Veröffentlichungen	160
	Literatur	162
	Index	189
9	Danksagung	191
10	Anhang	193
10.1	Zusätzliche Informationen und Voruntersuchungen	193
10.1.1	Polymerisation mit Erdalkalikatalysatoren	193
10.1.2	Polymerisation mit Eisenkatalysatoren bei RT	196
10.1.3	Polymerisation mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat	197
10.1.4	Enzympolymerisation	199
10.1.5	UV-VIS-Untersuchung des Eisen-Allylphenolkomplexes	202

1 Einleitung

Kunststoffe sind kostengünstige, leichte Werkstoffe, welche einfach an ihre jeweiligen Einsatzgebiete angepasst werden können [1]. Zusätzlich sind sie haltbar, korrosionsbeständig, reproduzierbar und gute thermische und elektrische Isolatoren [2, 3]. Ihre positiven Eigenschaften führen dazu, dass allein im Jahr 2013 knapp 300 Megatonnen Kunststoffe weltweit produziert wurden, davon 57 M Tonnen in Europa [4].

Die lange Haltbarkeit des Plastiks sorgt jedoch für große Probleme (siehe Abbildung 1). Wenn es nicht ordnungsgemäß entsorgt wird, führt es nicht nur zur optischen Verschmutzung der Umwelt, sondern auch zu einer Gefährdung des Wildlebens [5]. Auch im Meer steigt die Verschmutzung [6]. Bei im Meer befindlichem Kunststoff geht man von einer Verlängerung der Materiallebensdauer auf 100-1000 Jahre aus [7]. Der Grund dafür ist die salzige Umgebung, die Kälte und weniger Einwirkungsmöglichkeit von UV-Licht [7]. Im Kunststoffmüll können sich Lebewesen verfangen, besonders häufig aber werden Plastikteile mit Nahrung verwechselt. Da Plastik nicht verdaut werden kann, verhungern die Tiere mit vollem Magen. Oder am Kunststoff akkumulierte und/oder im Kunststoff enthaltene Zusatzstoffe wie Antioxidantien, Weichmacher oder Farbstoffe werden aufgenommen, gelangen somit in die Nahrungskette und letztlich zum Menschen [2, 8]. Um die Müllmenge zu verringern gibt es verschiedene Ansätze. So wurde zum Beispiel in Italien 2010 ein Gesetz erlassen, nach dem Einkaufstüten entweder wiederverwertbar oder aus bioabbaubaren Polymeren sein müssen [6]. Gänzlich auf Kunststoff als Verpackungsmaterial zu verzichten wäre jedoch nicht sinnvoll, weil andere Materialien ein deutlich größeres Gewicht und Volumen haben und damit zu höheren Energiekosten führen [9].

Eine Lösung des Müllproblems bietet die weitreichende Verwendung von in biologischer Umgebung abbaubaren Polymeren.

Die Definition der abbaubaren Polymere wurde von der Internationalen Organisation für Standardisierung (ISO) festgelegt, wobei sie vier Gruppen abbaubarer Polymere unterscheidet [10]:

- oxidativ abbaubare Polymere
- photoabbaubare Polymere
- hydrolytisch abbaubare Polymere
- bioabbaubare Polymere

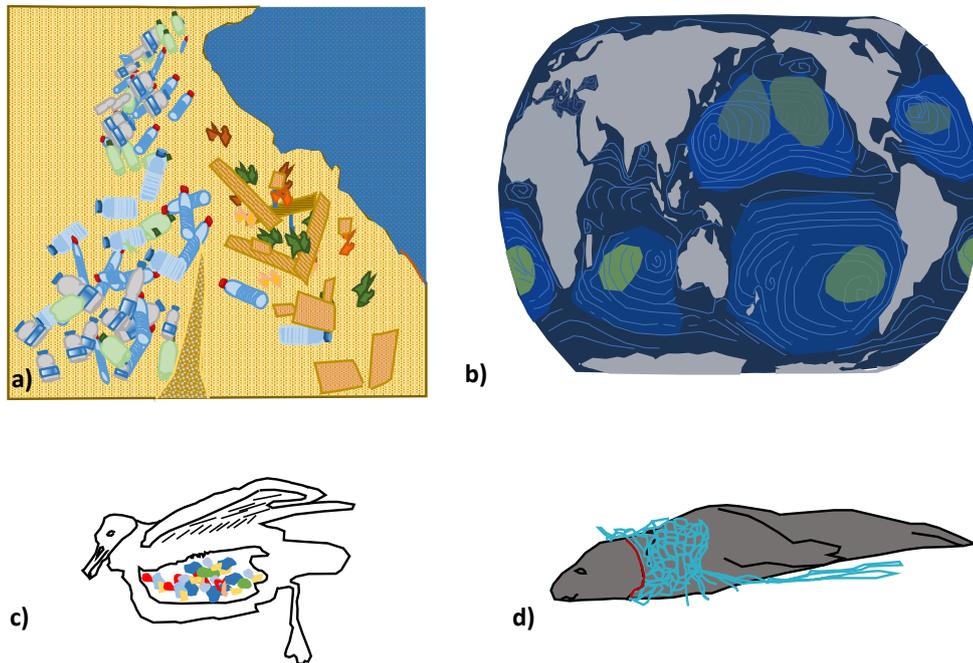


Abbildung 1: Die lange Haltbarkeit der normalen Kunststoffe verursacht viele Umweltprobleme. Auswirkungen sind vermüllte Strände (a), Müllinseln (grün dargestellt) im Meer (b), Verhun-
 gern durch Müll im Magen (c), Verletzung durch Plastikteile (d) [2, 7].

Im Fall der oxidativ abbaubaren Polymere werden oft Metallzusätze zugegeben, welche die Oxidation fördern, zum Beispiel Mn^{2+}/Mn^{3+} [11]. Mit deren Hilfe wird das Polymer durch freie Radikalkettenreaktionen abgebaut [11]. Oxidierte Polymere sind spröder und hydrophiler als nicht-oxidierte, was sie anfälliger für Biodegradation macht [12].

Es gibt verschiedene Möglichkeiten um Polymere photoabbaubar zu machen [11–13]. Zum einen kann man Zusatzstoffe wie Benzophenon zugeben, zum anderen kann man das Polymer modifizieren und die Anzahl an UV-absorbierenden Gruppen wie Carbonylgruppen erhöhen. Zusätzlich kann man neue Polymere mit lichtsensitiven Gruppen herstellen.

Die Art der Bindung bei hydrolytisch abbaubaren Polymeren hat einen Einfluss auf die Degradationsgeschwindigkeit. So werden Polyanhydride am schnellsten abgebaut, Polyorthoester etwas langsamer und Polyester noch etwas langsamer, bei den Polyamiden kann die Degradation sehr lange dauern [14].

Bioabbaubare Polymere werden durch Mikroorganismen wie Bakterien und Pilze vollständig in Kohlenstoffdioxid und Wasser umgewandelt. Dies kann unter aeroben oder auch unter anaeroben Bedingungen erfolgen [6]. In den meisten bioabbaubaren Polymeren ist das Polymerrückrat hydrolysierbar [15].

Um einsetzbar zu sein, sollten die bioabbaubare Polymere verschiedene Bedingungen erfüllen: gute Verarbeitbarkeit, ausreichende Lagerfähigkeit, nichttoxische Abbauprodukte und nicht zu hohe Kosten [16, 17]. Es gibt viele mögliche Anwendungen für die bioabbaubaren Polymere, wie in der Agrarkultur (als bioabbaubare Mulchfolien) oder bei Waldaufforstungen (als bioabbaubare Behälter für Setzlinge), für Toiletten- und Hygieneartikel [17]. Für den großflächigen Einsatz in der Verpackungsindustrie sind die Monomere aber noch zu teuer [18, 19]. Einige aliphatische Polymere wie Poly(DL-Lactid) lassen sich auch aus erneuerbaren Grundstoffen wie Mais herstellen. Wenn allerdings ein Großteil des Kunststoffbedarfes durch Poly(DL-Lactid) gedeckt werden soll, würde die Monomerherstellung in Konkurrenz zur Nahrungsmittelproduktion stehen [20].

Abgesehen von Alltagsprodukten eignen sich bioabbaubare Polymere besonders für den Einsatz in der Medizin [17]. In der Pharmazie werden sie als Wirkstoffträger genutzt, in der Chirurgie als chirurgische Fäden oder zur orthopädischen Fixierung. Ein wichtiges Einsatzgebiet der bioabbaubaren Polymere, wie der aliphatischen Polymere, ist die Geweberekonstruktion (Tissue engineering). Abbildung 2 zeigt die unterschiedlichen Verwendungsmöglichkeiten in der Medizin als Übersicht.

Die Geweberekonstruktion ist ein interdisziplinäres Gebiet an dem (Zell-)Biologen, (Bio-)Chemiker, Materialwissenschaftler, Ingenieure und Mediziner beteiligt sind [21]. Es geht darum Gewebe zu erhalten, zu rekonstruieren oder auch zu verbessern [22]. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit wäre die Herstellung von Modellsystemen, in denen man nach Strategien zur Behandlung von Organkrankheiten suchen kann [23]. Zur Geweberekonstruktion werden Zellvorläuferstrukturen (Scaffolds) benötigt, welche den Zellen physikalische und chemische Informationen über die Proliferation, Differenzierung und ihren Zusammenschluss zu dreidimensionalem Gewebe geben [23]. Die Scaffolds sind 3D-Strukturen, welche den Zellen den nötigen Halt geben und die Form des entstehenden Gewebes vorgeben [24]. Um das Zellwachstum und den Transport von Nährstoffen, Sauerstoff und den Abtransport von Verbrauchs- und Abbauprodukten gewährleisten zu können, müssen die Strukturen porös und interkonnektiert sein [25, 26].

Es gibt viele Möglichkeiten Scaffolds herzustellen, dies reicht von apparativ einfachen Methoden wie Phasentrennung, Porogen-Herauslösen über komplexere Methoden wie Elektrospinnung zu computer-unterstützten Drucktechniken wie der Stereolithografie [24, 27, 28].

Um Materialien im Körper einsetzen zu können, sollten sie möglichst biokompatibel sein. Dabei wird Biokompatibilität dadurch gekennzeichnet, dass der Körper eine angemessene Reaktion darauf zeigt. So darf eine akute, jedoch keine chronische Entzündung ausgelöst werden [29, 30]. Insbesondere sollte das Material weder kanzerogen, noch thrombogen noch immunogen sein [31].

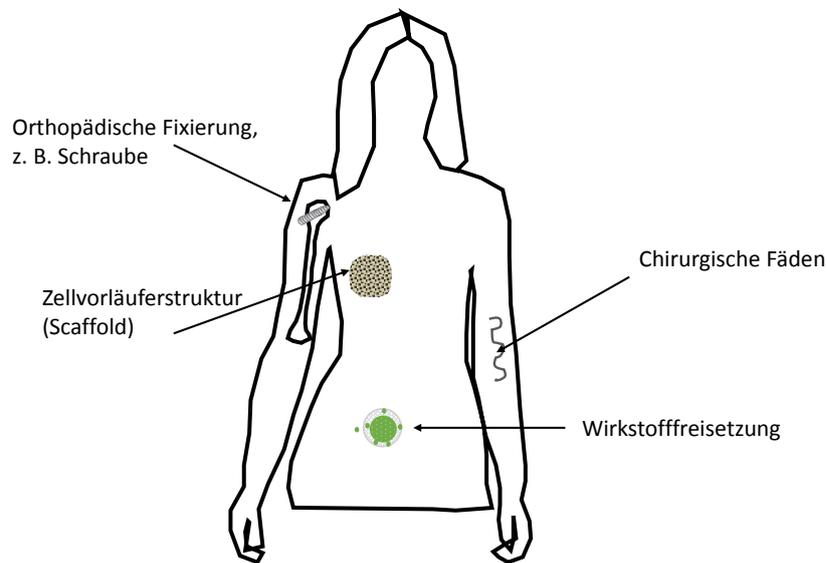


Abbildung 2: Übersicht über die verschiedenen Einsatzmöglichkeiten von bioabbaubaren Polymeren in der Medizin.

Problematisch an den bioabbaubaren Polymeren sind ihre im Vergleich zu anderen Polymeren hohe Temperatursensitivität und Hydrolyseempfindlichkeit, wodurch sie schlechter verarbeitbar werden [32]. Unter den aliphatischen Polyestern sind Poly(ϵ -Caprolacton), Poly(DL-Lactid) und Poly(Glycolid) die gängigsten Polymere für den medizinischen Einsatz und von der Food and Drug Administration (FDA) zum Einsatz im Körper zugelassen [33–35].

Die Polymere können entweder mittels Polykondensation oder ringöffnender Polymerisation hergestellt werden [36]. Im Fall der Polykondensation werden Polyester entweder durch die Kondensation von Diolen und Dicarbonsäuren oder durch die Selbstpolymerisation von Hydroxysäuren hergestellt [37]. Im Fall der ringöffnenden Polymerisation werden die Polymere aus ringförmigen Monomeren aufgebaut [36].

Es gibt fünf mögliche Mechanismen, nach denen die ringöffnende Polymerisation ablaufen kann: anionisch, kationisch, radikalisch, Koordination-Insertation und über die Aktivierung des Monomers [33].

Der Standardkatalysator für die ringöffnende Polymerisation von beispielsweise aliphatischen Polymeren ist Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Die Polymerisation mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat als Katalysator verläuft nach dem Koordination-Insertions-Mechanismus [33]. Abgesehen von Zinn(II)-2-ethylhexanoat werden noch einige andere Katalysatoren eingesetzt. Beispiele hierzu sind Alkali-, Erdalkali- und Übergangsmetalle [36]. Um Polymere für den medizinischen Bereich herzustellen, werden Katalystorsysteme mit im Körper vorhandenen Metallen, wie Natrium, Calcium und Eisen, bevorzugt [38–40]. Ohne Metalle kommen Enzyme und einige organische Katalysatoren aus [41, 42].

2 Grundlagen

2.1 Darstellung von Polylactonen und Polylactiden

2.1.1 Monomere und Eigenschaften der Polymere

In dieser Arbeit werden die Monomere Glycolid, DL-Lactid und ϵ -Caprolacton für die Herstellung bioabbaubarer Polymere durch die ringöffnende Polymerisation genutzt. Daraus hergestellte Polymere sind von der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) für den Einsatz im Menschen zugelassen [43].

Glycolid wird durch die Dimerisierung von Glycolsäure hergestellt [44]. Alternativ erhält man es durch die Eliminierung von Natriumchlorid aus Natrium-Monochloroacetat. Das so entstehende Glycolid hat nach Umkristallisation einen Schmelzpunkt von 83°C [45]. Glycolid ist sowohl reaktiver als auch hydrophiler als Lactid und ϵ -Caprolacton [44, 46–49]. Das Polymer Polyglycolid ist steif und hochkristallin (Kristallinität 44-55%), hat einen Schmelzpunkt von 220-225°C und seinen Glasübergang bei 36-40°C [50, 51]. Durch sein hohes Elastizitätsmodul (7 GPa) wird der Einsatz in lasttragenden Anwendungen wie zum Beispiel als orthopädische Fixierung, ermöglicht [51]. Innerhalb von 0,5-1 Monat kommt es jedoch zu einer Verringerung des Molekulargewichts, dem Verlust der mechanischen Eigenschaften und damit zum Strukturverlust. Massenverlust tritt innerhalb von 3-4 Monaten ein [24]. Im Körper wird Glycolid in 4-6 Monaten komplett absorbiert [44]. Die bei der Degradation entstehende Glycolsäure kann über den Urin ausgeschieden werden. Ein anderer Degradationsweg ist die letztendliche Umwandlung in Glycin, welches vom Körper als Synthesebaustein für Peptide und Proteine weiterverwendet wird [52, 53], siehe Abbildung 3.

Lactid kann aus jährlich erneuerbaren Rohstoffen wie Mais und Rüben hergestellt werden [19, 54]. Es besitzt zwei Stereozentren und kommt somit in drei verschiedenen Stereokonfigurationen vor: DD-Lactid, LL-Lactid und DL-Lactid [51, 55]. Die Eigenschaften des daraus hergestellten Polymers hängen vom Stereotyp des gewählten Monomers ab [51]. So ist das Polymer aus DD-Lactid oder LL-Lactid semikristallin, mit einer Kristallinität von 37%, und hart, mit einem Elastizitätsmodul von 2,7 GPa. Sein Schmelzpunkt liegt bei 180°C, sein Glasübergang bei 60-65°C [51]. Dagegen ist das Polymer aus DL-Lactid oder einer racemischen Mischung von DD-Lactid und LL-Lactid amorph, und der Glasübergang liegt bei 55-60°C. Poly(DL-Lactid)-Granulate können für verschiedene Herstellungsverfahren, wie Spritzguss und Filmbildung speziell hergestellt werden, dafür müssen verschiedene Eigenschaften, wie das Molekulargewicht und der Anteil an D-Isomer kontrolliert werden [19]. So darf beispielsweise um das für den Spritzguss notwendige schnelle Kristallisieren zu ermöglichen weniger als 1% D-Isomer enthalten sein [19]. Der Stereotyp hat auch einen Einfluss auf die Degradation der Polymere.

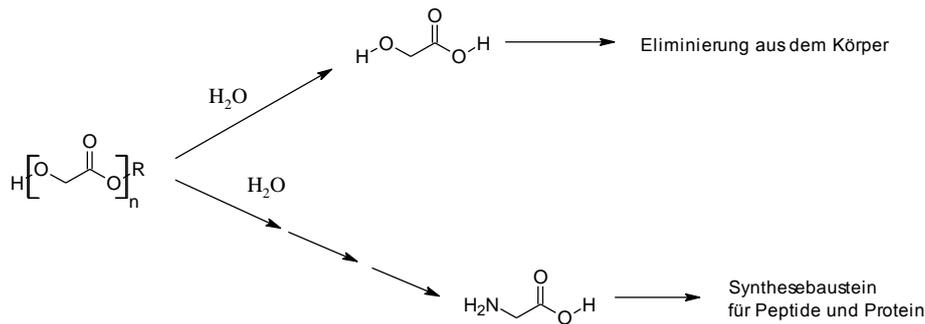


Abbildung 3: Poly(Glycolid) wird *in vivo* entweder in Glycolsäure umgewandelt, welches über den Urin ausgeschieden wird, oder in Glycin, welches als Synthesebaustein für Proteine und Peptide dient [52, 53].

So benötigt das Polymer aus DD-Lactid oder LL-Lactid aufgrund der Kristallinität 2 Jahre zur Degradation [51]. Die Degradation hängt mit dem Molekulargewicht zusammen, z.B. wird Poly(DL-Lactid) mit einem Molekulargewicht von $14 \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ innerhalb von 7 Monaten und Poly(DL-Lactid) mit $49 \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ innerhalb von 15 Monaten resorbiert [56]. Seine mechanische Stärke verliert Poly(DL-Lactid) nach 1-2 Monaten [57]. Die Degradation der Polymere wird stark durch die Umgebung, in welcher der Abbau stattfindet, beeinflusst und verläuft *in vivo* schneller als *in vitro* [58]. Bei der Degradation von Polylactid im Körper entsteht Milchsäure, welche im Citratzyklus verstoffwechselt und schließlich als Kohlenstoffdioxid und Wasser ausgeschieden wird [51–53], beziehungsweise ausgeatmet wird [52], siehe Abbildung 4.

ϵ -Caprolacton ist ein relativ günstiges zyklisches Monomer, aus dem mittels ring-öffnender Polymerisation Poly(ϵ -Caprolacton) hergestellt wird [11]. Es kann industriell durch die Oxidation von Cyclohexanon mittels Peroxyessigsäure hergestellt werden und entsteht in einigen Mikroorganismen bei der Oxidation von Cyclohexanol zu Adipinsäure [36, 59]. Poly(ϵ -Caprolacton) ist in vielen organischen Lösungsmitteln gut löslich und mit vielen Polymeren, wie Poly(vinylchlorid), mischbar [36]. Der Glasübergang liegt bei -60°C und der Schmelzpunkt bei 61°C , Poly(ϵ -Caprolacton) kann bis zu 700% gedehnt werden, bis es reißt [11, 51]. Poly(ϵ -Caprolacton) wird zum Beispiel zur Wirkstoffverkapselung für langandauernde Abgabe genutzt, da seine Degradationszeit relativ lang ist und Poly(ϵ -Caprolacton) für Moleküle mit niedrigem Molekulargewicht bei Raumtemperatur durchlässig ist [51, 60]. Im Körper benötigt Poly(ϵ -Caprolacton) 3 Jahre, bis es vollständig abgebaut ist [61]. Im Boden verkürzt sich die Degradationszeit von Poly(ϵ -Caprolacton) deutlich.

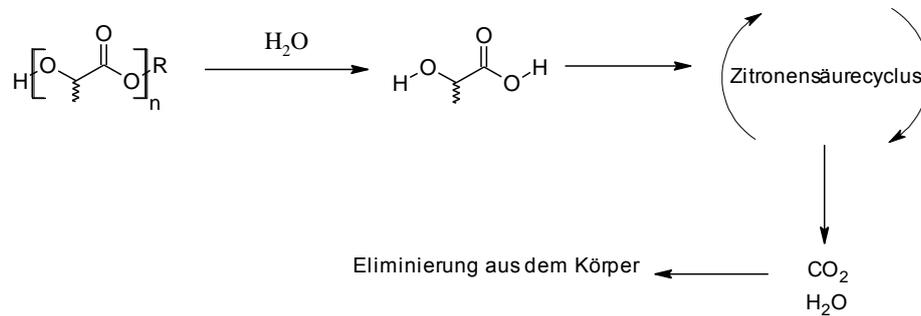


Abbildung 4: Degradation von Poly(DL-Lactid) *in vivo*.

Bei Eingravingsversuchen wurde bis zu 95% Gewichtsverlust nach einem Jahr festgestellt [62]. Dieser Unterschied in den Degradationszeiten dürfte daran liegen, dass Poly(ϵ -Caprolacton) im Boden von verschiedenen Mikroorganismen, wie Pilzen und Bakterien, enzymatisch abgebaut werden kann [62]. Im Körper, dagegen gibt es hierzu keine passenden Enzyme, sodass Poly(ϵ -Caprolacton) hydrolytisch abgebaut werden muss [31]. Poly(ϵ -Caprolacton) wird zu Hydroxycarbonsäure abgebaut, diese wird teilweise im Citratzyklus als Synthesebaustein weiterverwendet und schließlich vom Körper eliminiert, siehe Abbildung 5 [35, 63]

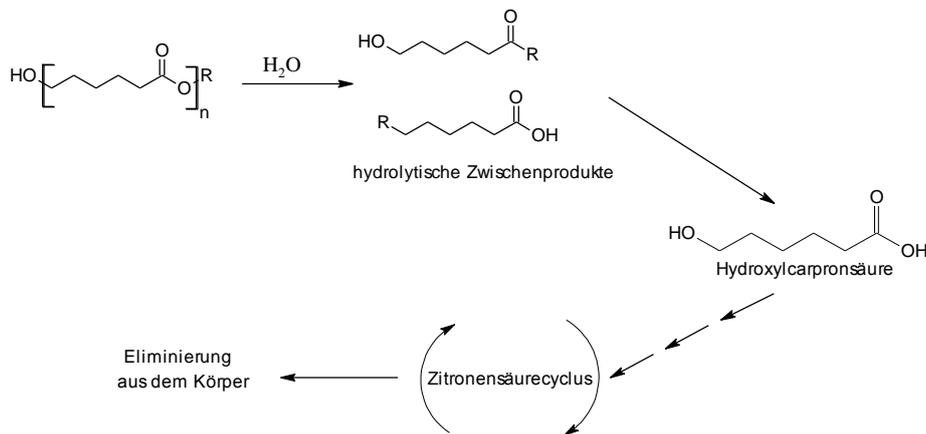


Abbildung 5: Degradation von Poly(ϵ -Caprolacton) *in vivo*.

Allgemein geschieht die Degradation der Polyester zunächst durch zufällige hydrolytische Spaltung der Estergruppen [64]. Im weiteren Verlauf kommt es zur Beschleunigung der Degradation durch Autokatalyse, wofür die sauren Abbauprodukte verantwortlich sind [64].

2.1.2 Mechanismus der ringöffnende Polymerisation

Damit eine Reaktion wie eine Polymerisation stattfinden kann, muss sie energetisch günstig sein, das heißt die freie Energie ΔG muss negativ sein [65], siehe Formel (1).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

ΔG Änderung der freien Energie

ΔH Änderung der Enthalpie

ΔS Änderung der Entropie

Die Entropieänderung ist relativ unabhängig von der Ringgröße, da sie überwiegend von dem Verlust der Translationsentropie durch die starke Verringerung der Molekülanzahl in Folge der Polymerisation bestimmt wird [66]. Somit trägt bei mittelgroßen Ringen die Entropieänderung wenig zur Polymerisierbarkeit bei. Folglich muss die Enthalpieänderung negativ werden [65, 67], dazu trägt vor allem die Ringspannung bei [65, 67]. Somit ist die Haupttriebkraft für die ringöffnende Polymerisation die Ringspannung der Monomere [68]. Zur Ringspannung tragen verschiedene Faktoren bei, wie der Bindungswinkel, Anordnung von Substituenten und transannulare Wechselwirkungen [69–71].

Die Bindungswinkel führen unter anderem zu Spannungen, wenn die sp^3 -hybridisierten Kohlenstoffatome einen anderen Bindungswinkel als den bevorzugten Bindungswinkel $109,3^\circ$ einnehmen müssen [70]. Die Abweichung des realen Bindungswinkels vom idealen Bindungswinkel ist je nach Ringgröße unterschiedlich stark, zum Beispiel beträgt sie bei Dreiringen 60° , bei Fünfringen $1,5^\circ$ und bei Sechsringen $10,5^\circ$ [70]. Somit können Dreiringe deutlich leichter geöffnet werden als Fünf- oder Sechsringe.

Einen weiteren Anteil an der Ringspannung hat die Anordnung der Wasserstoffatome oder auch Substituenten [70]. Es ist energetisch günstiger, wenn benachbarte Wasserstoffatome versetzt zueinander stehen, als wenn sie direkt hintereinander stehen [70]. Sechsringe können Konformationen einnehmen (Sessel- und Bootkonformation), in welchen alle Wasserstoffatome versetzt zueinander stehen. Diese Konformationen sind somit spannungsfrei [70]. Dagegen sind bei Fünfringen immer einige Wasserstoffatome verdeckend angeordnet und somit sind alle vom Fünfring einnehmbare Konformationen, auch die energetisch günstigsten Briefumschlagkonformationen (engl. envelope conformation), energetisch ungünstiger als die Sechsringkonformationen [70].

Aufgrund dessen besitzen die Fünfringe trotz geringerer Abweichung vom bevorzugten Bindungswinkel eine höhere Ringspannung als Sechsringe [70].

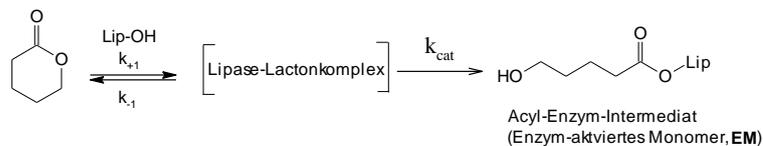
Die Carbonylgruppe der Lactone und Lactide ist sp^2 -hybridisiert, benötigt einen Bindungswinkel von 120° und ist somit flach, was zur Ringspannung führt [71, 72]. In Sechsringen, in welchen die Carbonylgruppe den gewünschten Bindungswinkel von 120° hat, ändert eine einzelne Carbonylgruppe kaum etwas an den möglichen Konformationen, zwei Carbonylgruppen führen jedoch zu einer Verringerung [73]. Hinzu kommt, dass der Ester nicht in cis-Konformation zur Carbonylgruppe stehen kann, sondern nur trans. Dies ist elektronisch ungünstiger, weil nur in der cis-Konformation beide freien Elektronenpaare die Carbonylgruppe stabilisieren können, in trans-Konformation nur eine [74]. Folglich sind die cyclischen Ester reaktiver als die aliphatischen [74]. Im Fall der großen Ringe ist die Ringspannung zu gering, um zu einer negativen Enthalpieänderung zu führen [41, 67]. Um die Polymerisation dennoch zu ermöglichen muss die Entropieänderung positiv sein, dies ist bei großen Ringen der Fall [65, 67]. Somit ist bei großen Ringen die Haupttriebkraft der Polymerisation die Entropie [75].

Eine Erhöhung der Polymerisationstemperatur führt üblicherweise zu einer Erhöhung des (Gleichgewichts)Molekulargewichts [76].

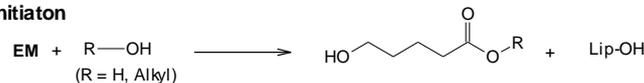
Die ringöffnende Polymerisation kann nach fünf verschiedenen Mechanismen ablaufen:

- Monomer-aktiviert
- Koordination-Insertation
- anionisch
- kationisch
- radikalisch

Acylierung des Enzyms



Initiation



Propagation



Abbildung 6: Mechanismus der enzymkatalysierten ringöffnende Polymerisation [77].

Die Enzyme katalysieren mittels des **Monomer-aktivierten Mechanismus**. Die Reaktion verläuft über ein Acyl-Enzym-Zwischenprodukt (EM), welches durch den nukleophilen Angriff eines Serins im katalytischen Zentrum des Enzyms entsteht (siehe Abbildung 6) [78]. Im Initiationsschritt wird Alkohol oder Wasser benötigt, um den Acylkohlenstoff des Zwischenprodukts nukleophil anzugreifen [79]. Es entsteht eine ω -Hydroxycarbonsäure, welche im Propagationsschritt das aktivierte Monomer (EM) angreift [79]. Im weiteren Verlauf greift jeweils das wachsende Polymer das aktivierte Monomer an [79].

Nach dem **Koordinations-Insertationsmechanismus** reagieren die Katalysatoren unter Nutzung von freien p , d oder f -Orbitalen der Metalle [80]. Auch der Standardkatalysator für die ringöffnende Polymerisation Zinn(II)-2-ethylhexanoat [81] wirkt nach diesem Mechanismus. Dabei wird der Katalysator über das Metallatom an das Lacton koordiniert (siehe Abbildung 7). Ein sauerstoffhaltiger Ligand des Katalysators koordiniert das Carbonylkohlenstoffatom des Monomers. Im nächsten Schritt wird das Metallatom an den Carbonylsauerstoff gebunden und koordiniert das sich im Ring befindende Sauerstoffatom. Die Carbonylgruppe regeneriert sich durch Öffnen des Rings und der Metallrest bindet an den zuvor koordinierten Sauerstoff. Diese Struktur kann weitere Lactone koordinieren und so zur Polymerisation führen. Der Koordinations-Insertationsmechanismus wird zur Polymerherstellung bevorzugt, weil Polymere mit kontrolliertem Molekulargewicht, Stereokontrolle und gut definierten Endgruppen hergestellt werden können [51, 81].

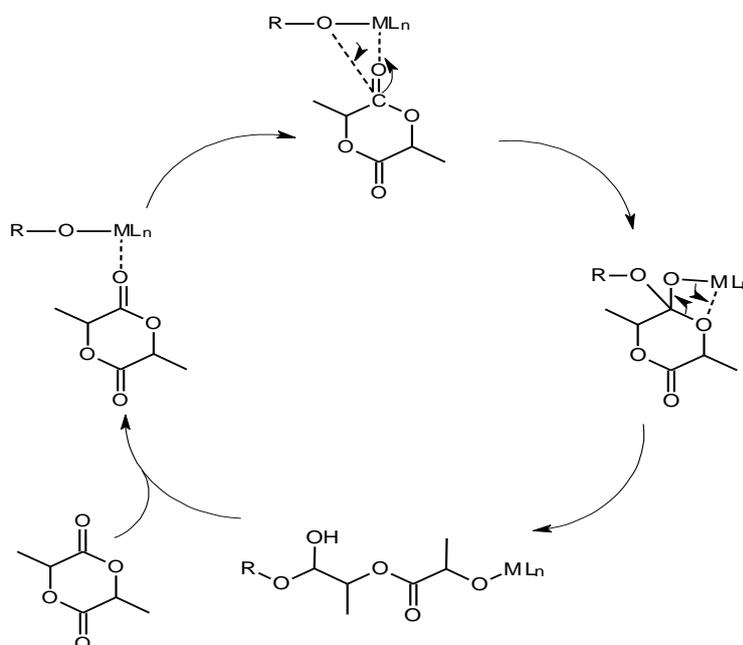


Abbildung 7: Koordinations-Insertationsmechanismus der ringöffnenden Polymerisation. Nach diesem Mechanismus katalysiert zum Beispiel Zinn(II)-2-ethylhexanoat [82].

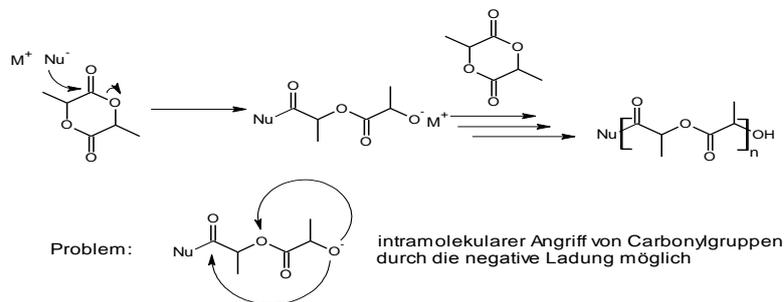


Abbildung 8: Mechanismus der anionischen ringöffnende Polymerisation. M^+ ist häufig ein Alkalimetall. Ein Problem ist, dass der negative Sauerstoff, abgesehen von anderen Monomeren, auch Carbonylgruppen innerhalb der Kette angreifen kann.

Im Fall der **anionischen ringöffnenden Polymerisation** wird das Monomer von einem Nukleophil geöffnet und der geöffnete Ring kann weitere Ringe öffnen (siehe Abbildung 8). Nach diesem Mechanismus katalysieren Katalysatoren, welche Alkalimetalle als Metall und als Gegenion ein Nukleophil enthalten, weil Alkalimetalle keine freien p -, d - oder f -Orbitale zur Koordination des Monomers besitzen [80, 83]. Als Nebenreaktion kann der negativ geladene Sauerstoff die Carbonylgruppen innerhalb des Polymers angreifen (engl. backbiting). Dies führt zu niedrigerem Molekulargewicht und höherer Polydispersität. Anionische Katalysatoren besitzen häufig eine hohe Aktivität, jedoch kann es zu Umesterungen kommen, wodurch das Molekulargewicht reduziert wird [84, 85].

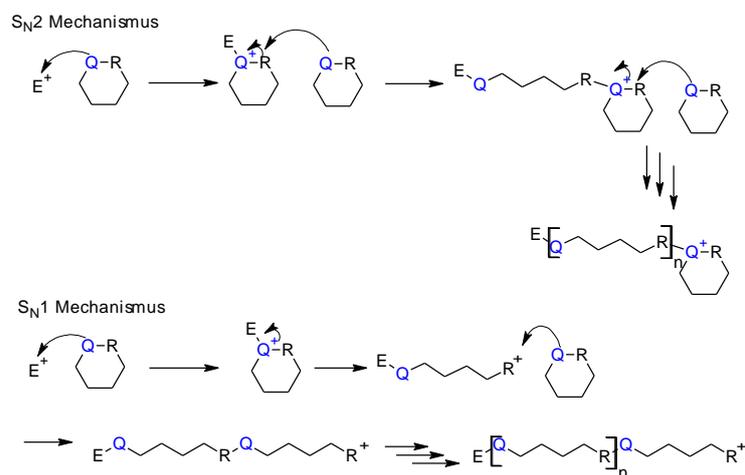


Abbildung 9: Mechanismen der kationischen ringöffnende Polymerisation [86].

Bei der **kationischen ringöffnende Polymerisation** werden Elektrophile als Katalysatoren eingesetzt [86, 87]. Die Reaktion kann über zwei verschiedene Wege ablaufen: zum einen mittels einem S_N1 -Mechanismus, zum anderen über einen S_N2 -Mechanismus [86]. Um mittels der kationischen ringöffnenden Polymerisation polymerisieren zu können, muss das Monomer polarisierbare Bindungen besitzen, welche in Abbildung 9 durch Q und R repräsentiert sind. Q benötigt ein freies Elektronenpaar, um mit den Elektrophilen reagieren zu können. Durch die Addition des Elektrophils wird Q positiv geladen. In dem einen Fall wird die kationische Spezies von einem anderen Monomer angegriffen und es kommt so zur Ringöffnung (S_N2), im anderen kommt es zur spontanen Ringöffnung und die aliphatische Spezies wird von einem weiterem Monomer angegriffen (S_N1). Welcher Mechanismus bevorzugt wird, wird von der Stabilität des R^+ -Kations bestimmt, hohe Stabilität führt zu einer Bevorzugung des S_N1 -Mechanismusses [86].

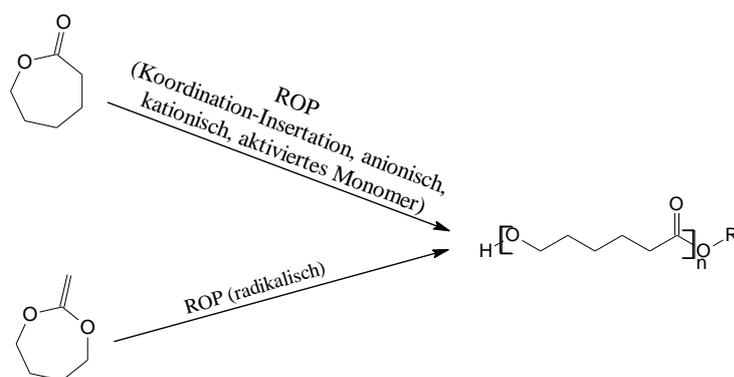


Abbildung 10: Im Gegensatz zur ringöffnende Polymerisation nach dem Koordinations-Insertations-, anionischen, kationischen und auch Monomer-aktivierten Mechanismus kann Poly(ϵ -Caprolacton) nicht mittels der radikalischen ringöffnende Polymerisation aus ϵ -Caprolacton hergestellt werden. Um mittels der radikalischen ringöffnende Polymerisation polymerisieren zu können, werden hochreaktive Doppelbindungen benötigt [88]. Als Monomer für die radikalische ringöffnende Polymerisation zur Herstellung von Poly(ϵ -Caprolacton) kann MDO (2-Methylen-1,3-Dioxepan) genutzt werden [89, 90]

Die **radikalische Ring-Öffnende Polymerisation** benötigt Monomere, in denen hochreaktive Doppelbindungen enthalten sind [88]. Folglich können weder ϵ -Caprolacton, noch Glycolid oder Lactid nach diesem Mechanismus polymerisiert werden. Allerdings ist es möglich, mittels der radikalischen ringöffnende Polymerisation aus 2-Methylen-1,3-Dioxepan (MDO) Poly(ϵ -Caprolacton) herzustellen (siehe Abbildung 10) [88–90]. Zunächst addiert das Radikal an die Doppelbindung, wodurch ein durch die benachbarten Sauerstoffatome stabilisiertes Radikal entsteht (siehe Abbildung 11). Im nächsten Schritt wird entweder der Ring geöffnet oder direkt ein weiteres Monomer angegriffen, sodass im Produkt ungeöffnete Ringe erhalten sind. Wie hoch der Anteil an ungeöffneten Ringen ist, hängt davon ab, ob das Monomer substituiert ist oder nicht.

Substituenten erhöhen die sterische Hinderung des Radikals und favorisieren somit die Ringöffnung [65]. Stabilisierende Substituenten ermöglichen nahezu vollständige Ringöffnung [91]. Einen weiteren Einfluss darauf, ob der Ring geöffnet wird oder nicht, haben die Monomerkonzentration, die Ringgröße und die Temperatur [91]. Dabei sorgen eine Verringerung der Monomerkonzentration und eine Erhöhung der Temperatur für verstärkte Ringöffnung [91].

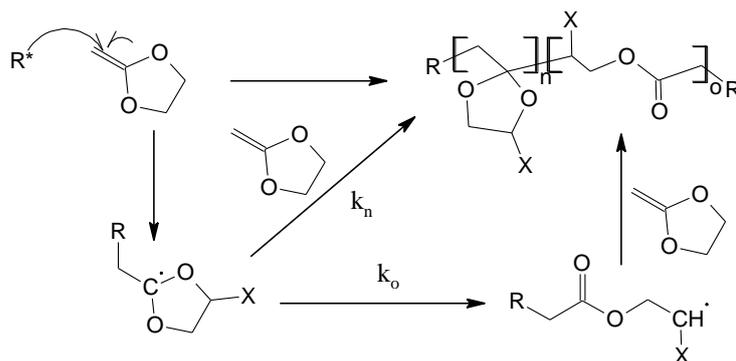


Abbildung 11: Radikalische ringöffnenden Polymerisation, wenn $X = H$, verbleibt im Produkt ein Anteil ungeöffneter Ringe. Wenn sich an der Stelle ein Substituent befindet, verringert sich dieser Anteil bis zu null [65]

2.1.3 Katalysatoren

Bei der Beschreibung der ringöffnende Polymerisation in der Literatur werden die Worte Katalysator und Initiator uneinheitlich und zum Teil uneindeutig benutzt [36, 87]. So nennen manche Autoren die metall-basierten Komponenten Katalysatoren [92], andere Initiatoren [93]. Betrachtet man die Polymerisation aus dem Blickwinkel des Einzelschrittes der Monomeranlagerung, so senkt die metall-basierte Komponente die Aktivierungsenergie und liegt nach Abschluss der Reaktion unverändert vor, was der Definition eines klassischen Katalysators entspricht. Betrachtet man den Prozess jedoch aus der Perspektive der Polymerketten, ergibt sich ein anderes Bild. Gründe dafür, die Metall-basierten Komponenten als Initiator zu bezeichnen, sind, dass die Metallkomponenten teilweise nicht am Ende der Reaktion vollständig zurückgewonnen werden, sondern an der Polymerkette verbleiben, [36]. Weiterer Grund ist, dass häufig eine Metallkomponente nur mit einer Polymerkette interagiert [87, 94]. Und nach Ansicht einiger Autoren könnte man die Metallkomponenten nur dann als Katalysator bezeichnen, wenn mehr als eine Polymerkette durch den Katalysator aufgebaut würde [94].

Es gibt zwei mögliche vereinfachte Betrachtungsweisen ringöffnende Polymerisationen zu beschreiben, zum einen als "klassische" ringöffnende Polymerisation, zum anderen als "kontrollierte" ("lebende") ringöffnende Polymerisation (siehe Abbildung 12). Bei der klassischen ringöffnende Polymerisation interagiert jede Metallkomponente nur mit einer Polymerkette [95]. Bei letzter Reaktion, also der kontrollierten Reaktion, liegen erzeugte aktive Zentren auch noch am Abschluss der Polymerisation als solche vor, während bei der ersten aktive Zentren erzeugt und auch wieder vernichtet werden. Bei der kontrollierten ringöffnende Polymerisation interagiert eine Metallkomponente mit mehreren Polymerketten und erfüllt somit auch genauere Katalysatordefinitionen [94]. Dennoch gibt es Autoren, welche eine zwar kontrollierte Reaktion beschreiben, dabei aber trotzdem die Metallkomponente als Initiator und nicht als Katalysator bezeichnen [93].

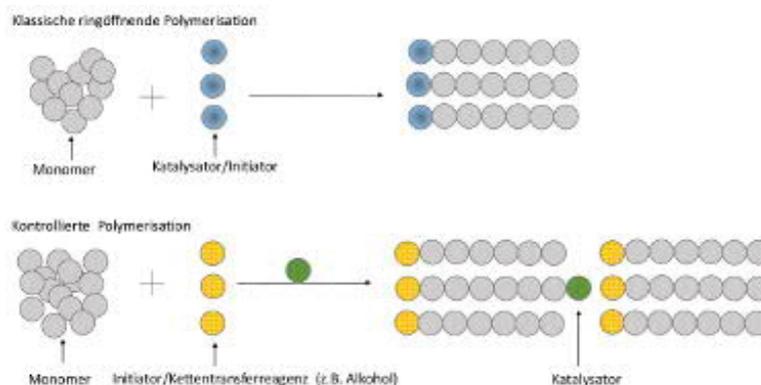


Abbildung 12: Unterschiedliche, übergeordnete Wege für die ringöffnende Polymerisation. In der klassischen Variante startet jeder Katalysator/Initiator nur eine Polymerkette. In der kontrollierten ringöffnende Polymerisation katalysiert der Katalysator mehrere Polymerketten und Alkohole/Amine dienen als Kettentransferreagenzien [95].

In dieser Arbeit wird die Metallkomponente als Katalysator und der als Kettenüberträger fungierende Alkohol als Initiator bezeichnet. Es wird eine kontrollierte Reaktion angestrebt, in dem Fall interagieren die Metallkomponenten mit mehreren Polymerketten. Zur ringöffnenden Polymerisation werden verschiedene Katalysatorsysteme verwendet, die üblichsten sind die metallkatalysierten Reaktionen [96, 97]. Dabei wird eine große Vielfalt an Metallen, aus fast allen Gruppen des Periodensystems, eingesetzt [36, 98]. Sehr häufig werden Zinnkatalysatoren, vor allem Zinn(II)-2-ethylhexanoat, verwendet [51]. Weitere Beispiele sind Katalysatorsysteme mit Alkali- und Erdalkalimetallen. Darunter bieten sich insbesondere Natrium, Calcium, Magnesium und Kalium an, welche im Körper bereits in großer Menge vorhanden sind, sodass ein weiteres Einbringen dieser Metalle keinen großen Unterschied zum Ursprungszustand darstellt [38, 99, 100]. Unter den Nebengruppenelementen werden beispielsweise Mangan, Zink und Cobalt genutzt.

Dabei gehört Mangan zu den essentiellen Spurenelementen, Zink ist ebenfalls im Körper vorhanden. Dies gilt auch für Cobalt, welches ein Bestandteil des Vitamins B12 ist [100, 101]. Am geeignetsten ist das biologisch unbedenkliche und ausreichend vorhandene Eisen [39]. Wenn man völlig auf Metallkomponenten verzichten will, bieten sich Enzyme [41] und organische Katalysatoren an [42].

2.1.3.1 Zinnkatalysatoren

Zinnkatalysatoren haben allgemein den Vorteil, dass sie hohe Temperaturstabilität besitzen und effektive Katalysatoren sind [100]. Diese sind relativ unempfindlich gegenüber Luftwirkung [102]. Zusätzlich sind sie leicht herstellbar, sodass es leicht ist, einen passenden Katalysator für gewünschte Bedingungen zu synthetisieren [100].

Der am häufigsten genutzte Zinnkatalysator für die ringöffnende Polymerisation ist Zinn(II)-2-ethylhexanoat [103]. Es werden jedoch auch andere Zinnverbindungen, wie Zinnsulfonate, Zinn(dialkylalkoxid)komplexe oder andere Zinnkomplexe, als Katalysatoren genutzt [104], siehe Abbildung 13.

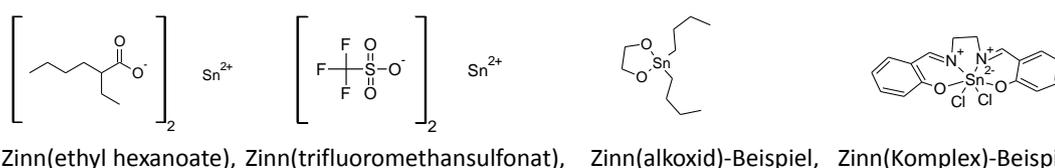


Abbildung 13: Beispiele für Zinnkatalysatoren: Zinn(II)-2-ethylhexanoat [80], Zinnsulfonat [105], Zinn(alkoxid) [106] und ein Zinnkomplex [107].

Zu den Gründen für die Beliebtheit von Zinn(II)-2-ethylhexanoat dürften seine positiven Eigenschaften, wie seine gute Löslichkeit, die schnellen Reaktionen und die Akzeptanz durch die FDA gehören [51, 100, 108]. Zinn(II)-2-ethylhexanoat ist sowohl in vielen organischen Lösungsmitteln und Monomeren, aber nur relativ schlecht in Wasser löslich [105, 109].

Zinn(II)-2-ethylhexanoat katalysiert, wie bereits im Abschnitt 7 erwähnt, nach dem Koordination-Insertionsmechanismus [105]. Dabei wird Zinn(II)-2-ethylhexanoat zunächst durch einen Alkohol in ein Alkoxid umgewandelt, welches anschließend die Reaktion katalysiert [110].

Es gibt jedoch auch Bedenken gegenüber Zinn(II)-2-ethylhexanoat, so ist es zum Beispiel schwer, verbliebenen Katalysator aus dem Polymer zu entfernen [111]. Abgesehen von der ringöffnende Polymerisation katalysiert er auch Umesterungen [80]. Auch steht er in Diskussion zytotoxisch zu sein, so ist er ab 26 ppm für Fibroblasten (Swiss 3T3) toxisch [112]. Die FDA gestattet in medizinischen Polymeren nur einen Zinn-Gehalt von 20 ppm [113, 114]. Aufgrund der Nachteile von Zinn(II)-2-ethylhexanoat gibt es Bestrebungen, alternative Katalysatoren zu finden [80, 115–117].

2.1.3.2 Enzyme

Zur enzymatischen Katalyse bei der Herstellung von Polyestern werden überwiegend Lipasen verwendet. Diese sind normalerweise für die Hydrolyse von Fettsäuren und Estern zuständig, können jedoch unter anderen Bedingungen, wie in organischen Lösungsmitteln, auch zur Polymerisation von Estern genutzt werden [118, 119].

Am häufigsten wird zur Polymerisation aufgrund der hohen Reaktivität die Lipase B aus *Candida antarctica* genutzt, üblicherweise als CALb abgekürzt. Eine immobilisierte Variante davon ist Novozyme 435, das käuflich erhältlich ist. Ein weiterer Grund für die Beliebtheit dieser Lipase ist, dass sie robust und leicht zu entfernen ist [120].

In organischen Lösungsmitteln oder in reinem Monomer können Enzyme Reaktionen katalysieren, die in Wasser nicht möglich sind [121]. So katalysieren jene Lipasen, die in wässrigen Systemen Ester spalten, in organischen Lösungsmitteln die Polymerisation von Estern [96]. Organische Lösungsmittel führen jedoch zu einigen Problemen, wie verminderter Reaktivität [96, 121]. Dies kann durch eine geringere strukturelle Flexibilität im organischen Lösungsmittel ausgelöst werden, da sich organische Lösungsmittel nicht an Wasserstoffbrückenbindungen beteiligen können [96, 121]. Auch führen die niedrigeren Dielektrizitätskonstanten zu stärkeren elektrostatischen Interaktionen innerhalb des Proteins, was ebenfalls die strukturelle Flexibilität des Enzyms herabsetzt [122]. Die Zugabe einer geringen Menge an Wasser kann die Reaktivität erhöhen [121, 122].

Die Katalysation erfolgt bei CALb, der Lipase aus *Candida antarctica*, an einem Serinrest im aktiven Zentrum. Dies konnte durch Derivatisierung dieses Serinrestes mit Paraoxon, welches zu einer vollständigen Inhibierung der Reaktion führte, nachgewiesen werden [123]. Bei der Polymerisation dient Serin als Nukleophil und bildet einen Enzym-aktivierten Monomer-Komplex (EAM). Dieser wird von einem weiteren hydroxylgruppenhaltigen Nukleophil, zum Beispiel Wasser oder Alkohol, angegriffen und Enzym und Ester werden freigesetzt [124].

Meistens werden enzymkatalysierte Reaktionen bei Temperaturen um 60-70°C durchgeführt [79, 125]. Mit der Lipase aus *Pseudomonas cepacia* können jedoch auch Polymerisationen bei 100-130°C durchgeführt [126] werden, was bei den meisten Lipasen zu einer Deaktivierung durch Denaturierung des Enzyms führen würde.

Mit der Lipase aus *Candida antarctica* kann DL-Lactid nicht polymerisiert werden, da die Lipase selektiv für D-Lactid ist und somit weder DL-Lactid noch L-Lactid polymerisieren kann [127].

Dagegen kann ϵ -Caprolacton mit CALb polymerisiert werden, wobei sich mit anderen Monomeren, wie Dioxepanon, eine stärkere Bindung an der Enzymoberfläche ergibt, so dass diese effektiver polymerisiert werden können [128]. Dennoch können bei 60°C mit Novozyme 435 in 4 h Reaktionszeit 22 $\frac{kg}{mol}$ erreicht werden [119, 128]. Wenn die Reaktion bei 70°C durchgeführt wird, können innerhalb von 4 h Polymere mit einem Molekulargewicht bis zu 45 $\frac{kg}{mol}$ hergestellt werden [129].

2.1.3.3 Eisenkatalysatoren

Eisen ist im Gegensatz zu Zinn ein physiologisches Metall und somit im Körper bereits vorhanden [100]. Aus dem Grund sollten viele Eisenkatalysatoren unbedenklich sein zur Herstellung von Polymeren, die in der Geweberekonstruktion benutzt werden sollen.

Für die ringöffnende Polymerisation wurden bislang in der Literatur überwiegend Eisenkatalysatoren verwendet, welche nicht kommerziell zur Verfügung stehen. Diese können in zwei Hauptgruppen eingeteilt werden: zum einen die Alkoxide und zum anderen Eisenkomplexe. Die Alkoxide bilden dabei die größte Gruppe eingesetzter Katalysatoren [130–133]. Bei den Eisenkomplexen werden verschiedene Varianten verwendet, wie N-heterocyclische Carbenkomplexe [134–136], oder auch solche mit 2,6-Di(1H-Pyrazol-3-yl)Pyridin ($[Fe(bppyH_2)Cl_3] \cdot MeOH$) [39]. Auch Salenkomplexe wurden zur Polymerisation von Lactid verwendet [137]. Eine Übersicht der erwähnten Eisenkatalysatoren findet sich in Abbildung 14.

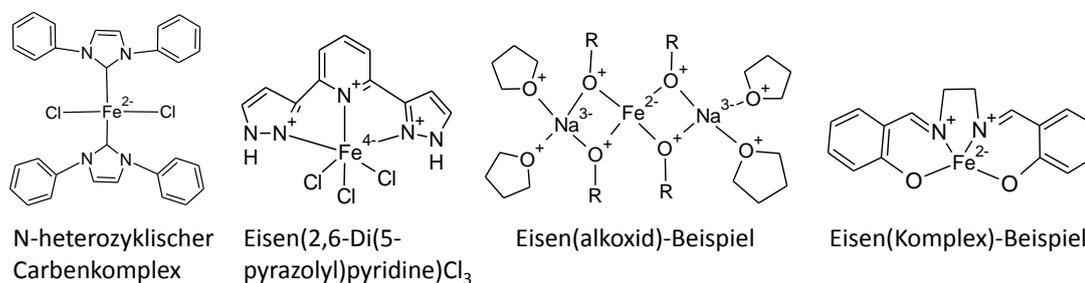


Abbildung 14: Beispiele für Eisenkatalysatoren: N-heterocyclischer Carbenkomplex [136], Eisen(2,6-Di(5-pyrazolyl)pyridine)Cl₃, Eisen(2,6-Di(5-pyrazolyl)pyridine)Cl₃ [39], Eisenalkoxid [133], Eisenkomplex [137]

Teilweise wurden in der Literatur auch kommerziell erhältliche Eisensalze verwendet, wie Eisenacetat, womit bei 210°C um 90,0 $\frac{kg}{mol}$ bei der Polymerisation von L-Lactid erreicht wurden [138, 139]. Weiterhin wurden verschiedene Varianten von Eisenchloriden als Katalysatoren getestet, mit denen auch bei Raumtemperatur hohes Molekulargewicht erreicht wurde [140].

In die Tabelle 1 wurden einige Katalysatoren, Monomere, die diese katalysieren, Polymerisationsbedingungen und die erhaltene Molmasse eingetragen. Zusätzlich wurde das Aufwand-zu-Nutzen-Verhältnis berechnet.

Als Aufwand wurde sowohl die Reaktionszeit als auch die Herstellungzeit des Katalysators berücksichtigt. Nicht erfasst wurde die eventuell benötigte Zeit zum Trocknen des Katalysators, weil es darüber zumeist keine Angaben gab. Ebensovienig berücksichtigt wurden vorbereitende Arbeiten. Um es in einen vergleichbaren Wert zusammenzufassen, wurde das Aufwand-Nutzen-Verhältnis als erreichtes Molekulargewicht pro Zeit definiert (in $\frac{kg}{molh}$). Wurden in einem Artikel mehrere Katalysatoren erwähnt, wurde jeweils derjenige in die Tabelle eingetragen, welcher das höchste Molekulargewicht ergab.

Tabelle 1: Übersicht über einige in der Literatur verwendeten Eisenkatalysatorsysteme anhand einiger Beispiele. Abkürzungen: $[Fe(bppyH_2)Cl_3] \cdot MeOH = Fe(bppy)$, Komplex = Kplx, Eisen-salze von organischen Säuren = Fe(Säuren), Gewichtsprozent: wt%, Katalysator: Kat, Mono-merabkürzungen: DL-Lactid = DLL, L-Lactid = LL, ϵ -Caprolacton = Cl, Glycolid = Gly, E = Effektivität in $\frac{kg}{molh}$, * = keine Herstellungszeit angegeben

Katalysatorart	Monomer	T (°C)	[M]:[C]:[I]	t (h)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	E ($\frac{kg}{molh}$)	Lit
Alkoxide	DLL	60	300:1:1	5	43,7	1,5	[133]
Alkoxide	Cl	RT	450:1:0	0,4	44,2	1,8	[131]
Fe(bppy)	Cl	100	300:1:2	24	11,1	0,3	[39]
Carben-Kplx	Cl	80	300:1:0	1,0	92	6,2	[134, 135]
Salen	LL	200	0,04 wt% Kat	3	31,0	5,2	[137]
Bis(imino)- pyridine-Kplx	DLL	RT	50:1:0	24	15,9	0,5	[141]
Fe(Säuren)	LL	150	1000-4000:1:0	48-192	50,0	*	[142]
Fe(acac) ₃	LL, Gly	100	1200:1:0	144	61	0,4	[143]
Fe(OAc) ₂	LL	200	3000:1:0	1,0	50,5	50,5	[144]
Fe(Cl) ₃ ·6H ₂ O	Cl	27	1200:1:0	13,3	125,2	9,4	[140]

Gemäß der gefundenen Beispiele sind Eisenkomplexe etwas effektivere Katalysatoren als Eisenalkoxide. Jedoch zeigt sich, dass es durchaus noch Verbesserungspotential gibt und es lohnenswert ist, nach effektiven, kommerziell erhältlichen Eisenkatalysatoren zu suchen.

2.1.3.4 (Erd)alkalikatalysatoren

Verbindungen mit Natrium und Kalium eignen sich gut für die ringöffnende Polymerisation von Polymeren, die in der Biomedizin eingesetzt werden sollen, weil beide bereits im Körper vorhanden und in den einzusetzenden Mengen unbedenklich sind [38]. Auch Calcium und Magnesium sind nicht toxisch und ebenfalls im Körper vorhanden [99, 145, 146]. In der Literatur verwendet wurden sowohl Komplexe, Alkoxide als auch kommerziell erhältliche Reagenzien [36].

In Tabelle 2 sind einige Katalysatoren zum Vergleich aufgeführt. Es wurde wiederum das Aufwand-zu-Nutzen-Verhältnis überprüft und als erreichtes Molekulargewicht $\frac{kg}{mol}$ pro Zeit definiert. Der Aufwand berücksichtigt, wie auf Seite 22 definiert, sowohl die Reaktionszeit als auch die Herstellungszeit, aber nicht die Zeit, die zum Trocknen oder an Vorbereitungszeit benötigt wird. Wenn in einem Artikel mehrere Katalysatoren erwähnt wurden, wurde jeweils derjenige in die Tabelle eingetragen, welcher das höchste Molekulargewicht ergab.

Tabelle 2: Übersicht über einige in der Literatur verwendeten (Erd)Alkalikatalysatorsysteme anhand einiger Beispiele. Abkürzungen: Komplex = Kplx kommerziell = +, Katalysator: Kat, Monomerabkürzungen: DL-Lactid = DLL, L-Lactid = LL, ϵ -Caprolacton = Cl, E = Effektivität in $\frac{kg}{mol}$ pro h, Bu = Butyl

Katalysatorart	Monomer	T (°C)	[M]:[C]:[I]	t (h)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	E ($\frac{kg}{molh}$)	Lit
Na Kplx	DLL	-60	300:1:10	0,08	5	0,1	[38]
Ca Kplx	LL	30	500:1:1	3	52,6	1,9	[99]
Mg Kplx	DLL	125	1000:1:1	1,7	133,9	3,6	[147]
NaH +	Cl	70	180:1:0	5,0	69,4	13,9	[113]
Mg(Bu) ₂	LL	25	600:1:2	0,08	39,7	476,4	[148]

2.1.3.5 Andere Katalysatorsysteme

Alternativ zu den vorher beschriebenen Katalysatoren der ringöffnende Polymerisation wurden Katalysatoren aus verschiedenen anderen Kategorien häufiger verwendet [80]:

- Seltenerdmetalle
- Gruppe 3-4-Metalle (überwiegend Yttrium, Zirconium)
- Gruppe 12-14-Metalle (überwiegend Zinn, Bismuth und Aluminium)
- rein organische Katalysatoren (Organokatalysatoren)

Bei den **Seltenerdkatalysatoren** wurden überwiegend große Liganden, mit Sauerstoff, oder Stickstoffdonoren genutzt, daneben Alkoxide und Metallocene [80]. Bei den seltenen Erden wurden fast keine käuflich erwerbbar Systeme untersucht. Eine Ausnahme ist Samariumacetat, welches die Polymerisation von ϵ -Caprolacton erst ab 80°C katalysiert und 7 $\frac{kg}{mol}$ erreicht, bei 150°C werden bis zu 21 $\frac{kg}{mol}$ erreicht [149].

Wie bei den anderen Metallen werden von den **Metallen aus den Gruppen 3 und 4** Alkoxide verwendet, wie z. B. Yttriumalkoxide. Damit konnten bei Raumtemperatur Poly(L-Lactid)-Polymere mit einem Molekulargewicht von bis zu $40 \frac{kg}{mol}$ hergestellt werden [150]. Komplexe, deren Liganden hergestellt werden müssen, werden auch bei den Metallen der Gruppe 3 und 4 als Katalysator genutzt. Beispiele sind Komplexe mit Salenliganden von Zirkonium- und Yttrium, womit bei 100°C Poly(L-Lactid) mit einem Molekulargewicht von $11 \frac{kg}{mol}$ hergestellt wurde [151]. Einen Überblick über die verwendeten Katalysatoren bietet die Abbildung 15.

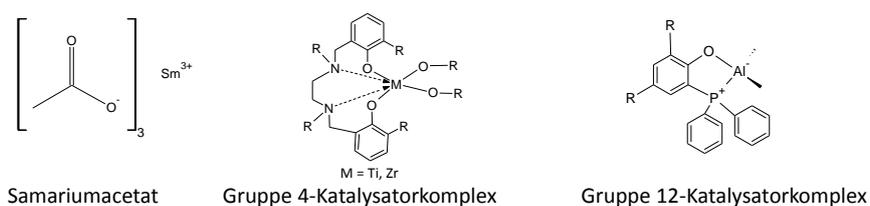


Abbildung 15: Beispiele für alternative Metallkatalysatoren: Samariumacetat [149], Titan/Zirkoniumkomplex [152], Mono(Phosphinophenolat)Aluminium-Dimethylkomplex [153].

Zur Polymerisation ohne Metallkatalysatoren werden abgesehen von Enzymen auch **rein organische Katalysatoren** (Organokatalysatoren) genutzt. Diese gehören überwiegend zu den N-heterozyklischen Carbenen. Weitere Gruppen sind Amidine oder Guanidine sowie Phosphine oder Pyridine [154]. Einige Beispiele für organische Katalysatoren sieht man in Abbildung 16.

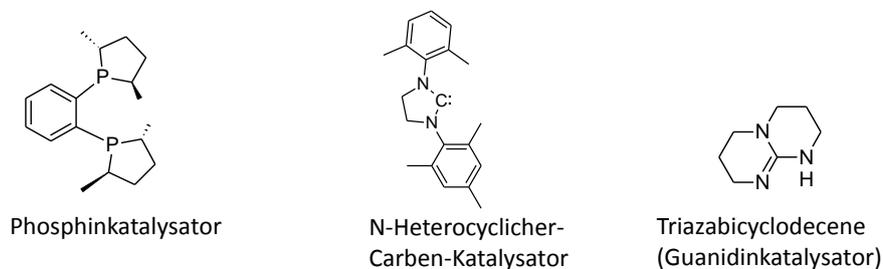


Abbildung 16: Beispiele für organische Katalysatoren: Phosphinkatalysator, N-Heterozyklischer Carbenkatalysator, Triazabicyclodecene (Guanidinkatalysator) [154]

2.2 Regenerative Medizin

2.2.1 Allgemeines zur regenerativen Medizin

Pionierarbeiten auf dem Gebiet der Geweberekonstruktion wurden Mitte der 1980er-Jahre durchgeführt [155].

Die Geweberekonstruktion (engl. Tissue engineering) ist ein sowohl multidisziplinäres als auch interdisziplinäres Gebiet, in welchem bioartifizielle Implantate entwickelt und/oder die Funktion von Geweben regeneriert, erhalten oder auch verbessert wird [22, 156]. Verletzungen, Traumata, Krankheiten oder angeborene Anomalien können zur Notwendigkeit der Regeneration von Gewebe führen. Es werden sowohl Gewebe wie Haut und Fettgewebe rekonstruiert als auch Organe wie Harnblase und Nieren [157, 158]. Abbildung 17 zeigt einen Überblick über die Organe und Gewebe, bei denen derzeit an der Regeneration gearbeitet wird. Zwei Gewebe, an denen zur Zeit an der Regeneration gearbeitet wird, sind das Fettgewebe und das Zahngewebe.

Das **Fettgewebe** gibt die Struktur des Körpers vor, stabilisiert die Organe und dient als mechanischer Schutz [21]. Fettgewebe besteht hauptsächlich aus Adipozyten, welche mittels Kollagenfasern zusammengehalten werden [21]. 90% des Zytoplasmas der Adipozyten besteht aus Triglyceriden. Somit ist das Fettgewebe der größte Energiespeicher [21]. Zusätzlich stellt es ein endokrines Organ dar, welches zum Beispiel Wachstumsfaktoren ins Blut abgibt [21, 159]. Fettgeweberekonstruktion wird zum Beispiel benötigt, wenn die Brust aufgrund einer Brustkrebserkrankung entfernt werden muss. Brustkrebs ist ein globales Problem, allein 2013 gab es circa 300.000 neue Fälle [160].

Zahngeweberekonstruktion ist nötig bei Zahnverlust, zum Beispiel durch Parodontose, missglückte Wurzelbehandlungen, fortgeschrittener Schädigung durch Karies oder auch Trauma an Knochen oder Zähnen [161]. Zahnverlust führt ohne Behandlung zum Abbau des Alveolarfortsatzes, welcher zum Zahnhalteapparat und zum Kieferknochen gehört [161, 162]. Es gibt zwei Hauptstrategien, um den Zahnhalteapparat zu regenerieren: gesteuerte Geweberegeneration (GTR) oder gesteuerte Knochenregeneration (GBR). Bei der Geweberegeneration hält man Zellen aus dem verbindenden Gewebe und dem Epithelgewebe durch eine undurchlässige Membran davon ab, in den Defekt zu diffundieren. Statt dessen können im periodontalen Ligament verbliebene Zellen den Bereich neu kolonisieren und regenerieren. Bei der Knochenregeneration versucht man den Alveolarkamm zu regenerieren [163].

Die größte Herausforderung bei der Geweberegeneration ist die Notwendigkeit, das Gewebe zu vaskularisieren, also für eine ausreichende Versorgung des Gewebes mit Blutgefäßen zu sorgen [164]. Wenn Zellen weiter als 200 μm vom nächsten Blutgefäß entfernt sind, können sie nicht mit Sauerstoff oder Nährstoffen versorgt werden [165].

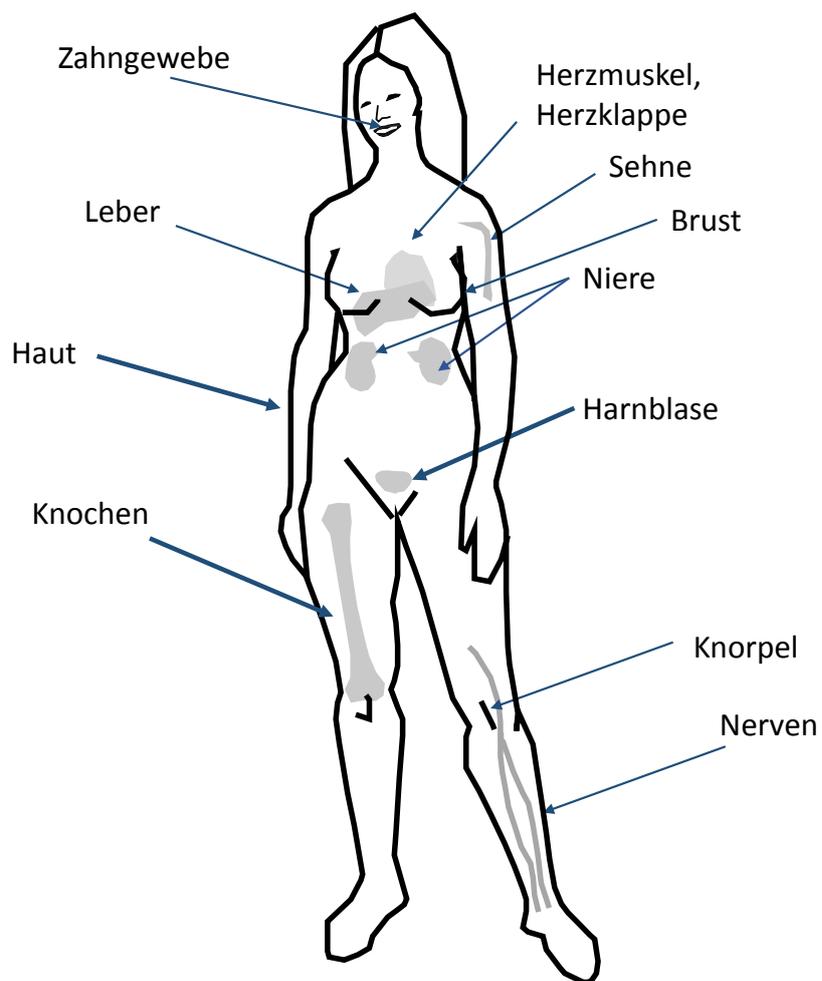


Abbildung 17: Schematische Darstellung einiger Organe und Gewebe, welche man versucht zu regenerieren (orientiert an [157, 158]). Die Organe und Gewebe, welche mit dickeren Pfeilen gekennzeichnet wurden, wurden bereits im Menschen erfolgreich regeneriert.

Um Gewebe zu regenerieren werden drei Hauptwege verfolgt: Implantation von Zellen, Implantation von Gewebe und die Regeneration des Gewebes direkt im Körper (*in situ*) [166–168].

Bei der **Zellimplantation** werden die Zellen entweder auf 3D-Zellvorläuferstrukturen (Scaffold) inkubiert und implantiert oder ohne eine solche mechanische Unterstützung direkt implantiert [166]. Die Zellimplantation hat den Vorteil, dass dafür teilweise keine Operation notwendig ist, sondern es ausreicht, die benötigten Zellen zu injizieren [22]. Bei Verwendung von allogenen Zellen (also nicht dem Patienten eigene Zellen) kann es zur immunologischen Abstoßung kommen und teilweise können die Zellen im Patienten ihre Funktion nicht aufrecht erhalten [22].

Im Fall der **Gewebetransplantation** werden Zellen *in vitro* auf einen Scaffold inkubiert. Sobald sich Gewebe gebildet hat, wird es transplantiert [166]. Die Notwendigkeit *in vitro* Gewebe herzustellen, verschiebt die Operation um die Zeit, die benötigt wird, den Scaffold zu bewachen, weshalb diese Methode bei den Klinikern unbeliebt ist. Auch sind die regulatorischen Hürden für diese Verfahren höher als für andere [157]. Allerdings könnte dies der einzige Weg sein, um Gewebe wiederherzustellen, welche sich nicht selbst regenerieren können, wie Knorpel [157]. Die Vaskularisierung kann bei der *in vitro*-Regeneration zum Beispiel durch die Verwendung von Wachstumsfaktoren oder Cytokinen vorbereitet werden. Wachstumsfaktoren aktivieren Endothelzellen oder auch Endothelvorläuferzellen, sorgen dafür, dass diese in Richtung des Gradienten migrieren, und induzieren die Zellzusammenlagerung und Gefäßneubildung [164].

Für die ***in situ*-Regeneration** wird eine Zellvorläuferstruktur (Scaffold) hergestellt und direkt in den Körper eingebracht. Die Besiedelung mit Zellen erfolgt vor Ort mit körpereigenen Zellen [166]. Zur Überprüfung der *in situ*-Regeneration können Magnetresonanztomographie (MRT), Ultraschall oder Histologie genutzt werden [166]. *In vivo* kann die Vaskularisierung direkt erfolgen. So wird ein in den Körper implantierter Scaffold vaskularisiert. Das vaskularisierte Konstrukt kann an den Zielort transplantiert werden [164]. Eine weitere Möglichkeit der *in vivo* Vaskularisierung ist die Verwendung eines ateriovenösen Nebenschlusses (Shunt). Hierbei wird eine Aterie mit einer Vene verbunden und diese Schleife in einer (Wachstums-) Kammer eingeschlossen. Von diesem Shunt geht die weitere Vaskularisierung aus [164]. Die Wachstumskammern bestehen aus nicht abbaubaren Materialien wie Polycarbonat [169, 170]. Abgesehen von der Verwendung von ateriovenösen Shunts werden auch andere Ansätze zur Herstellung vaskularisierten Gewebes innerhalb einer Wachstumskammer verwendet. Dazu gehört zum Beispiel die Nutzung einer kleinen Menge Fettgewebe, welche über eine Ader weiterhin vom Versuchstier oder Patienten versorgt wird [170, 171]. Zusätzlich führt auch eine pure Wachstumskammer, ohne weitere Vaskularisierungsstrategien, durch das Verursachen von Entzündungsreaktionen zur Bildung von vaskularisiertem Gewebe [169].

2.2.2 Einführung und Grundbegriffe

Erwachsene Säugetiere können ohne zusätzliche Hilfe kein Gewebe regenerieren. Als Hilfe können dabei zum Beispiel dreidimensionale Strukturen dienen [27, 172]. Diese dreidimensionale Gerüststrukturen (engl. Scaffolds) ermöglichen es den Zellen sich anzulagern, zu migrieren, zu proliferieren und zu differenzieren [173–175]. Ihre räumliche Architektur definiert die Gestalt des neuen Gewebes [175]. Ein Material, aus welchem ein Scaffold hergestellt werden soll, muss biokompatibel und darf nicht toxisch sein [173, 176].

Um praktische Anwendung zu finden, sollten die Scaffolds leicht handhabbar, kosteneffizient, leicht in verschiedenen Formen herstellbar und lange lagerfähig sein [173, 175, 176].

Die Scaffolds müssen porös sein, um den Zellen die Möglichkeit zu geben, in den Scaffold zu migrieren und den Transport von Nährstoffen und Metaboliten zu ermöglichen [157, 177, 178]. Zusätzlich müssen die Scaffolds weitere Voraussetzungen bezüglich Porosität und Interkonnektivität der Poren erfüllen und über die notwendige Porengröße verfügen, um die Zellen in ihrer Entwicklung unterstützen zu können [168, 174, 179]. Eine Definition der Begriffe findet sich in Tabelle 3.

Tabelle 3: Grundbegriffe zu Scaffolds

Begriff	Bedeutung	Lit.
Poren	Hohlräume der Scaffoldstrukturen	[180]
Porosität	Verhältnis der Hohlräume zum gesamten Volumen	[180]
Interkonnektivität	Verbindungen zwischen den Poren	[181] [182]

Die erforderliche Porengröße wird vom Durchmesser der Zellen in Suspension bestimmt [26]. Wenn die Zellen größer sind als die Poren, können diese nicht in das Gerüst eindringen. Somit kann über die Porengröße das Zellwachstum bestimmter Zellen gefördert bzw. ausgeschlossen werden [179, 183]. Die Porengröße muss ausreichend sein, um die Proliferation und Differentiation der Zellen nicht zu behindern [21]. Dies muss vor allem bei der Verwendung von Preadipozyten beachtet werden, welche während der Differentiation zu Adipozyten Lipide einlagern und somit deutlich größer werden [184].

Zellen können in Scaffolds mit hoher Porosität gut einwachsen, während niedrige Porosität die Proliferation der Zellen unterdrückt und zur Aggregation der Zellen führt [167]. Sowohl die Porosität als auch die Interkonnektivität sind notwendig, um beispielsweise den Transport von Nährstoffen durch den Scaffold zu gewährleisten [26, 185, 186]. Zusätzlich haben sie einen Einfluss auf das Einwachsen des Gewebes und auf dessen Vaskularisierung [185, 186]. Die Interkonnektivität kann über Mikroporen gewährleistet werden, allerdings sollten diese mindestens $30\ \mu\text{m}$ durchmessen, damit die Zellen gut einwachsen können. Auch ist erst ab $30\ \mu\text{m}$ der Austausch metabolischer Komponenten möglich [183, 186].

Um Gewebe regenerieren zu können, müssen die **Gewebeeigenschaften** berücksichtigt werden. Die mechanischen Eigenschaften des Scaffolds sollten zum Gewebe, welches regeneriert werden soll, passen, und der Scaffold muss ausreichend stabil sein, um die zusammenziehende Kraft, welche während des Heilungsprozesses *in vivo* aufgebaut wird, aushalten zu können [26, 175].

Auch die Degradationsrate sollte passend zum Aufbau des gewünschten Gewebes sein. Um zum Beispiel Knochenregeneration zu ermöglichen, sollte ein Material mindestens 3-6 Monate seine mechanische Stabilität behalten und erst nach 12-18 Monaten vom Körper abgebaut sein [167].

2.2.3 Biokompatibilität

Es gibt viele Aspekte, welche einen Einfluss auf die Biokompatibilität haben. Einige davon sind in Abbildung 18 schematisch dargestellt.

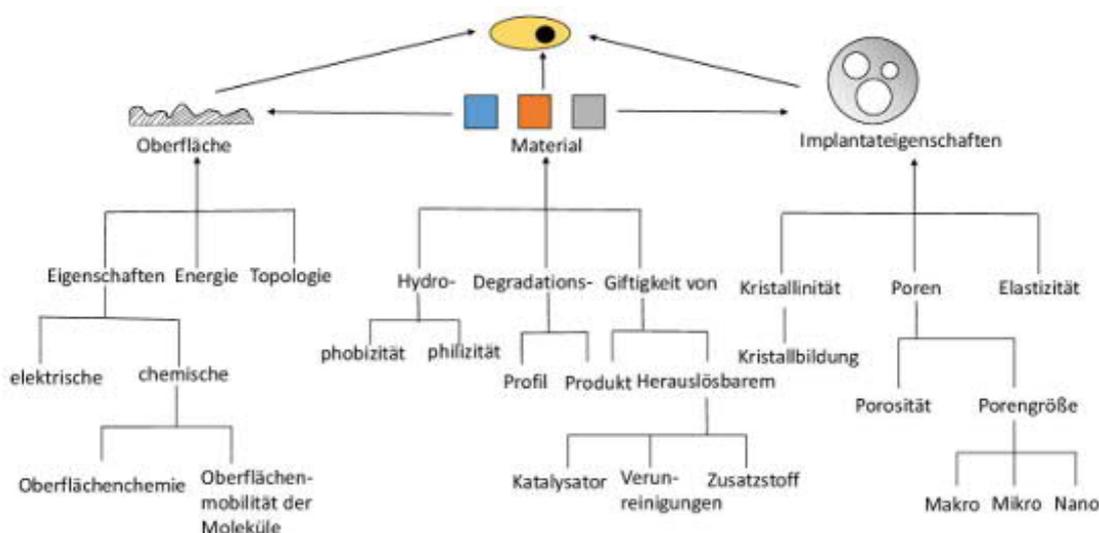


Abbildung 18: Schematische Darstellung der Einwirkungsmöglichkeiten auf die Zelle. Dabei hat das Material sowohl Auswirkungen auf das Implantatwerkstück als auch auf die Oberfläche (orientiert an [30]).

Definiert ist die Biokompatibilität als die Fähigkeit eines Materials, angemessen mit dem Körper zu interagieren [30]. Unangemessene Reaktionen, welche ein Material hervorrufen könnte, wären beispielsweise toxische Reaktionen, Allergien oder Krebs [187]. Bezüglich der Biokompatibilität ist ein biostabiles Material, welches lange im Körper verbleiben soll, anders zu bewerten als ein bioabbaubares Material. So sind biostabile Materialien darauf angelegt, die Interaktionen zu minimieren, damit eine Langzeitverwendung möglich ist [29]. Die bioabbaubaren Polymere dagegen degradieren im Laufe der Zeit, wodurch Degradationsprodukte entstehen, welche wiederum mit dem Körper interagieren werden [29]. Damit die Interaktionen möglichst harmlos sind, werden gerne bereits im Körper vorhandene Metaboliten, wie Milchsäure oder Glycolsäure, als Ausgangsstoffe für die bioabbaubaren Materialien, in dem Fall bioabbaubare Polymere, genutzt [29].

Die Biokompatibilität kann durch die Untersuchung des umgebenden Gewebes analysiert werden. Sie kann zum Beispiel mittels Histologie, Rasterelektronenmikroskopie, Lichtmikroskopie und Röntgenmikroanalyse oder auch pathologisch untersucht werden [29, 173, 188]. Weiterhin kann die Biokompatibilität mit *in-vitro*-Tests überprüft werden. So kann zum Beispiel die Lebensfähigkeit (Viabilität) der Zellen mit Fluoresceindiacetat untersucht werden [189]. Fluoresceindiacetat fluoresziert nicht, kann aber durch intakte Zellmembranen diffundieren. In lebenden Zellen wird es in Fluorescein umgewandelt, welches im Zytoplasma verbleibt und grün fluoresziert [189, 190].

Zu den Materialeigenschaften, welche die Biokompatibilität eines Implantats beeinflussen, gehören die Hydrophobizität, die Degradation und die eventuell vorhandenen Zusatzstoffe, wie Katalysatorrückstände [30]. Ausgeprägte Hydrophobizität eines Materials kann zu niedriger Zellbesiedelung, heterogener Verteilung der Zellen in der Zellvorläuferstruktur (Scaffold) und langsamem Zellwachstum führen [191]. Die Degradationsrate sollte vorzugsweise passend zur Regeneration des Gewebes und somit dem Ersatz des Scaffolds durch natürliches Gewebe sein [58, 176]. Wenn der Scaffold zu früh abgebaut wird, kann seine mechanische Stabilität verringert werden, was zum Versagen des Scaffolds führen kann [176]. Die Entstehung von sauren Abbauprodukten kann die Zellmigration behindern [58]. Der Einfluss von Katalysatoren wie Zinn(II)-2-ethylhexanoat wurde in mehreren Studien untersucht. Dabei zeigte sich ein Unterschied, ob der Katalysator während des Tests im Polymer gebunden bleibt [192] oder direkt ins Zellmedium gegeben wird [112]. Bleibt der Katalysator im Polymer gebunden, kann kein negativer Einfluss auf die Zelle festgestellt werden [192]. Wird der Katalysator dagegen direkt ins Zellmedium gegeben, wurde gezeigt, dass Zinn(II)-2-ethylhexanoat ab 123 ppm für humane Endothelzellen bzw. 26,1 ppm für Mäusefibroblasten giftig ist [112]. Oberflächeneigenschaften wie Rauigkeit, Topologie und Oberflächenenergie sind korreliert und beeinflussen gemeinsam die Reaktion des Körpers auf das System [193]. So beeinflusst zum Beispiel die Topologie der Matrix die Form, die Polarität und die Proliferation der Zellen [194]. Die Oberflächenenergie hat einen Einfluss auf die Adsorption der Proteine und der Zellen [193]. Auf die Oberflächenrauigkeit reagieren Zellen unterschiedlich [195], so bevorzugen Osteoblasten eher rauhere Oberflächen, während Fibroblasten die glatten Oberflächen präferieren [196].

Zu den Einflussfaktoren des Implantatwerkstückes gehören die Kristallinität bzw. mögliche Kristallbildung und die Poren [30]. Bei der Degradation werden zuerst die amorphen Bereiche abgebaut, danach die kristallinen, sodass kristalline Rückstände entstehen können [197–199]. Im Fall von Poly(Lactid) können bis zu 6 Jahre bis zur völligen Auflösung dieser Kristalliten im Körper vergehen [200]. Diese können auch noch nach Jahren zu Fremdkörperreaktionen wie Schwellungen führen [201]. Über die Porosität und die Porengröße haben die Poren einen Einfluss auf die Biokompatibilität. Mikroporen verbessern die Zellanlagerung [202]. Eine zu geringe Porosität unterdrückt die Zellproliferation [180].

Je nachdem, welche Zellen verwendet werden sollen, werden unterschiedliche Porengrößen benötigt [203]. Dabei gilt, zumindest bei der Verwendung von Osteoblasten, $100\ \mu\text{m}$ als die minimale Porengröße, um zum Beispiel Sauerstoff- und Nährstoff-Transport und Zellwanderung gewährleisten zu können [180].

2.3 Herstellung poröser Polymerstrukturen

2.3.1 Methoden zur Herstellung poröser Strukturen

Es gibt verschiedene Methoden, um Materialien mit definierten Poren herzustellen. So können sie durch Phasenseparation, das Herauslösen eines Porenbildners (Porogen), durch Aufschäumen oder Bildung geeigneter Mikrostrukturen entstehen [168]. Einige Methoden sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Bei der Verwendung eines **Porenbildners** zur Porenherstellung wird meist Salz [204, 205], teilweise aber auch andere Materialien, wie Paraffin [206], Eis [173] oder Zucker [26] als Porogen ausgewählt. Der Porenbildner wird zu einer Polymerlösung gegeben. Die Kombination wird entweder in eine Form (meist eine Petrischale) gegeben und das Lösungsmittel verdampfen gelassen [205] oder das Lösungsmittel wird durch Gefriertrocknung entfernt [207]. Abschließend wird der Porenbildner herausgelöst und der Scaffold zum Beispiel im Vakuumofen getrocknet [205].

Bei der **Temperatur-induzierten Phasenseparation (TIPS)** wird das Polymer in einem [178, 202] oder zwei Lösungsmitteln [208, 209] gelöst und die Mischung durch Abkühlung phasensepariert. Werden zwei Lösungsmittel verwendet, handelt es sich um eine Flüssig-Flüssigphasenseparation [168], wenn nur ein Lösungsmittel verwendet wird, um eine Fest-Flüssigphasenseparation. Durch das Abkühlen wird das homogene System thermodynamisch instabil und separiert, um die freie Energie des Systems zu reduzieren, in mehrere Phasen. Dabei entsteht eine polymerreiche und eine polymerarme Phase [168]. Nach Entfernen der polymerarmen Phase verfestigt sich die polymerreiche Phase [168].

Bei wasserlöslichen Grundstoffen, wie Kollagen, können die Scaffolds auch per **Gefriertrocknung** entstehen [184, 210]. Dazu wird eine wässrige Suspension des Ausgangsmaterials angefertigt, die Mischung wird eingefroren und die Eiskristalle werden an der Gefriertrocknung sublimiert. Meist wird Kollagen durch die Zugabe von einem Vernetzer wie Glutarylaldehyd vernetzt [211].

Ein anderer Ansatz zur Porenbildung ist das **Schäumen mit Gas**. Dafür werden feste Polymerscheiben in einen Autoklav gegeben und unter hohem Druck wird ein Gas, Kohlenstoffdioxid, Stickstoff oder Helium zugeleitet [204]. Später wird der Druck auf Umgebungsdruck reduziert. Dadurch sollen Gasblasen innerhalb des Polymers gebildet werden, die bei Verfestigung aus dem Polymer zur Bildung von Poren führen [212]. Bei dieser Methode wird aufgrund der Benutzung von Polymerscheiben kein Lösungsmittel benötigt [204].

Der Ansatz kann durch die Zugabe eines Porenbildners ergänzt werden, um größere Poren herzustellen [204, 213]. Eine andere Möglichkeit besteht darin, gasbildende Substanz, wie zum Beispiel Natriumbicarbonat, zum Polymer zu geben. Eine nicht zu starke Säure sorgt dann für die Gasbildung. Allerdings führt dies durch das Aufsteigen des Gases, bedingt durch den Dichteunterschied, häufig zu nicht porösem Boden und hochporösem oberen Bereich [181]. Es können Scaffolds mit einer Porengröße bis 100 μm hergestellt werden [183].

Häufig wird das Herauslösen eines Porenbildners mit anderen Methoden zur Porenherstellung kombiniert, dies dient zumeist dazu die Porengröße zu vergrößern, die Porosität und Interkonnektivität zu steuern und zu verbessern [212, 214, 215]. So wird zum Beispiel TIPS mit dem Herauslösen eines Porenbildners kombiniert, in einem Fall wurde so ein Scaffold aus Poly(Glycolid-DL-Lactid) mit 75-400 μm Porengröße und bis zu 95% Porosität hergestellt [216].

Elektrospinnen verwendet Hochspannung um nanofibröse Scaffolds herzustellen. Eine Polymerlösung, häufig mit Hexafluoroisopropanol (HFIP) als Lösungsmittel [217], wird durch eine feine Düse gedrückt. Elektrische Spannung (100-500 $\frac{\text{kV}}{\text{m}}$) sorgt dafür, dass die Oberflächenspannung überwunden wird und eine schmale Faser (Polymerjet) entsteht. Die Fasern werden auf einer Gegenelektrode gesammelt [218] [219]. Das Lösungsmittel verdampft, bevor der Polymerjet auf die Gegenelektrode auftrifft. Die Fasern werden durch Parameter wie die Konzentration und die Viskosität der Lösung, und das Molekulargewicht des Polymers in ihrer Struktur beeinflusst. Es entstehen nanofibröse, mikroporöse Strukturen [60]. Mittels Elektrospinnen können Scaffolds hergestellt werden, die der nanofibrösen Struktur der natürlichen extracellulären Matrix sehr ähnlich sind [220]. Nachteile des Elektrospinnen sind die Schwierigkeit, 3D-Strukturen herzustellen, meist werden Polymermatten hergestellt, und dass entstehende Poren zu klein sind [221]. Eine Möglichkeit, 3D-Strukturen herzustellen, ist das Zusammenschmelzen einzelner Matten zu einem 3D-Konstrukt [221]. Die Porengröße kann unter Verwendung von Salzpartikeln erhöht werden [220].

Aktuell aufstrebende Techniken beinhalten das **Drucken** der Scaffolds. Dabei gibt es verschiedene Techniken wie 3D Freiformen (Solid-free form - SFF), oder auch Stereolithographie. Dafür wird zunächst ein CAD-Entwurf (CAD = computer-aided design) erstellt, welcher gedruckt wird. Für den SFF-Prozess wird eine dünne Polymerschicht (0,05-0,15 mm) auf einen Kolben aufgetragen. Dort wo die Struktur entstehen soll, wird mittels Tintendruckkopf organisches Lösungsmittel aufgetragen. An den Stellen wird das Polymerpulver gelöst und verklebt infolgedessen. Das Lösungsmittel dient als Verbinder. Wenn eine Schicht fertig gedruckt ist, wird der gesamte Prozess wiederholt. Das 3D-Objekt entsteht durch das Stapeln mehrerer dünner 2D-Schichten [222] [223]. Eine ähnliche Methode ist die Stereolithographie, bei welcher flüssiges, photopolymerisierbares oder vernetzbares Monomer durch Ultraviolett-Laser ausgehärtet wird und wiederum schichtweise die gewünschte Form entsteht [183] [25].

Eine weitere Drucktechnik ist das **Schmelzschichten** (Fused deposition modeling, FDM), bei dem schichtweise Fasern gedruckt werden, dafür wird das Polymer mithilfe eines speziellen Gerätes halbgeschmolzen extrudiert [224]. Es gibt die Möglichkeit, in einem Scaffold unterschiedliche Poren zu drucken, indem man schichtweise die Fasern/Druckorientierung wechselt. Auch kann der Faserdurchmesser durch Variation der Druckgeschwindigkeit variiert werden [225].

Das Drucken der Scaffolds bietet die Möglichkeit, kontrollierbare Kanal- und Porengrößen einzustellen. Die Kanäle sind vollständig interkonnektiert und in manchen Fällen, wie beim FDM, wird kein Lösungsmittel benötigt [25, 224, 226]. Dennoch haben auch die Druckmethoden einige Nachteile. Die Größe und Gestalt der Poren ist durch die Druckdüsen bestimmt, und teilweise ist es schwierig, kleine Poren oder Poren mit komplexen Geometrien (wie Kugeln) herzustellen [227]. Bei FDM kann zwar schichtweise die Porengestalt oder auch die Faserdicke geändert werden, dies geht aber nicht kontinuierlich und gleichmäßig über den gesamten Scaffold [225]. Zusätzlich können nicht alle Polymere gedruckt werden und teilweise, zum Beispiel bei FDM, werden hohe Temperaturen benötigt [27, 183]. Bei anderen Methoden, wie beim Lasersintern, ist es problematisch, überschüssiges Pulver aus der Struktur zu entfernen [27].

Tabelle 4: Überblick über verschiedene Verfahren der Scaffoldherstellung

Name	Beschreibung	Vorteil (+) Nachteil (-)	Lit.
Temperaturinduzierte Phasenseparation (TIPS)	Verwendung zweier Flüssigkeiten: Lösungsmittel und nicht lösend, Poren entstehen durch Phasentrennung	+ einfache Methode - nur kleine Poren um 100 μm	[208] [43]
Porogenherauslösend	Poren entstehen durch Porogen: meist Salz, seltener Eis, Paraffin, Zucker, u.a.	+ Porengröße durch Porenbildner steuerbar - teilweise keine interkonnektierten Poren	[228] [207] [206] [229] [230]
Gasschäumen	Einleiten von Gas. Verwendung gasbildender Materialien und Säure	+ kein Lösungsmittel nötig - ungleichmäßige Verteilung der Poren	[204] [212] [181]
Elektrospinnen	Erzeugung dünner Fasern durch Hochspannung, Sammlung auf Gegenelektrode	+ morphologisch dem natürlichen ECM ähnlich - zu kleine Porengrößen	[60] [158]
Freiform (SFF)	Schichtweises Drucken, Lösungsmittel als Verbinder der Schichten	+: reproduzierbar + Porengröße genau einstellbar - teure Geräte - teilweise schwierig komplexe Poren herzustellen	[222] [223] [227]
Schmelzschichten (FDM)	Schichtweises Drucken von Fasern	+ reproduzierbar, Porengröße genau einstellbar + vollständige Interkonnektivität - hohe Temperatur benötigt - teure Geräte - unterschiedliche Poren schwierig herzustellen	[225]

3 Ziel und Strategie

Das Ziel der Arbeit ist die Herstellung von bioabbaubaren Implantaten (Scaffolds und Wachstumskammern) für die regenerative Medizin. Dafür sind verschiedene Schritte notwendig:

- Herstellung bioabbaubarer Polymere als Ausgangsstoffe unter Verwendung biokompatibler Monomere und Katalysatoren
- Herstellung von Scaffolds und Wachstumskammern aus den Polymeren
- Untersuchung der Scaffolds in Bezug auf Morphologie, mechanische Eigenschaften und Biokompatibilität
- Anwendung der Scaffolds in Zelleinwachstumstests, hier mit Präadipozyten und periodontalen Ligamentfibroblasten

Herstellung biokompatibler Polymere

Bioabbaubare Implantate (Biomaterialien) können aus synthetischen oder natürlichen Polymeren hergestellt werden. Natürliche Polymere bestehen zum Beispiel aus den biokompatiblen Monomeren Kollagen, Fibrin und Chitosan [231]. Zur Herstellung der synthetischen Polymere eignen sich unter anderem ϵ -Caprolacton, Lactid oder auch Glycolid. Sowohl Glycolid als auch Lactid bestehen aus, im Körper bereits vorhandenen Metaboliten [3].

Zur Herstellung der Biomaterialien wurden synthetische Polymere (aliphatische Polyester) gewählt. Diese synthetischen Polymere bieten gegenüber natürlichen Biopolymeren drei Vorteile: höhere Kontrolle über die mechanischen Eigenschaften, bessere Verarbeitbarkeit und vor allem kaum immunologische Probleme [232, 233].

Damit entsprechen sie bereits einigen Eigenschaften, welche Materialien erfüllen müssen, um als hochwertige Biomaterialien bezeichnet zu werden. Dazu kommt noch die Notwendigkeit, dass sie eine geeignete Lebensdauer haben und einfach sterilisierbar sein sollten [44]. Die aliphatischen Polyester Poly(ϵ -Caprolacton), Poly(DL-Lactid) und ihre Copolymere werden diesen Vorgaben gerecht. So rufen sie größtenteils nur geringe Entzündungsreaktionen hervor [29, 35, 234]. Sie sind gut verarbeitbar, da sie in organischen Lösungsmitteln, wie Tetrahydrofuran und Dioxan, löslich sind [35, 235] und mittels verschiedener Methoden weiterverarbeitet werden können [236]. Zusätzlich sind die Polymere von der FDA für den biomedizinischen Einsatz im Menschen zugelassen [173, 185]. Eines der wenigen Probleme ist die Sterilisation, da übliche Methoden wie Autoklavieren die Polymere schädigt [237]. Aus diesem Grund wurde es angestrebt die für die Zellversuche geplanten Scaffolds steril herzustellen.

Für die ringöffnende Polymerisation der Polyester wurden verschiedene Katalysatoren untersucht. Der Standardkatalysator Zinn(II)-2-ethylhexanoat hat zwar einige Vorteile wie gute Löslichkeit und hohe Effektivität [100], allerdings auch Nachteile. So beschränkt die FDA aufgrund seiner Zytotoxizität den Zinnanteil in kommerziellen, für den medizinischen Gebrauch bestimmten Polymeren auf 20 ppm. Auch ist es schwer Zinn(II)-2-ethylhexanoat aus den Polymeren zu entfernen [111, 112, 114]. Deshalb ist es sinnvoll, ihn durch alternative Katalysatoren zu ersetzen.

Um Polymere in der Biomedizin einsetzen zu können, müssen alle verwendeten Bestandteile biokompatibel sein. Daher wurden Katalysatoren, die ein physiologisches, also bereits im Körper vorhandenes Metall enthalten, zur Untersuchung in Betracht gezogen. Ausgewählt wurden somit Alkali- (Natrium), Erdalkali- (Calcium) und Eisensalze.

Enzyme bilden daneben eine Möglichkeit, um metallhaltige Katalysatoren und daraus resultierende Probleme vollständig zu vermeiden [118]. Zusätzlich katalysieren sie unter schonenden Bedingungen unter 100°C und können sowohl in reinen Monomerpolymerisationen (Bulkpolymerisationen) als auch in Lösungsmitteln eingesetzt werden [118, 238, 239]. Daher wurde beschlossen auch verschiedene Enzyme auf ihre Tauglichkeit als Katalysatoren für die ringöffnende Polymerisation von aliphatischen Polymeren zu testen.

Um für die Geweberekonstruktion einsetzbar zu sein, müssen die Polymere ein ausreichend hohes Molekulargewicht besitzen. Es sollte mindestens $15 \frac{kg}{mol}$ betragen [240]. Poly(ϵ -Caprolacton) mit einem Molekulargewicht von $15 \frac{kg}{mol}$ kann zum Beispiel verwendet werden, um Implantatstrukturen zu drucken [240]. Aus diesem Grund wurden hohe Monomer:Katalysator:Initiator-Verhältnisse ($[M]:[C]:[I]$) gewählt, um ein hohes Molekulargewicht erreichen zu können [115, 241].

Um als gute Katalysatoren zu gelten, müssen Alternativkatalysatoren die Möglichkeit bieten, gezielt ein bestimmtes Molekulargewicht herzustellen; sie sollen Nebenreaktionen vermindern, reproduzierbare Ergebnisse liefern und leichte Zugänglichkeit und Robustheit bieten [95, 100, 242].

Die Auswirkung unterschiedlicher $[M]:[C]:[I]$ -Verhältnisse auf das Molekulargewicht sollte untersucht werden, um die Herstellung eines bestimmten Molekulargewichts zu ermöglichen.

Zinn(II)-2-ethylhexanoat katalysiert nicht nur die ringöffnende Polymerisation, sondern auch Umesterungen [80], was besonders bei hoher Temperatur auftritt [243]. Die alternativen Katalysatoren sollten auch im Hinblick auf die eventuelle Verringerung dieser Nebenreaktion hin überprüft werden. Es wurden kommerziell erhältliche Systeme gewählt, um die leichte Zugänglichkeit der Katalysatoren zu gewährleisten.

Um kontrollierte Polymerisationsbedingungen zu erreichen, wird zusätzlich ein Initiator benötigt [244–246]. Das ausgewählte weite Spektrum an Initiatoren (siehe Tabelle 5) ermöglicht es, den Einfluss der Initiatoren analysieren zu können. Das Spektrum erstreckt sich von Wasser über einfache Alkohole wie Isopropanol bis zu aromatischen Alkoholen, beispielsweise Benzylalkohol.

Tabelle 5: Für die Polymerisationen verwendete Initiatoren

Substanz	weitere Bedeutung
Wasser	Polares Lösungsmittel
Isopropanol	einfacher Alkohol
Benzylalkohol	Standardinitiator
Allylphenol	Modellverbindung für Tyrosin
Propargylalkohol	Alkingruppeneinführung
Azidopropanol	Azidgruppeneinführung
Azidohexanol	Azidgruppeneinführung

Benzylalkohol wurde als Vergleichsinitiator gewählt, weil er der meistgenutzte Initiator für die ringöffnende Polymerisation ist und daher als Standardinitiator bezeichnet werden kann [245, 247, 248].

Mit Benzylalkohol kann keine funktionelle Gruppe in das Polymer eingeführt werden, dies wäre allerdings interessant um eine weitere Modifikation des Polymers zu ermöglichen. So wurden Azidoalkohole und Propargylalkohol als weitere zu betrachtende Initiatoren ausgewählt. Initiatoren mit einer Azidogruppe führen diese in das entstehende Polymer ein. Somit kann das entstehende Polymer, zum Beispiel mittels der Click-Reaktion, weiter funktionalisiert werden [82]. Propargylalkohol führt eine Alkingruppe ein, welche ebenfalls die Funktionalisierung mittels der Click-Reaktion ermöglicht [82].

Eine weitere interessante Funktionalisierungsmöglichkeit ist das Herstellen von Protein-Polymerhybriden. Somit ist es interessant zu überprüfen, ob Tyrosin ein möglicher Initiator für die ringöffnende Polymerisation sein kann, dafür wurde Allylphenol als Modellverbindung gewählt. Wenn sich Allylphenol als wirksamer Initiator erweist, liefert dies wichtige Anhaltspunkte, um Protein-Polymerhybride herzustellen.

Herstellung der Scaffolds und Wachstumskammern

Das Ziel war, für die Herstellung von Scaffolds eine einfache, reproduzierbare Methode zu entwickeln.

Die Porengröße der Scaffolds muss ausreichend groß sein, sodass die Zellen durch den Scaffold wandern und zum Beispiel bei Präadipozyten auch differenzieren können. Gleichzeitig müssen sie aber auch hinreichend klein sein, damit die Zellen durch den Kontakt zu Nachbarzellen zur Differenzierung stimuliert werden [249]. Durch die Kombination von Mikro- und Makroporen kann man beiden Anforderungen gerecht werden: Makroporen, welche die Migration vereinfachen, und Mikroporen, die für die nötige Nähe zwischen Nachbarzellen und somit für Stimulation sorgen.

Daher soll die Methode die Möglichkeit bieten, Scaffolds mit Makro- und Mikroporen herzustellen. Mittels Drucktechniken wie selektivem Lasersintern sowie der Schmelzschichtung (FDM: Fused Deposition Modeling) [168, 224, 250] können Scaffolds mit vollständiger Interkonnektivität hergestellt werden. Diese Verfahren bedingen jedoch den Zugang zu entsprechenden Geräten und können Kombinationen aus Mikro- und Makroporen nur schwer realisieren [225]. Viele der Methoden benötigen außerdem hohe Temperaturen, um die Polymere verarbeiten zu können [226].

Einfache Verfahren der Scaffoldherstellung, welche keine aufwendigen technische Geräte benötigen, sind beispielsweise die temperaturinduzierte Phasenseparation [251] und das Herauslösen eines Porenbildners [204]. Beide Methoden gelten als einfach und reproduzierbar [207, 252–254]. Keine davon ermöglicht jedoch für sich genommen, eine Kombination von Makro- und Mikroporen herzustellen.

Die Methoden wurden daher in der vorliegenden Arbeit kombiniert, um Scaffolds mit Mikro- und Makroporen einfach und reproduzierbar herstellen zu können. Die temperaturinduzierte Phasenseparation führt zu Mikroporen in den Wänden zwischen den Porogenporen. Dies verbessert gleichzeitig die Interkonnektivität der Scaffolds, welche sonst bei der Porogenherauslösenden Methode schwierig zu kontrollieren ist und teilweise als unzureichend angesehen wird [255].

In der Literatur werden vereinzelt Wachstumskammern beschrieben, die den Scaffold und das darin wachsende Gewebe vor mechanischen Stress zu schützen [169, 170]. Jedoch bestehen diese aus nicht bioabbaubaren Materialien und bedingen somit eine weitere Operation, um sie wieder zu entfernen und das Gewebe an den passenden Ort zu transplantieren [169, 170, 256]. Eine Wachstumskammer, die sich im Körper abbaut, vermeidet diese Operation und ermöglicht die Regeneration des Gewebes vor Ort. Bioabbaubare Wachstumskammern herzustellen war somit ein weiteres Ziel dieser Doktorarbeit.

Untersuchung der Scaffolds und Wachstumskammern

Die Morphologie eines Scaffolds hat großen Einfluss auf Zelladhäsion, Migration, Proliferation und Differenzierung der Zellen [257]. Zur Morphologie gehören die Porosität, die Porengröße und die Interkonnektivität [257]. Um die Morphologie zu untersuchen, wurde die Lichtmikroskopie und die Rasterelektronenmikroskopie (REM) als Methoden ausgesucht, weil sie sich ergänzende Informationen bieten. Unter dem Lichtmikroskop gibt die unterschiedliche Helligkeitsverteilung durch die unterbrochenen Polymerbereiche des Scaffolds ein gutes Indiz für die Interkonnektivität. Die Auflösung des Lichtmikroskops ist jedoch nicht hoch genug, um kleinere Poren oder die Mikroporen zu untersuchen. Daher wurde die Morphologie mithilfe der dafür weit verbreiteten Rasterelektronenmikroskopie (REM) genauer analysiert [174, 257].

Neben der Morphologie haben auch die mechanischen Eigenschaften der Scaffolds einen Einfluss auf die Zellen. Sie sollten denen des regenerierenden Systems möglichst ähnlich sein [160, 258] und ausreichen, um den im Körper auftretenden Kompressionskräften zu widerstehen [259]. Um die mechanischen Eigenschaften der Scaffolds und Wachstumskammern zu untersuchen, wurden Kompressionsversuche mit dem MTS Bionix als Testmethode herangezogen.

Zelleinwachstumstests

Eine wichtige Anwendung für Scaffolds und Wachstumskammern ist die Regeneration großvolumiger Gewebeschäden.

Um sicherzugehen, dass die Scaffolds für die Nutzung in der regenerativen Medizin geeignet sind, muss ihre Zellkompatibilität mittels Zelltests analysiert werden. Dafür wurden primär Präadipozyten genutzt.

Präadipozyten können im Gegensatz zu Adipozyten (Fettzellen) noch proliferieren, können Ischämie (Mangeldurchblutung) leichter aushalten als diese und lassen sich leicht aus dem subkutanen Depot oder auch während Bauchoperationen gewinnen [21]. Sie sind somit die idealen Zellen zur Regeneration fehlender Fettgewebemasse und werden bei den meisten Strategien zur Brustrekonstruktion angewandt [21, 249].

Die Scaffolds sollten zusätzlich in Hinblick auf ihre Verwendbarkeit für die Zahngeweberekonstruktion untersucht werden. Periodontale Ligament Fibroblasten sind die wichtigsten Zellen im periodontalen Ligament, dem weichen Gewebe, welches die Zahnwurzel und den Knochen bedeckt [260]. Dies macht sie zu geeigneten Zellen für die periodontale Regeneration [261]. Und somit der richtigen Zelllinie, um die Scaffolds auf ihre Verwendbarkeit in der Zahngeweberekonstruktion hin zu überprüfen.

Weiterhin ist es interessant die Präadipozyten und Fibroblasten zu vergleichen, weil die undifferenzierten Präadipozyten den Fibroblasten morphologisch sehr ähnlich sind [21].

Die Zellkompatibilität der Scaffolds sollte durch Zelleinwachstumstests analysiert werden. Dabei sollte besonderes Augenmerk auf den Einfluss der Makroporengröße gelegt und untersucht werden wie die Zellen auf die Mikroporen reagieren.

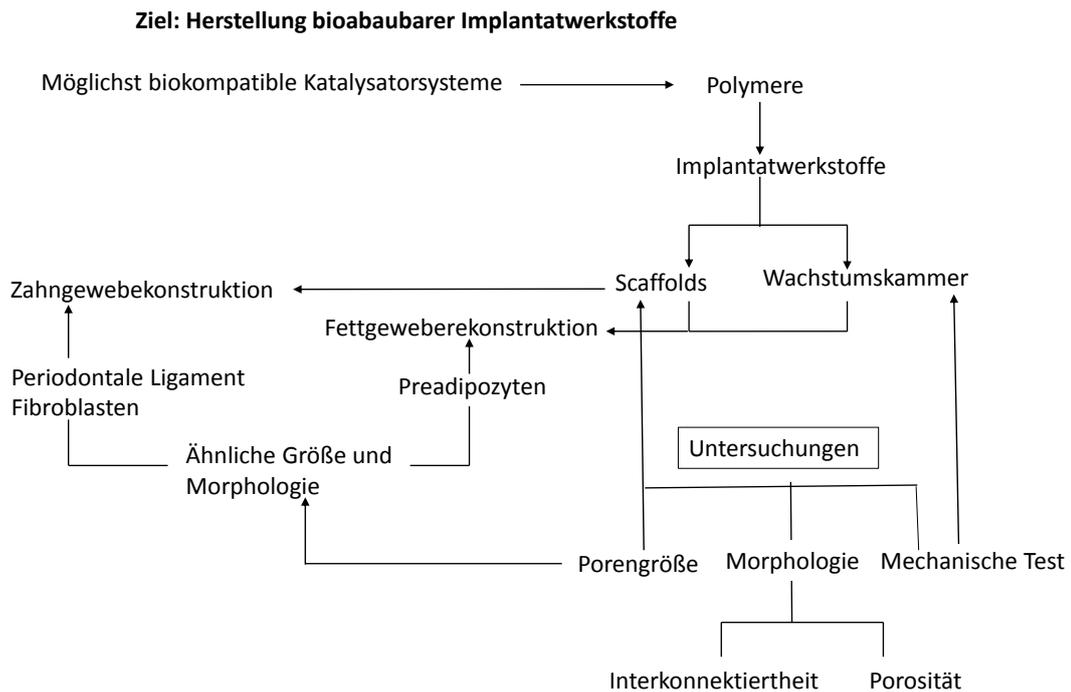


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Themen und Strategien der Dissertation.

4 Neue Katalysatoren für die ringöffnende Polymerisation

4.1 Variationsmöglichkeiten der Reaktionsansätze

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen neue Ansätze für die Synthese von Biopolymeren via ringöffnender Polymerisation entwickelt werden. Dabei hängt die Eignung eines Katalysators für die ringöffnende Polymerisation von einer Vielzahl weiterer Reaktionsparameter ab. Aus diesem Grund wurden diese Parameter gemäß der Abbildung 20 variiert. Ziel war es, Katalysatoren zu finden, die unter möglichst vielen Reaktionsbedingungen Polymer mit einem von der Anwendung geforderten Molekulargewicht liefern.

Ein wesentlicher Faktor bei der ringöffnende Polymerisation ist die Reaktionstemperatur. Der übliche Temperaturbereich für Polymerisationen mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat liegt im Bereich um 140°C, weshalb die Katalysatoren zunächst bei 140°C miteinander verglichen wurden. Niedrige Reaktionstemperaturen können für die Verwendung biologischer Moleküle nützlich sein. Aus diesem Grund wurden Polymerisationen bei Raumtemperatur durchgeführt.

Als Reaktionsmedium kann entweder Lösungsmittel, oder das Monomer an sich dienen. Bei niedrigeren Temperaturen kann der Einsatz von Lösungsmittel lohnenswert sein. Lösungsmittel bei Polymerisationen um 140°C einzusetzen ist problematisch, weil der Siedepunkt gängiger Lösungsmittel darunter liegt (Toluol 111°C, Dioxan 101°C, Chloroform 61°C [262]).

Als herzustellende Polymere wurden Poly(ϵ -Caprolacton), Poly(DL-Lactid) und Copolymere ausgewählt, die Gründe werden im Folgenden erläutert.

Poly(ϵ -Caprolacton) ist gut löslich, degradiert langsam in 2-4 Jahren (abhängig vom Molekulargewicht) und besitzt schon bei niedrigen Temperaturen eine gute Formbarkeit [35].

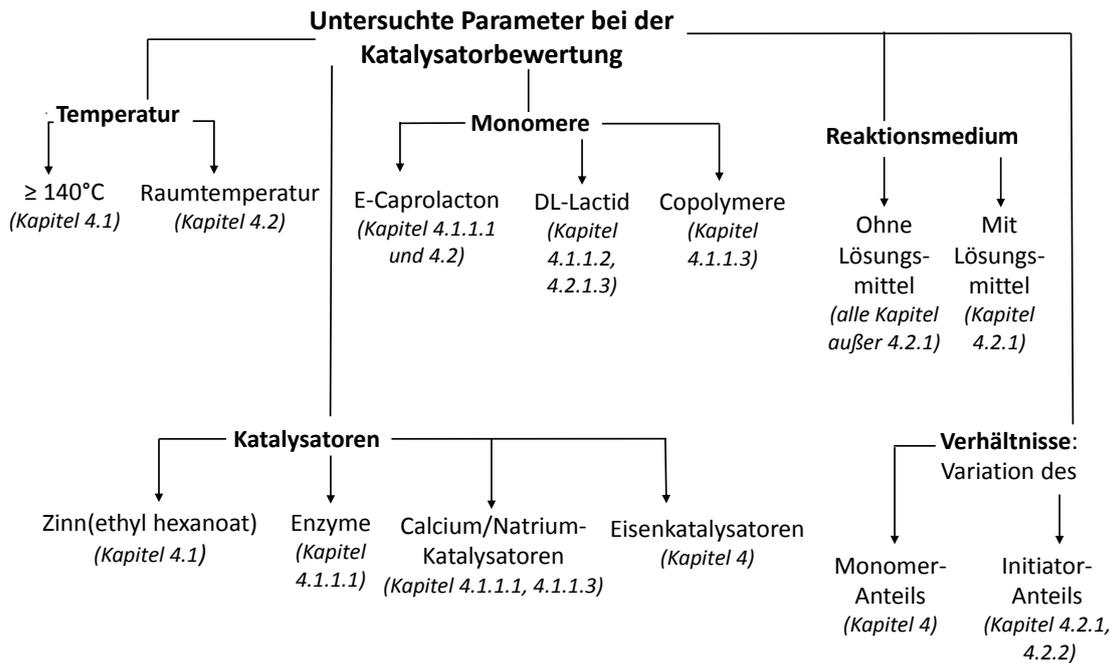


Abbildung 20: Übersicht über die variierten Parameter bei der Untersuchung der Polymere. In kursiv stehen die Kapitel, in welchen der jeweilige Parameter behandelt wird.

Das Monomer ϵ -Caprolacton ist eine Flüssigkeit und ermöglicht somit bei Raumtemperatur sowohl Polymerisationen ohne Lösungsmittel als auch Polymerisationen mit Lösungsmittel. Lösungsmittel können einen Einfluss auf die Polymerisationen von ϵ -Caprolacton haben, sodass es interessant ist, Lösungsmittelpolymerisationen zu analysieren.

DL-Lactid ist ein Feststoff. Um somit Poly(DL-Lactid) ohne Lösungsmittel herstellen zu können, müssen die Reaktionen oberhalb seines Schmelzpunktes bei 122-126°C durchgeführt werden. Bei Raumtemperatur wird ein Lösungsmittel benötigt.

Copolymere haben einen anderen Degradationsverlauf als die reinen Polymere und erlauben die Integration von Glycolid. Poly(Glycolid) ist in organischen Lösungsmitteln praktisch unlöslich und schwer analysierbar [263], wohingegen lösliche, Glycolid enthaltende, Copolymere herstellbar sind.

Bei den Reaktionen um 140°C dient Zinn(II)-2-ethylhexanoat als Vergleichskatalysator. Bei den Reaktionen, die bei Raumtemperatur durchgeführt wurden, wurde Zinn(II)-2-ethylhexanoat nicht berücksichtigt, weil dieser Katalysator bei der Temperatur nicht effektiv katalysiert (bezüglich der Polymerisation von Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei Raumtemperatur siehe Anhang Seite 198). Eisenkatalysatoren wurden dagegen bei hohen Temperaturen und bei Raumtemperatur untersucht.

Raumtemperaturpolymerisationen ermöglichen die Einführung temperaturlabiler

Gruppen wie Azide und somit die Initiation mit Azidoalkoholen. Auch sind sie interessant im Hinblick auf "Grüne Chemie", wobei besonders Polymerisationen ohne Lösungsmittel in dieser Hinsicht von Interesse sind [264], weshalb darauf das Hauptaugenmerk gelegt wurde. Wenn auf Lösungsmittel verzichtet wird, wird bei der Reaktion weniger Abfall verursacht, was eine der Hauptforderungen bei der "Grünen Chemie" ist [264, 265]

In (fast) allen Polymerisationen wurden Monomer, Katalysator und ein Initiator verwendet, in Einzelfällen wurde auf den Initiator verzichtet. Das Verhältnis [Monomer]:[Katalysator]:[Initiator] ([M]:[C]:[I]) hat einen Einfluss auf das Molekulargewicht [115, 241]. Häufig wird der Initiator in einem Überschuss zum Katalysator angewendet, zum Beispiel 2-facher oder 5-facher Überschuss [266, 267]. Unterschiedliches Molekulargewicht wird durch Variation des Monomeranteils erreicht [80, 140]. Eine andere Möglichkeit ist die Variation des Initiatoranteils [268].

4.1.1 Polymerisationen bei 140°C oder höher

Es wurde überprüft, welche Eisen- und (Erd)alkalikatalsatoren tauglich sind, um für die regenerative Medizin geeignete Polymere herzustellen. Dafür müssen Polymere mit einem Molekulargewicht von mindestens $15 \frac{kg}{mol}$ synthetisiert werden können. Um die Katalysatoren bezüglich des erreichbaren Molekulargewichts zu vergleichen, wurden für möglichst viele Polymerisationen die gleichen Bedingungen gewählt. Diese waren [Monomer]:[Katalysator]:[Initiator] ([M]:[C]:[I]) 2000:1:2, Benzylalkohol als Initiator und 140°C als Reaktionstemperatur. Als Reaktionsendpunkt wurde der Zeitpunkt gewählt, zu dem keine mechanische Rührbarkeit mehr gegeben war.

Dieses Schema wurde durchbrochen, wenn sich diese Bedingungen als ungeeignet für den Vergleich der Katalysatoren erwiesen. So hatten Vorversuche gezeigt, dass Alkali- und Erdalkalikatalsatoren mit steigendem Monomer- zu Katalysatorverhältnis niedrigeres Molekulargewicht ergeben und schon ab [M]:[C]:[I] = 500:1:2 keine effektiven Katalysatoren mehr sind. Aus diesem Grund wurde für sie das Verhältnis [M]:[C]:[I] = 100:1:2 zum Vergleich mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat gewählt.

Bei den Enzymen konnte [M]:[C] = 2000:1 beibehalten werden. Allerdings wären 140°C zu hoch für die Polymerisation mit Enzymen, aus diesem Grund wurde hierfür 60°C gewählt. Die Temperatur, bei der Enzyme im Höchstfall eingesetzt werden können, hängt von der Konformationsstabilität der Proteine ab [269]. Die optimale Reaktionstemperatur der meisten Lipasen liegt um 60°C [270].

Für die effektivsten Katalysatoren wurde untersucht, ob durch Variation des Monomeranteils das Molekulargewicht beeinflusst wird.

Die Wirksamkeit der Katalysatoren wurde für unterschiedliche Monomere analysiert.

Bei ϵ -Caprolacton und DL-Lactid wurden drei verschiedene Modifikationen von Eisenbromid bei verwendet, um zu überprüfen, ob der Oxidationszustand einen Einfluss auf das Molekulargewicht hat. So wurden Eisen(III)bromid, Eisen(III)bromid mit Ascorbinsäure und Eisen(II)bromid miteinander verglichen.

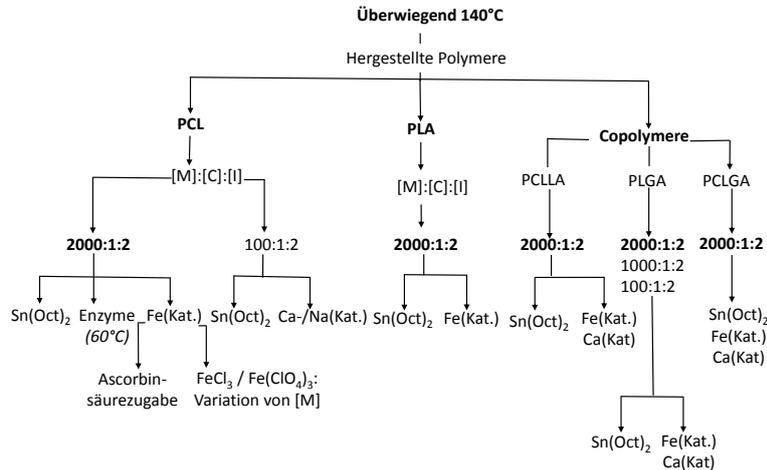


Abbildung 21: Übersicht über die untersuchten Polymerisationen bei 140°C.

4.1.1.1 Polymerisation von ϵ -Caprolacton

Zunächst wurden die Katalysatoren bezüglich ihrer Effektivität für die Polymerisation von ϵ -Caprolacton untersucht.

Das oben erwähnte Schema ([Monomer]:[Katalysator]:[Initiator] ([M]:[C]:[I]) = 2000:1:2, 140°C) musste sowohl bei den (Erd)alkalikatalsatoren und bei den Enzymen durchbrochen werden. Bei den (Erd-)Alkalikatalsatoren wurde das Verhältnis [M]:[C]:[I] = 100:1:2 gewählt. Die mittels Enzymen katalysierten Reaktionen wurden bei 60°C durchgeführt. Dabei wurde für die Lipase aus *Candida antarctica* (CALb) das Verhältnis [M]:[C]:[I] = 2000:10wt%:1 und bei der Lipase aus *Thermomyces lanuginosus* (TLL) [M]:[C]:[I] = 2000:15%:1 genutzt.

Die Polymerisation führt zu einem Viskositätsanstieg, als Reaktionsendpunkt wurde der Zeitpunkt genommen, zu dem keine mechanische Rührbarkeit mehr gegeben war.

Katalysatorsysteme, welche unter diesen Umständen weniger als $15 \frac{kg}{mol}$ ergaben, wurden nicht berücksichtigt. Polymere mit einem Molekulargewicht unter $15 \frac{kg}{mol}$ sind für die Anwendung in der regenerativen Medizin nicht geeignet [240].

Ascorbinsäure kann zum einen den Katalysator reduzieren, zum anderen das Monomer durch Übertragung eines Wasserstoffes aktivieren. Dies kann zur Initiierung der Polymerisation führen. Es wurde überprüft, ob auf diesem Weg durch Zugabe von Ascorbinsäure das Molekulargewicht beeinflusst wird.

Tabelle 6: Polymerisation von ϵ -Caprolacton bei 140°C beim Verhältnis [M]:[C]:[I] = 2000:1:2. Vergleich unterschiedlicher Katalysatoren. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben. Abkürzungen: CALb = Lipase aus *Candida antarctica*, TLL = Lipase aus *Thermomyces lanuginosus*, BnOH = Benzylalkohol, Asc. = Ascorbinsäure, Ausb. = Ausbeute, E = Effizienz, * = nicht bestimmt.

Katalysator	Initiator	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI	E
Sn(Oct) ₂	BnOH	13	77	155,0 (104,4)	87,6 (56,8)	1,8	38,8
Fe(III)citrat	Glucose	168	46	72,5 (49,3)	30,7 (21,5)	2,2	*
FeBr ₃ , Asc.	BnOH	72	52	59,2 (33,7)	25,5 (17,2)	1,9	*
FeCl ₃	BnOH	25	76	47,5 (35,8)	25,2 (17,7)	2,1	1,9
Fe(NO ₃) ₃ , Asc.	BnOH	72	74	45,8 (27,2)	20,1 (14,4)	1,9	*
Fe(NO ₃) ₃	BnOH	24	70	40,1 (29,4)	18,0 (14,5)	2,0	1,6
FeCl ₃ , Asc.	BnOH	46	62	39,3 (23,1)	17,7 (11,1)	1,9	*
Fe(acetat)	BnOH	103	83	33,84 (28,7)	17,4 (14,9)	1,9	*
FeBr ₂	BnOH	24	45	32,4 (20,3)	21,6 (13,2)	1,6	1,4
TLL	BnOH	7	2,9	28,8 (15,6)	16,3 (9,0)	2,9	4,1
Fe(ClO ₄) ₃ , Asc.	BnOH	2	78	31,7 (24,6)	17,2 (13,0)	1,9	15,9
FeBr ₃	BnOH	32	68	27,4 (23,6)	18,6 (15,2)	1,6	0,9
Fe(ClO ₄) ₃	BnOH	25	83	23,5 (19,9)	12,1 (11,5)	1,7	11,7
CALb	BnOH	3	45	22,4 (19,6)	12,1 (10,6)	1,9	7,5
Fe ₂ (SO ₄) ₃	BnOH	24	70	21,8	13,2	1,7	0,9

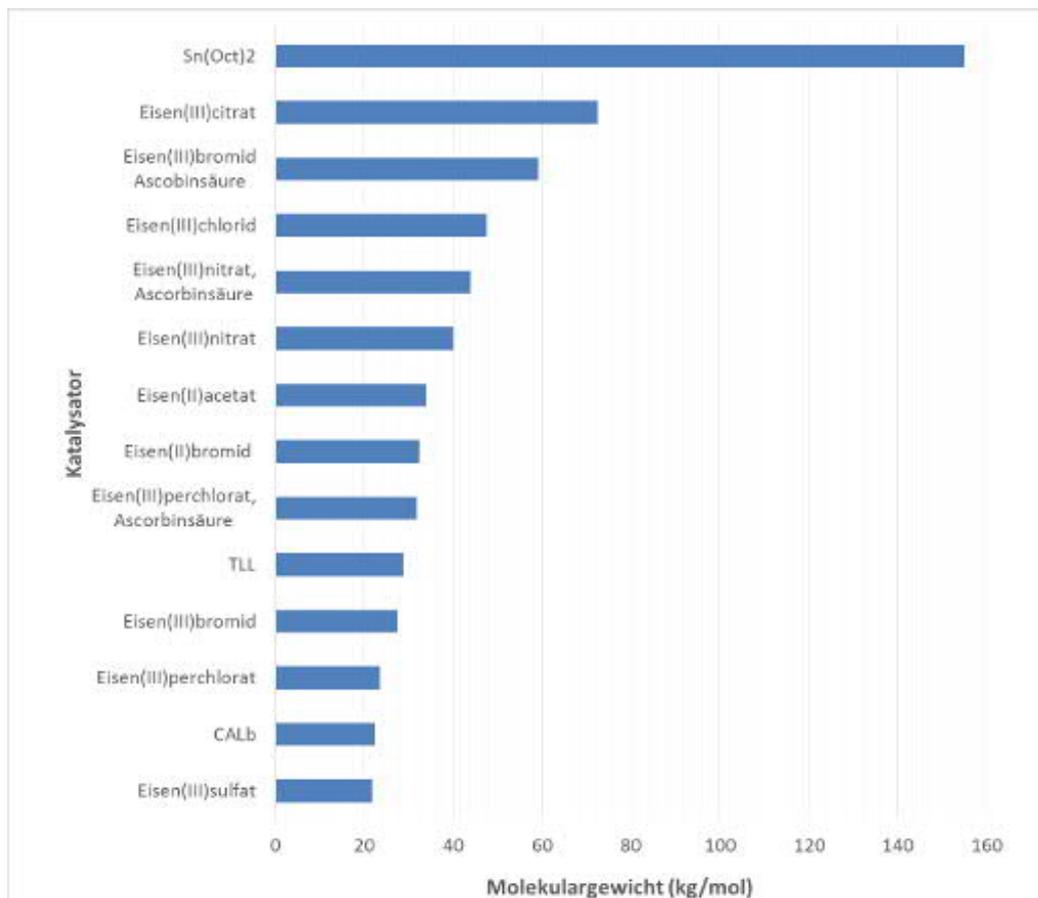


Abbildung 22: Vergleich der Effektivität der Metallkatalysatoren bei der Polymerisation von ϵ -Caprolacton bei 140°C und dem Verhältnis [M]:[C]:[I] = 2000:1:2. Der Katalysator, mit dem das höchste Molekulargewicht erreicht werden konnte, steht oben und die Katalysatoren sind in Reihenfolge des abnehmenden Molekulargewichts (Mw) sortiert. Mit den Enzymen wurden bei 60°C polymerisiert, als Verhältnisse wurden bei CALb (Lipase aus *Candida antarctica*) [M]:[C]:[I] = 2000:10wt%:1 und bei TLL (Lipase aus *Thermomyces lanuginosus*) [M]:[C]:[I] = 2000:15wt%:1 verwendet.

Abbildung 22 und Tabelle 6 zeigen die Ergebnisse der Polymerisationen. Die Tabelle 6 ist, ebenso wie folgende Tabellen, in Reihenfolge absteigenden Molekulargewichts (Mw) sortiert. Zinn(II)-2-ethylhexanoat ergibt mit bis zu 155 $\frac{kg}{mol}$ das höchste Molekulargewicht. Das zweithöchste Molekulargewicht (72 $\frac{kg}{mol}$) wurde mit Eisen(III)citrat und Glucose als Initiator erreicht. Allerdings ist es bei der Verwendung von Glucose als Initiator, im Gegensatz zu Benzylalkohol, möglich, dass mehrere Polymerketten von einem Initiator initiiert werden und somit können Verzweigungen im Polymer vorkommen. Die Polymerisation mit Eisen(III)citrat und Benzylalkohol als Initiator erreichte nur 6 $\frac{kg}{mol}$ und wurde somit nicht aufgeführt. Dies ist ein Hinweis, dass Glucose mehrere Polymerketten initiiert hat.

Bezüglich der mit Benzylalkohol-initiierten Reaktionen erreicht Eisen(III)bromid mit Ascorbinsäure mit $59 \frac{kg}{mol}$ das höchste Molekulargewicht der eisenkatalysierten Reaktionen (siehe Tabelle 6). Um die Katalysatoreffizienz zu vergleichen wurde ausgerechnet, wie viel $\frac{kg}{mol}$ sich pro Stunde ergeben.

Zinn(II)-2-ethylhexanoat ergibt $38,8 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde und ist somit der effizienteste Katalysator (siehe Tabelle 6). Der effizienteste Eisenkatalysator ist Eisen(III)perchlorat mit Ascorbinsäure, womit bis zu $15,9 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde erreicht werden. Ohne Ascorbinsäure ist Eisen(III)perchlorat mit bis zu $11,7 \frac{kg}{mol}$ weniger effektiv, aber immer noch deutlich besser als die anderen Eisenkatalysatoren. Andere Eisenkatalysatoren erreichen höchstens $2 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde. Die Enzyme sind relativ effektiv: mit CALb werden $7,5 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde erreicht und mit TLL $4,1 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde. Polymerisationen mit TLL führen jedoch zu sehr niedriger Ausbeute (2,9%), bei CALb liegt sie mit 45% im mittleren Bereich.

Die Ergebnisse legen eine gewisse Bevorzugung von Eisen(II)bromid gegenüber von Eisen(III)bromid nahe. Mit Eisen(II)bromid kann höheres Molekulargewicht erreicht werden, jedoch erhält man mit Eisen(III)bromid Polymere mit einem höheren durchschnittlichen Molekulargewicht. Folglich können mit Eisen(II)bromid zwar höhere Spitzenwerte erreicht werden, reproduzierbarer sind jedoch die Polymerisationen mit Eisen(III)bromid. Somit kann nicht von einer Bevorzugung einer Oxidationsstufe gesprochen werden. Die Zugabe von Ascorbinsäure zu Eisen(III)bromid führt zu einem höherem Molekulargewicht.

Ascorbinsäurezugabe führt nicht nur bei Eisen(III)bromid, sondern größtenteils auch bei den anderen Katalysatoren zu einem höheren erreichbaren Molekulargewicht und zu einer höheren Effizienz (siehe Tabelle 6. Einzige Ausnahme ist Eisen(III)chlorid. Eine Erklärung für die unterschiedliche Wirkung von Ascorbinsäure, ist die Stabilität der bei einem Austausch der Liganden entstehenden Gegenionen.

Im Fall einer weichen Lewisbase wie Perchlorat ist der Austausch des Liganden gegen einen Alkohol (harte Lewisbase) energetisch günstig und wird mehrmals stattfinden (siehe Abbildung 23 a). Ist jedoch der Ligand eine harte Lewisbase, wie im Fall von Chlorid, wird dieser Austausch seltener stattfinden, da er energetisch nicht begünstigt ist (siehe Abbildung 23 b).

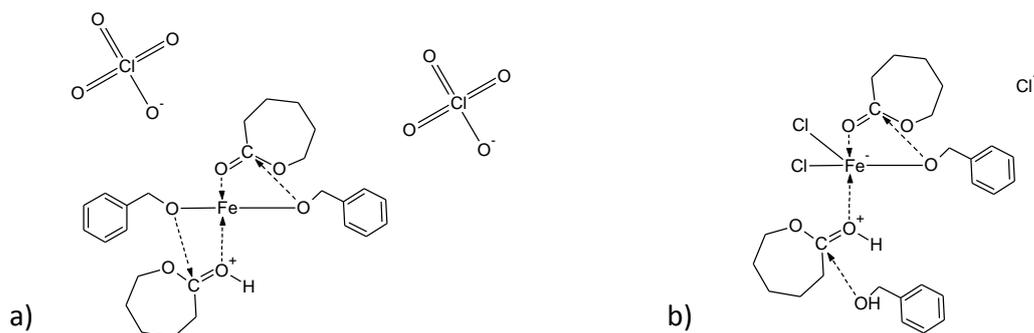


Abbildung 23: Alternative Übergangszustände bei Benutzung von Ascorbinsäure.

Ascorbinsäure kann als Säure dem Monomer ein Proton übertragen und es so aktivieren. Die Monomere können Eisen konjugieren. Bei Verwendung von Ascorbinsäure können die Monomere vom Eisen und von der Ascorbinsäure aktiviert werden. Im Fall der weichen Lewissäure stehen zwei Alkohole in unmittelbarer Umgebung des Eisens zur Verfügung, somit kann der Eisenkatalysator zwei Polymerketten gleichzeitig katalysieren. Auf diese Weise kann höheres Molekulargewicht als ohne Ascorbinsäure erreicht werden.

Im Fall von Katalysatoren mit harten Lewissäuren ist dagegen nur ein Alkohol am Eisen gebunden. Folglich kann der Katalysator nur ein Monomer direkt polymerisieren. Das durch die Ascorbinsäure aktivierte Monomer wird dagegen durch einen freien Alkohol initiiert. Somit wird in diesem Fall die Polymerisation durch die Ascorbinsäure katalysiert. Es entsteht eine Konkurrenzsituation, welche das Molekulargewicht erniedrigen kann.

Zur weiteren Analyse empfehlen sich Eisen(III)bromid mit Ascorbinsäure, weil damit bei Initiaton mit Benzylalkohol das höchste Molekulargewicht erreicht wurde. Weiterhin Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat, weil dies die effizientesten Katalysatoren sind (siehe Tabelle 6)

Bei Eisen(III)perchlorat und dem nächst effizientesten Eisenkatalysator Eisen(III)chlorid wurde untersucht, ob sich das Molekulargewicht durch Erhöhung des Monomer- zu Katalysatorverhältnisses erhöhen lässt. Wie bei den vorherigen und folgenden Reaktionen wurde als Reaktionsendpunkt der Zeitpunkt gewählt, zu dem keine mechanische Rührbarkeit mehr gegeben war.

Bei Eisen(III)perchlorat führt eine Erhöhung des Monomer- zu Katalysatorverhältnisses, abgesehen von einem Ausreißer beim Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 4000:1:2$, zu einer Erhöhung des Molekulargewichts. Bei Eisen(III)chlorid dagegen lässt sich kein Trend feststellen; das höchste Molekulargewicht ergibt sich bei $[M]:[C]:[I] = 2000:1:2$. Die Ausbeute ist bei allen Reaktionen mit mindestens 70% ziemlich hoch (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7: Polymerisation von ϵ -Caprolacton bei 140°C beim Verhältnis [M]:[C]:[I] = x:1:2 und Benzylalkohol als Initiator. Untersuchung des Einflusses der Erhöhung des Monomer- zu Initiatorverhältnisses bei Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat.

Katalysator	[M]	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
FeCl ₃	1200	3	76	27,3	15,4	1,8
Fe(ClO ₄) ₃	1200	120	83	14,1	7,6	1,9
FeCl ₃	2000	22	78	35,8	17,7	2,1
Fe(ClO ₄) ₃	2000	25	78	23,5	12,1	1,9
FeCl ₃	4000	88	71	27,8	14,9	1,9
Fe(ClO ₄) ₃	4000	95	87	14,1	7,9	1,8
FeCl ₃	6000	88	71	27,8	14,9	1,9
Fe(ClO ₄) ₃	6000	3	71	31,9	12,4	2,6
FeCl ₃	8000	52	81	17,4	9,5	1,8
Fe(ClO ₄) ₃	8000	2	90	30,8	14,8	2,1

Um auch die Alkali- und Erdalkalikatalsatoren mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat vergleichen zu können, wurden einige Polymerisationen im Verhältnis [M]:[C]:[I] = 100:1:2 durchgeführt. Höhere Verhältnisse ergaben bei den (Erd)alkalikatalsatoren niedrigeres Molekulargewicht.

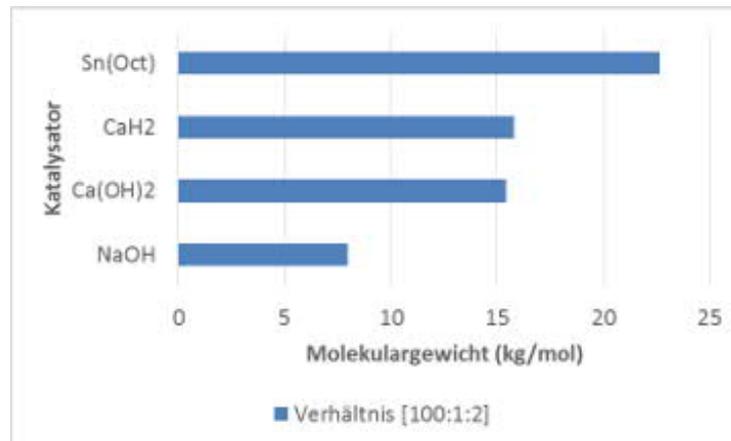


Abbildung 24: Vergleich der Effektivität der Katalysatoren bezüglich der Polymerisation von ϵ -Caprolacton bei 140°C und dem Verhältnis [M]:[C]:[I] = 100:1:2.

Das erreichte Molekulargewicht ist bei allen Katalysatoren relativ niedrig, auch bei Zinn(II)-2-ethylhexanoat werden bei diesem Verhältnis nur 22 $\frac{kg}{mol}$ erreicht (siehe Abbildung 24). Eine Erklärung dafür ist, dass Zinnkatalysatoren auch sehr effizient Umesterungen katalysieren [271]. Wenn bei höherem Monomer- zu Katalysatoranteil die ringöffnende Polymerisation die bevorzugte Reaktion ist, während es bei niedrigerem Monomer- zu Katalysatoranteil die Umesterung ist, erklärt dies das niedrige Molekulargewicht.

4.1.1.2 Polymerisation von DL-Lactid

Im Fall der Polymerisation von DL-Lactid wurde untersucht, ob die Oxidationszahl des Katalysators einen Einfluss auf das erreichbare Molekulargewicht hat. Dazu wurden ϵ -Caprolacton mit Eisenbromid in der Oxidationstufe II und III und unter Zugabe von Ascorbinsäure polymerisiert. Es wurden die in Abbildung 25 gezeigten Ergebnisse erhalten.

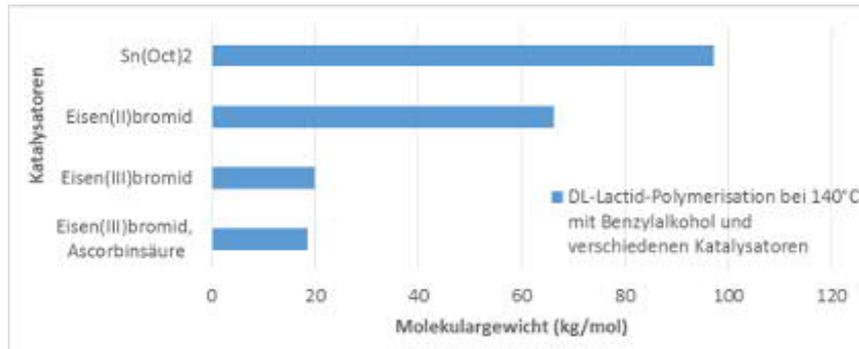


Abbildung 25: Vergleich der Polymerisation von DL-Lactid mit Eisenkatalysatoren und Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei 140°C und dem Verhältnis [M]:[C]:[I] = 2000:1:2.

Tabelle 8: Polymerisation von DL-Lactid bei 140°C beim Verhältnis [M]:[C]:[I] = 2000:1:2 und Benzylalkohol als Initiator. Einfluss der Oxidationszahl auf die Polymerisation. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

Katalysator	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Sn(Oct) ₂	20	83	97,1 (55,3)	44,4 (40,7)	1,7
FeBr ₂	48	80	66,1 (40,3)	36,0 (21,8)	1,9
FeBr ₃	24	24	19,9 (15,0)	12,5 (9,9)	1,5
FeBr ₃ , Asc.	37	80	18,4 (13,8)	11,7 (8,9)	1,5

Zinn(II)-2-ethylhexanoat erreicht auch bei der Polymerisation von DL-Lactid bei 140°C mit $97 \frac{kg}{mol}$ das höchste Molekulargewicht. Das Polymer mit dem zweithöchsten Molekulargewicht $66 \frac{kg}{mol}$ kann mit Eisen(II)bromid als Katalysator hergestellt werden. Dagegen können mit Eisen(III)bromid als Katalysator nur Polymere mit einem Molekulargewicht bis zu $18 \frac{kg}{mol}$ synthetisiert werden. Im Gegensatz zu den Polymerisationen von ϵ -Caprolacton zeigt sich bei DL-Lactid eine Bevorzugung von Eisen(II)bromid. In der Literatur wurde eine völlige Inaktivität von Eisen(III)komplexen bezüglich der Polymerisation von L-Lactid beschrieben [141]. Dies konnte nicht bestätigt werden.

Die Zugabe von Ascorbinsäure führt bei der Polymerisation von DL-Lactid mit Eisen(III)bromid sowohl zu einer Verringerung des Molekulargewichts als auch der Ausbeute (siehe Tabelle 8).

Dies lässt darauf schließen, dass im Gegensatz zu ϵ -Caprolacton nur ein DL-Lactid-Monomer an den Eisenkatalysator koordinieren kann, wodurch sich eine Konkurrenzsituation zwischen der Aktivierung des Monomers durch das Eisen und durch Ascorbinsäure ergibt. Dies verringert das Molekulargewicht.

4.1.1.3 Herstellung von Copolymeren

Abgesehen von den reinen Monomeren wurden auch Monomermischungen zu Copolymeren polymerisiert. Dabei wurde größtenteils $[M]:[C]:[I] = 2000:1:2$ beibehalten, ebenso wurde weiterhin Benzylalkohol als Initiator verwendet.

Zunächst wurden Copolymere aus ϵ -Caprolacton und DL-Lactid untersucht. Bei den reinen Polymeren hatte sich Eisen(III)bromid als effektiver für die Polymerisation von ϵ -Caprolacton als für die Polymerisation von DL-Lactid erwiesen. Bei den Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) -Copolymeren wurde überprüft, ob dies auch bei den Monomermischungen zu beobachten ist.

Bei dem Copolymer im Verhältnis 50:50 wurde wiederum der Einfluss der Oxidationszahl von Eisenbromid untersucht. Dazu wurden Eisen(II)bromid und Eisen(III)bromid als Katalysatoren genutzt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 26 dargestellt.

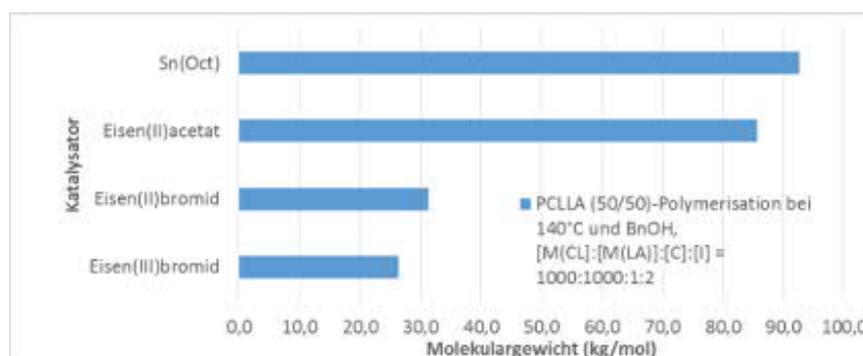


Abbildung 26: Vergleich der Tauglichkeit der Katalysatoren, bei einer 50:50 Mischung aus ϵ -Caprolacton und DL-Lactid, bei 140°C und dem Verhältnis $[M_{Cl}]:[M_{La}]:[C]:[I]$ 1000:1000:1:2.

Tabelle 9: Polymerisation von DL-Lactid und ϵ -Caprolacton im Verhältnis 1:1 bei 140°C im Verhältnis $[M_{Cl}]:[M_{La}]:[C]:[I] = 1000:1000:1:2$ und Benzylalkohol als Initiator. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

Katalysator	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Sn(Oct) ₂	4	87	92,6 (59,7)	47,9 (31,5)	1,9
Fe(OAc) ₂	24	49	85,7	46,7	1,8
FeBr ₂	48	65	31,3 (26,1)	13,5 (12,8)	2,3
FeBr ₃	24	48	26,5 (25,5)	12,6 (12,6)	2,1

Auch bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) im Verhältnis 50:50 erweist sich Eisen(II)bromid als effektiverer Katalysator als Eisen(III)bromid. Jedoch ist das Molekulargewicht ungefähr in dem Bereich des erreichten Molekulargewichts, welches bei der ϵ -Caprolacton-Polymerisation erreicht wurde. Dies zeigt, dass DL-Lactid die Polymerisation nicht zu inhibieren scheint.

Einen weiteren Hinweis auf die Bevorzugung von Katalysatoren mit der Oxidationszahl II zeigt sich für Eisen(II)acetat. Eisen(II)acetat ergibt mit $85 \frac{kg}{mol}$ ein fast so hohes Molekulargewicht, wie mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat erreicht werden kann. Eisen(II)acetat wurde in der Literatur bereits als guter Katalysator für L-Lactid beschrieben [144, 272]. Mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat können Polymere mit einem Molekulargewicht bis zu $92 \frac{kg}{mol}$ hergestellt werden. Auch die Ausbeute ist mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat am höchsten und die Reaktion verläuft schneller als bei den Eisenkatalysatoren (siehe Tabelle 9).

Die Polymerisationen einer Mischung aus ϵ -Caprolacton und DL-Lactid im Verhältnis 80:20 wurden bei 140°C und bei 160°C durchgeführt. Die Polymerisationen bei 140°C ergaben mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat ein Molekulargewicht von $111,7 \frac{kg}{mol}$. Dagegen konnte nur mit einem der Eisenkatalysatoren, nämlich Goethit, einem Eisenmineral aus der Mineralklasse der Oxide und Hydroxide, aus dieser Monomermischung Polymer mit einem Molekulargewicht über $15 \frac{kg}{mol}$ hergestellt werden. Abgesehen von Benzylalkohol wurde bei diesen Polymerisationen auch Allylphenol (AlOH) als Initiator verwendet. Abbildung 27 zeigt das Ergebnis.

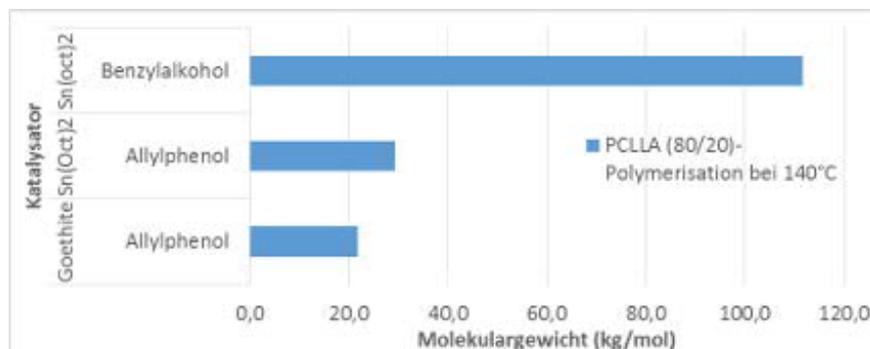


Abbildung 27: Vergleich der Eignung der Katalysatoren zur Polymerisation einer 80:20 Mischung aus ϵ -Caprolacton und DL-Lactid, bei 140°C unter Verwendung von Benzylalkohol oder Allylphenol als Initiator.

Allylphenol erweist sich als schlechter Initiator für Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Mit Allylphenol ergibt sich ein deutlich niedrigeres Molekulargewicht als mit Benzylalkohol (siehe Abbildung 27). Es ist kaum höher als das mit Goethite unter diesen Umständen erreichte.

Tabelle 10: Polymerisation von Lactid und ϵ -Caprolacton im Verhältnis $[M_{CL}]:[M_{La}]:[C]:[I] = 1600:400:1:2$ bei 140°C . Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

Katalysator	Initiator	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$)	Mn ($\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$)	PDI
Sn(Oct) ₂	Benzylalkohol	19	79	111,7 (66,2)	46,1 (31,7)	1,5
Sn(Oct) ₂	Allylphenol	25	74	29,4 (20,4)	12,6 (9,8)	1,5
Goethite	Allylphenol	72	49	21,9	13,3	2,3

Weitere Polymerisationen von ϵ -Caprolacton und DL-Lactid im Verhältnis 80:20 wurden bei 160°C durchgeführt. Bei der Temperatur ergaben mehr Eisenkatalysatoren über $150 \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ (siehe Abbildung 28).

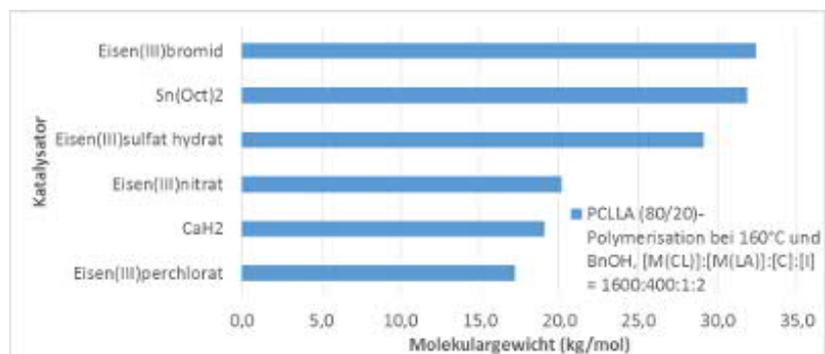


Abbildung 28: Vergleich der Effizienz der Katalysatoren bei der Polymerisation einer 80:20 Mischung aus ϵ -Caprolacton und DL-Lactid, bei 160°C und dem Verhältnis $[M_{CL}]:[M_{La}]:[C]:[I] = 1600:400:1:2$.

Tabelle 11: Polymerisation von DL-Lactid und ϵ -Caprolacton im Verhältnis 80:20 bei 160°C im Verhältnis $[M_{Cl}]:[M_{La}]:[C]:[I]$ 1600:400:1:2 und Benzylalkohol als Initiator.

Katalysator	Zeit	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Sn(Oct) ₂	24	76	31,9	17,9	1,8
FeBr ₃	96	77	32,4	18,0	1,9
Fe ₂ (SO ₄) ₃ *H ₂ O	96	95	29,1	15,4	1,9
Fe(NO ₃) ₃	17	53	20,2	13,1	1,5
CaH ₂	19	40	19,1	12,5	1,5
Fe(ClO ₄) ₃	21	50	17,2	10,6	1,6

Eisen(III)bromid ermöglicht bei dem Monomerverhältnis ($[M_{Cl}]:[M_{La}] = 80:20$) höheres Molekulargewicht als mit purem DL-Lactid, purem ϵ -Caprolacton oder dem 50:50 Copolymer. Dies lässt darauf schließen, dass die höhere Temperatur einen positiven Einfluss auf die Eisenkatalysatoren, zumindest auf Eisen(III)bromid hat. Auch Calciumhydrid profitiert von der Temperaturerhöhung. Bei 140°C konnten mit Verhältnissen oberhalb von $[M]:[C]:[I] = 500:1:2$ nur Oligomere hergestellt werden. Dagegen wurden bei 160°C beim Verhältnis 2000:1:2 Polymere mit dem Molekulargewicht von $19 \frac{kg}{mol}$ hergestellt. Dagegen ergibt sich bei 160°C mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat ein deutlich niedrigeres Molekulargewicht als bei 140°C. Dies dürfte wiederum daran liegen, dass Zinn(II)-2-ethylhexanoat auch Umesterungen katalysiert (vgl. Seite 50), was das Molekulargewicht vermindert [80]. Höhere Temperaturen verstärken die Umesterung [243]. Dafür ergibt sich mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat eine höhere Ausbeute als mit den Eisenkatalysatoren, außer im Fall von Eisen(III)bromid (siehe Tabelle 11).

Als weitere Monomermischung wurden ϵ -Caprolacton und Glycolid im Verhältnis 75:25 polymerisiert. Dabei ergaben sich die in Abbildung 29 gezeigten Ergebnisse.

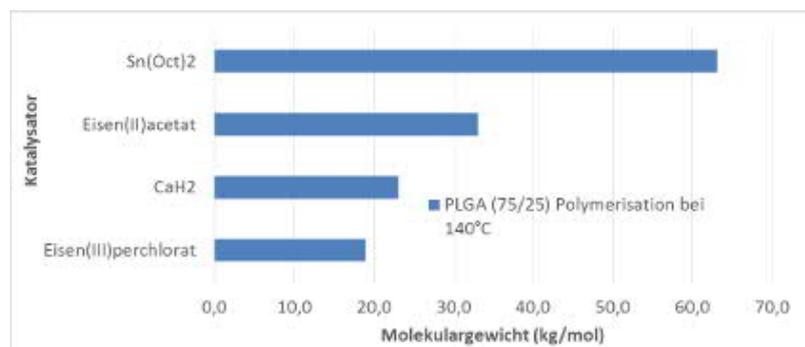


Abbildung 29: Vergleich der Verwendbarkeit der Katalysatoren zur Polymerisation einer 75:25 Mischung aus ϵ -Caprolacton und Glycolid bei 140°C.

Nur mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat und Goethit ergaben sich Polymere, welche ein Molekulargewicht über $15 \frac{kg}{mol}$ hatten und somit eventuell für die Anwendung in der Geweberekonstruktion eingesetzt werden könnten. Mit den Eisenkatalysatoren ergeben sich, im Gegensatz zu Zinn(II)-2-ethylhexanoat, relativ niedrige Ausbeuten von höchstens 42% (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Polymerisation von ϵ -Caprolacton und Glycolid im Verhältnis 75:25 bei 140°C im Verhältnis $[M_{Cl}]:[M_{Gly}]:[C]:[I]$ 1500:500:1:2.

Katlyikator	Initiator	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Sn(Oct) ₂	BnOH	21	73	42,2	23,3	1,8
Goethit	keiner	96	18	27,4	13,1	2,3
FeCl ₃	BnOH	21	42	12,0	5,2	2,1
Fe(NO ₃) ₃	BnOH	21	33	5,4	3,2	1,8

Es wurden auch Copolymere ohne ϵ -Caprolacton und zwar eine Monomermischung aus DL-Lactid und Glycolid hergestellt. Poly(DL-Lactid-co-Glycolid) im Verhältnis 75:25 DL-Lactid zu Glycolid ist ein im Bereich der Geweberekonstruktion häufig genutztes Polymer [207, 273]. In dieser Arbeit wurde für Zinn(II)-2-ethylhexanoat und die Eisenkatalysatoren Benzylalkohol als Initiator verwendet. Die mit Calciumhydrid katalysierte Reaktion wurde mit Wasser initiiert. Eisen(III)perchlorat, Eisen(II)acetat und Calciumhydrid ergaben Polymer mit einem Molekulargewicht über $15 \frac{kg}{mol}$ (siehe Abbildung 30).

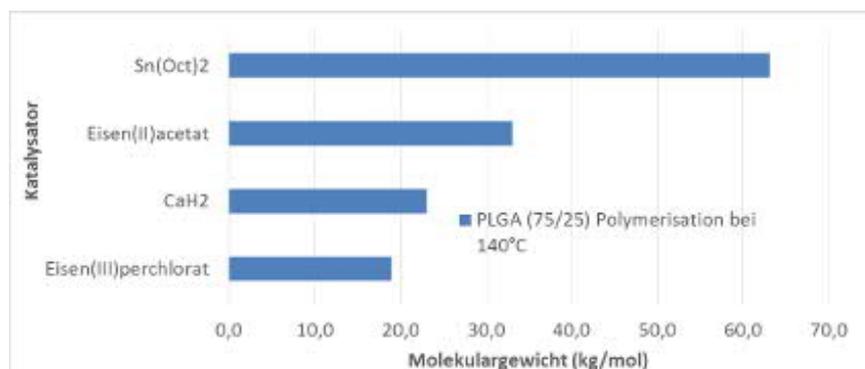


Abbildung 30: Vergleich der Effektivität der Katalysatoren, bei einer 75:25 Mischung aus DL-Lactid und Glycolid, bei 140°C .

Tabelle 13: Polymerisation von DL-Lactid und Glycolid im Verhältnis 75:25 bei 140°C. Abkürzungen: BnOH = Benzylalkohol, Monomer = M, Lactid = La, Glycolid = Gly.

Katalysator	Initiator	$[M_{La}]:[M_{Gly}]:[C]:[I]$	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Sn(Oct) ₂	BnOH	1500:500:1:2	16	85	63,2	25,1	2,5
Fe(OAc) ₂	BnOH	750:250:1:2	48	68	33,2	20,6	1,6
CaH ₂	H ₂ O	75:25:1:2	24	78	23,1	14,3	1,6
Fe(ClO ₄) ₃	BnOH	750:250:1:2	24	78	18,9	14,7	1,8

Die Ausbeute ist bei allen Katalysatoren mit mindestens 68% ziemlich gut (siehe Tabelle 13). Der Unterschied im Molekulargewicht zwischen Zinn(II)-2-ethylhexanoat und Eisen(II)acetat ist nicht groß. Jedoch verläuft die Reaktion mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat deutlich effizienter. Mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat ergeben sich fast $4 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde mit Eisen(II)acetat nur $0,7 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde.

4.1.1.4 Diskussion der Ergebnisse

Im Fall der Polymerisationen, die bei 140°C durchgeführt wurden, ging es darum, die besten alternativen Katalysatoren zu Zinn(II)-2-ethylhexanoat herauszufinden. Es wurde nach Katalysatoren gesucht, welche ein möglichst hohes Molekulargewicht erzielen und möglichst effektiv sind. Wobei Effektivität in Bezug auf das erreichbare Molekulargewicht pro Stunde definiert wurde.

Um die Eignung der Katalysatoren für die ringöffnende Polymerisation einschätzen zu können, wurden bei möglichst vielen Reaktionen die gleichen Bedingungen gewählt. So wurde überwiegend Benzylalkohol als Initiator und das Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 2000:1:2$ verwendet.

In Bezug auf die Polymerisation von ϵ -Caprolacton erwiesen sich Eisen(III)chlorid, Eisen(III)bromid und Eisen(III)perchlorat als die effizientesten Katalysatoren.

Eisen(III)perchlorat zeigt bei der Polymerisation von ϵ -Caprolacton bei 140°C die höchste Effektivität der Eisenkatalysatoren. Sie liegt bei über $10 \frac{kg}{mol}$ pro h, während mit den anderen Eisenkatalysatoren nur circa $2 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde erreicht werden können. Somit ist Eisen(III)perchlorat der effizienteste Katalysator für ϵ -Caprolacton bei 140°C.

Das Molekulargewicht konnte bei der Polymerisation mit Eisen(III)bromid und Eisen(III)perchlorat durch die Zugabe von Ascorbinsäure gesteigert werden. Dagegen verminderte Ascorbinsäure das Molekulargewicht bei der Katalyse mit Eisen(III)chlorid. Eine mögliche Erklärung kann mit Hilfe des HSAB-Prinzip formuliert werden [274] zusammen. Bromid und Perchlorat sind weiche Lewisbasen, wohingegen Chlorid härter ist. Eisen(III) ist eine harte Lewissäure, ebenso wie Alkohol eine harte Lewisbase ist. Die Kombination weich/weich oder hart/hart begünstigt eine Reaktion [275].

Hier fördert dieses Prinzip den Austausch von Bromid und Perchlorat gegen Alkohol, während dies bei Chlorid nicht der Fall ist. Somit ist der Austausch bei Chlorid unwahrscheinlicher. Ascorbinsäure kann ϵ -Caprolacton ein Proton übertragen und es so aktivieren. Das aktivierte Monomer kann ebenso wie das inaktive Monomer an Eisen koordinieren. Im Fall von Eisen(III)perchlorat und Eisen(III)bromid sind direkt am Eisen mehrere Alkohole koordiniert. So können auch die durch Ascorbinsäure aktivierten Monomere mittels des Eisenkatalysators polymerisiert werden.

Dagegen muss das Ascorbinsäure-aktivierte Monomer im Fall von Eisen(III)chlorid durch einen freien Alkohol initiiert werden. Somit wird es zu einer Konkurrenzsituation kommen. Ein Teil der Monomere wird durch Eisen(III)chlorid katalysiert und ein anderer durch Ascorbinsäure. Dies erklärt die Verminderung des Molekulargewichts bei der Katalyse mit Eisen(III)chlorid.

Für die effektivsten Katalysatoren, Eisen(III)perchlorat und Eisen(III)bromid, wurde überprüft, ob durch Erhöhung des Monomeranteils ein höheres Molekulargewicht erreicht werden kann. Dies ist bei Eisen(III)perchlorat in einem gewissen Rahmen der Fall. Bei Eisen(III)chlorid hingegen ergibt sich beim Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 2000:1:2$ das höchste Molekulargewicht. Die Neigung der unterschiedlichen Katalysatoren, Alkohol zu binden, bietet eine Erklärung für das uneinheitliche Verhalten. So steigt das erzielte Molekulargewicht auch bei Eisen(III)chlorid vom Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 1200:1:2$ zum Verhältnis $2000:1:2$ an, sinkt von dort aus aber wieder. Mit zunehmendem Monomeranteil wird die Wahrscheinlichkeit eines Zusammentreffens von Katalysator, Monomer und Alkohol zur Initiierung der Reaktion geringer. Im Fall von Eisen(III)perchlorat wird dies deutlich später auftreten als bei Eisen(III)chlorid, da mehr Alkohol direkt am Katalysator koordiniert ist. So tritt der Verdünnungseffekt später als bei Eisen(III)chlorid auf. Im Fall von ϵ -Caprolacton konnte keine Bevorzugung einer Oxidationszahl des Katalysators festgestellt werden. Dagegen bevorzugt DL-Lactid ebenso wie das Copolymer aus DL-Lactid und ϵ -Caprolacton im Verhältnis 50:50 Eisenkatalysatoren mit der Oxidationszahl II. Bei reinem DL-Lactid konnte keine Verbesserung des Molekulargewichts durch die Zugabe von Ascorbinsäure festgestellt werden. Dies lässt darauf schließen, dass bei DL-Lactid die Koordination des Monomers an das Eisen nicht so gut funktioniert wie bei ϵ -Caprolacton.

Zinn(II)-2-ethylhexanoat ergibt häufig höheres Molekulargewicht als die alternativen Katalysatoren. Jedoch zeigt es sich anfälliger bezüglich Nebenreaktionen. Unter Umständen, welche die Umesterung als Nebenreaktion verstärken (niedriges Monomer- zu Katalysatorverhältnis und hohe Temperatur 160°C), ergab sich deutlich niedrigeres Molekulargewicht, wohingegen diese Umstände bei den Eisenkatalysatoren und Calciumkatalysatoren keinen negativen Einfluss haben. Die Temperaturerhöhung führt bei diesen Katalysatoren statt dessen zu einer Erhöhung des Molekulargewichts. Daraus kann man folgern, dass die Calcium- und Eisenkatalysatoren weniger anfällig für Umesterungen sind als Zinn(II)-2-ethylhexanoat.

Das Molekulargewicht der mit alternativen Katalysatoren hergestellten Copolymere unterschied sich nur wenig vom Molekulargewicht der mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat-hergestellten Copolymere.

Mit den Eisenkatalysatoren können mit allen gewählten Monomeren effektiv Polymere mit einem Molekulargewicht oberhalb von $15 \frac{kg}{mol}$ synthetisiert werden. Somit eignen sie sich, um Polymere für die regenerative Medizin herzustellen.

Auch in Bezug auf DL-Lactid und die Copolymere erwiesen sich Eisen(III)chlorid, Eisen(III)bromid und Eisen(III)perchlorat als die effektivsten Katalysatoren. Sie wurden folglich auf ihre Tauglichkeit für die Polymerisation bei Raumtemperatur untersucht.

4.2 Variation der Reaktionsbedingungen

4.2.1 Lösungsmittelreaktionen

Es wurden die Katalysatorsysteme untersucht, welche bei den 140°C-Reaktionen am effektivsten waren: Eisen(III)bromid mit Ascorbinsäure, womit das Polymer mit dem höchstem Molekulargewicht hergestellt wurde, sowie Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat, welche das höchste Molekulargewicht pro Stunde ergaben und somit die effizientesten Katalysatoren waren. Die durchgeführten Untersuchungen sind in Abbildung 31 zusammengefasst.

Die Zugabe von Ascorbinsäure zu Reaktionen bei Raumtemperatur erwies sich in Vorversuchen als nicht zielführend. Polymerisationen mit Eisen(III)bromid und Ascorbinsäure als Katalysator von ϵ -Caprolacton ergaben nur $6 \frac{kg}{mol}$ und mit Eisen(III)chlorid nur $3 \frac{kg}{mol}$. Vermutlich liegt dies an der (bei Raumtemperatur) schlechteren Löslichkeit von Ascorbinsäure in ϵ -Caprolacton. Aus diesem Grund wurde auf weitere Versuche mit Ascorbinsäure bei Raumtemperatur verzichtet.

Da ϵ -Caprolacton eine Flüssigkeit ist, kann die Polymerisation mit oder ohne Lösungsmittel erfolgen. Ein Argument für Lösungsmittel ist, dass es die sonst stattfindende Erhöhung der Viskosität der Reaktionen, wenn unterhalb des Schmelzpunktes des entstehenden Polymers polymerisiert wird, verhindert. Zusätzlich kann das Lösungsmittel auch einen Einfluss auf die Polymerisationen von ϵ -Caprolacton haben, zum Beispiel bezüglich der Kinetik und des Molekulargewichts. Somit wurde zunächst überprüft, ob sich bei der Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit oder ohne Lösungsmittel höheres Molekulargewicht ergibt. Zusätzlich wurde der Einfluss des Lösungsmittels auf die Kinetik der Polymerisation betrachtet. Außerdem wurde überprüft, wie sich eine Variation des Initiatoranteils auf das erreichbare Molekulargewicht auswirkt.

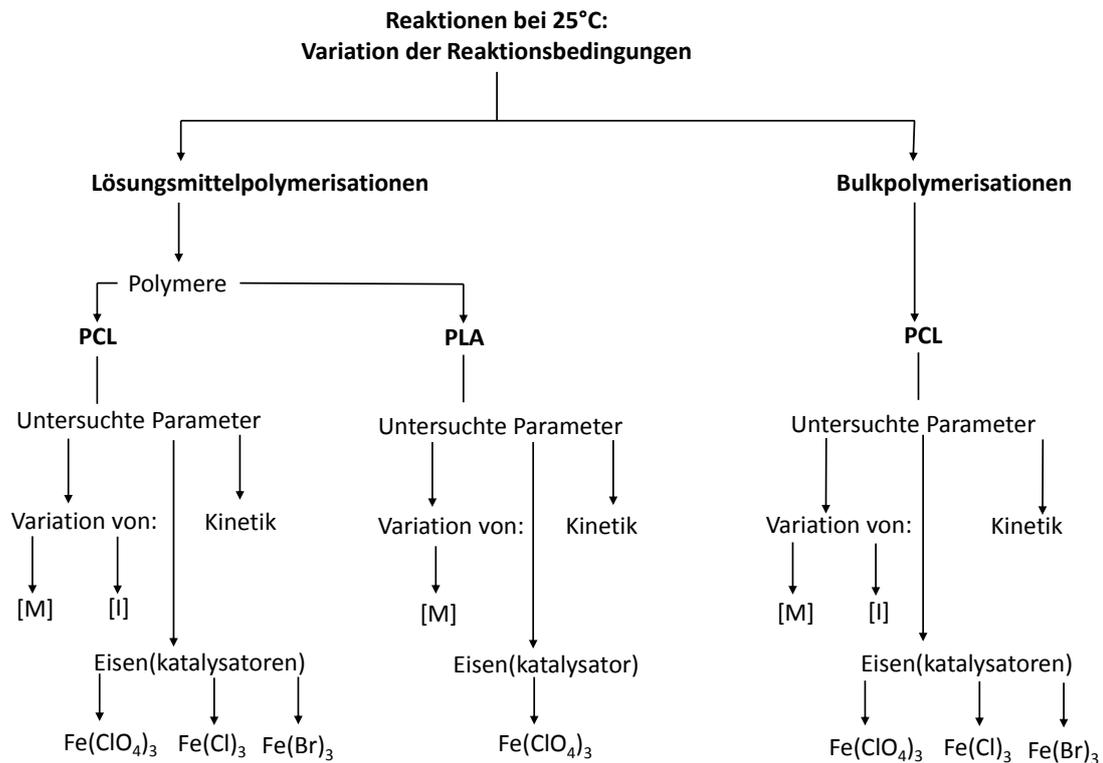


Abbildung 31: Übersicht über die untersuchten Polymerisationen bei 25°C. Verwendete Abkürzungen: [M] = [Monomer], [I] = [Initiator], PCL = Poly(ϵ -Caprolacton), PLA = Poly(DL-Lactid)

Auch bei der Polymerisation von DL-Lactid in Lösungsmittel wurde die Kinetik untersucht und überprüft, ob sich durch Erhöhung des Monomeranteils das Molekulargewicht erhöhen lässt.

Bei den Bulkreaktionen wurde die Rolle der Initiatoren analysiert und dafür ein großes Spektrum an Initiatoren von Wasser, über einfache Alkohole wie Isopropanol bis zu aromatischen Alkoholen wie Benzylalkohol herangezogen. Um die Möglichkeit zu bieten, die Polymere weiterzufunktionalisieren, wurden Azidoalkohole und Propinol als weitere Initiatoren untersucht. Diese führen eine Azidogruppe bzw. eine Alkinogruppe ein und bieten somit die Option, die Polymere mittels der Clickreaktion funktionalisieren zu können [276].

Bei den Initiatoren, welche das höchste Molekulargewicht ergeben, wurde ermittelt, ob dies durch Variation des Initiatoranteils weiter erhöht werden kann.

4.2.1.1 Lösungsmittelpolymerisation von ϵ -Caprolacton

Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat haben sich in vorherigen Versuchen als effektive Katalysatoren erwiesen und wurden folglich genauer untersucht. Als Monomer wurde zunächst ϵ -Caprolacton und Propagylalkohol als Initiator gewählt. Dabei wurde ausgenutzt, dass niedrigere Temperaturen die Verwendung temperaturlabiler Initiatoren, wie Propagylalkohol, erlauben. Es wurden Reaktionen mit Lösungsmittel (Tetrahydrofuran (THF)) und ohne Lösungsmittel (Bulkreaktionen) miteinander verglichen (siehe Abbildung 32).

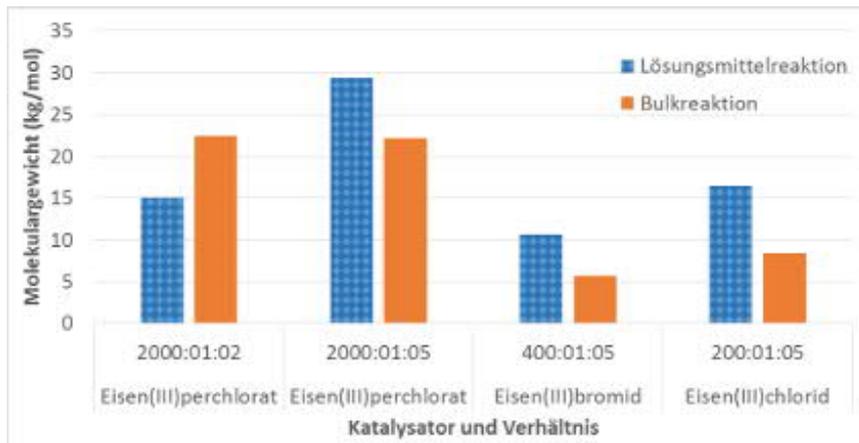


Abbildung 32: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Propagylalkohol bei Raumtemperatur, mit und ohne trockenem THF.

Bei einem Katalysator- zu Initiatorverhältnis von $[C]:[I] = 1:2$ ergibt die Bulkreaktion das höhere Molekulargewicht. Bei einem Katalysator- zu Initiatorverhältnis von $[C]:[I] = 1:5$ hingegen die Lösungsmittelreaktion. Wenn mehr Initiator anwesend ist, können mehr Polymerketten gleichzeitig gestartet werden. Dies führt zu einer schnelleren Erhöhung der Viskosität.

Die Zugabe von Lösungsmittel bewirkt, dass dieser Effekt geringer ausgeprägt ist als bei Reaktionen ohne Lösungsmittel. Somit kann die schnellere Erhöhung der Viskosität bei den Bulkreaktionen zu niedrigerem Molekulargewicht führen. Die Ausbeute ist bei den Bulkreaktionen, außer bei der Polymerisation mit Eisen(III)chlorid, höher als die der Lösungsmittelreaktion (siehe Tabelle 14).

Die Ansatzgröße ist ein weiterer Aspekt, welcher Einfluss auf das Molekulargewicht haben kann. Bei Eisen(III)bromid und Eisen(III)chlorid war die Ansatzgröße der Lösungsmittelreaktion deutlich höher als die der Bulkreaktion. Die Lösungsmittelpolymerisationen von Eisen(III)bromid und Eisen(III)chlorid, wurden gleichzeitig zur Überprüfung der Kinetik der Reaktion genutzt. Um ausreichend Polymer für die Analyse der einzelnen Proben zu haben, wurde dafür die Ansatzgröße erhöht.

Tabelle 14: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Propagylalkohol bei Raumtemperatur im Vergleich mit und ohne trockenem THF.

Katalysator	[M]:[C]:[I]	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Fe(ClO ₄) ₃ , THF	2000:1:2	24	17	15,1	9,5	1,5
Fe(ClO ₄) ₃	2000:1:2	20	83	23,5 (22,4)	15,4 (14,1)	1,6
Fe(ClO ₄) ₃ , THF	2000:1:5	24	83	29,4	21,8	1,3
Fe(ClO ₄) ₃	2000:1:5	22	90	22,2	16,5	1,3
FeBr ₃ , THF	400:1:5	24	65	10,6	9,2	1,2
FeBr ₃	400:1:5	1,5	90	5,7	3,5	1,6
FeCl ₃ , THF	200:1:5	24	96	19,7 (16,5)	11,5 (8,2)	2,4
FeCl ₃	200:1:5	0,58	28	8,4	3,8	2,3

Um den Einfluss der Ansatzgröße zu analysieren wurde ϵ -Caprolacton einmal in geringer Ansatzgröße (0,5 g), einmal in geringer Ansatzgröße mit THF und einmal in höherer Ansatzgröße (5 g) polymerisiert. Abbildung 33 zeigt die Ergebnisse.

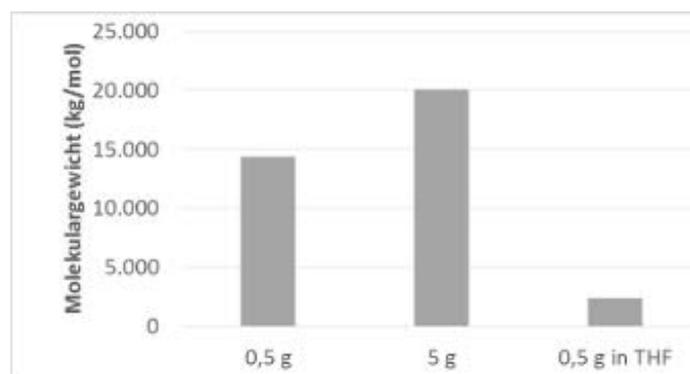


Abbildung 33: Vergleich von unterschiedlichen Ansatzgrößen. Die Reaktionen wurden mit [M]:[C]:[I] = 2000:1:1 und Propagylalkohol als Initiator durchgeführt.

Die Polydispersität der Bulkreaktionen ist mit 1,3 relativ niedrig, während die der Lösungsmittelreaktion mit 3,3 sehr hoch ist. Der hohe Polydispersitätsindex (PDI) bei der Lösungsmittelreaktion liegt wahrscheinlich an der hohen Verdünnung des Monomers im Lösungsmittel. Dadurch war es für die Polymerketten unwahrscheinlicher, mehr Monomere zu finden, als dass sich an mehreren Stellen neue Ketten bildeten.

Die Reaktion mit der größten Ansatzgröße ergab mit $20 \frac{kg}{mol}$ das höchste Molekulargewicht.

Um die Bulk- und Lösungsmittelpolymerisationen genauer zu analysieren wurden Kinetikversuche durchgeführt. Hierfür wurden wiederum Eisen(III)perchlorat, Eisenbromid und Eisen(III)chlorid als Katalysatoren ausgewählt. Es wurden Bulkreaktionen mit Reaktionen in trockenem THF als Lösungsmittel verglichen.

Tabelle 15: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)perchlorat und Propagylalkohol im Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 2000:1:1$ bei Raumtemperatur in verschiedenen Ansatzgrößen.

Ansatzgröße	THF	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
5 g	nein	18	58	20,0	15,8	1,3
0,5 g	nein	18	90	14,4	11,1	1,3
0,5 g	ja	18	69	2,4	0,7	3,3

Bei Eisen(III)perchlorat ergaben sich die in Abbildung 34 aufgetragenen Ergebnisse.

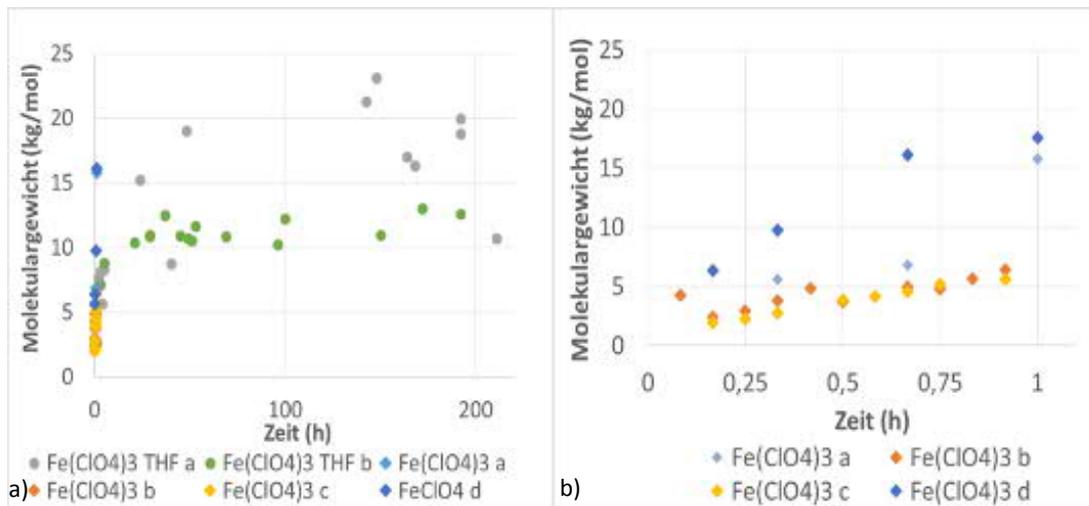


Abbildung 34: Kinetikreaktionen (Eisen(III)perchlorat, $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$ und Benzylalkohol), dabei wurden Lösungsmittelreaktionen (Punkte) und Bulkreaktionen (Rauten) miteinander verglichen. a) Überblick über Lösungsmittelreaktionen und Bulkreaktionen. b) zur besseren Übersicht die Bulkreaktionen einzeln. Es sind jeweils unabhängige Reaktionen, welche mit a-d gekennzeichnet sind.

Mittels Bulkreaktionen können innerhalb kürzerer Zeit Polymere mit einem höheren oder ähnlich hohem Molekulargewicht wie mit der Lösungsmittelpolymerisation gewonnen werden (siehe Bildteil 34 a). Bei den Lösungsmittelreaktionen wächst das Molekulargewicht zunächst relativ schnell, danach knickt der Verlauf deutlich ab und mündet in einem Plateau. Die Kinetik der Bulkreaktionen zeigt einen linearen Verlauf, was auf eine kontrollierte Reaktion schließen lässt. Die Lösungsmittelreaktionen wirken unkontrollierter. Das entstehende Plateau lässt darauf schließen, dass nach einer gewissen Zeit die Rückreaktion eintritt und so das Molekulargewicht nicht weiter steigen kann. Die ringöffnende Polymerisation ist eine Gleichgewichtsreaktion und die Rückreaktion wird um so wahrscheinlicher, je weniger Monomer vorhanden ist. Bei den Bulkreaktionen dagegen steigt das Molekulargewicht relativ linear an (siehe Abbildung 34 b).

Obwohl alle Bulkreaktionen mit dem gleichem Verhältnis angesetzt wurden, ergibt sich nicht bei allen Reaktionen der gleiche Reaktionsverlauf. Dies lässt auf gewisse Probleme mit der Reproduzierbarkeit schließen. Das gleiche gilt für die Lösungsmittelreaktionen. Um eine Einschätzung über die Effektivität der einzelnen Katalysatoren bei Lösungsmittelreaktionen geben zu können, wurden die Polymerisationen mit Eisen(III)chlorid, Eisen(III)perchlorat und Eisen(III)bromid miteinander verglichen (siehe Abbildung 35). Dabei wurde gleichzeitig untersucht, ob die Initiatormenge einen Einfluss auf den Reaktionsverlauf hat.

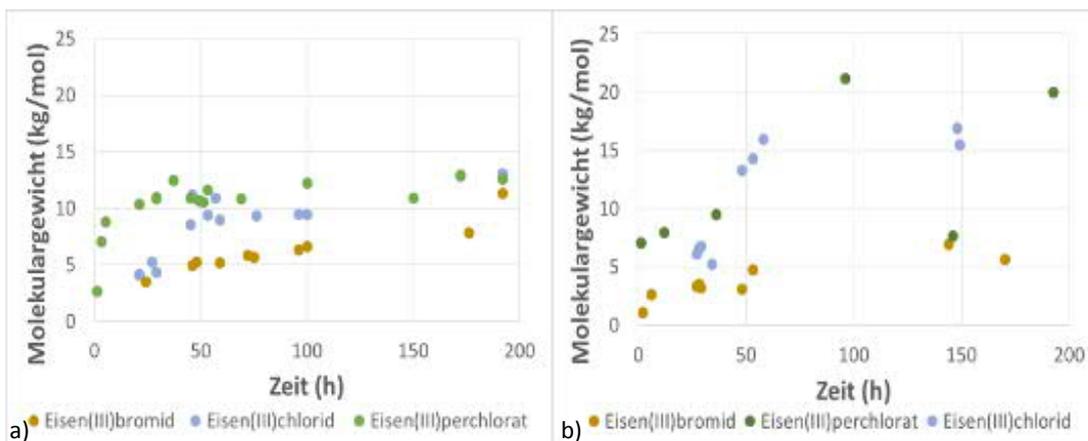


Abbildung 35: Kinetikreaktionen (Eisen(III)bromid, Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat), a) $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$, b) $[M]:[C]:[I] = 400:1:2$. Benzylalkohol wurde als Initiator genutzt, trockener THF diente als Lösungsmittel und die Reaktionen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Beim Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$ zeigen alle Katalysatoren zunächst einen steileren Anstieg und münden schließlich in ein Plateau. Bei Eisen(III)perchlorat wird dieses nach circa 29 h erreicht, bei Eisen(III)chlorid nach circa 50 h.

Im Fall von Eisen(III)bromid ist der anfängliche Anstieg flacher als bei den anderen Katalysatoren und es wird innerhalb der untersuchten Zeit kein eindeutiges Plateau erreicht, wobei der Anstieg ab 50 h flacher wird. Eine Begründung für diesen verschiedenartigen Reaktionsverlauf der Eisenkatalysatoren ist vermutlich eine unterschiedliche Aktivität der Eisenkatalysatoren. Die ringöffnende Polymerisation ist eine Gleichgewichtsreaktion, dabei wird die Rückreaktion wahrscheinlicher, wenn weniger Monomer vorhanden ist. Der Anstieg, welcher bei Eisen(III)perchlorat am steilsten ist, zeigt Eisen(III)perchlorat als, unter diesen Umständen, reaktivsten Katalysator. Folglich werden bei Eisen(III)perchlorat die Monomere schneller verbraucht als bei den anderen Eisenkatalysatoren, was zu einem früheren Verschieben des Gleichgewichts hin zur Rückreaktion führt. Eisen(III)bromid dagegen ist deutlich unreaktiver, sodass auch die Rückreaktion deutlich später eintritt.

Wenn das Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 400:1:2$ verwendet wird, ergeben sich bei den Reaktionen ein etwas anderer Reaktionsverlauf als bei als beim Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$. Über Eisen(III)perchlorat ist es schwer ein Aussage zu treffen, weil die Endwerte stark schwanken. Bei Eisen(III)bromid zeigen sich kaum Änderungen im Reaktionsverlauf von $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$ zu $400:1:2$. Eisen(III)chlorid zeigt bei $[M]:[C]:[I] = 400:1:2$ zu Beginn einen deutlich steileren Anstieg, welcher später als beim anderem Verhältnis in ein Plateau mündet. Dies hängt vermutlich damit zusammen, dass eine geringere Initiatormenge auch eine geringere Anzahl von Polymerketten zur gleichen Zeit starten kann. Eisen(III)chlorid zeigt eine mittlere Katalysatoraktivität, sodass die Initiatormenge bei ihm einen größeren Einfluss hat als beim reaktiverem Eisen(III)perchlorat oder dem unreaktiveren Eisen(III)bromid.

4.2.1.2 Lösungsmittelpolymerisation von DL-Lactid

DL-Lactid ist ein Festkörper und kann somit unter seinem Schmelzpunkt nur in Lösungsmittel polymerisiert werden. Da sich Eisen(III)perchlorat als guter Katalysator erwiesen hat, wurde er für die DL-Lactid-Polymerisationen als Katalysator ausgewählt. Als Initiatoren wurden Propagylalkohol (Propinol) und Benzylalkohol verwendet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 36 zu sehen. In die Grafik wurde zum Vergleich die Katalysatorbedingung, unter welcher Zinn(II)-2-ethylhexanoat das höchste Molekulargewicht erreicht hatte, aufgenommen.

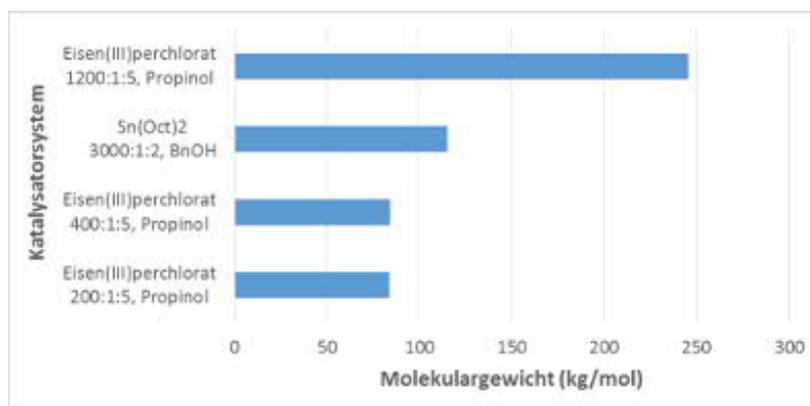


Abbildung 36: Polymerisation von DL-Lactid mit Eisen(III)perchlorat als Katalysator und Propagylalkohol als Initiator bei Raumtemperatur. Zum Vergleich wurde das Katalysatorsystem, mit dem bei Zinn(II)-2-ethylhexanoat das höchste Molekulargewicht erreichte $[M]:[C]:[I] = 3000:1:2$, Benzylalkohl und 140°C), mit aufgenommen.

Tabelle 16: Polymerisation von DL-Lactid mit Eisen(III)perchlorat als Katalysator und Propagylalkohol als Initiator bei Raumtemperatur. Es wurde das höchste erreichte Molekulargewicht und in Klammern der Durchschnittswert angegeben.

Katalysator Lösungsmittel	[M]:[C]:[I]	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Fe(ClO ₄) ₃ , THF	200:1:5	48	61	83,8 (63,5)	61,4 (43,1)	1,6
Fe(ClO ₄) ₃ , THF	400:1:5	22	63	84,2 (66,8)	57,4 (44,3)	1,6
Fe(ClO ₄) ₃ , DMSO	1200:1:5	21	0,9	245,6	57,5	4,3

Tabelle 17: Polymerisation von DL-Lactid mit Eisen(III)perchlorat als Katalysator und Benzylalkohol als Initiator bei Raumtemperatur. Zum Vergleich wurde das Katalysatorsystem, mit dem bei Zinn(II)-2-ethylhexanoat das höchste Molekulargewicht erreichte ([M]:[C]:[I] = 3000:1:2, Benzylalkohol und 140°C), mit aufgenommen. Es wurde das höchste erreichte Molekulargewicht und in Klammern der Durchschnittswert angegeben.

Katalysator Lösungsmittel	[M]:[C]:[I]	Zeit (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
SnOct, 140°C	3000:1:2	1,5	56	115,1	59,5	1,9
SnOct, 140°C	2000:1:2	18	81	97,1 (70,2)	44,4 (40,7)	1,7
Fe(ClO ₄) ₃ , THF	400:1:5	49	61	43,5 (41,0)	21,7 (21,3)	1,9

Wie Abbildung 36 zeigt, können mit Eisen(III)perchlorat Polymere mit einem doppelt so hohen Molekulargewicht erzeugt werden wie mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Allerdings ist die Ausbeute in diesem Fall mit 0,9% extrem niedrig (siehe Tabelle 16). Dies liegt wahrscheinlich an der Verwendung von Dimethylsulfoxid (DMSO) als Lösungsmittel. DMSO löst DL-Lactid zwar ziemlich gut, Poly(DL-Lactid) jedoch mit steigendem Molekulargewicht zunehmend schlechter.

Dies führt zu einer Erhöhung der Viskosität im Laufe der Reaktion, welche die Reaktion behindert und auch die hohe Polydispersität erklärt [128]. Wenn THF als Lösungsmittel verwendet wird, ergeben sich mit mindestens 49% deutlich höhere Ausbeuten. Dafür ist das Molekulargewicht niedriger. Aber immer noch vergleichbar zu dem höchstem Molekulargewicht, was mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat erreicht werden konnte. Zusätzlich ist das Molekulargewicht bei den in THF durchgeführten Reaktionen mit Propagylalkohol als Initiator höher als das Durchschnittsmolekulargewicht von Zinn(II)-2-ethylhexanoat unter den eingangs erwähnten Standardbedingungen von [M]:[C]:[I] = 2000:1:2 und Benzylalkohol als Initiator. Benzylalkohol als Initiator führt zu einem niedrigeren Molekulargewicht (siehe Tabelle 17). Propagylalkohol kann über die Alkingruppe mit der Carbonylgruppe des DL-Lactids koordinieren, was bei Benzylalkohol nicht möglich ist. Dies erklärt, warum mit Propagylalkohol ein höheres Molekulargewicht erreicht werden kann als mit Benzylalkohol.

Um die Eisen(III)perchlorat-katalysierte Polymerisation von DL-Lactid genauer zu untersuchen, wurde die Kinetik analysiert. Dabei diente Propinol, im Ansatzverhältnis $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$, als Initiator. Es ergaben sich die in Abbildung 37 dargestellten Ergebnisse.

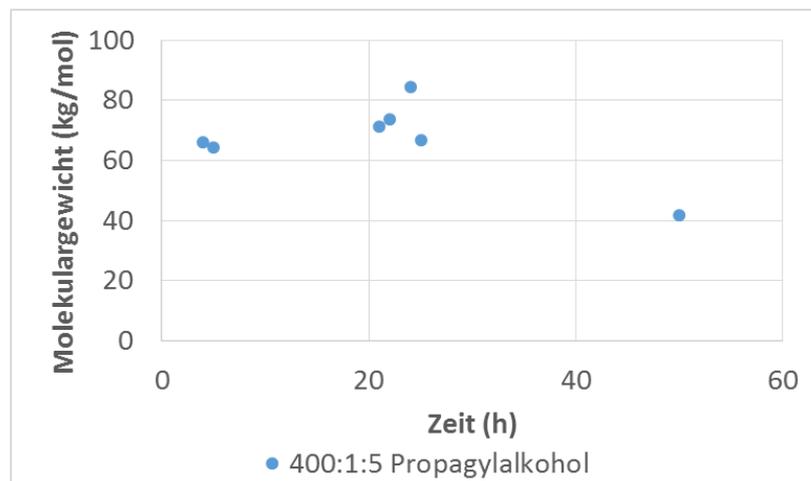


Abbildung 37: Kinetikreaktion der Polymerisation von DL-Lactid mit Eisen(III)perchlorat als Katalysator und Propagylalkohol als Initiator bei Raumtemperatur.

Es wurden anfangs zu wenige Proben entnommen, was es schwierig macht, die Kinetik genau zu interpretieren. Schon nach kurzen Reaktionszeiten zeigt sich keine Änderung mehr. Ob es sich bei dem Datenpunkt bei 50 h um einen Ausreißer handelt, ist ungeklärt.

Das Plateau der Kinetikreaktion von DL-Lactid wird schneller erreicht als das der Kinetikreaktionen von ϵ -Caprolacton. Dies lässt darauf schließen, dass Eisen(III)perchlorat für DL-Lactid ein effektiverer Katalysator ist als für ϵ -Caprolacton.

Für diese These spricht auch, dass bei der Polymerisation von DL-Lactid höheres Molekulargewicht erreicht wird als bei der Polymerisation von ϵ -Caprolacton.

4.2.1.3 Diskussion der Ergebnisse

Die Lösungsmittelreaktionen von ϵ -Caprolacton ergeben etwas höheres Molekulargewicht als die Bulkpolymerisationen. Eine Grund dafür kann sein, dass bei der Polymerisation im Lösungsmittel keine Viskositätserhöhung auftritt. Eine mögliche Ursache ist, dass bei den Polymerisationen in Lösungsmittel teils mehr Monomer verwendet wurde als bei den Bulkreaktionen, um Kinetikuntersuchungen zu ermöglichen.

Im Fall der Lösungsmittelreaktion konnte durch Erhöhung des Initiatoranteils ein höheres Molekulargewicht erreicht werden. Dies war bei der Bulkreaktion nicht der Fall. Eine Erklärung hierfür wäre, dass bei höherem Initiatoranteil mehr Polymerketten gleichzeitig begonnen werden können als bei niedrigerem. Dies verschärft bei der Bulkreaktion das Problem der Viskositätserhöhung. Dieses Problem tritt bei der Lösungsmittelreaktion hingegen nicht auf.

Mit Lösungsmittel verläuft die Molekulargewichtsentwicklung der Polymerisationen von ϵ -Caprolacton zunächst linear ansteigend und mündet schließlich in ein Plateau. Das Plateau wird wahrscheinlich durch das Einsetzen der Gegenreaktion verursacht, welches mit abnehmender Monomermenge wahrscheinlicher wird. Die ringöffnende Polymerisation ist eine Gleichgewichtsreaktion: so können Katalysatoren auch die Gegenreaktion katalysieren. Der Zeitpunkt, zu dem dieses Plateau erreicht wird, hängt von der Effektivität des Katalysators ab. So ist es bei Eisen(III)perchlorat nach 29 h erreicht und bei Eisen(III)chlorid nach circa 50 h. Folglich sollte mit jedem Katalysator zunächst eine Kinetikreaktion durchgeführt werden, um festzustellen, nach welcher Zeit sich das höchstmögliche Molekulargewicht bei einer Polymerisation mit Lösungsmittel erreichen lässt.

Im Fall der Polymerisation von DL-Lactid mit Eisen(III)perchlorat kann ein doppelt so hohes Molekulargewicht erreicht werden wie mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat als Katalysator. Allerdings war die Ausbeute mit 0,9% sehr niedrig. Jedoch können mit Eisen(III)perchlorat, bei Benutzung von THF als Lösungsmittel, auch Polymere in guter Ausbeute (mindestens 45%) hergestellt werden, deren Molekulargewicht ähnlich hoch ist wie das mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat maximal erreichte. Außerdem ist es vergleichbar mit dem Molekulargewicht, welches von Zinn(II)-2-ethylhexanoat unter den Standardreaktionsbedingungen $[M]:[C]:[I] = 2000:1:2$ erreicht wird. Auch bei der Polymerisation von DL-Lactid in Lösungsmittel tritt nach einiger Zeit die Gegenreaktion auf und das Molekulargewicht sinkt ab diesem Zeitpunkt wieder.

Die Bulkreaktionen verlaufen relativ schnell und werden im Laufe der Reaktion fest, sodass die Gegenreaktion unwahrscheinlicher ist. Allerdings führt eine zu schnelle Reaktionszeit zu einem zu schnellem Anstieg der Viskosität, wodurch das Molekulargewicht eingeschränkt werden kann.

Dennoch können Polymere mit einem Molekulargewicht hergestellt werden, welches von den Lösungsmittelreaktionen nicht oder erst deutlich später als im Fall der Bulkreaktion erlangt wird.

Eine Möglichkeit, mit der Bulkreaktion zu höherem Molekulargewicht zu kommen, ist die Erhöhung der Monomermenge. So ergab eine Polymerisation von 5 g ϵ -Caprolacton ein deutlich höheres Molekulargewicht als eine Polymerisation von 0,5 g. Dieses Verhalten wurde bereits in der Literatur beschrieben. Als Erklärung wurde ein veränderter Hitzetransfer beziehungsweise veränderte Wasseraufnahme vorgeschlagen [129].

4.2.2 Genauere Untersuchung der Bulkreaktionen

Der Vergleich zwischen Lösungsmittel- und Bulkreaktionen hat gezeigt, dass die Bulkreaktionen gute Ergebnisse liefern. Es wurde teilweise in kürzerer Zeit ein höheres Molekulargewicht erreicht als bei den Lösungsmittelreaktionen. Aus diesem Grund wurden die Bulkreaktionen genauer untersucht.

Eigene Vorversuche hatten gezeigt, dass Eisen(III)bromid, Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat auch bei Raumtemperatur die effektivsten Eisenkatalysatoren sind (vgl. Anhang auf Seite 196). Folglich wurden diese weiter untersucht.

Raumtemperaturreaktionen haben den Vorteil, dass man zum einen temperaturlabile Reaktanden wie Azidoalkohole einsetzen kann. Zum anderen ergibt sich die Möglichkeit, die Reaktion direkt mit tyrosinhaltigen Proteinen zu initiieren. Die meisten Proteine denaturieren bereits bei Temperaturen von 50-60°C. Als Modell für tyrosinhaltige Proteine wurde Allylphenol als Katalysator verwendet. Allylphenol besitzt durch die phenolische Hydroxygruppe eine starke strukturelle Ähnlichkeit zu Tyrosin als Bestandteil einer Peptidsequenz. Zusätzlich bietet die Allylbindung die Möglichkeit einer Funktionalisierung, zum Beispiel mittels der Thio-En-Reaktionen.

Eine Übersicht über die ausgewählten Katalysatoren, Initiatoren und Ansatzverhältnisse bietet Tabelle 18. Es wurde analysiert, wie sich das Molekulargewicht durch die Verwendung unterschiedlicher Initiatoren ändert und ob es durch die Änderung des Monomer- oder Initiatorverhältnisses beeinflusst wird.

Tabelle 18: Die zur Polymerisation bei Raumtemperatur verwendeten Eisensalze, Initiatoren und Verhältnisse.

Katalysator	Verhältnis	Initiator
Eisenchlorid	200:1:5	Wasser
Eisenbromid	400:1:5	Isopropanol
Eisenperchlorat	1200:1:5	Benzylalkohol
		Allylphenol
		Propagylalkohol

Als Monomer wurde ϵ -Caprolacton verwendet. Durch unterschiedlicher Ansatzverhältnisse sollte überprüft werden, ob sich ein Trend in der Molekulargewichtsentwicklung erkennen lässt und ob dieser vom jeweiligen Katalysator und Initiator beeinflusst wird.

Die Polymerisationen wurden in den Verhältnissen $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$, $400:1:5$ und $1200:1:5$ durchgeführt. Diese Verhältnisse wurden gewählt, um Reaktionen mit hohem Katalysatoranteil ($200:1:5$), mittlerem Katalysatoranteil ($400:1:5$) und niedrigem Katalysatoranteil ($1200:1:5$) zu untersuchen.

Die Ergebnisse zeigen Abbildung 38 (Eisen(III)perchlorat), Abbildung 39 (Eisen(III)chlorid) und Abbildung 40 (Eisen(III)bromid) und die Tabellen: Eisen(III)perchlorat 19, Eisen(III)chlorid 20 und Eisen(III)bromid 21.

Eisen(III)perchlorat ergibt mit fast allen Initiatoren (außer Propinol) mit steigendem Monomer- zu Katalysatorverhältnis ein steigendes (durchschnittliches) Molekulargewicht (siehe Abbildung 38 a). Dies lässt auf eine kontrollierte Polymerisation schließen.

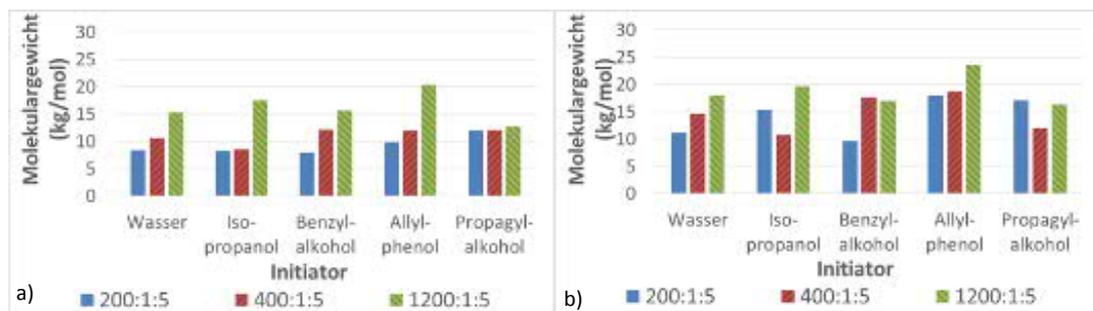


Abbildung 38: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)perchlorat $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$, $400:1:5$ und $1200:1:5$ mit unterschiedlichen Initiatoren bei Raumtemperatur: a) durchschnittliches Molekulargewicht, b) maximales Molekulargewicht.

Das höchste Molekulargewicht erreicht Eisen(III)perchlorat mit Allylphenol beim Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 1200:1:5$ mit $23,5 \frac{kg}{mol}$ (siehe Abbildung 38 b). Bei der Verwendung von Propinol als Katalysator ergibt sich keine Steigerung mit steigendem Monomer- zu Katalysatorverhältnis, sondern das Molekulargewicht bleibt bei allen Verhältnissen bei circa $12 \frac{kg}{mol}$. Die Reaktionszeiten sind bei der Polymerisation mit Eisen(III)perchlorat als Katalysator allgemein kurz, die kürzeste Reaktionszeit (0,6 h) ergibt sich mit Wasser beim Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$, die längste (20 h) mit Isopropanol beim Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 1200:1:5$.

Eisen(III)chlorid reagiert je nach Initiator unterschiedlich auf steigendes Monomer- zu Katalysatorverhältnis. Im Fall von Wasser, Isopropanol und Benzylalkohol steigt das Molekulargewicht, mit Propinol als Initiator bleibt das durchschnittliche Molekulargewicht wie bei Eisen(III)perchlorat nahezu konstant, mit Allylphenol sinkt es (siehe Abbildung 43 a).

Tabelle 19: Caprolactonpolymerisation mit Eisen(III)perchlorat und den Initiatoren Wasser (H₂O), Isopropanol (i-PrOH), Benzylalkohol (BnOH), Allylphenol und Propagylalkohol (Propinol)) bei verschiedenen Verhältnissen [M]:[C]:[I] bei RT. Es wurde jeweils das maximal erzielte Molekulargewicht angegeben, in Klammern steht das Durchschnittsmolekulargewicht.

[M]:[C]:[I]	Initiator	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
200:1:5	H ₂ O	1,0	75	11,2 (8,4)	5,8 (2,9)	2,0
200:1:5	i-PrOH	1,0	80	15,4 (8,3)	8,9 (5,1)	1,6
200:1:5	BnOH	1,0	53	9,7 (8,0)	6,0 (4,0)	2,1
200:1:5	Allylphenol	0,78	75	18,0 (9,8)	12,4 (6,2)	1,6
200:1:5	Propinol	0,33	90	17,1 (12,0)	8,9 (6,2)	1,9
400:1:5	H ₂ O	1,0	94	14,6 (10,6)	6,8 (5,3)	2,0
400:1:5	i-PrOH	1,5	86	10,8 (8,6)	6,9 (5,5)	1,6
400:1:5	BnOH	1,6	94	17,6 (12,2)	8,3 (6,6)	1,9
400:1:5	Allylphenol	9,0	95	18,7 (12,0)	8,0 (6,8)	1,7
400:1:5	Propinol	0,75	90	12,0	6,6	1,8
1200:1:5	H ₂ O	1,5	84	18,0 (15,2)	12,5 (10,2)	1,6
1200:1:5	i-PrOH	20	92	19,7 (17,5)	13,6 (12,1)	1,5
1200:1:5	BnOH	11	91	17,0 (15,6)	10,3 (9,7)	1,6
1200:1:5	Allylphenol	7,8	95	23,5 (20,4)	16,3 (11,4)	1,9
1200:1:5	Propinol	1,0	48	16,4 (12,7)	12,3 (8,6)	1,6

Das höchste Molekulargewicht wird mit Propinol im Verhältnis [M]:[C]:[I] = 400:1:5 mit $28,7 \frac{kg}{mol}$ erreicht (siehe Abbildung 39 b). Dabei fällt dieser Wert allerdings aus dem Vergleich raus, weil bei dieser Polymerisation eine höhere Ansatzmenge (5 g) verwendet wurde. Wie im Abschnitt 4.2.1.1 bereits beschrieben, führt eine Erhöhung der Ansatzmenge zu einem höherem Molekulargewicht. Die Polymerisationen mit den anderen Initiatoren wurden allesamt mit einer Ansatzmenge von 0,5 g ϵ -Caprolacton durchgeführt, sodass dort keine Abweichungen dadurch entstehen. Das höchste Molekulargewicht ($27,4 \frac{kg}{mol}$) bei einem Ansatz mit 0,5 g ϵ -Caprolacton wurde mit Allylphenol als Initiator beim Verhältnis [M]:[C]:[I] = 200:1:5 erhalten. Die Reaktionszeiten sind etwas länger als bei Eisen(III)perchlorat, die schnellste Polymerisation (1,8 h) erfolgte mit Allylphenol als Initiator beim Verhältnis [M]:[C]:[I] = 400:1:5. Bei [M]:[C]:[I] = 200:1:5 führt die Initiation mit Benzylalkohol mit 25 h die langsamste Reaktion.

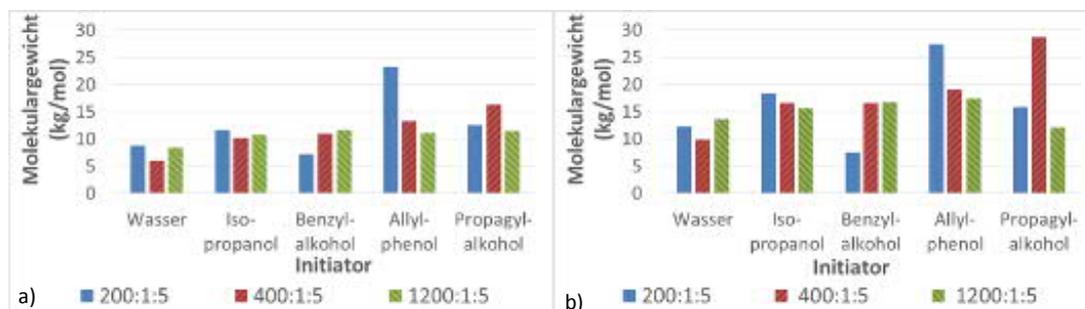


Abbildung 39: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)chlorid $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$, $400:1:5$ und $1200:1:5$ mit unterschiedlichen Initiatoren bei Raumtemperatur: a) durchschnittliches Molekulargewicht, b) maximales Molekulargewicht

Tabelle 20: Caprolactonpolymerisation mit Eisen(III)chlorid und verschiedenen Initiatoren in den Verhältnissen $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$, $400:1:5$ und $1200:1:5$ bei RT. Es wurde jeweils das maximal erreichte Molekulargewicht angegeben, in Klammern steht das Durchschnittsmolekulargewicht.

Katalysator Initiator	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
200:1:5 H ₂ O	2,0	93	12,3 (8,8)	9,3 (6,2)	1,5
200:1:5 i-PrOH	2,0	94	18,4 (11,6)	14,9 (9,0)	1,3
200:1:5 BnOH	25	93	7,6 (7,2)	4,3 (4,3)	1,3
200:1:5 Allylphenol	2,4	92	27,4 (23,2)	17,5 (15,8)	1,5
200:1:5 Propinol	15	41	15,8 (12,5)	13,6 (9,6)	1,5
400:1:5 H ₂ O	2,0	93	9,8 (6,0)	7,7 (4,2)	1,5
400:1:5 i-PrOH	2,4	93	16,6 (10,2)	12,7 (7,3)	1,4
400:1:5 BnOH	1,57	75	16,7 (10,9)	11,9 (8,0)	1,6
400:1:5 Allylphenol	1,8	76	19,1 (13,3)	15,0 (10,2)	1,4
400:1:5 Propinol	13	89	28,7 (16,3)	20,4 (11,0)	1,6
1200:1:5 H ₂ O	19	91	13,6 (8,4)	7,6 (5,2)	1,6
1200:1:5 i-PrOH	18	82	15,6 (10,8)	9,8 (7,6)	1,4
1200:1:5 BnOH	21	88	16,7 (11,6)	13,7 (9,0)	1,3
1200:1:5 Allylphenol	19	88	17,4 (11,0)	13,1 (7,9)	1,4
1200:1:5 Propinol	19	94	12,1 (11,5)	10,0 (8,8)	1,3

Eisen(III)bromid ergibt mit allen Initiatoren, bis auf Propinol, beim Anstieg des Monomer- zu Katalysatorverhältnisses von 200:1 auf 400:1, zunächst steigendes Molekulargewicht, dieses fällt jedoch bei Erhöhung von 400:1 auf 1200:1 wieder ab (siehe Abbildung 40).

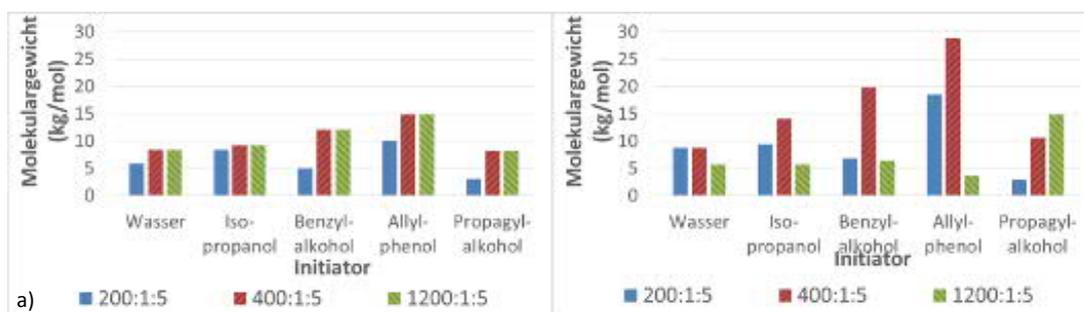


Abbildung 40: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)bromid $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$, $400:1:5$ und $1200:1:5$ mit unterschiedlichen Initiatoren bei Raumtemperatur: a) durchschnittliches Molekulargewicht, b) maximales Molekulargewicht.

Propinol bewirkt durchgängig steigendes Molekulargewicht mit steigendem Monomer- zu Katalysatorverhältnis. Zusätzlich ergeben Polymerisationen mit Propinol als Initiator mit 3 h bei $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$ die kürzeste Reaktionszeit und auch bei den anderen Verhältnissen ist die Reaktionszeit mit Propinol am niedrigsten. Abgesehen von den Reaktionen mit Propinol, ergibt Wasser im Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$ (34 h) die schnellste Reaktionszeit. Die längste Reaktionszeit (174 h) wird mit Isopropanol ebenfalls bei $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$ erhalten. Bei diesem Verhältnis wird bei Initiation mit Allylphenol mit $28,7 \frac{kg}{mol}$ das höchste Molekulargewicht erreicht.

Tabelle 21: Caprolactonpolymerisation mit Eisen(III)bromid, den Initiatoren (Wasser (H₂O), Benzylalkohol (BnOH), Isopropanol (i-PrOH), Allylphenol und Propagylalkohol (Propinol)) in verschiedenen Verhältnissen [M]:[C]:[I] bei RT. Es wurde jeweils das maximal erreichte Molekulargewicht angegeben, in Klammern steht das Durchschnittsmolekulargewicht.

Katalysator	Initiator	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
200:1:5	H ₂ O	79	86	8,7 (5,7)	6,9 (5,9)	1,8
200:1:5	i-PrOH	104	82	9,4 (8,3)	9,4 (5,9)	1,4
200:1:5	BnOH	79	82	6,8 (2,9)	5,9 (3,5)	2,0
200:1:5	Allylphenol	95	55	18,4 (10,0)	9,8 (5,5)	1,8
200:1:5	Propinol	3,0	65	3,0	0,9	3,2
400:1:5	H ₂ O	34	85	8,7 (8,4)	6,0 (5,9)	1,4
400:1:5	i-PrOH	81	77	14,1 (9,1)	12,2 (6,5)	1,5
400:1:5	BnOH	130	73	19,8 (12,1)	12,9 (8,0)	1,6
400:1:5	Allylphenol	48	78	28,7 (14,8)	16,7 (8,7)	1,6
400:1:5	Propinol	12	78	10,6 (8,2)	9,2 (6,4)	1,4
1200:1:5	H ₂ O	112	60	5,7 (3,9)	4,1 (2,7)	1,5
1200:1:5	i-PrOH	138	77	5,7 (4,2)	4,2 (2,8)	1,5
1200:1:5	BnOH	151	60	6,4 (3,6)	4,7 (2,6)	1,4
1200:1:5	Allylphenol	96	51	3,6 (2,7)	2,8 (2,6)	1,4
1200:1:5	Propinol	78	12	14,8	9,0	1,7

4.2.2.1 Optimierung der Ansatzverhältnisse

Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat erwiesen sich als die effektivsten Katalysatoren. Aus diesem Grund wurde untersucht, welche Auswirkung eine Änderung des Katalysator- zu Initiatorverhältnis hat. Bei Eisen(III)perchlorat wurden die folgenden Verhältnisse [M]:[C]:[I] = 2000:1:X, mit X = 5, 2, 1 und 0,5 und Allylphenol, Azidohexanol, Propagylalkohol und Benzylalkohol als Initiatoren untersucht. Für Eisen(III)chlorid als Katalysator wurden die gleichen Verhältnisse, aber nur Benzylalkohol und Allylphenol als Initiatoren analysiert. Als Monomer wurde ϵ -Caprolacton verwendet.

Die Polymerisationen mit Eisen(III)perchlorat ergaben die in Abbildung 41 gezeigten Werte, jede Polymerisation wurde durchschnittlich dreimal durchgeführt.

Es gibt kein Verhältnis, welches bei allen Initiatoren das höchste Molekulargewicht ergibt, sondern es unterscheidet sich zwischen den einzelnen Initiatoren (siehe Abbildung 41). Allylphenol ergibt bei einem 2:1 Verhältnisse das höchste Molekulargewicht. Dabei kann entweder der Katalysator im Überschuss vorhanden sein, also [C]:[I] = 1:0,5, oder der Initiator [C]:[I] = 1:2. Im Fall von Azidohexanol bewirkt äquimolares Verhältnis zwischen Katalysator und Initiator das höchste Molekulargewicht. Weder bei Propargylalkohol noch bei Benzylalkohol führt ein bestimmtes Verhältnis zu dem höchsten Molekulargewicht.

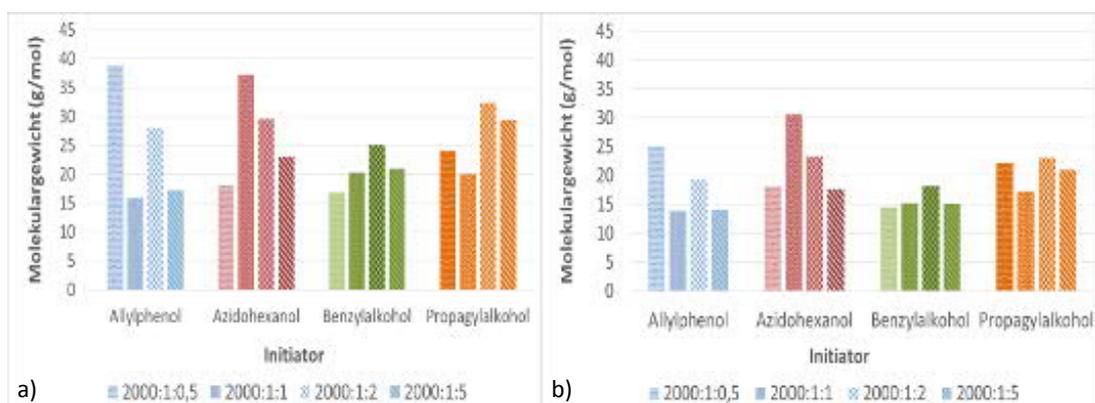


Abbildung 41: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)perchlorat mit unterschiedlichen Verhältnissen und unterschiedlichen Initiatoren bei RT: a) Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht aufgetragen, b) das durchschnittlich erreichte Molekulargewicht wurde aufgetragen.

Tabelle 22: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)perchlorat mit unterschiedlichen Verhältnissen und unterschiedlichen Initiatoren bei RT. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

[M]:[C]:[I]	Initiator	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
2000:1:0,5	Allylphenol	40	63	38,8 (25,0)	28,9 (17,6)	1,9
2000:1:0,5	Azidohexanol	19	72	18,0	15,1	1,2
2000:1:0,5	Benzylalkohol	0,3	36	16,8 (14,5)	11,8 (9,6)	1,6
2000:1:0,5	Propinol	20	63	24,1 (22,4)	16,3 (12,9)	1,9
2000:1:1	Allylphenol	40	63	38,8 (25,0)	28,9 (17,6)	1,9
2000:1:1	Azidohexanol	21	64	37,3 (30,6)	27,9 (18,5)	1,8
2000:1:1	Benzylalkohol	19	42	20,3 (15,2)	13,6 (8,5)	1,9
2000:1:1	Propinol	18	74	20,0 (17,2)	16,3 (13,4)	1,3
2000:1:2	Allylphenol	43	56	28,1 (19,2)	14,8 (10,0)	2,1
2000:1:2	Azidohexanol	23	50	29,5 (23,3)	20,0 (16,5)	1,4
2000:1:2	Benzylalkohol	20	37	25,0 (18,2)	14,7 (11,1)	1,7
2000:1:2	Propinol	34	68	32,3 (23,1)	22,4 (15,1)	1,5
2000:1:5	Allylphenol	16	46	17,2 (14,1)	9,1 (8,3)	1,8
2000:1:5	Azidohexanol	16	83	23,0 (17,6)	13,7 (9,9)	1,9
2000:1:5	Benzylalkohol	8	89	21,0 (15,1)	11,1 (8,6)	1,7
2000:1:5	Propinol	23	87	29,4 (21,0)	21,8 (15,3)	1,4

Im Fall von Benzylalkohol ist das durchschnittliche Molekulargewicht bei allen Initiatorverhältnissen ähnlich, wobei es bei zweifachen Überschusses an Initiators etwas höher ist als bei den anderen Verhältnissen. Bei Propargylalkohol ist dies vergleichbar, wobei äquimolares Vorhandensein von Initiator und Katalysator das niedrigste Molekulargewicht ergibt.

Die höchste Effizienz, wiederum in $\frac{kg}{mol}$ pro h definiert, zeigt Benzylalkohol. Um die höchste Effizienz mit Benzylalkohol zu erzielen, ist $[M]:[C]:[I] = 2000:1:0,5$ das beste Verhältnis ist. Dieses wies eine Effizienz von $48 \frac{kg}{mol}$ pro h auf. Allerdings wurden diese Ansätze nach spätestens 0,4 h fest, obwohl 5 g große Ansätze gewählt wurden, und es wurden höchstens $16,8 \frac{kg}{mol}$ erreicht.

Als ein Kompromiss aus möglichst hoher Effizienz und gleichzeitig möglichst hohem Molekulargewicht erwies sich Azidohexanol. Dieser Initiator erreicht zwar höchstens $1,4 \frac{kg}{mol}$ pro h, ist damit aber der zweiteffizienteste Initiator. Allylphenol erreicht dagegen zwar ähnlich hohes Molekulargewicht, ist jedoch der ineffizienteste Initiator, es werden höchsten $0,9 \frac{kg}{mol}$ pro h erreicht.

Bei Benzylalkohol, Azidohexanol und Benzylalkohol wurde überprüft, ob es möglich ist, das Molekulargewicht zu erhöhen, indem das Monomer- zu Katalysatorverhältnis gesteigert wird. Dafür wurden die Initiatorverhältnisse genutzt, mit welchen das höchste Molekulargewicht pro Stunde erreicht wurde. Es ergaben sich die in Abbildung 42 gezeigten Ergebnisse.

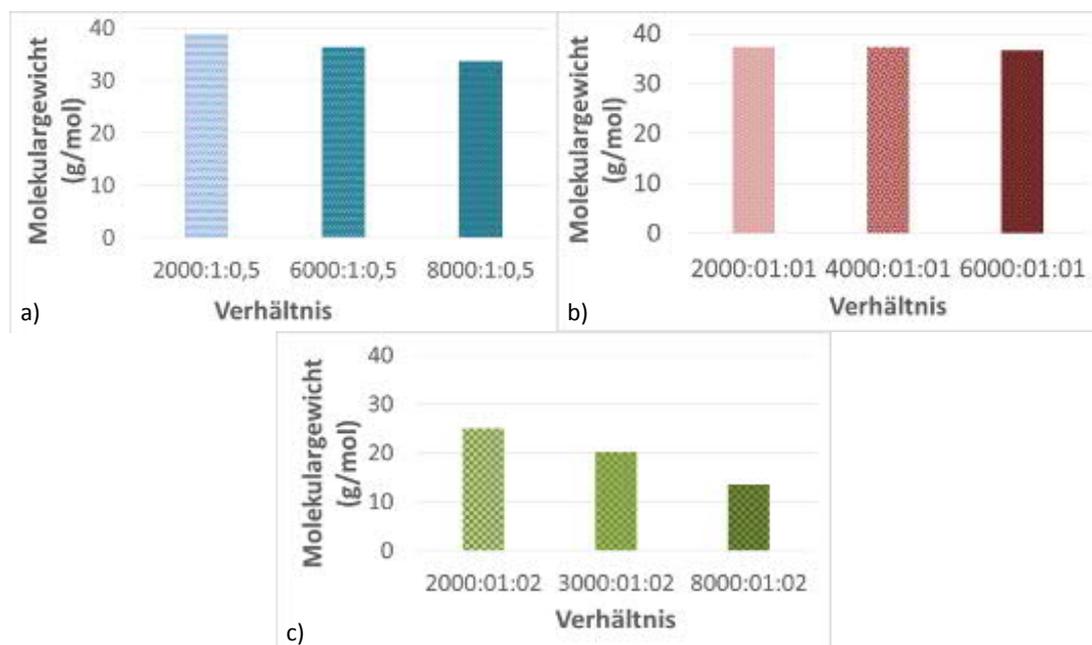


Abbildung 42: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)perchlorat bei RT. Es wurde untersucht, ob durch Erhöhung des Monomer- zu Katalysatorverhältnisses und den zuvor als vorteilhaft herausgefundenen Initiator-, Verhältnis- Kombinationen das Molekulargewicht gesteigert werden kann: a) Allylphenol, b) Azidohexanol, c) Benzylalkohol. Aufgetragen ist das jeweils maximal erreichte Molekulargewicht.

Tabelle 23: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)perchlorat. Es wurde untersucht, ob durch Erhöhung des Monomer- zu Katalysatorverhältnisses und den zuvor als vorteilhaft herausgefundenen Initiator-, Verhältnis- Kombinationen das Molekulargewicht gesteigert werden kann. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

[M]:[C]:[I]	Initiator	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Azidohexanol	2000:1:1	40	63	38,8 (30,6)	28,9 (18,5)	1,9
Azidohexanol	4000:1:1	22	90	37,3	35,6	1,3
Azidohexanol	6000:1:1	96	90	36,6	25,8	1,4
Benzylalkohol	2000:1:2	20	37	25,0 (18,2)	14,7 (11,1)	1,7
Benzylalkohol	3000:1:2	20,5	38	20,2 (15,3)	13,1 (10,3)	1,5
Benzylalkohol	8000:1:2	25	18	13,6 (8,3)	10,8 (6,5)	1,3
Azidohexanol	2000:1:1	21	64	37,3 (30,6)	27,9 (18,5)	1,8
Allylphenol	2000:1:0,5	40	63	38,8 (25,0)	28,9 (17,6)	1,9
Allylphenol	6000:1:0,5	135	51	36,3 (21,5)	22,5 (15,1)	1,7
Allylphenol	8000:1:0,5	135	51	33,7	19,8	1,7

Bei keinem der Initiatoren kann eine Erhöhung des Molekulargewichts durch Erhöhung des Monomeranteils gezeigt werden, vielmehr führt dies zu einer Verminderung des Molekulargewichtes. Der Grund dafür ist wahrscheinlich, dass mit zunehmendem Monomeranteil ein Zusammentreffen von Monomer, Katalysator und Initiator unwahrscheinlicher wird. Dieses wird aber benötigt, um die Reaktion zu starten.

Bei Eisen(III)chlorid wurde mit Benzylalkohol und Allylphenol als Initiator untersucht, welches Katalysator- zu Initiatorverhältnis am geeignetsten ist, um hohes Molekulargewicht zu erhalten. Dabei wurden folgende Verhältnisse betrachtet $[M]:[C]:[I] = 2000:1:X$, mit $X = 5, 2, 1$ und $0,5$. Es ergaben sich die in Abbildung 43 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 24: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)chlorid mit unterschiedlichen Verhältnissen und unterschiedlichen Initiatoren bei RT. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

Initiator	[M]:[C]:[I]	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Benzylalkohol	2000:1:0,5	65	66	14,5	11,5	1,3
Benzylalkohol	2000:1:1	43	82	22,2 (16,9)	18,0 (10,6)	2,4
Benzylalkohol	2000:1:2	160	51	26,7 (19,3)	19,0 (8,1)	1,5
Benzylalkohol	2000:1:5	139	42	26,7 (19,3)	19,9 (8,1)	1,5
Allylphenol	2000:1:0,5	161	57	29,2	19,1	1,5
Allylphenol	2000:1:1	43	72	39,0	25,7	1,5
Allylphenol	2000:1:2	161	66	22,5	15,2	1,5
Allylphenol	2000:1:2	139	90	22,1 (19,4)	13,8 (12,9)	1,5

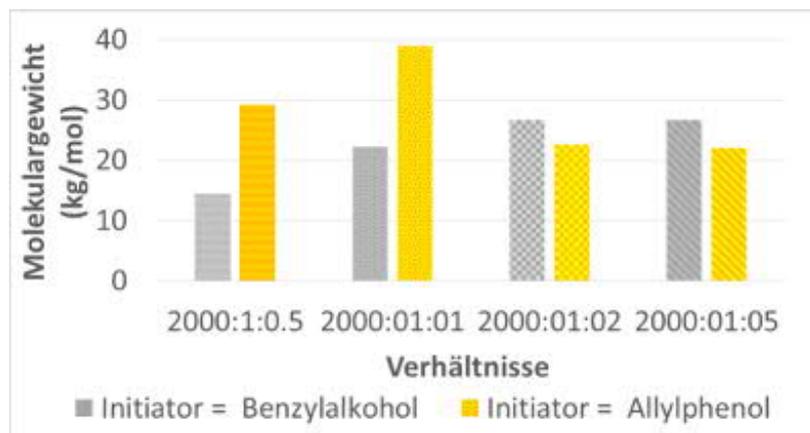


Abbildung 43: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)perchlorat mit unterschiedlichen Verhältnissen und unterschiedlichen Initiatoren bei RT. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht aufgetragen.

Eisen(III)chlorid zeigt ähnliche Tendenzen wie Eisen(III)perchlorat. Wieder führen bei Allylphenol geringere Katalysator- zu Initiatorverhältnisse zu höherem Molekulargewicht und bei Benzylalkohol größere. Dieses ist bei Eisen(III)chlorid etwas stärker ausgeprägt als bei Eisen(III)perchlorat. Bei Allylphenol als Initiator ist eine äquimolare Menge von Katalysator und Initiator am effektivsten. Im Gegensatz zu Eisen(III)perchlorat, wo beide Verhältnisse ähnliche Ergebnisse gaben, ist $[C]:[I] = 1:0,5$ bei Eisen(III)chlorid deutlich besser als $[C]:[I] = 1:2$. Die Polymerisationen mit Eisen(III)chlorid sind deutlich ineffizienter als die mit Eisen(III)perchlorat und benötigen mindestens 40 h. Die höchste Effektivität hat Allylphenol im Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 2000:1:1$ mit $0,9 \frac{kg}{mol}$ pro Stunde. Weitere Effektivitätswerte wurden nicht berechnet, da die Reaktionszeiten so lang waren, so dass größtenteils das Wochenende zwischen Anfang und Ende der Polymerisation lag, sodass nicht beurteilt werden kann, wann die Reaktion genau fest geworden ist.

Um den Einfluss des Monomer- zu Initiatorverhältnisses genauer zu untersuchen wurden alle durchgeführten Reaktionen mit dem jeweiligen Initiator in eine Beziehung von Monomer zu Initiator umgerechnet und in ein Diagramm eingetragen. Im Fall von Eisen(III)perchlorat ergeben sich bei den oben genauer analysierten Initiatoren die in Abbildung 44 aufgetragenen Werte. Jeder Initiator zeigt einen eigenen Trend, teilweise erschweren Schwankungen die Interpretation.

Ein Trend konnte nur bei Betrachtung der durchschnittlich erzielten Molekulargewichte analysiert werden. Beim Vergleich des höchsten erzielten Molekulargewichts lässt sich kein Trend feststellen.

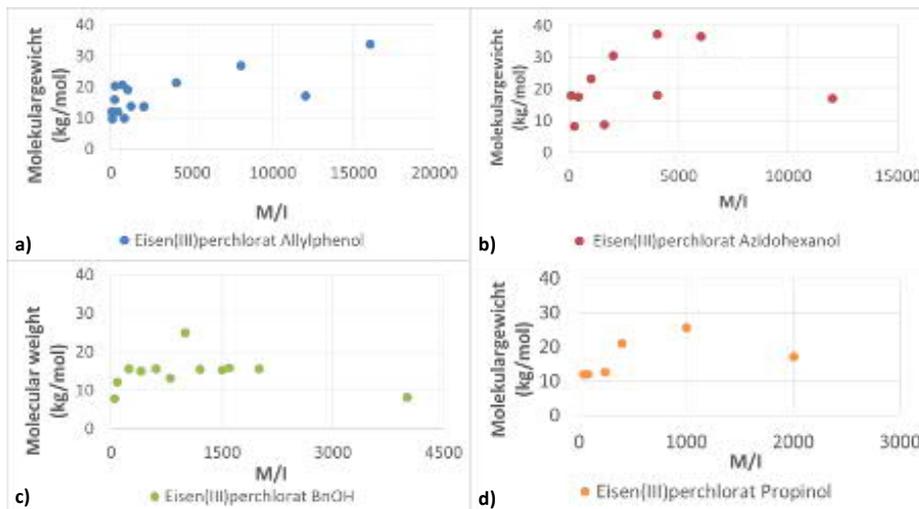


Abbildung 44: Analyse des Einflusses des Monomer- zu Initiatorverhältnisses, bei Eisen(III)perchlorat mit a) Allylphenol, b) Azidohexanol, c) Benzylalkohol und d) Propinol. Es wurde das durchschnittliche Molekulargewicht aufgetragen.

Den deutlichsten Trend zeigt Benzylalkohol: Bis zum Verhältnis $[M]:[I] = 240:1$ steigt das durchschnittliche Molekulargewicht, um anschließend bei mit $15 \frac{kg}{mol}$ auf einem Plateau zu enden. Propinol verhält sich ähnlich, weist aber bis $[M]:[I] = 1000:1$ und knapp $30 \frac{kg}{mol}$ eine gewisse Steigerung des durchschnittlichen Molekulargewichts auf. Im Verlauf von Azidohexanol stören einige Ausreißer die Analyse, prinzipiell nimmt das Molekulargewicht bis $[M]:[I] = 4000:1$ auf $40 \frac{kg}{mol}$ zu und scheint dort auf ein Plateau zu münden. Die Ausreißer und auch der erste Plateaupunkt wurden alle mit derselben Ansatzgröße angesetzt: 2,6 g ϵ -Caprolacton, bei den anderen Punkten gingen auch Ansätze mit kleineren oder größeren Monomermengen ein. Da, wie weiter oben im Abschnitt 4.2.1.1 dargelegt wurde, die Ansatzgröße einen Einfluss auf das Molekulargewicht hat, könnte dies zu den Schwankungen geführt haben. Der Trend bei Allylphenol ist sehr schwer zu beurteilen, da gerade bei niedrigem $[M]:[I]$ Verhältnis sehr unterschiedliche Molekulargewichte erzielt werden. Grundsätzlich scheint das Molekulargewicht mit steigendem Monomer- zu Initiatorverhältnis zu wachsen und zwar bis $[C]:[I] = 1600:1$ auf circa $35 \frac{kg}{mol}$.

Auch für die Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Eisen(III)chlorid wurde die Auswirkung einer Steigerung des Monomer- zu Initiatorverhältnisses untersucht. Abbildung 45 stellt die Ergebnisse bei der Initiaton mittels Allylphenol und Benzylalkohol dar. Die Kurvenverlauf mit Eisen(III)chlorid als Katalysator ähnelt denjenigen der Polymerisationen mit Eisen(III)perchlorat. Benzylalkohol weist auch hier ein Plateau auf, bei $[M]:[I] = 400:1$ und $19 \frac{kg}{mol}$. Die Ergebnisse bei Allylphenol schwanken auch bei Eisen(III)chlorid am Anfang ziemlich stark, danach gibt es einen kurzen linearen Anstieg, wobei bei $[M]:[I] = 2000:1$ $40 \frac{kg}{mol}$ erreicht werden.

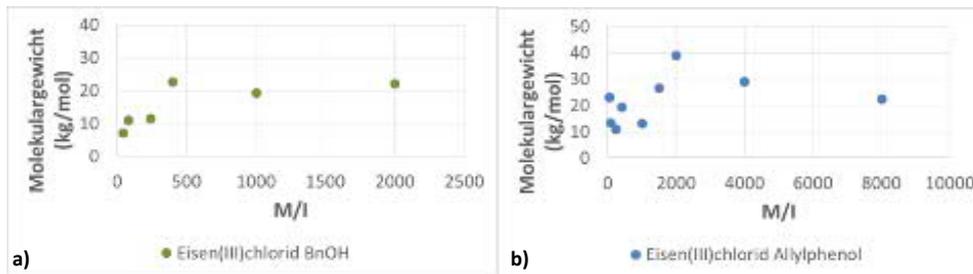


Abbildung 45: Analyse des Einflusses des Monomer- zu Initiatorverhältnis, bei Eisen(III)chlorid mit a) Benzylalkohol und b) Allylphenol. Es wurden die durchschnittlichen Ergebnisse verwendet.

4.2.3 Diskussion der Ergebnisse der Polymerisationsvariationen

Bei Raumtemperatur lassen sich mit den Eisenkatalysatoren Polymere mit einem Molekulargewicht bis circa $40 \frac{kg}{mol}$ herstellen. Zinn(II)-2-ethylhexanoat katalysiert dagegen bei Raumtemperatur nicht effektiv.

Im Rahmen der Dissertation wurden verschiedene Reaktionsansätze für die ring-öffnende Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei RT untersucht: mit purem Zinn(II)-2-ethylhexanoat, bei Zugabe von Salzsäure oder mit Ascorbinsäure. Mit purem Zinn(II)-2-ethylhexanoat kann selbst bei einem Monat Reaktionszeit kein Polymer gewonnen werden. Zusatz von HCl und Ascorbinsäure ermöglicht eine Polymerisation, allerdings können diese auch ohne Zinn(II)-2-ethylhexanoat ϵ -Caprolacton bei Raumtemperatur polymerisieren, wenn auch relativ ineffektiv. Die Kombination von Zinn(II)-2-ethylhexanoat und Ascorbinsäure ermöglicht die Herstellung von Poly(ϵ -Caprolacton) mit einem Molekulargewicht von $7 \frac{kg}{mol}$ und ist somit die effektivste Möglichkeit mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei RT zu katalysieren (siehe Anhang Seite 198). Zinn(II)-2-ethylhexanoat katalysiert, indem es zunächst in ein Alkoxid umgewandelt wird, dazu wird ein protischer Alkohol benötigt [277], eventuell kann diese Umwandlung durch Ascorbinsäure katalysiert werden, sodass sie bereits bei RT stattfinden kann.

Der effizienteste, alternative Katalysator ist Eisen(III)perchlorat. Eisen(III)chlorid erreicht ebenfalls hohes Molekulargewicht, die Reaktionen verlaufen allerdings langsamer. Mit Eisen(III)bromid können ebenfalls Polymere mit relativ hohem Molekulargewicht synthetisiert werden, allerdings brauchen die Reaktionen teilweise über 100 h Reaktionszeit.

Polymerisationen von ϵ -Caprolacton mit Lösungsmittel führten größtenteils nicht zu höherem Molekulargewicht, als mit Bulkreaktionen erreicht werden kann. Dazu tritt bei den Lösungsmittelreaktionen das neue Problem auf, dass die Katalysatoren auch die Rückreaktion katalysieren können. Der Zeitpunkt, ab dem die Rückreaktion eintritt ist bei allen Katalysatoren unterschiedlich.

Folglich muss man, bevor man Katalysatoren in der Lösungsmittelpolymerisation einsetzen kann, zuerst eine Kinetikreaktion durchführen, um den besten Reaktionsendpunkt zu bestimmen.

Die Bulkreaktionen von Eisen(III)bromid sind so langsam, dass vermutet werden kann, dass in der Zeit schon die Rückreaktion eintritt und dies das Molekulargewicht erniedrigt. Die Kinetikreaktion (vgl. Seite 64) zeigt jedoch, dass dies nicht der Fall ist. Zusätzlich könnte insbesondere bei Eisen(III)bromid die Anwesenheit von Wasser das Molekulargewicht niedriger machen. Initiation mit Wasser führt bei Eisen(III)bromid zu deutlich kürzerer Reaktionszeit als mit den anderen Initiatoren (siehe Seite 74). Dies lässt bei Eisen(III)bromid auf eine Bevorzugung von Wasser schließen. Das mit Wasser erreichbare Molekulargewicht ist kleiner als das mit anderen Initiatoren mögliche. Eine parallele Polymerisation mit im Reaktionsansatz vorhandenen Wasserspuren bewirkt somit ein niedrigeres Molekulargewicht. Ein Indiz dafür ist, dass bei Reaktionen, bei denen getrocknetes Eisen(III)bromid benutzt wurde, höheres Molekulargewicht entstand.

Eine weitere mögliche Erklärung für das geringere Molekulargewicht bei Reaktionen mit Eisen(III)bromid sind Nebenreaktionen des Bromids mit dem Alkohol, das Bromid könnte die Hydroxygruppe substituieren und somit den Alkohol deaktivieren. Der dafür wahrscheinlichste Mechanismus ist eine S_N1 -Reaktion, da fast alle verwendeten Alkohole (Isopropanol, Allylphenol und Benzylalkohol) stabile Carbokationen bilden können [278], würde nicht nur der Alkohol deaktiviert, sondern auch der Katalysator geschwächt, weil daran die Hydroxygruppe und somit eine schwache Abgangsgruppe verbleiben würde. Eine solche Nebenreaktion verlangsamt die Reaktionsgeschwindigkeit. Bei Chlorid wäre dies auch möglich, allerdings ist weniger freies Chlorid vorhanden, da Chlorid eine schlechtere Abgangsgruppe als Bromid ist [279]. Perchlorat ist durch die delokalisierten Doppelbindungen stabiler als Bromid und Chlorid und zusätzlich die weichste Lewisbase der Liganden, somit ist die Reaktion mit der harten Hydroxygruppe des Alkohols für Perchlorat am ungünstigsten [274, 275, 280].

Die Katalysatoren reagieren unterschiedlich auf Erhöhung des Monomer- zu Katalysatorverhältnisses, dies ist zusätzlich abhängig vom Initiator. Überwiegend führt eine Erhöhung des Monomer- zu Katalysatorverhältnisses zu steigendem Molekulargewicht. Dies gilt auch für Allylphenol als Initiator mit Eisen(III)bromid und Eisen(III)perchlorat, jedoch nicht in Kombination mit Eisen(III)chlorid. In dem Fall sinkt das Molekulargewicht mit steigendem Monomer- zu Katalysatorverhältnis .

Ein Unterschied zwischen den Katalysatoren ist die unterschiedliche Abgangsgruppenqualität, welche bei Bromid, wie oben schon erwähnt, höher ist als bei Chlorid. Bei Zugabe von Allylphenol zu Eisen(III)perchlorat oder Eisen(III)chlorid, sieht man ihn als blaue Schlieren in der Lösung. Bei fünffachem Überschuss von Allylalkohol kommt es zu einem Farbumschlag der Lösung von gelb-orange zu grün. Dies lässt auf eine Komplexbildung des Eisens mit Allylphenol schließen und somit auf einen Austausch der Liganden.

Die Komplexbildung wurde auch mittels UV-VIS-Spektroskopie untersucht und nachgewiesen (siehe Anhang auf Seite 203). Dieser Austausch ist bei Bromid und Perchlorat günstiger als bei Chlorid, weil Chlorid eine härtere Lewisbase ist als die beiden anderen Liganden. Kombinationen aus harten Säuren und harten Lewisbasen sind bevorzugt [281]. Somit ergibt Austausch der weicheren Liganden durch den harten Alkohol ein energetisch günstigeres Produkt als bei Eisen(III)chlorid. Der Austausch funktioniert somit bei Eisen(III)bromid und Eisen(III)perchlorat für mehrere der Liganden, während man bei Eisen(III)chlorid eher von einem einzigem ausgetauschten Chlorid ausgehen kann, außer wenn Allylphenol im starkem Überschuss ist.

Auch das Katalysator- zu Initiatorverhältnis hat einen Einfluss auf das Molekulargewicht. Dieses ist wiederum vom Katalysator und Initiator abhängig (siehe Seite 79 und Seite 80). Bei Benzylalkohol und Propinol führt die Steigerung des Monomer- zu Initiatorverhältnisses zunächst zu einer Steigerung des Molekulargewichts dann zu einem Plateau. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass zunächst durch höheres Monomer- zu Initiatorverhältnis weniger Polymerketten gebildet werden, welche somit höheres Molekulargewicht erreichen können. Ab einer vom Initiator abhängigen Konzentration liegt dieser jedoch zu verdünnt vor, als dass er noch effektiv sein kann. Der Katalysator muss das Monomer aktivieren und der Initiator dieses aktivierte Monomer zum Öffnen des Monomers finden, damit die Polymerisation starten kann. Es ist zu erwarten, dass dies mit zunehmendem Verdünnungsgrad unwahrscheinlicher wird.

Bei Azidohexanol und Allylphenol tritt die Ineffektivität des Initiators später ein und steigendes Monomer- zu Initiatorverhältnis länger zu einem steigenden Molekulargewicht. Dies sind auch die beiden Initiatoren, bei welchen eine Grünfärbung der Lösung beobachtet wurde. Folglich werden diese Initiatoren mit dem Eisen komplexieren, sie verbleiben somit in räumlicher Nähe des Katalysators. Die zunehmende Verdünnung ist daher erst dann problematisch, wenn das Katalysator- zu Initiatorverhältnis zu klein wird, als dass sich der Komplex bilden kann.

4.3 Diskussion der Ergebnisse der Polymerisationen

4.3.1 Katalysatoren

Gesucht wurde nach einem Alternativkatalysator für Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Dieser sollte die folgenden Bedingungen erfüllen: nicht zytotoxisch, bei niedriger Temperatur aktiv und Ermöglichung eines kontrollierten Reaktionsverlaufes. Untersucht wurden Katalysatoren aus den folgenden Kategorien: Enzyme, (Erd)alkalimetallsalze und Eisensalze.

Enzyme sind nicht zytotoxisch und können die Polymerisation bei niedrigen Temperaturen katalysieren [118]. Mit **Enzymen** als Katalysatoren konnten bioabbaubare Polymere mit einem Molekulargewicht von maximal $29 \frac{kg}{mol}$ erreicht werden, bei niedrigen Ausbeuten von höchstens 45%. Von den getesteten Enzymen ergaben die Lipasen aus *Candida antartica* und *Thermomyces lanuginosus* die besten Ergebnisse. Die geringen Ausbeuten gepaart mit niedrigem Molekulargewicht sorgten dafür, dass die Enzyme während dieser Arbeit nicht weiter vertieft untersucht wurden. Um zu besseren Ergebnissen zu kommen, müsste der Temperatureinfluss weiter untersucht werden. Dieser hängt auch mit dem verwendeten Initiator zusammen, sodass für jede Enzym-Initiatorkombination die Optimumtemperatur gefunden werden muss (vgl. Anhang im Abschnitt 10.1.4). Kinetikuntersuchungen haben gezeigt, dass auch Enzymreaktionen nach gewisser Zeit einen Plateauwert erreichen, somit setzt, wie bei den Eisenkatalysatoren, nach einiger Zeit zusätzlich die Rückreaktion ein (vgl. Anhang im Abschnitt 10.1.4).

Sowohl Calcium als auch Natrium sind physiologisch und somit im Körper vorhanden [38]. Weder Natriumhydroxid noch Calciumhydroxid sind bisher für die ringöffnende Polymerisation verwendet worden. **Alkali- und Erdalkalikatalsatoren** konnten ϵ -Caprolacton zwar polymerisieren, effektiv jedoch erst bei 140°C. Bei 70°C ergab sich nur eine geringe Ausbeute (vergleiche Anhang Abschnitt 10.1.1.1). Das Molekulargewicht war mit maximal $20 \frac{kg}{mol}$ relativ niedrig, aber vergleichbar zu dem Molekulargewicht, das Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei dieser Temperatur erreicht ($16 \frac{kg}{mol}$). Aufgrund der geringen Ausbeute wurden diese Katalysatoren nicht weiter untersucht. Bei den **Alkalimetallen** ist von anionischer Polymerisation auszugehen, was dazu führt, dass die entstehende negativ geladene Endgruppe in der Polymerkette liegende Carbonylgruppen angreifen kann. Dies könnte auch der Grund für das niedrige erreichbare Molekulargewicht sein. Ein weiterer Grund dafür, dass nur relativ geringes Molekulargewicht erreicht wurde, könnte sein, dass nur Wasser und Benzylalkohol als Initiatoren genutzt wurden und auch die Initiatormenge nicht optimiert wurde. Wie die Polymerisationen mit Eisenkatalysatoren gezeigt haben, führen Benzylalkohol und Wasser zu niedrigerem Molekulargewicht, als mit Propargylalkohol und Azidoalkohol erreicht werden kann.

Diese Vermutung wird durch die Literatur bestätigt, wenn Diphenylmethanol anstelle von Isopropanol als Initiator verwendet wird, ergibt sich ein fast viermal so hohes Molekulargewicht [148]. Die (Erd)alkalikatalysatoren haben Potential, weil dieses jedoch geringer war als das der Eisenkatalysatoren, wurden sie in dieser Arbeit nicht weiterverfolgt.

Eisen ist ein physiologisches Ion, wodurch sich **Eisensalze** als Katalysatoren anbieten. In dieser Arbeit wurden verschiedene Eisensalze wie Eisen(III)perchlorat und Eisen(III)nitrat zum ersten Mal für die ringöffnende Polymerisation herangezogen. Eisen(III)perchlorat entspricht am besten den gestellten Anforderungen als Alternativkatalysator für Zinn(II)-2-ethylhexanoat: Eisen(III)perchlorat ist nicht zytotoxisch, katalysiert auch bei Raumtemperatur, die Reaktionen verlaufen kontrolliert und sind reproduzierbarer als die von Zinn(II)-2-ethylhexanoat (vergleiche Abschnitt 23 und Anhang Abschnitt 10.1.3.1). Perchlorat alleine könnte problematisch sein, da es die Aufnahme von Iodid in die Schilddrüse hemmen kann, allerdings kann man davon ausgehen, dass es in der geringen Konzentration, welche über das implantierte, bioabbaubare Biomaterial in den Körper gelangt, nicht problematisch ist [282]. Obwohl Perchlorat ein hohes Redoxpotential hat, wird es praktisch unverändert im Urin ausgeschieden [282], was auch für die physiologische Unbedenklichkeit von Perchlorat spricht. Das Ziel, einen Alternativkatalysator für Zinn(II)-2-ethylhexanoat zu finden, war somit erfolgreich.

Unterschiedliche Eisensalze bzw. Eisenkomplexe weisen deutlich unterschiedliche Aktivitäten auf.

Ein wichtiger Aspekt im Bezug auf die Aktivität der Metallsalze ist ihre Löslichkeit. Dadurch, dass der Katalysator nicht gelöst vorliegt, ist seine reaktive Oberfläche zu klein um effektiv katalysieren zu können.

Ein weiterer Aspekt ist die Reaktivität des Metalls an sich. Eine Möglichkeit zur Erklärung der Aktivitätsabstufungen der Katalysatoren ist das HSAB-Prinzip von R. Pearson [274]. Es beruht auf der Einteilung von Molekülen und Atomen in harte und weiche Lewisbasen oder Lewisäuren. Harte Basen/Säuren sind meist kleine, schwer polarisierbare Moleküle mit hoher Ladungsdichte. Weiche Basen/Säuren dagegen sind meist groß, leicht polarisierbar und besitzen eine niedrige Ladungsdichte [283]. Um kontrolliert polymerisieren zu können ist es günstig, wenn ein Ligand des Metallsalzes durch einen Alkohol (bzw. dem Initiator) ersetzt werden kann. Dann kann die Reaktionen nach einem Koordination-Insertations-Mechanismus ablaufen (siehe Abbildung 47). Dieser Austausch ist besonders begünstigt, wenn sich dadurch entweder eine Hart/Hart-, oder Weich/Weich-Kombination ergibt. Zudem wird der Austausch begünstigt, wenn das Metallsalz vorher aus einer Hart/Weich-Kombination bestanden hat. Alkohol gehört zu den harten Nukleophilen. Folglich ist die Kombination des Fe^{+3} mit dem Alkohols günstig. Wie günstig, hängt davon ab, wie hart oder weich der jeweilige Ligand ist. Von den drei hauptsächlich untersuchten Liganden Cl^- , Br^- und ClO_4^- ist Perchlorat der weichste Ligand, Bromid mittel und Chlorid der härteste.

Infolgedessen ist der Austausch von Perchlorat am günstigsten, der von Chlorid am ungünstigsten.

Die Einstufung der Liganden von hart und nach weich sollte folglich eine Aktivitätsabstufung ergeben.



Abbildung 46: Einteilung der Liganden in harte und weiche Lewissäuren, je heller der Hintergrund ist, desto weicher ist der Ligand. Diese Abfolge entspricht auch einer Aktivitätsabfolge.

F^- ist eine harte Lewisbase, Br^- und Cl^- sind mittlere Basen, $(ClO_4)_3^-$ und $(NO_3)_3^-$ weiche Basen (vergleiche Abbildung 46). Das korreliert relativ gut mit der Katalysationsfähigkeit. Eisenfluorid katalysiert nicht, Eisenbromid und Eisenchlorid deutlich besser und Eisenperchlorat mit am besten. Auch Eisen(III)nitrat ist zumindest bei höherer Temperatur einer der besten Katalysatoren.

Die stärksten Bindungen bilden Kombinationen aus Hart-Hart und Weich-Weich, bei Kombinationen aus Hart-Weich kommt es leichter zum Austausch [275]. Daraus ergeben sich zwei Vorschläge für den Mechanismus, zum einen für Fälle, in denen ein Ligand durch Alkohol ersetzt werden kann, und zum anderen für Fälle, in denen dies ungünstig ist, zum Beispiel weil das Metallsalz bereits ein harte-Säure/harte-Base- oder weiche-Säure/weiche-Base-Paar bildet. Im einen Fall ergibt sich ein etwas abgewandelter Koordinations-Insertationsmechanismus (siehe Abbildung 47). Im anderen Fall koordiniert das Metallsalz den Carbonylsauerstoff und aktiviert somit den Carbonylkohlenstoff. Dieser kann im nächsten Schritt durch einen freien Alkohol angegriffen werden. Folglich ergibt sich ein Monomer-aktivierter Mechanismus (siehe Abbildung 48).

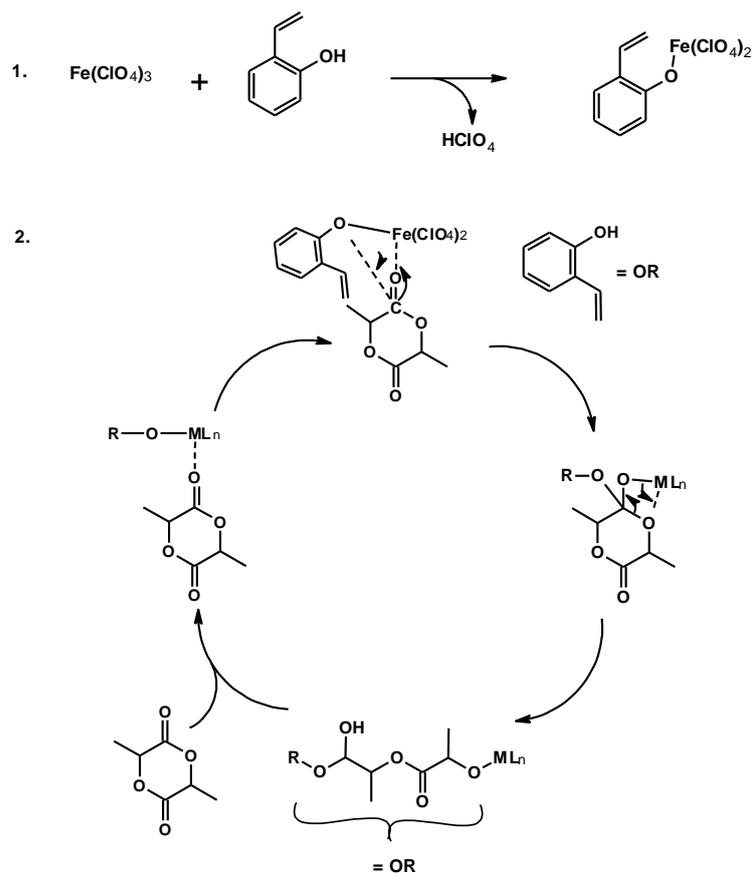


Abbildung 47: Mechanismusvorschläge für die Eisenkatalysatoren. Vom ursprünglichen Metallsalz wird ein Ligand durch den Alkohol ausgetauscht und kann an das aktivierte Carbonyl-Kohlenstoffatom koordinieren. Es ist folglich ein Koordinations-Insertionsmechanismus.

4.3.2 Initiatoren

Mit Azidohexanol, Azidopropanol und Allylphenol wurden neue Initiatoren untersucht, welche bereits bei Raumtemperatur zu guten Ergebnissen führen (siehe zum Beispiel Tabelle 23 auf Seite 77). Die Azidoalkohole, ebenso wie Allylphenol oder Propargylalkohol, können über π -Orbitale der Allylbindung, Doppel- oder Dreifachbindung mit dem Metallion des Katalysators oder auch mit einem aktivierten Carbonylkohlenstoff koordinieren. Alle drei Initiatoren erlauben die Synthese von Polymeren mit höherem Molekulargewicht als der Standardinitiator Benzylalkohol, bei dem höchstens über den aromatischen Ring (welcher für eine Koordination, wahrscheinlich räumlich zu weit vom Metallion entfernt ist) eine Interaktionsmöglichkeit gegeben ist. Daraus kann geschlossen werden, dass eine Koordinationsmöglichkeit des Initiators mit dem Metall für die Katalyse förderlich ist. Für Eisenkatalysatoren konnte bei Raumtemperaturpolymerisationen eine Effektivitätsreihenfolge der Initiatoren festgestellt werden: Allylphenol > Azidohexanol > Propargylalkohol > Benzylalkohol > Isopropanol > Wasser. Dabei wurde die "Effektivität" nach dem mit dem Initiator erreichbaren Molekulargewicht bewertet. Dieses reichte von $39 \frac{kg}{mol}$ bei Allylphenol mit Eisenchlorid ($[M]:[C]:[I] = 2000:1:1$) bis $18 \frac{kg}{mol}$ bei Wasser mit Eisen(III)perchlorat und dem Verhältnis ($[M]:[C]:[I] = 1200:1:5$).

Es ist davon auszugehen, dass der Initiator einen Einfluss auf den ablaufenden Mechanismus hat. Bei Allylphenol und Azidohexanol fand ab fünffachem Überschuss an Initiator ein Farbumschlag der Reaktionslösung von gelb nach grün statt. Dies zeigt, dass in diesem Fall der Initiator koordiniert und somit der Koordination-Insertations-Mechanismus (vergleiche Abbildung 47) abläuft. Bei Initiatoren, die nicht mit dem Metallsalz koordinieren, oder wenn der Austausch eines Liganden durch den Initiator ungünstig ist, ist von einer Polymerisation nach dem Monomer-aktivierten Mechanismus (siehe Abbildung 48) auszugehen. Die beiden unterschiedlichen Mechanismen bieten einen Erklärungsansatz, warum je nach Initiator unterschiedliche Ansatzverhältnisse vorteilhaft für die Polymerisation sind. Bei den Initiatoren, die an das Metallsalz koordinieren und demzufolge auch an das Carbonylkohlenstoffatom, wird nur ein Alkohol pro Katalysator benötigt. Dagegen ist im anderem Fall der Initiator nicht direkt in räumlicher Nähe zum Carbonylkohlenstoffatom, sodass die Wahrscheinlichkeit eines möglichen nukleophilen Angriffs des Alkohols durch Überschuss an Alkohol erhöht werden muss.

4.3.3 Abschließende Zusammenfassung

Aus allen Katalysatorkategorien (Enzyme, Alkali- Erdalkalisalze und Eisensalze) wurden neue Katalysatorsysteme (bestehend aus Katalysator und Initiator) untersucht. Es wurden noch nicht für die Polymerisation beschriebene Alkali- und Erdalkalisalze (wie Natriumhydroxid) und bisher nicht untersuchte Eisensalze (wie Eisen(III)perchlorat und Eisen(III)nitrat) verwendet. Zusätzlich wurden neue Initiatoren wie Allylphenol, Azidohexanol und Azidopropanol untersucht. Enzyme bilden eine interessante Alternative zu Metallsalzen, da keine Probleme durch Metallrückstände bei der biomedizinischen Anwendung auftreten können. Um jedoch hohes Molekulargewicht und höhere Ausbeute erreichen zu können, müssen die Reaktionsbedingungen und Komponenten wie die Temperatur und verwendete Initiatoren noch detaillierter untersucht werden.

Alkali- und Erdalkalisalze ergaben dagegen ein deutlich niedrigeres Molekulargewicht. Die geringen mit (Erd)Alkalisalzen erzielten Molekulargewichte könnten durch Optimierung der Reaktionsbedingungen verbessert werden, zum anderen verläuft die Polymerisation mit diesen Katalysatoren anionisch, wodurch sich im späteren Verlauf der Reaktion Umesterungen als signifikante Nebenreaktion ergeben [36]. Calciumkatalysatoren eignen sich für Polymerisationen ab 70°C. Bei dieser Temperatur wird ein mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat vergleichbares Molekulargewicht erzielt (vgl. Anhang Seite 195).

Als am vielversprechendsten erwiesen sich die Eisensalze, mit denen teilweise ein hohes Molekulargewicht erreicht werden kann. Unter den Eisensalzen erwiesen sich Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat als die besten Kandidaten als Katalysatoren für die ringöffnende Polymerisation. Eisen(III)perchlorat erfüllt dabei die aufgestellten Bedingungen für einen Alternativkatalysator zu Zinn(II)-2-ethylhexanoat (siehe Abschnitt 3). Bei hohen Temperaturen um 140°C ergibt Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei der Polymerisation von ϵ -Caprolacton zumeist höheres Molekulargewicht, als mit den Eisenkatalysatoren erreichbar ist. Bei der Polymerisation von DL-Lactid und Copolymeren kann jedoch auch bei Verwendung von Eisenkatalysatoren und 140°C ein vergleichbares Molekulargewicht erzielt werden (vgl. Seite 51 und Seite 52). Ihre Stärke zeigen Eisenkatalysatoren bei niedrigeren Temperaturen, wo bei der Polymerisation von ϵ -Caprolacton und DL-Lactid relativ hohes Molekulargewicht in akzeptabler Zeit hergestellt werden kann (vergleiche Seite 65 und 52). Zinn(II)-2-ethylhexanoat polymerisiert bei niedrigeren Temperaturen dagegen nicht effektiv.

Die Polymerisationsfähigkeit der Katalysatoren korreliert mit dem HSAB-Prinzip, dabei gilt, je weicher der Ligand des Eisensalzes ist, desto besser katalysiert er. So katalysieren Eisen(III)chlorid, Eisen(III)bromid, während Eisen(III)fluorid dazu nicht in der Lage ist. Eisen(III)perchlorat ist, unter den untersuchten Reaktionsbedingungen, der beste Katalysator.

Mit Azidoalkoholen und Allylphenol wurden interessante neue Initiatoren in die ringöffnende Polymerisation eingeführt, die zu einem hohen Molekulargewicht beitragen können. Die Einführung von Initiatoren, welche an Eisen koordinieren können, führte zur Entwicklung von zwei abgewandelten Mechanismusvorschlägen: Koordinativ-Insertations-Mechanismus, wenn diese Initiatoren koordinieren können, Monomer-aktivierter Mechanismus, wenn dies nicht der Fall ist (siehe Abbildung 47 auf Seite 47). Diese Mechanismen wiederum können einen Erklärungsansatz für den unterschiedlichen Einfluss des Initiatoranteils auf die Polymerisation geben. Initiatoren, welche nicht koordinieren können (wie Benzylalkohol), ergeben mit höherem Initiatoranteil höheres Molekulargewicht. Initiatoren, welche koordinieren können (wie Allylphenol), ergeben mit geringerem Initiatoranteil höheres Molekulargewicht. Dabei ist der Unterschied im erreichbaren Molekulargewicht bei Allylphenol und den Azidoalkoholen größer als bei Benzylalkohol. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass bei einem Überschuss an Allylphenol oder Azidoalkohol alle Eisenliganden durch die Alkohole ausgetauscht werden. Für die Reaktion wird jedoch nur ein Alkohol pro Eisensalz benötigt. Möglicherweise sind die vollständig ausgetauschten Eisensalze weniger reaktiv als die Komplexe, bei denen nur ein Eisenligand durch einen Alkohol ersetzt wurde.

5 Scaffolds

5.1 Herstellung der porösen 3D-Scaffolds

Zur Anwendung in der regenerativen Medizin wurden aus den bioabbaubaren Polymeren Gewebivorläuferstrukturen (Scaffolds) hergestellt. Diese bieten den Zellen eine Vorlage hinsichtlich der Form des zu regenerierenden Gewebes, der Proliferation und Differentiation. Dazu müssen sie porös, mit geeigneten Porengröße und die Poren interkonnektiert sein [168, 284, 285]. Die Anwendung von Scaffolds in dieser Arbeit liegt im Gebiet des Aufbaus von Fettgewebe und Zahngewebe (siehe Abschnitt 2.2.1 auf Seite 26). Die dazu benötigten Zelltypen (Preadipozyten (Fettgewebe) und Fibroblasten (Zahngewebe)) gehören mit $50\ \mu\text{m}$ und mehr zu den größten Körperzellen, sodass auch die Poren der Scaffolds entsprechend groß sein sollten.

Es wurden verschiedene Methoden zur Porenherstellung getestet. Die ersten sahen die Bildung poröser Filme vor. Bei ausreichender Dicke können daraus mehrere kleine 3D-Scaffolds geschnitten werden, welche dieselbe Höhe wie der Film haben [286]. Zunächst wurde der Temperatur-induzierte-Phasenseparationsansatz (TIPS) untersucht [208]. Dafür wurde Polymer in Dioxan gelöst und dazu Wasser gegeben. Diese Mischungen wurden in eine Petrischale gegossen und jeweils auf unterschiedliche Temperaturen, u. a. -20°C abgekühlt. Es ergaben sich nur dünne, ungleichmäßige Filme. Bei den nächsten Versuchen wurde das Wasser weggelassen, sodass es nicht, wie bei der Verwendung zweier Lösungsmitteln zu einer Flüssig-Flüssigphasenseparation kam, sondern zu einer Fest-Flüssigphasenseparation [206]. Doch auch so konnten nur dünne, ungleichmäßige Filme erzeugt werden.

Folglich wurde versucht, direkt 3D-Strukturen herzustellen. Als geeignete Form wurden Zentrifugenröhrchen (von Carl-Roth) eingesetzt. Der untere Teil der Zentrifugenröhrchen entsprach in Größe und Form den bereits vorhandenen Wachstumskammern aus Polycarbonat.

Wiederum wurde zunächst untersucht, ob mittels TIPS poröse 3D-Strukturen hergestellt werden können. Die erhaltenen Strukturen waren zwar dreidimensional, jedoch ließ sich keine ausreichende Porosität feststellen. Somit wurde der Ansatz ohne Wasser mit purem Lösungsmittel, wie Dioxan, wiederholt. Die so erzeugte 3D-Struktur wies jedoch keine ausreichend großen Poren auf.

Um die Porengröße zu erhöhen, wurde zu diesem Ansatz Salz (NaCl) als Porenbildner hinzugegeben. Damit ergab sich eine Kombinationsmethode aus TIPS und dem Herauslösen eines Porenbildners.

Es wurden verschiedene Lösungsmittel getestet. Dichlormethan, wie es häufig für Porogenansätze verwendet wird [287], erwies sich nicht als tauglich für den gleichzeitigen TIPS-Ansatz, da hiermit die Mischung nicht gelieren kann.

Dasselbe gilt für Tetrahydrofuran und Chloroform. Als geeignetes Lösungsmittel stellte sich Dioxan heraus.

Damit konnten poröse 3D-Strukturen hergestellt werden. Allerdings waren auch hierbei die Poren noch etwas klein. Hinzu kommt, dass im Scaffold verbliebenes Salz die Zellen durch osmotischen Stress schädigen kann. Zucker (Saccharose) hingegen ist leichter löslich und kann von den Zellen verstoffwechselt werden. Aus diesem Grund wurden alle nachfolgenden Versuche mit Zucker durchgeführt. Durch Sieben, gegebenenfalls kombiniert mit Zerreiben, konnte die gewünschte Körnungsverteilung des Zuckers und damit Porengröße des Scaffolds erhalten werden.

Es galt zunächst das passende Zucker- zu Polymer-Verhältnis herauszufinden. Bei nur geringem Überschuss, das heißt 6 bis 9-fachem Überschuss, sank der Zucker in der Polymerlösung nach unten. Dies konnte mittels eines Vortexers zwar vermindert aber nicht verhindert werden. Zu großer Zuckerüberschuss, wenn die Zuckerfüllhöhe die Polymerlösung übertraf, führte zu instabilen Scaffolds: Das Konglomerat aus Zucker und Polymer (Vorläuferscaffold) zerbröselte nach dem erstem Gefriertrocknen beim Herausnehmen aus dem Zentrifugenröhrchen. Ein 32-facher Gewichtsüberschuss an Zucker bezüglich des Polymers erwies sich als geeignet. Hiermit erreicht die Zuckerfüllhöhe genau den Rand der Polymerlösung. Diese Mischung wurde auf -15°C abgekühlt, sodass sie erstarrte. Im Folgenden wird dieser Vorgang "Gelieren" genannt. Beim Gelieren kommt es zu einer sichtbaren Vergrößerung des Volumens der Polymerlösung, wodurch sich oberhalb des Zuckers eine weiße Polymerschicht bildet. Die Ausbildung dieser Polymerschicht ist vom Molekulargewicht abhängig. Ist das Molekulargewicht zu niedrig (bei Poly(ϵ -Caprolacton) unterhalb von $45 \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$), kommt es nicht zu einer Volumenvergrößerung und somit auch nicht zu einer Polymerschicht. Dafür ist vermutlich verantwortlich, dass ein höheres Molekulargewicht zu einem höherem molarem Volumen führt und somit ein Mol des Polymers mit höherem Molekulargewicht mehr Platz beansprucht als ein mit geringerem Molekulargewicht. Dies wird, wenn die Löslichkeit des Polymers in Dioxan durch das Abkühlen der Mischung nicht mehr gegeben ist, zu einer Ausbreitung des Polymers oberhalb des Zuckers führen. Die Ausbildung der Polymerschicht war ein eindeutiges Anzeichen dafür, dass das Gelieren abgeschlossen war. Die Mischung wurde in flüssigem Stickstoff eingefroren und gefriergetrocknet.

Beim Gelieren kommt es zur Phasenseparation zwischen Polymer und Lösungsmittel und somit zur Bildung der TIPS-Poren. Abgesehen davon ist das Gelieren vor dem Einfrieren wichtig, da sich sonst an der Außenseite des Scaffolds eine dünne Haut bildet, die das nachfolgende Zellwachstum behindern würde. Diese Außenhaut entsteht vermutlich durch Adhäsion des Polymers an die Gefäßwand. Durch das Gelieren nimmt die Adhäsion mit der Gefäßwand ab und die Interaktion des Polymers mit dem Zucker und dem Lösungsmittel zu.

Eine mögliche Erklärung ist, dass beim Gelieren die Interaktion zwischen Polymer, Lösungsmittel und Zucker thermodynamisch günstiger ist als die Adhäsion an der Polymerwand des Zentrifugenröhrchens. Damit die Porenherstellung mittels TIPS funktioniert, muss eine Temperatur gewählt werden, bei der Dioxan gefriert. Dies ist unter 11°C der Fall. Wenn das Zentrifugenröhrchen in flüssigen Stickstoff getaucht wird, kommt es zum Abbruch des Geliervorgangs. Geschieht dies zu früh, ist die Adhäsion des Polymer am Zentrifugenröhrchen noch zu groß und es kann sich eine Außenhaut ausbilden.

Nach dem Gefriertrocknen hat sich ein festes Konglomerat aus Zucker und Polymer (Vorläuferscaffold) gebildet. Aus diesem wird der Zucker in destilliertem Wasser extrahiert. Um das Extrahieren zu ermöglichen, wird die Polymerschicht, die sich oberhalb des Zuckers gebildet hat, abgeschnitten. Der Prozess der Zuckerextraktion kann durch Verwendung eines Ultraschallbades unterstützt und beschleunigt werden. Falls sich trotz des Gelierschrittes die oben erwähnte Außenhaut auf dem Vorläuferscaffold gebildet hat, kann diese bei der ultraschallunterstützten Extraktion entfernt werden. Die durch den Ultraschall erzeugten Vibrationen zerstören die dünne Außenhaut, sodass auch bei diesen Fällen, mit ausreichend langer Extraktion im Ultraschallbad, ein offenporiger Scaffold entsteht.

Für die Extraktion wird das Becherglas mit den Scaffolds in das Ultraschallbad gehängt und bestrahlt. Dabei darf das Ultraschallbad nicht im Dauerbetrieb arbeiten, da sonst das Wasser im Ultraschallbad und im Becherglas erhitzt wird und dies die Scaffolds schädigt. Zu hohe Temperaturen führen zum Schrumpfen der Scaffolds. Aus diesem Grund wurden die Scaffolds jeweils 30 Minuten behandelt und dann das Wasser im Becherglas gewechselt. Diese Prozedur wurde mehrfach wiederholt. Während der Extraktion des Zuckers schwammen die meisten Scaffolds an der Wasseroberfläche. Scaffolds, die aus Polymeren mit zu geringem Molekulargewicht hergestellt wurden, blieben hingegen am Boden des Becherglases liegen. Sie zerfallen im Laufe der Extraktion.

Während der Scaffoldherstellung gibt es zwei Hinweise darauf, ob das Ausgangspolymer ein für die Scaffoldherstellung ausreichendes Molekulargewicht besitzt: 1. ist es zu niedrig, bildet sich kein Polymerfilm oberhalb des Zuckers, 2. die Scaffolds schwimmen während der Extraktion nicht, sondern sinken auf den Grund des Becherglases. Diese einfachen empirischen Beobachtungen sind für eine einfache Vorausschau bei dem Experiment sehr hilfreich. Im Laufe der Experimente wurde ein Mindestmolekulargewicht von 45 kg/mol für Scaffolds aus ϵ -Caprolacton ermittelt.

Abbildung 49 fasst die einzelnen Schritte des Scaffoldherstellungsprozesse zusammen. Da die Form der Scaffolds ausschließlich von der Form des Gefäßes abhängt, können mit diesem Verfahren Scaffolds nahezu beliebiger Form hergestellt werden.

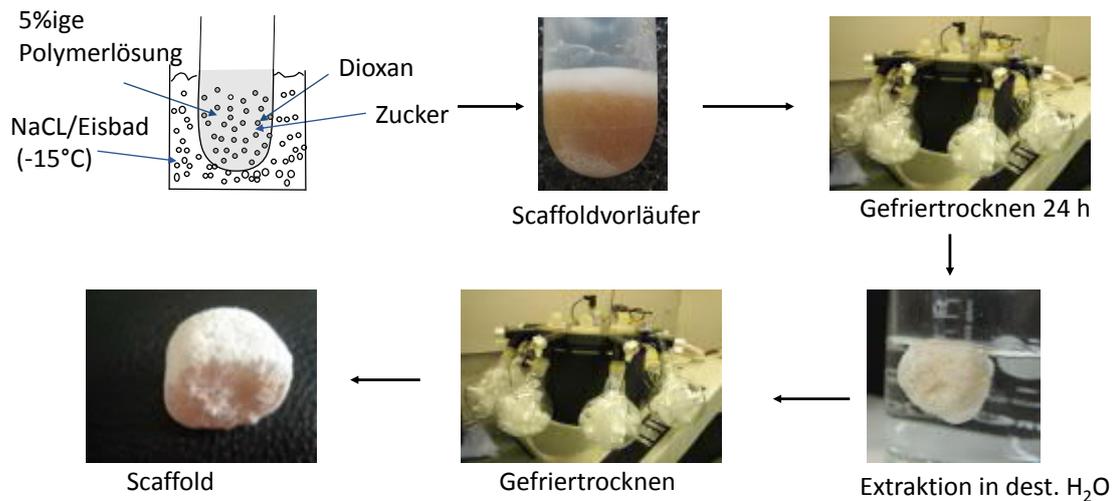


Abbildung 49: Schematische Darstellung der Scaffoldherstellung.

5.2 Eigenschaften der Scaffolds

Die Morphologie, die Porosität, die Interkonnektivität und die mechanischen Eigenschaften der Scaffolds wurden untersucht.

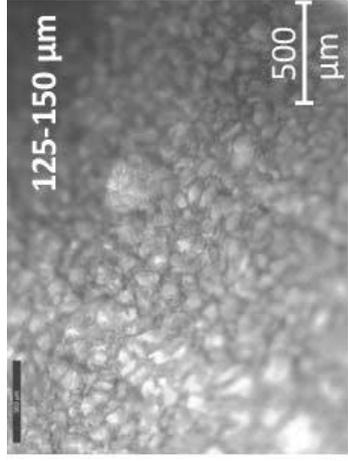
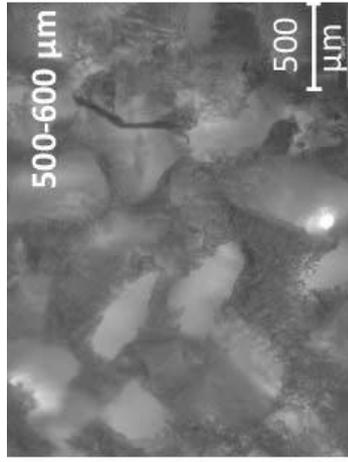
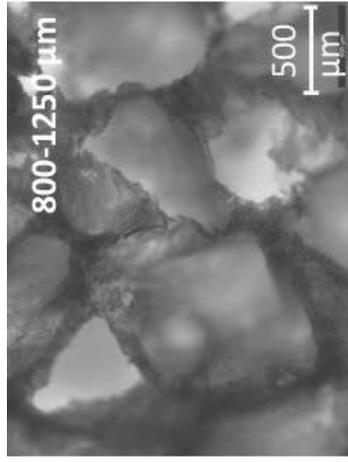
5.2.1 Bildanalyse der Poren

Es wurden Scaffolds in drei verschiedenen Porengrößen hergestellt: 125-150 μm , 500-600 μm und 800-1250 μm . Als Ausgangsmaterialien wurden Poly(ϵ -Caprolacton), Poly(DL-Lactid) und Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) verwendet (siehe Tabelle 25).

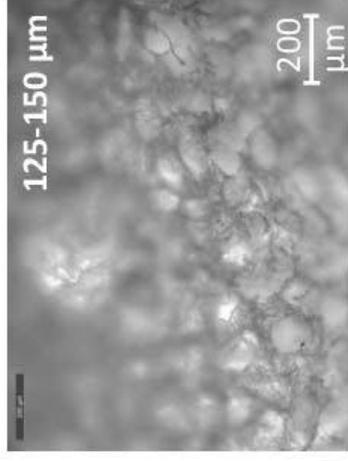
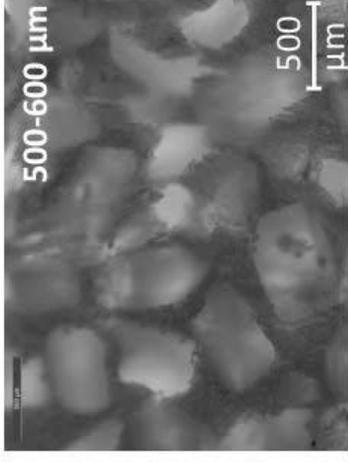
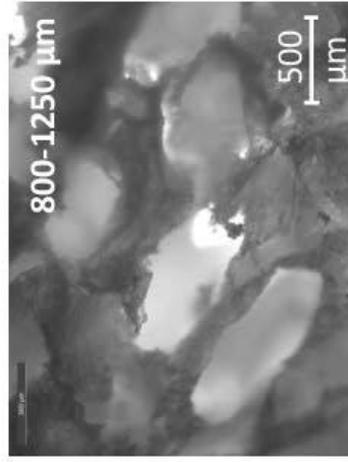
Tabelle 25: Auflistung der Polymere, aus denen die genauer charakterisierten Scaffolds hergestellt wurden. Abkürzungen: Poly(ϵ -Caprolacton) = PCL, Poly-DL-Lactid = PLA, Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (Caprolacton:DL-Lactid = 80:20) = PCLLA, Zinn(II)-2-ethylhexanoat = Sn(Oct)₂

Polymer	Katalysator	Mw ($\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$)	Mn ($\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$)	PDI
PCL	Sn(Oct) ₂	224,2	113,1	2,0
PLA	Sn(Oct) ₂	115,1	59,5	1,9
PCLLA	Sn(Oct) ₂	111,7	46,1	2,4

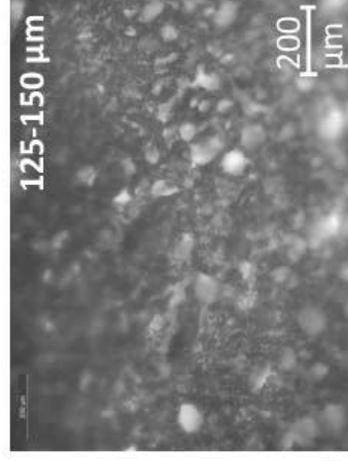
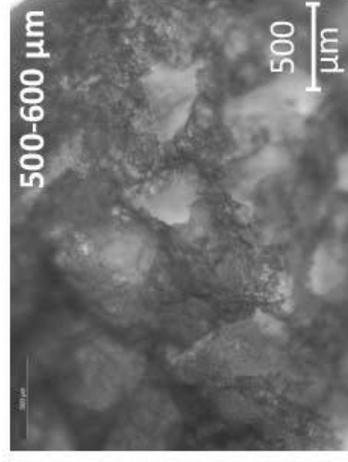
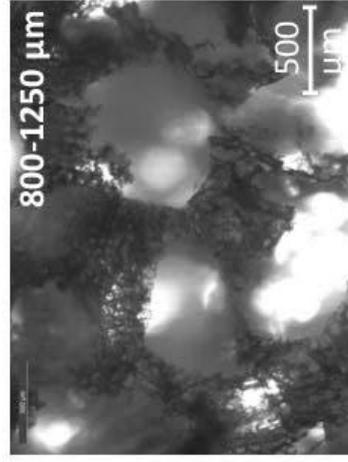
Mithilfe des Lichtmikroskops wurde zunächst überprüft, ob die Poren im richtigen Größenbereich liegen. Dafür wurden die Scaffolds in dünne Scheiben geschnitten, mit dem Lichtmikroskop untersucht und photographiert (siehe Abbildung 50).



1)



2)



3)

Abbildung 50: Lichtmikroskopien der Scaffolds. Reihe 1: Poly(ϵ -Caprolacton) , Reihe 2: Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) , Reihe 3: Poly(DL-Lactid) .

Wie der Maßstab der Bilder zeigt, sind die Porengrößen im jeweils angestrebten Größenbereich. Die hellen Flecken entstehen dadurch, dass an diesen Stellen mehr Licht durchscheint. Dies ist ein starkes Indiz dafür, dass hier übereinanderliegende und miteinander verbundene Poren liegen, die Poren sind also interkonnektiert. Die Morphologie der Scaffolds wird nicht alleine durch die großen, durch den Zucker entstandenen Makroporen beeinflusst. Auch in den Verstrebungen der Poren sind Unterstrukturen erkennbar, diese stammen von Mikroporen, welche im Verlauf der Phasenseparation generiert werden. Dabei zeigen sich schon bei den Lichtmikroskopbildern Unterschiede in der Morphologie. Die Morphologie der Scaffolds aus Poly(ϵ -Caprolacton) (im Bild 50 die erste Reihe) und die der Scaffolds aus Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (im Bild 50 die zweite Reihe) wirkt sehr ähnlich. Die Mikrostruktur der Scaffolds wirkt gestreift, was auf gleichmäßig angeordnete eher rechteckige Mikroporen hindeutet.

Eine deutlich andere Morphologie weisen die Scaffolds aus Poly(DL-Lactid) auf, die Mikrostruktur wirkt deutlich runder. Besonders bei den Scaffolds der Porengröße 800-1250 μm erkennt man, dass die Verstrebungen der Poren aus schaumartigen Strukturen bestehen. Um die Morphologie genauer zu analysieren, wurden die Scaffolds mittels Raster-Elektronen-Mikroskopie untersucht. Die Elektronenmikroskopieaufnahmen erfolgten bei 0,5-0,7 kV ohne zusätzliche Bedampfung der Scaffolds mit einem Edelmetall wie Gold. Diese Messmethode funktionierte bei den Scaffolds mit den Porengrößen 500-600 und 800-1250 μm hervorragend, dagegen weniger gut bei den Scaffolds mit Porengrößen um 125 μm . Bei diesen ergab sich teilweise das Problem, dass die Auflösung bei der geringen Spannung nicht ausreichte, um die Poren gut abbilden zu können. Höhere Spannungen schädigen allerdings den Scaffold und sorgen zu schnell für einen Ladungsüberschuss auf der Probe, was zu erheblichen Bildartefakten und Verzerrungen führt. Dies kann bei einer Edelmetallbedampfung leichter vermieden werden. Jedoch konnte eine gute Bilddarstellung erhalten werden, wenn eine größere Anzahl an Aufnahmen durchgeführt wurde.

Die REM-Mikroskopiebilder bestätigen, dass die Porengröße überwiegend in der erwarteten Größenordnung liegen.

Die Poren der feinporigen Scaffolds sind bei jenen aus **Poly(ϵ -Caprolacton--co-DL-Lactid)** etwas kleiner als geplant. Sie sind eher knapp unter $100\ \mu\text{m}$ groß, im Gegensatz zur geplanten Größe von $125\text{-}150\ \mu\text{m}$. Die zuckergenerierten Poren gehen teilweise ineinander über, sind also stark miteinander konnektiert. Zusätzlich erkennt man bei allen Scaffolds Mikroporen. Diese sind vor allem zwischen den $125\ \mu\text{m}$ Poren sehr gut verteilt und wirken sehr homogen. Es findet sich praktisch kein Bereich im $125\ \mu\text{m}$ Scaffold ohne derartige Mikroporen. In den Scaffolds mit den größeren Poren ($500\text{-}1250\ \mu\text{m}$) gibt es dagegen Bereiche, in denen weniger Mikroporen vorhanden sind, vor allem an jenen Stellen, die vor der Extraktion die Grenzflächen zum Zucker darstellten. Das Polymermaterial zwischen den Zuckerporen, die "Verstrebungen", ist hingegen deutlich und durchgehend durch Mikroporen strukturiert. Man kann davon ausgehen, dass diese Verstrebungsporen durch die Phasenseparation während des Einfrierens von Dioxan entstehen. Beim Abkühlen des Dioxans wird das Polymer schlechter löslich, so dass Phasen mit höherem und niedrigerem Polymeranteil entstehen, dieser Zustand wird durch Einfrieren und anschließendes Lyophilisieren fixiert. Direkte Nähe zur Zuckeroberfläche als "Keim" sorgt wahrscheinlich für das Ausbleiben der polymerarmen Phase, so dass statt der Mikroporen ein einheitlicher Polymerfilm auf den Zuckerkristallen entsteht. Deren Oberflächenstruktur spiegelt sich dementsprechend teilweise in Löchern zu den Mikroporen wider. Sie erinnern an die Mikroporen im $125\ \mu\text{m}$ Scaffold, die aufgrund des geringeren Platzes zwischen den feinen Zuckerkristallen auch keine eigene geordnete Struktur aus zahlreichen benachbarten Mikroporen ausbilden können.

Die Öffnungen zu den Mikroporen in den Grenzflächen der Zuckerporen sind verhältnismäßig heterogen, folgen jedoch oftmals der Struktur der Zuckerkristalle und liegen im Größenbereich von circa $10\ \mu\text{m}$ bis $100\ \mu\text{m}$ (siehe Abbildung 51 d). Die großen Grenzflächenporen sind rissförmig und teilweise groß genug, dass man durch sie in tiefergelegene Schichten auf weitere interkonnektierte Poren sehen kann (siehe Abbildung 51 e)). In den Verstrebungen der Zuckerporen finden sich rechteckige, teilweise abgerundete Mikroporen, welche überwiegend schlauchartig sind, also feste Grenzflächen haben. Dennoch finden sich auch in diesen Poren einige kleinere Mikroporen (siehe Abbildung 51 f)). Größenmäßig liegen die dioxangenerierten Mikroporen zwischen $10\text{-}100\ \mu\text{m}$, die meisten sind im mittleren Bereich. Die größeren Mikroporen sind häufig von dünnen Polymerfasern überspannt. Bei den $800\text{-}1250\ \mu\text{m}$ Poren ergeben sich dieselben Strukturen der dioxangenerierten Mikroporen wie in den $500\ \mu\text{m}$ Scaffolds.

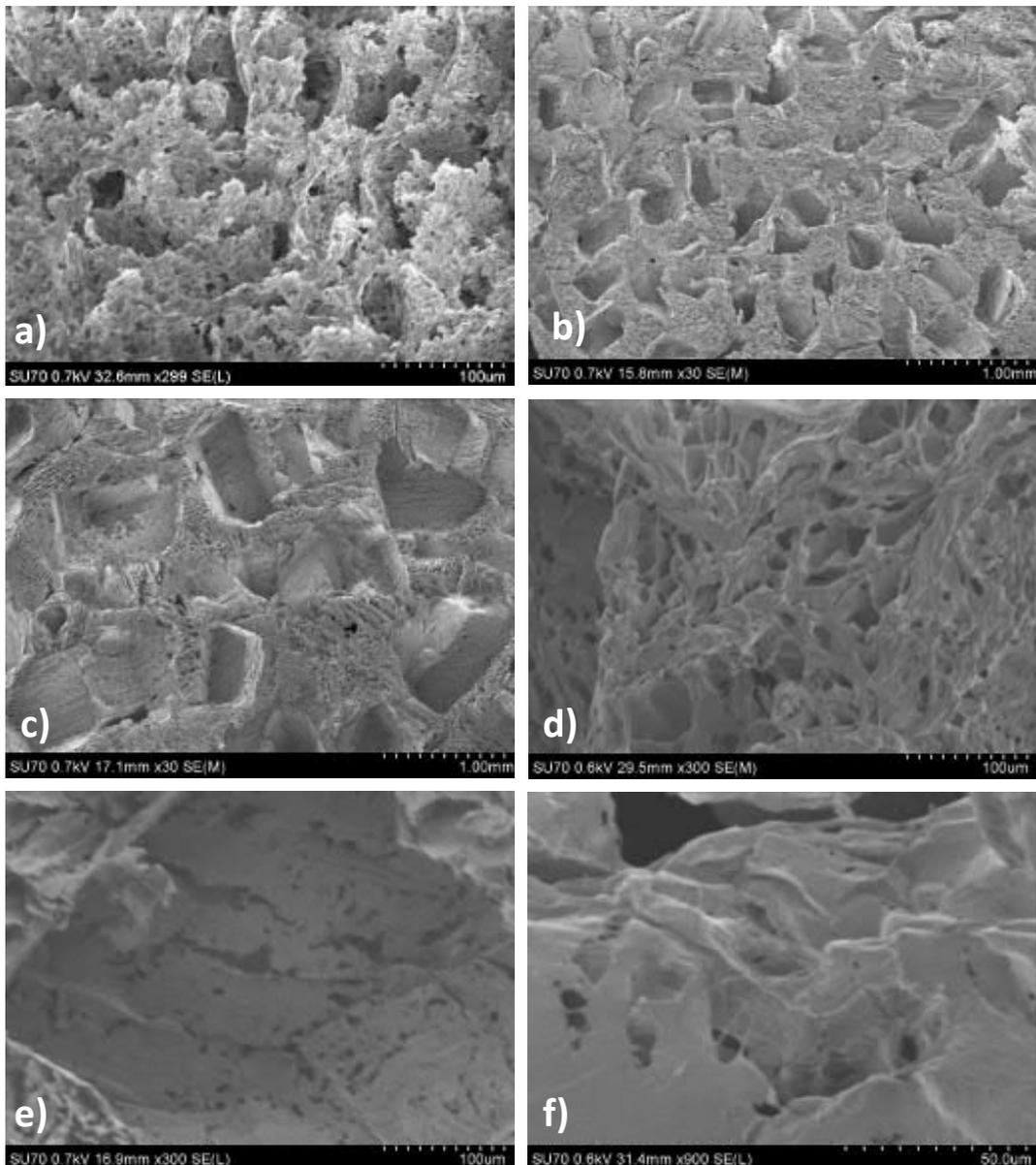


Abbildung 51: REM-Bilder der Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid)-Scaffolds, a)-c) zeigen einen Überblick über die Großstruktur der Scaffolds: a) 125-150 μm , b) 500-600 μm und c) 800-1250 μm . Während die Porengrößen bei den Scaffolds mit kleinen Porengrößen etwas kleiner sind als gewünscht, stimmen die Poren der anderen Scaffolds gut mit den gewünschten Porengrößen überein. In allen Scaffolds erkennt man zusätzlich zu den größeren Poren eine Mikroporenstruktur, die für die Interkonnektierung sorgt. d)-f) zeigen verschiedene Ausprägungen der Feinstruktur der Scaffolds: d) Grenzflächenpore, e) Blick durch eine Grenzflächenpore, f) Poren auf den Verstrebnungen der Zuckerpore

Die Porengrößen der **Poly(ϵ -Caprolacton)**-Scaffolds liegen überwiegend im angestrebten Größenbereich (siehe Abbildung 52). Jedoch sind die gemessenen Porengrößen beim Scaffold mit den kleinen Poren etwas geringer als gewünscht. Sie betragen überwiegend 30-60 μm , einzelne bis etwas über 100 μm . Bei den 500-600 μm Poren stimmt die gemessene Porengröße mit der gewünschten Porengröße überein, ganz selten sind kleinere zuckergenerierte Poren darunter. Die an der Schnittfläche für die Mikroskopie messbare Porengröße hängt neben der Größenverteilung der verwendeten Zuckerkristalle auch von deren anisotroper Orientierung bei der Scaffold-Herstellung ab. Bei den Scaffolds mit 800-1250 μm Poren sind die Poren ebenfalls in der gewünschten Porengröße mit vereinzelt kleineren Poren.

In allen Scaffolds finden sich durch den parallelen TIPS-Ansatz zusätzlich entstehende Mikroporen, welche für die Interkonnektivität der großen Zuckerporen sorgen. In den 125-150 μm Scaffolds weisen sie keine geordnete Struktur auf. Im Falle der 500-600 μm Poren ergeben sich je nach deren Umgebung etwas unterschiedlich strukturierte Mikroporen (siehe Abbildung 52 d-f)).

Die Mikroporen an der Grenzfläche der Zuckerporen sind bei den Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds kleiner, sie liegen überwiegend im Bereich 5-20 μm , einzelne können bis um 50 μm erreichen (siehe Abbildung 52 d)). Rissförmige größere Grenzflächenporen, wie sie bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) vermehrt auftreten, sind bei den Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds sehr selten und werden von Polymerfasern überspannt (siehe Abbildung 52 b)). Die dioxangenerierten Poren sind überwiegend rechteckig, praktisch nie abgerundet. Die Mikroporen sind unterschiedlich orientiert, können bis zu 200 μm groß werden, liegen aber überwiegend im Größenbereich von 50-100 μm . Die Grenzflächen der Mikroporen sind dicht mit relativ wenigen kleinen Poren.

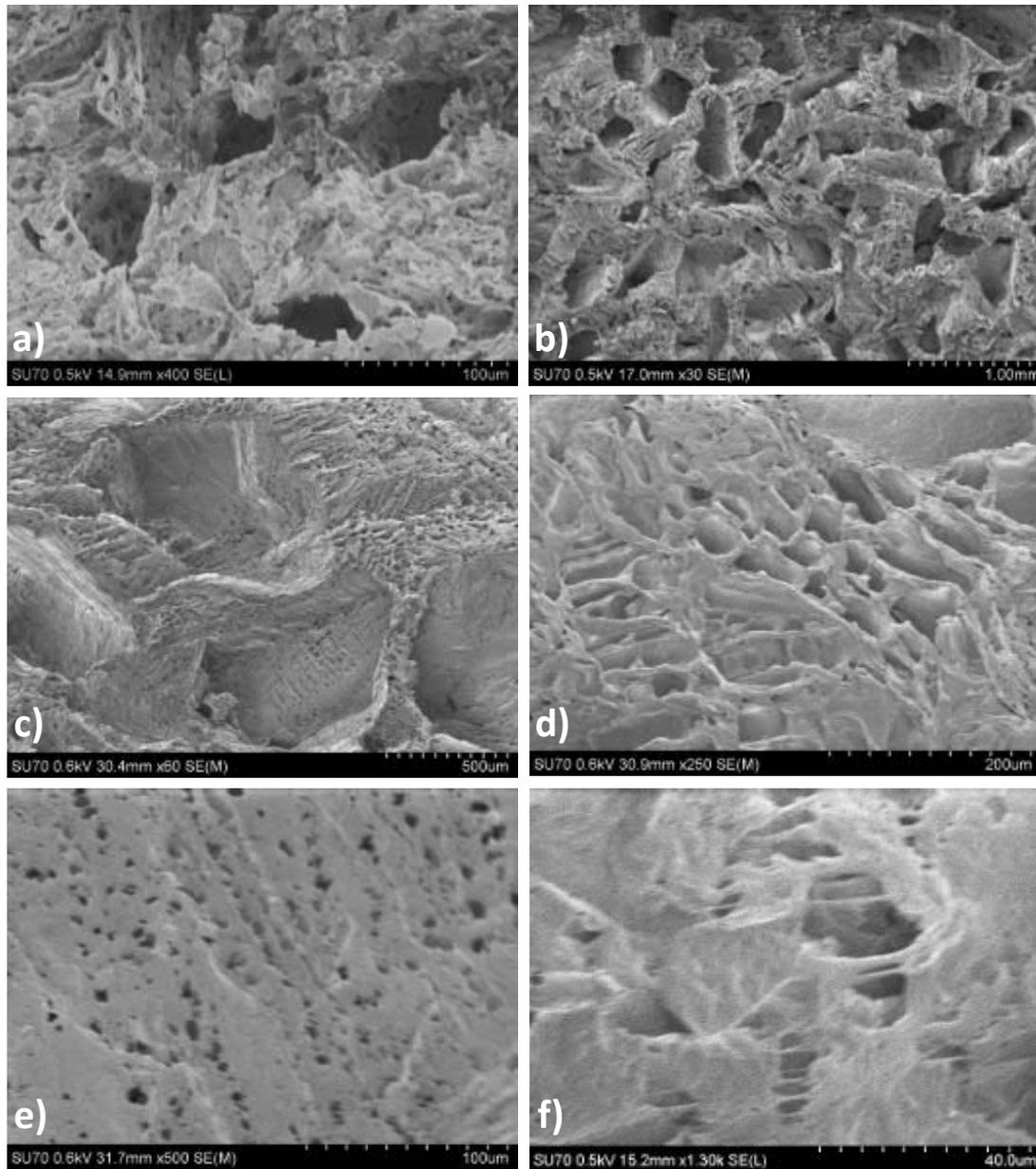


Abbildung 52: REM-Bilder der Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds, dabei zeigen a)-c) die Grobstruktur der Scaffolds. Nominelle Porengrößen: a) 125-150 μm , b) 500-600 μm und c) 800-1250 μm . Die Poren der feinporigen Scaffolds sind etwas kleiner als gewünscht. Bei den anderen Scaffolds stimmt die gemessene Porengröße mit der gewünschten Größe überein. d)-e) zeigt die Feinstruktur der 800-1250 μm Scaffolds: d) Grenzflächenporen e) Blick durch Grenzflächenpore, f) Mikroporen auf den Verstrebungen der Zuckerporen

Die Poren der **Poly(DL-Lactid)** -Scaffolds erreichen überwiegend die gewünschte Größenordnung (siehe Abbildung 53 a)-c)). Teils kommen etwas kleinere Poren hinzu, möglicherweise durch entsprechende anisotrope Orientierung der Zuckerkristalle bei der Herstellung. Wie bei den anderen Polymeren sind die Porengrößen der feinporigen Poly(DL-Lactid)-Scaffolds mit circa 50-125 μm etwas zu klein. Die Mikroporen sind strukturell unterschiedlich, abhängig davon ob es Grenzflächenporen sind oder sie sich in den Verstrebungen zwischen den Zuckerporen befinden (siehe Abbildung 53 d-e)).

Wie bei den Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds treten kaum rissförmige und generell weniger Mikroporen in der Grenzfläche der großen Zuckerporen auf. Die wenigen vorhandenen Grenzflächenporen sind rund und überwiegend zwischen 40-50 μm groß.

Die dioxangenerierten Mikroporen in den Poly(DL-Lactid)-Scaffolds besitzen eine völlig andere Struktur als die in den Scaffolds aus den übrigen Polymeren. Die Mikroporen der Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds weisen praktisch keine und die in den Copolymer-Scaffolds nur relativ wenige Polymerfasern auf. Im Kontrast dazu bestehen die durch TIPS generierten Mikroporen der Poly(DL-Lactid)-Scaffolds vollständig aus dünnen Polymerfasern von überwiegen 10-20 μm Stärke. Teilweise finden sich Verdickungen mit bis zu 30 μm , vereinzelt sehr dünne Fasern mit nur 5 μm . Sehr dünne Fasern treten bei den Scaffolds mit einer Porengröße von 500 μm -600 μm häufiger auf als bei den Scaffolds mit Poren im Bereich von 800 μm -1250 μm . Die Fasern bilden große, runde, kathedralenartige Hohlräume, durch die man viel weiter in die Scaffolds hineinsehen kann, als bei den anderen Polymeren. Die so, also durch TIPS, entstehenden Mikroporen können bis zu 200 μm groß sein, zumeist bei liegen sie bei 50-100 μm (siehe Abbildung 53 f)). Im Gegensatz zu den Mikrostrukturen der Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds und Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid)-Scaffolds gibt es somit in den Mikroporen weniger größere Polymerstrukturen, welche den Scaffold stabilisieren können. Dies könnte eine Erklärung für ein Problem sein, welches bei den feinporigen Poly(DL-Lactid)-Scaffolds auftritt, nämlich dass diese während des Degradierens deutlich einschrumpfen. Dieses Problem tritt bei den Scaffolds mit den größeren Poren nicht auf. Dies spricht für die Theorie, weil die Zuckerporen durch ihre im Vergleich zu den Verstrebungen dichtere Struktur die Scaffolds stabilisieren dürften.

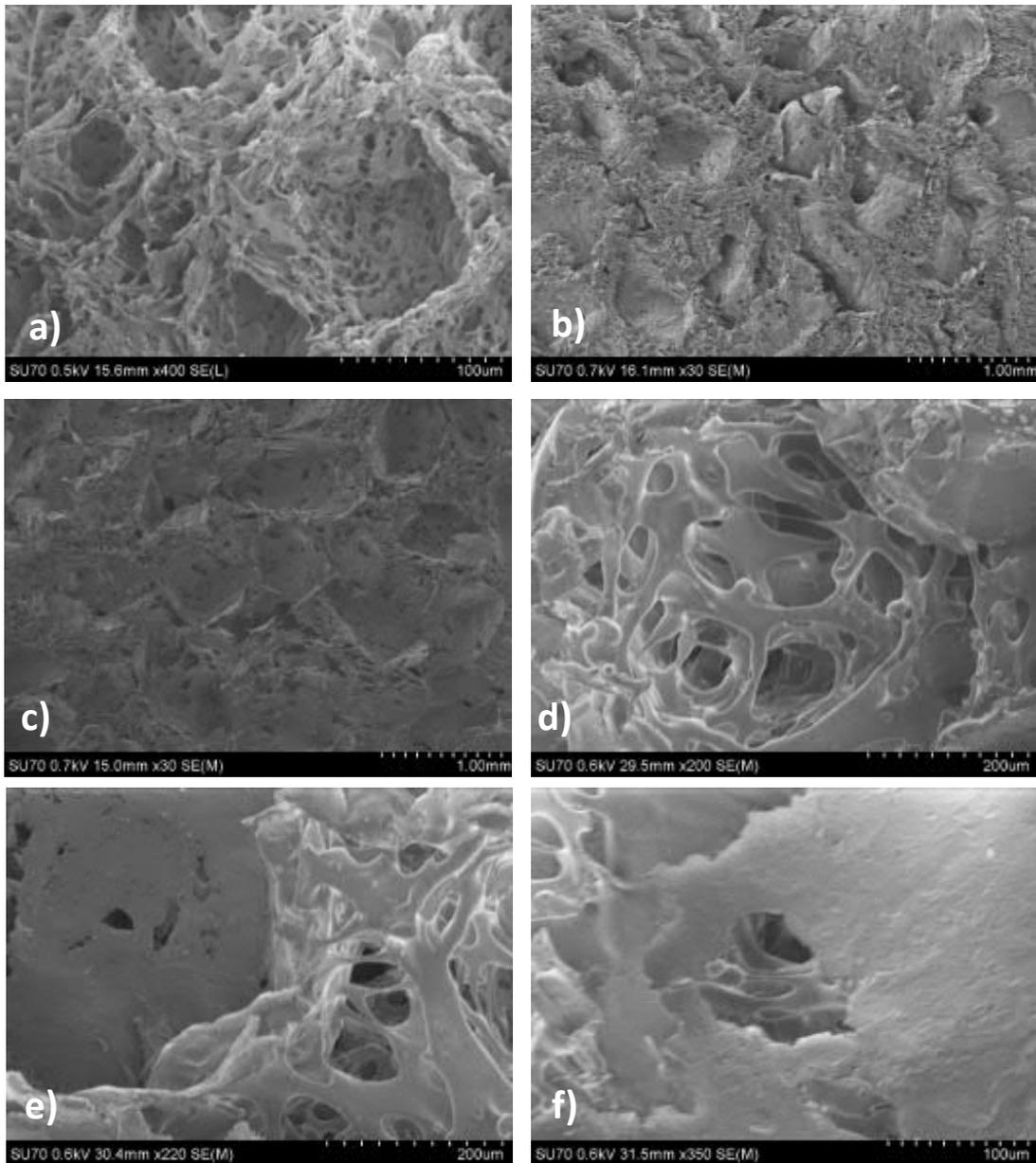


Abbildung 53: REM-Abbildungen der Poly(DL-Lactid)-Scaffolds, a)-c): Grobstruktur der Scaffolds: a) 125-150 μm , b) 500-600 μm und c) 800-1250 μm . In Analogie zu den anderen Polymeren weisen auch bei Poly(DL-Lactid) bei den Scaffolds mit der Porengröße 125-150 μm eine etwas zu kleine Porengröße auf. Bei den anderen Porengrößen stimmt die gemessene Größe gut mit der gewünschten Größe überein.

d)-f): REM-Bilder der Feinstruktur der 800 μm Poly(DL-Lactid) -Scaffolds: d) Mikroporen an der Grenzfläche der Zuckerporen, e) Blick durch eine Grenzflächenpore, f) Poren auf den Verstreibungen der Zuckerporen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds und die Poly(DL-Lactid)-Scaffolds am stärksten in ihrer Morphologie voneinander unterscheiden. Die dioxangenerierten Mikroporen der Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds sind rechteckig und schachtartig (also von relativ festen Wänden umgeben), man kann von der Mikroskopie-Schnittfläche aus nicht weit in die Scaffolds hineinschauen; es treten kaum Polymerfasern auf. Die Mikroporen bei Poly(DL-Lactid) dagegen bestehen aus einem bogenartigen Fasernetzwerk, sind rund und bilden tief einsehbare Hohlräume. Die Copolymer-Scaffolds sind eine Mischung aus beiden, wobei mehr strukturelle Ähnlichkeit zu Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds besteht. Die Mikroporen bestehen ebenfalls überwiegend aus schachtartigen Strukturen. Im Gegensatz zu den Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds sind diese jedoch nicht nur rechteckig, sondern teilweise abgerundet.

An den Stellen, an denen nach dem Gefriertrocknen Poren sind, waren davor Lösungsmittelkristalle. Eine mögliche Erklärung für die unterschiedliche Struktur der Mikroporen ist eine unterschiedliche Löslichkeit der Polymere in Dioxan. Während der Kristallisation des Lösungsmittels wird das Polymer aus den Lösungsmittelkristallen vertrieben. Der Schmelzpunkt von Dioxan ist $11,8^{\circ}\text{C}$, somit verläuft die Kristallisation des Lösungsmittels bei Abkühlung auf -18°C ziemlich schnell. Bei schlechterer Löslichkeit, was bei DL-Lactid der Fall sein dürfte, wird das Polymer aus dem Lösungsmittel getrieben, solange das Lösungsmittel noch flüssig ist. Es kommt somit zur Flüssig-Flüssig-Phasenseparation. Das Polymer sammelt sich zwischen den Lösungsmitteltropfen und bildet faserartige Strukturen. Durch die niedrige Temperatur verläuft der Prozess nicht bis zu einem stabilen Zustand, sondern wird in einem instabilen (spinodalen) Zustand eingefroren [288, 289].

Dagegen bleiben die Polymere bei besserer Löslichkeit, wie Poly(ϵ -Caprolacton) und Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid), länger im Lösungsmittel und die Phasentrennung geschieht erst durch die Kristallisation des Lösungsmittels. Dies führt zu einer Fest-Flüssig-Phasenseparation, welche häufig schachtartigen Strukturen ergibt [290–292].

Die überwiegende Ähnlichkeit der Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid)-Scaffolds zu den Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds mit einigen Ähnlichkeiten zu den Poly(DL-Lactid)-Scaffolds passt gut zu deren Zusammensetzung aus 80% ϵ -Caprolacton und 20% DL-Lactid. Zwischen Poly(ϵ -Caprolacton) und Poly(DL-Lactid) sollte es nicht zur Phasenseparation kommen, da Poly(ϵ -Caprolacton) dafür bekannt ist, mit anderen Polymeren gut mischbar zu sein [36].

5.2.2 Porosität und Interkonnektivität der Scaffolds

Die Porosität der Scaffolds wurde mit ImageJ analysiert. Dazu werden die Bilder in graumaßstabgetreue Bilder umgewandelt, welche ImageJ analysieren kann. Das porenbildende Material ist dabei durch dunklere Grauwerte gekennzeichnet. Um den Anteil der Poren zu analysieren, gibt man den Grenzwert der zu berücksichtigenden Grauwerte an und ImageJ bestimmt, wie hoch der Anteil am gesamten Bild ist. Somit erhält man die Porosität der Scaffolds. Dafür wurden je Polymersorte mindestens 10 unterschiedliche Elektronenmikroskopie-Bilder ausgewertet und daraus der Durchschnitt gebildet.

Tabelle 26: Die mit ImageJ ermittelte Porosität der Scaffolds. Abkürzungen: Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) = PCCLA, Poly(ϵ -Caprolacton) = PCL, Poly(DL-Lactid) = PLA

Polymer	Porengröße		
	125-150 μm	500-600 μm	800-1250 μm
PCLLA	87%	82%	84%
PCL	80%	82%	83%
PLA	73%	86%	88%

Die ermittelten Porositäten liegen alle in einer ähnlichen Größenordnung um jeweils 80-85%. Der geringste Wert ergab sich für die Poly(DL-Lactid) -Scaffolds mit den 125-150 μm Poren, was am beschriebenen Schrumpfungsprozess liegen dürfte, der die Scaffolds auch deutlich kompakter macht.

Zusätzlich wurden einzelne Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds mittels Röntgen-Mikrocomputertomografie (Mikro-CT) auf ihre Porosität hin untersucht (siehe Abbildung 54).

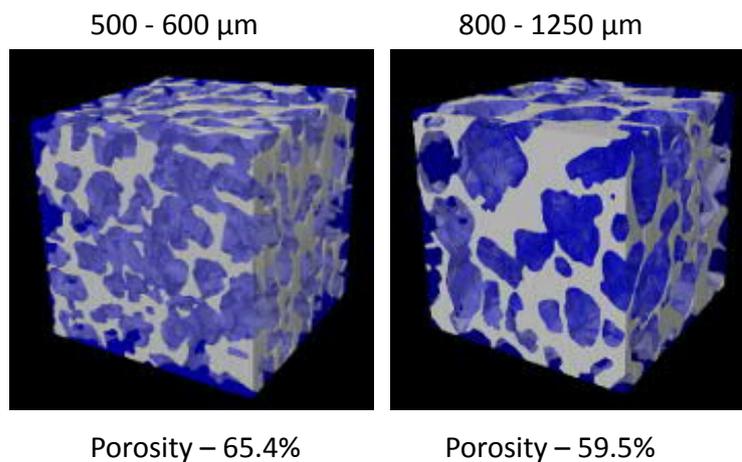


Abbildung 54: Mikro-CT-Bilder von a) 500-600 μm -Scaffolds, b) 800-1250 μm -Scaffolds. Die mit Mikro-CT bestimmten Porositäten liegen deutlich unter den mit ImageJ bestimmten Werten.

Es wurden deutlich geringere Porositäten bestimmt: 500-600 μm (65,4%) und 800-1250 μm (59,5%). Eine Erklärung dafür könnte sein, dass das Micro-CT die in den Verstrebenden bestehenden Mikroporen nicht erfasst hat. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass sich die Porenstruktur der Scaffolds aufgrund des Alters der Scaffolds verändert. Die Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds mit 500-600 μm Porengröße waren zum Zeitpunkt der Messung schon anderthalb Jahre alt, der 800-1250 μm -Scaffold wahrscheinlich schon um die zwei Jahre. Jedoch konnten für die Messungen keine neuen Scaffolds erstellt werden. Dass sich die Scaffolds mit der Zeit verändern und kompakter werden wurde bei den Poly(DL-Lactid)-Scaffold, mittels dem REM beobachtet.

Die Interkonnektivität der Scaffolds wurde durch Einspritzen des wasserlöslichen Farbstoffes Indigocarmin in die Mitte eines Scaffolds untersucht. Der Scaffold wurde anschließend in Wasser gegeben und überprüft, ob der Farbstoff austreten kann, also durch den Scaffolds ins Wasser diffundieren kann. Dies passierte innerhalb weniger Minuten. Durch Tupfen des Scaffolds auf saugfähigem Papier konnte überprüft werden, ob der Farbstoff nicht ausschließlich durch den verursachten Einspritzkanal, sondern auch überall herausdiffundieren kann, was der Fall war.

5.2.3 Mechanische Eigenschaften

Die Scaffolds wurden in Zusammenarbeit mit Dr. Raimund Jäger und Daniel Ebel vom Fraunhofer IWM mechanisch getestet. Dafür wurden Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds in drei Porengrößen hergestellt: 125-150 μm , 500-600 μm und 800-1250 μm . Da das abgerundete Ende der üblicherweise hergestellten Form die Messung verfälschen würde, wurden diese Enden abgeschnitten, sodass zylindrische Scaffoldproben vermessen werden konnten.

Diese Scaffolds wurden mit einem servohydraulischen Testsystem (MTS Bionix) auf ihre Belastbarkeit hin untersucht. Dabei wurden die Scaffolds kontinuierlich (5 mm/min) gestaucht. Der Kompressionsweg und die benötigte Kraft wurden aufgezeichnet. Die gemessene Kraft wurde auf den Querschnitt der zylindrischen Scaffoldprobe bezogen und die so ermittelte Spannung über die wahre Dehnung (ϵ , Logarithmus des relativen Kompressionsweg bezogen auf die Ausgangslänge der Probe) aufgetragen (siehe Abbildung 55).

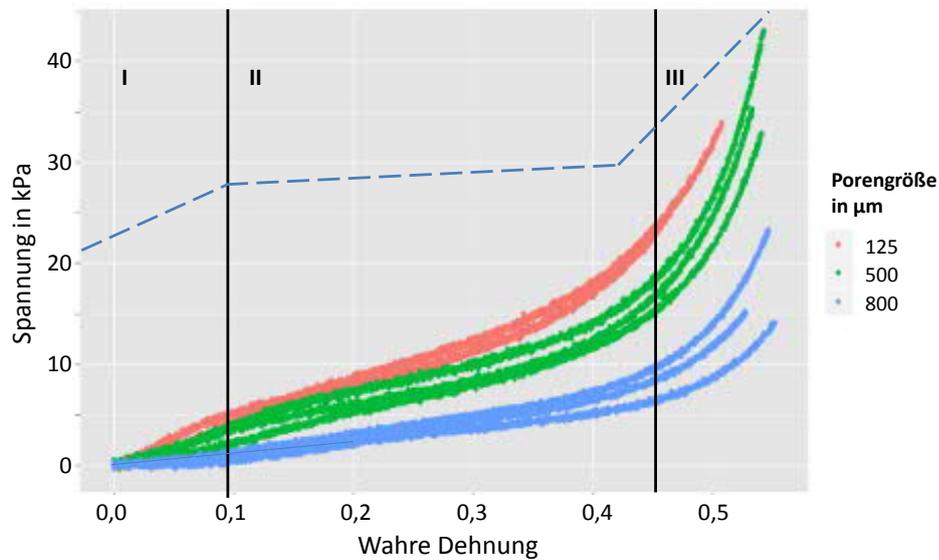


Abbildung 55: Mechanische Belastungstest der Scaffolds: Auftragung der Spannung gegen die Dehnung, bzw. Kraft gegen Kompression. Die meiste Kraft hielten die Scaffolds mit der kleinsten Porengröße aus, am weitesten gedehnt werden konnten die mit der größten Porengröße. Die Kurve kann in drei Phasen eingeteilt werden: I: elastischer Bereich, II: Kollapsplateau, III: Verdichtungsregion, genaueres siehe Text. Die gestrichelte Linie stellt einen idealisierten Verlauf einer solchen Messung dar.

Die gemessenen Spannungs-Dehnungskurven entsprechen dem Verlauf, welchen man für offenporige, elastomere Schäume mit niedriger Dichte und interkonnectierten Verstrebungen erwartet [174]. Die Kurve lässt sich in drei Bereiche einteilen (siehe Abbildung 55): I elastischer Bereich, II Kollapsplateau und III Verdichtungsregion [293]. Die Scaffolds konnten bis zu einem gewissen Kompressionsweg bzw. der entsprechenden Kraft gestaucht werden, ohne dass sie geschädigt wurden (Phase I). Dies erkennt man am linearen Anstieg der Spannungs-Dehnungskurve. Im zweiten Bereich (Phase II) werden die Verstrebungen gestaucht und die Poren werden komprimiert, dabei läuft die Kurve in ein leichtes, etwas ansteigendes Plateau. Weitere Kompression führt zum Kollaps der Poren im gesamten Scaffold (Phase III), diese beginnt im Bereich des stärksten Kurvenanstiegs. Die Phasen im Diagramm wurden genähert eingetragen, weil sie sich von Porengröße zu Porengröße etwas unterscheiden. Die gestrichelte Kurve in Abbildung 55 stellt einen idealisierten Verlauf einer solchen Messung dar.

Wann diese Phasen genau beginnen, hängt von der jeweiligen Porengröße ab. Je größer die Poren desto weiter konnten die Scaffolds gestaucht werden, ohne dass sie dabei geschädigt wurden. So geht die Phase I bei den Scaffolds mit den Porengrößen 125 -150 μm bis circa $\epsilon = 0,1$, bei den Scaffolds mit den Porengrößen 500 -600 μm bis circa 0,12, und bei den mit 800 -1250 μm bis circa 0,2.

Die Phase II und damit das Kompressionsplateau verläuft bei den Scaffolds mit den kleinen Porengrößen bis circa $\epsilon = 0,4$, bei den mittleren Porengrößen bis circa 0,43 und den großen Porengrößen bis circa 0,45. Die Tests wurden nicht bis zu einer irreversiblen Verformung der Scaffolds durchgeführt. Die Scaffolds erholten sich nach einiger Zeit wieder und konnten in einem weiterem Test verwendet werden.

Die Scaffolds mit den kleinsten Porengrößen halten den größten Druck aus. So beginnt die Phase III der kleinporigen Scaffolds bei circa 23 kPa, bei den mittleren Scaffolds sind es circa 17 kPa und bei den großporigen circa 9 kPa. Während bei der Kompression die Scaffolds mit größeren Poren einen längeren Kompressionsweg unbeschädigt überstehen, werden sie bei gleichem aufgebrachtem Druck stärker deformiert als die mit den kleineren Poren. Dies sieht man daran, dass die Kurve im Spannungs-Dehnungs-Diagramm bei deutlich geringerer Spannung nach oben abknickt.

5.3 Degradation der Scaffolds

Die Scaffolds müssen in der Lage sein, den Zellen so lange ein stabiles Gerüst zu bieten, bis das Gewebe regeneriert ist und keine Unterstützung mehr benötigt. Um das Verhalten der Scaffolds während der Regeneration des Gewebes beurteilen und ihren möglichen Anwendungszeitraum abschätzen zu können, wurden Degradationsversuche durchgeführt. Unterschreitet das Molekulargewicht bei der Degradation bzw. bei der Anwendung im Körper einen für das jeweilige Polymer spezifischen Wert, wird das Material instabil und der Scaffold zerfällt. Bis zu diesem Punkt müssen die Scaffolds ihre Aufgabe als Gewebavorläuferstruktur erfüllt haben. Es kann angenommen werden, dass die Degradation des Polymers und damit die Abnahme des Molekulargewichts neben dem Polymermaterial auch von den morphologischen Eigenschaften des Scaffolds, insbesondere der Porengröße und der Porosität, abhängig sind. Um eine solche etwaige Abhängigkeit zu ermitteln, wurde die Veränderung des Molekulargewichts von Scaffolds unterschiedlicher Porengröße aus unterschiedlichen Polymeren über mehrere Wochen gemessen und verfolgt.

Für die Degradationsexperimente wurden Scaffolds aus Poly(ϵ -Caprolacton) (PCL), Poly(DL-Lactid) (PLA) und Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (PCLLA, 85:15) auf ihre Degradationsgeschwindigkeit untersucht. Hierfür wurden dieselben Polymere genutzt, aus welchen auch die Scaffolds, deren Morphologie untersucht wurde, hergestellt wurden (siehe Tabelle 25 auf Seite 94). Für die Untersuchung wurden die Scaffolds, wie im Abschnitt 8.2.3.6 auf Seite 156 beschrieben, hergestellt.

Zur Degradation wurden sie in isotonische Kochsalzlösung gegeben und in einem Schüttelinkubator bei 37°C mit 250 rpm geschüttelt. Jede Woche wurde eine Probe für GPC-Messungen entnommen. Nähere Details über den Ablauf der Degradationstests findet sich im Experimentaltteil Abschnitt 8.2.3.8 auf Seite 157. Im Fall der Scaffolds aus **Poly(ϵ -Caprolacton)** ergab sich über 8 Wochen keine bedeutsame Änderung im Molekulargewicht (siehe Abbildung 56).

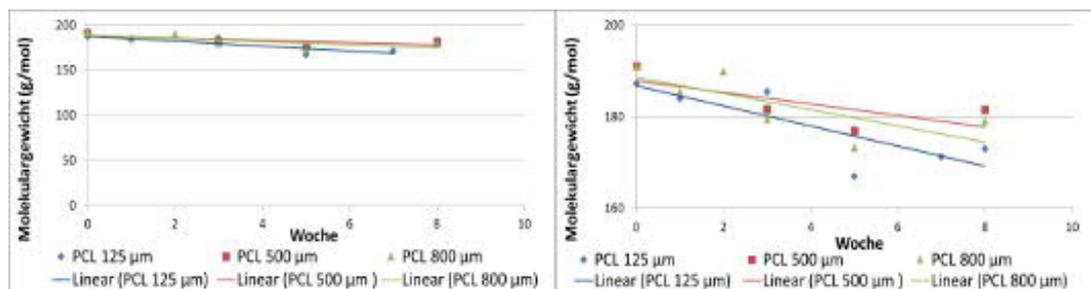


Abbildung 56: Untersuchung der Degradation von Poly(ϵ -Caprolacton) durch Untersuchung der Abnahme des Molekulargewichts mit der Zeit. a) Das Molekulargewicht der Scaffolds aus Poly(ϵ -Caprolacton) änderte sich während des Degradationstestes kaum. b) Die Ausschnittvergrößerung lässt eine gewisse Abhängigkeit von der Porengröße vermuten, allerdings sieht man, dass das Molekulargewicht stark schwankt.

Eine sehr geringfügige Abnahme schien beobachtbar zu sein (siehe Abbildung 56 b), jedoch liegt die Veränderung im Bereich des Messfehlers der GPC-Methode [294].

Im Falle der Scaffolds aus dem **Copolymer PCLLA** (80/20) ergab sich eine kurze Degradationszeit. Innerhalb von 8 Woche fiel das Molekulargewicht auf 40% des ursprünglichen Wertes (siehe Bild 57). Nach drei Wochen zerfielen zwei von vier der Scaffolds mit den 800 μm Poren. Die Scaffolds mit den 500-600 μm Poren begannen nach der 5. Woche zu zerfallen, es verblieb jedoch eine ausreichende Anzahl an Scaffolds, um Messwerte von der 7. und 8. Woche zu erhalten. Vergleicht man dies mit dem gemessenen Wert des Molekulargewichts, lässt sich darauf schließen, dass die Copolymer-Scaffolds instabil werden, wenn das Molekulargewicht unter 40 $\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ fällt.

Die Scaffolds mit den Porengrößen 125-150 und 500-600 μm wurden annähernd gleich schnell abgebaut. Die Scaffolds mit dem größten Porendurchmesser von 800-1250 μm degradierten am schnellsten.

Zu erwarten wäre eine direkte Abhängigkeit der Degradationsgeschwindigkeit von der Porengröße, das heißt, je größer die Pore desto schneller degradiert der Scaffold aufgrund des Flüssigkeitsaustauschs der Hohlräume. Hingegen muss beachtet werden, dass viele kleine Poren zu einer größeren Angriffsfläche und dünneren Porenwänden führen als wenige große Poren, was diesem Effekt entgegenwirkt.

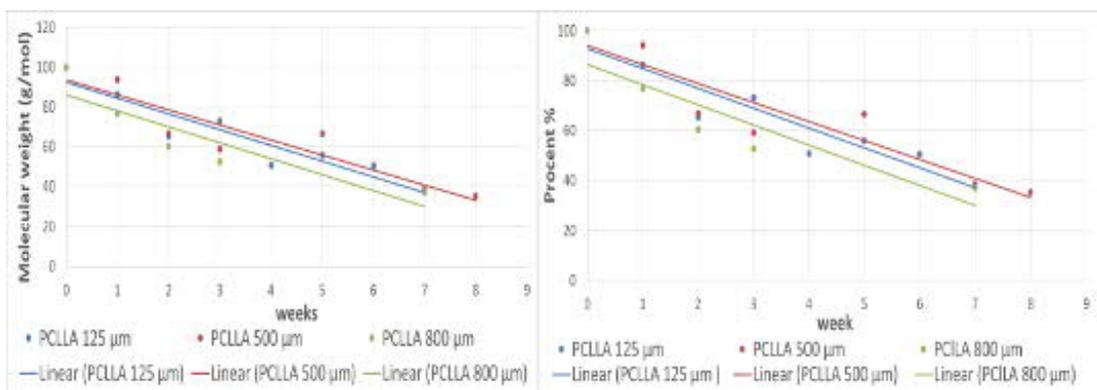


Abbildung 57: Untersuchung der Degradation von Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) . a) Abnahme des Molekulargewichts mit der Zeit in Wochen, der Verlauf ist bei allen Scaffolds ziemlich steil. b) Zeigt, wie viel Prozent des ursprünglichen Molekulargewichts noch vorhanden sind, nach 8 Wochen fiel das Molekulargewicht auf 40% des ursprünglichen Werts.

Das Molekulargewicht der Scaffolds aus **Poly(DL-Lactid)** verringerte sich nicht so schnell wie das Molekulargewicht des Copolymers, allerdings wurden die Scaffolds deutlich schneller instabil. Bei einem Abfall des Molekulargewichts auf unter 80 kg/mol waren die Scaffolds nicht mehr stabil und zerfielen im Laufe einer Woche. Einen diesbezüglich verstärkenden Effekt könnte die Rotation der Scaffolds mit 250 rpm im Schüttelinkubator gehabt haben, welche die Struktur zusätzlich belastet.

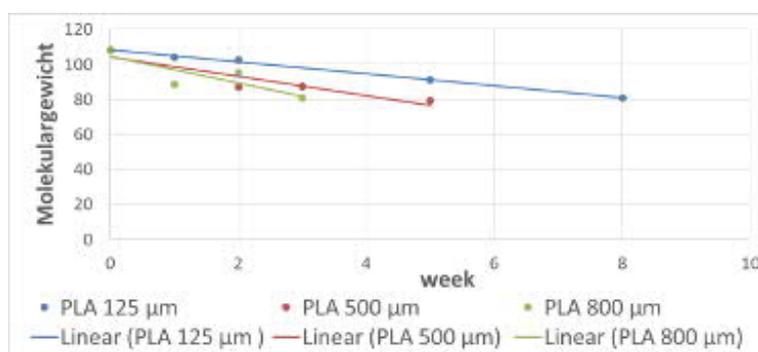


Abbildung 58: Untersuchung der Degradation durch Analyse der Abnahme des Molekulargewichts mit der Zeit. Poly(DL-Lactid) zeigte eine mittlere Degradationsgeschwindigkeit. Die Scaffolds zerfielen ab einem Molekulargewicht unter 80 kg/mol.

Die Porengröße hatte einen klaren Einfluss auf die Degradationsgeschwindigkeit (siehe Abbildung 58): die Scaffolds mit den kleinsten Porengrößen degradierten am langsamsten, die mittleren Porengrößen resultierten in einer mittleren Degradationsgeschwindigkeit, die größten Poren wiesen die schnellste Degradation auf. Bei den Degradationsversuchen zeigte sich bei den Poly(DL-Lactid)-Scaffolds mit der kleinsten Porengröße ein deutliches Schrumpfen der Scaffolds.

Dadurch dürfte die Diffusion durch das Scaffold und somit auch die Degradation behindert worden sein.

Zusammenfassend kann ein Zusammenhang zwischen der Degradationsgeschwindigkeit und der Porengröße festgestellt werden. Allerdings zeigt sich nicht bei allen Polymeren derselbe Trend. Ebenso haben die zur Verfügung stehende Angriffsfläche und die Porosität einen Einfluss.

Um die Degradationsgeschwindigkeiten der einzelnen Polymere besser vergleichen zu können, wurde das jeweilige Molekulargewicht in Prozent des ursprünglichen Molekulargewichts umgerechnet. Trägt man dies für die verschiedenen Polymere gemeinsam für eine ausgewählte Porengröße auf, erkennt man einen klaren Trend. Poly(ϵ -Caprolacton) wird am langsamsten abgebaut, Poly(DL-Lactid) schneller und am schnellsten degradiert das Copolymer Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (siehe Abbildung 59).

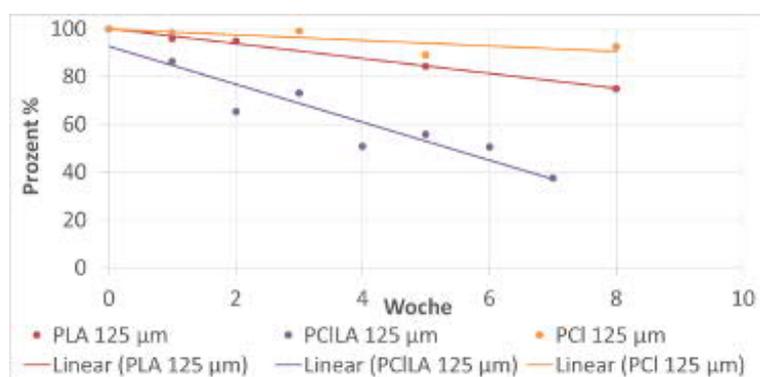


Abbildung 59: Poly(ϵ -Caprolacton) wird am langsamsten degradiert, Poly(DL-Lactid) schneller und Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) am schnellsten.

Insgesamt kann man festhalten, dass bei den Scaffolds aus **Poly(ϵ -Caprolacton)** die Änderungen des Molekulargewichts so gering waren, dass kein Unterschied in der Degradationsgeschwindigkeit zwischen den Scaffolds der verschiedenen Porengrößen festgestellt werden konnte. Auch an der Stabilität der Scaffolds änderte sich im Laufe des Versuchs nichts.

Bei **Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid)** verringerte sich das Molekulargewicht am schnellsten, die Scaffolds waren dennoch stabiler als jene aus Poly(DL-Lactid)-Scaffolds. Es zerfielen nur einzelne Scaffolds im Laufe der Versuchszeit und es standen zumindest von den 125 μm -Scaffolds und den 500 μm Scaffolds noch vollständige Scaffolds nach 7 Wochen als Probe zur Verfügung, die 800 μm -Scaffolds zerfielen im Laufe des Degradationsversuches. Daran erkennt man, dass die Porengröße einen Einfluss auf die Stabilität der Scaffolds besitzt. Das kritische Molekulargewicht erreichen die Scaffolds mit den größten Poren am schnellsten, gefolgt von den Scaffolds mit mittleren Poren und zum Schluss die feinporigen Scaffolds. Dieser Trend gilt sowohl für das Copolymer, als auch für Poly(DL-Lactid) .

Von den **Poly(DL-Lactid)**-Scaffolds waren die mittel- und großporigen Scaffolds nach spätestens sechs Woche zerfallen. Nur die geschrumpften feinporigen Scaffolds war nach 7 Wochen nicht vollständig zerfallen. Somit sollte beim Einsatz von Poly(DL-Lactid), die nicht bereits nach 7 Wochen zerfallen sein sollen, das anfängliche Molekulargewicht deutlich höher als $100 \frac{kg}{mol}$ liegen.

5.4 Zelluntersuchungen

5.4.1 2D-Untersuchungen: Zellkompatibilität

5.4.1.1 Grundlegendes des 2D-Zelltests

Mit 2D-Zellkompatibilitätstests wurde überprüft, ob ein Material oder ein Katalysator besonders gut für die Herstellung von Scaffolds geeignet ist. Abgesehen von dem Katalysator haben unter anderem auch die mechanischen Eigenschaften und die Nanorauigkeit einen Einfluss auf die Zellkompatibilität (siehe Abschnitt 18). Diese werden jedoch beim Scaffold völlig anders sein als bei den hier verwendeten beschichteten Glasplättchen und sind somit kein Gegenstand dieser Untersuchung.

Um die Stärke der verschiedenen Effekte zu untersuchen, wurden *in vitro* Zellkompatibilitätstests mittels eines 2D-Zellkultursystems durchgeführt.

Für das Zellkultursystem wurden Glasplättchen mittels Rotationsbeschichtung (Spin-Coating) mit Polymerfilmen beschichtet. Als Kontrolle dienten unbeschichtete Glasplättchen. Die beschichteten und unbeschichteten Glasplättchen wurden nach Desinfektion mit 70% Ethanol in Mikrotiterplatten (engl. microwell plate) mit 6 Kavitäten (engl. well) gegeben.

Auf jedes Glasplättchen wurden Zellen einer Zelllinie aufgetragen. Dabei wurde von jeder Variante, also pro Zelllinien-, Oberflächenkombination, drei Ansätze angefertigt. Die Anzahl der gewachsenen Zellen wurde nach 2, 4, 7, 9 und 11 Tagen gezählt. Das Zählen der Zellen wurde mittels einer Neubauerkammer, auch Hämozytometer genannt, unter dem Lichtmikroskop durchgeführt. Dafür müssen die Zellen von der Oberfläche gelöst werden. Das Zählen ist folglich ein irreversibler Prozess. Dies führte dazu, dass für jeden Tag ein komplettes Set von allen Oberflächen/Zelllinienkombinationen in dreifacher Ausführung angefertigt werden musste. Was wiederum dazu führte, dass von den humanen Präadipozytenzelllinien, also den Vorläuferzellen der Adipozyten, in zwei Fällen nicht genug Zellen zur Verfügung standen, um die Experimente an allen Tagen durchzuführen. Aus dem Grund tragen zu der Zellwachstumsanzahl am Tag 11 nur zwei Präadipozytenzelllinien bei.

Untersucht wurden zum einen humane Präadipozyten, zum anderen primäre Rattenpräadipozyten. Die menschlichen Präadipozyten wurden, im Einverständnis der Patienten, aus Fettgewebe, welches bei Bauchoperationen erhalten wurde, isoliert. Dies wurde bei vier Patienten erfolgreich durchgeführt, sodass vier verschiedene Zelllinien von humanen Präadipozyten zur Verfügung standen. Bei den Ratten wurde ähnlich vorgegangen und es standen fünf Zelllinien, also Zellen von fünf Ratten, zur Verfügung.

Die Versuche wurden in Kooperation mit der Uniklinik Tübingen realisiert. Dabei wurden die Zellversuche von den medizinisch-technischen Assistenten (MTAs) Ulrike Schmidt und Birgit Schreiner aus der Arbeitsgruppe "Vaskuläre Grundlagen" von Prof. Dr. Dorothea Siegel-Axel durchgeführt.

Für die Analyse wurde jeweils der Durchschnitt aller Zelllinien inklusive der jeweiligen Kontrollexperimente bestimmt. Dieser Wert wurde gegen die Zeit aufgetragen, um einen Eindruck vom Wachstum der Zellen über die Zeit zu erhalten und beeinflussende Faktoren, wie des Katalysators oder dem Polymer, auf das Zellwachstum bestimmen zu können.

Die Analysen wurden mittels einfaktorieller ANOVA (**A**nalysis of **V**ariance) auf ihre statistische Signifikanz überprüft. ANOVA ist eine Varianzanalyse, mit welcher die Signifikanz bei mehr als zwei Stichproben bestimmt werden kann. Dabei wurde ein p-Wert von 0,05 als signifikant angenommen. Der p-Wert beschreibt die Wahrscheinlichkeit, mit der ein statischer Test einen statistisch signifikanten Unterschied zeigt, obwohl keiner existiert. Damit bedeutet ein p-Wert von 0,05, dass sich in 5% der Fälle ein Unterschied zeigt, obwohl es eigentlich keinen gibt.

5.4.1.2 Humane Präadipozyten

Im ersten Versuchsteil ging es darum, den Einfluss des Katalysators und der Polymere auf das Zellwachstum und somit die Zellkompatibilität zu analysieren.

Um die Analyse der Auswirkungen der unterschiedlichen Katalysatoren auf die Zellkompatibilität zu ermöglichen, wurde jede Polymersorte in einem Fall mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat katalysiert, in anderem Fall mit Eisenbromid oder Eisen(III)perchlorat. Somit konnte die Zellkompatibilität von Eisenbromid und Eisen(III)perchlorat mit der von Zinn(II)-2-ethylhexanoat verglichen werden.

Es wurden drei verschiedene Polymere hergestellt und in den zwei Katalysatorvarianten analysiert: Poly(ϵ -Caprolacton), Poly(DL-Lactid) und das 50/50 Copolymer der beiden Monomere. Auf diese Weise konnten sowohl die Katalysatoren als auch die Polymere verglichen werden.

Um einen Eindruck zu bekommen, ob es eine Polymer- oder Katalysatorkombination gibt, welche das Wachstum der Zellen im besonderem Maße fördert oder vermindert, wurde der Durchschnittswert des jeweiligen Zähltages gegen den Zähltag aufgetragen (siehe Abbildung 60).

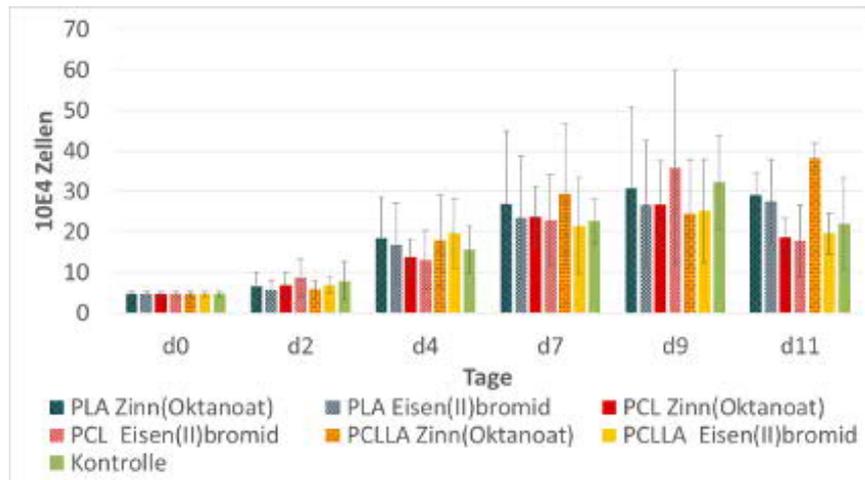


Abbildung 60: Die durchschnittlichen Ergebnisse des 2D-Zelltests mit humanen Präadipozyten. Dabei wurden Zellzahlen gegen die Zeit aufgetragen. Zu den am Tag 11 gemessenen Werten tragen nur noch zwei Zelllinien bei.

Man erkennt, dass die Zellen auf allen Polymer- Katalysatorkombinationen annähernd gleich gut wachsen. Es ergeben sich sehr große Standardabweichungen, weil die Zellen unterschiedliche Oberflächen bevorzugen. Dieses Verhalten ist typisch für primäre Zellen wie die humanen Präadipozyten und der Grund dafür, dass jeweils drei Kontrollexperimente von vier Zelllinien durchgeführt wurden, in der Hoffnung, so zu statistisch signifikanten Ergebnissen zu kommen. Von zwei Zelllinien waren nicht genug Zellen vorhanden, um genug Oberflächen zu bewachen, um das Zellexperiment am Tag 11 durchzuführen. Aus dem Grund tragen zu dem Durchschnittswert am Tag 11 nur zwei Zelllinien bei. Aufgrund der unterschiedlichen Vorlieben der Zelllinien für die unterschiedlichen Oberflächen wurde dieser Tag bei den weiteren Analysen nicht mehr berücksichtigt, da sonst die Eigenheiten der zwei Zelllinien überbetont worden wären. Die verwendeten Polymere werden in Tabelle 27 genauer charakterisiert.

Es wurde zunächst für jedes Polymer einzeln überprüft, ob sich eine Vorliebe der Zellen für einen Katalysatortyp zeigt (siehe Abbildung 61). Als Kontrollprobe diente unbeschichtetes Glas. Es konnte jedoch bei keinem Polymer eine Vorliebe der Zellen für einen Katalysator festgestellt werden. Die Zellen wachsen auf allen Oberflächen gleich gut (ANOVA: $p = 0,9$) und auf den Polymeren ebenso gut wie auf dem Kontrollglas.

Tabelle 27: Die für die 2D-Zelltests mit humanen Präadipozyten eingesetzten Polymere. Abkürzungen: Poly(ϵ -Caprolacton): PCL, Poly(DL-Lactid): PLA, Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (50/50): PCLLA, nicht gemessen = n. g., durchschnittliches Molekulargewicht: Mw, Eisen(II)bromid: FeBr₂.

Polymer Copolymer	Katalysator	Mw $\frac{kg}{mol}$
PLA	Sn(Oct) ₂	70
PLA	FeBr ₂	48
PCL	Sn(Oct) ₂	80
PCL	FeBr ₂	34
PCLLA	Sn(Oct) ₂	90
PCLLA	FeBr ₂	22
Kontrolle	reines Glas	

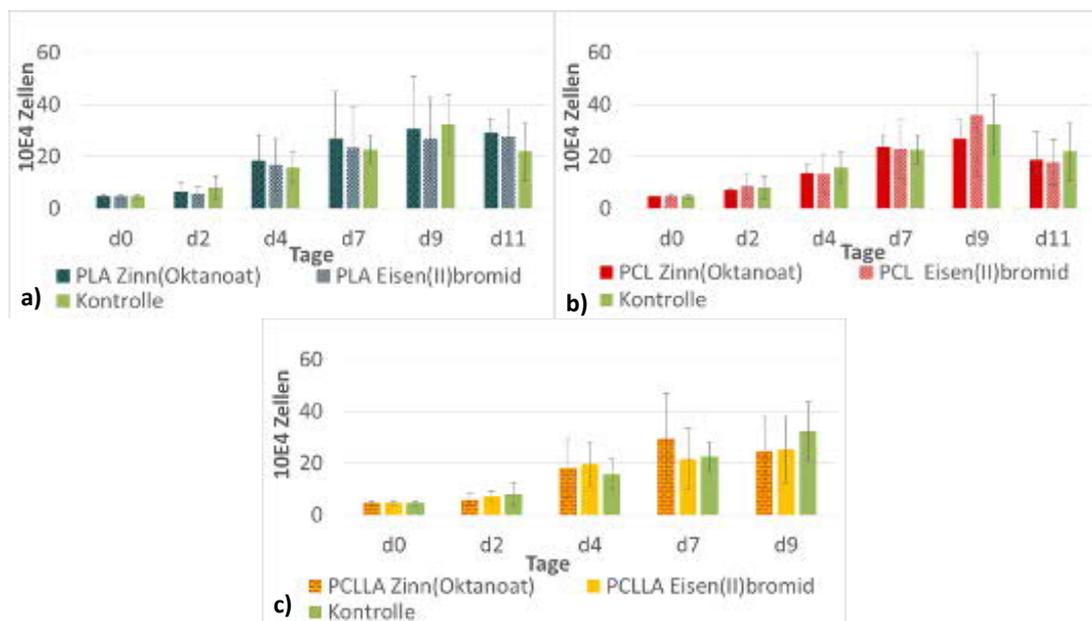


Abbildung 61: Zellwachstum auf den 2D-Oberflächen, aufgetragen wurde die Zellzahl gegen die Tage. Verglichen wurde jedes Polymer einzeln mit der Kontrolle. Auf den Polymeren wachsen die Zellen ähnlich gut wie auf der Kontrolle (unbeschichtetes Glas). Die Zellen wachsen auf allen Oberflächen vergleichbar gut.

Wenn man, um sich den reinen Katalysatoreinfluss anzusehen, aus allen Proben des gleichen Katalysators unabhängig vom Polymer den Durchschnitt bildet, erkennt man, dass es auch zwischen den Katalysatoren keinen signifikanten Unterschied gibt (siehe Abbildung 62). Bei den Polymeren ergibt sich ein ähnliches Bild (vergleiche Abbildung 62 b)), wenn man sie unabhängig vom Katalysator betrachtet.

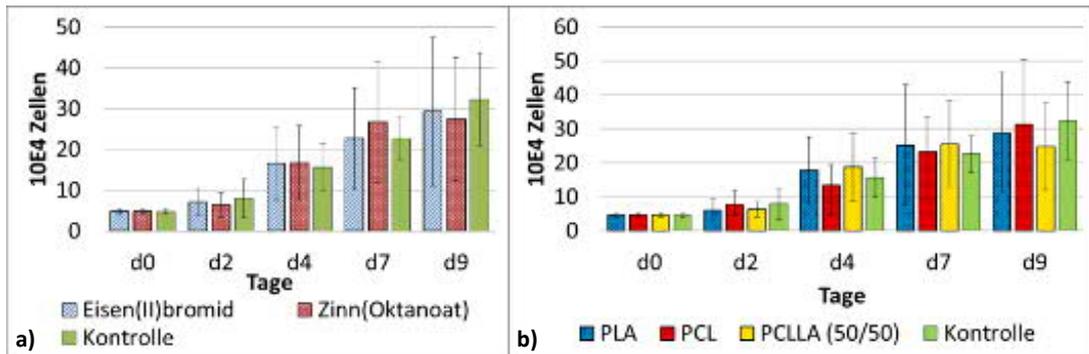


Abbildung 62: a) Einfluss des Katalysators auf das Zellwachstum, es wurden jeweils die Ergebnisse mit gleichem Katalysator zusammengefasst. Man erkennt, dass der Katalysator keinen Einfluss hat. b) Übersicht über das durchschnittliche Zellwachstum auf den Polymeren und der Kontrolle. Die unterschiedlichen Oberflächen haben keinen signifikanten Einfluss auf das Wachstumsverhalten der Zellen.

Die Zellen wachsen auf allen Polymeren ähnlich gut und auch vergleichbar gut zur Kontrollkultur auf Glas (ANOVA(Oberflächen), $p = 1$).

Betrachtet man einzelne Zelllinien, erkennt man teilweise eine Vorliebe für bestimmte Polymere. Diese sind von Zelllinie zu Zelllinie verschieden. So kann eine Zelllinie Poly(ϵ -Caprolacton) bevorzugen, eine andere allerdings Poly(DL-Lactid) oder das Copolymer aus ϵ -Caprolacton und DL-Lactid.

Für die Zelllinie V315 wurde überprüft, ob verschiedene Polymere zu signifikanten Unterschieden im Zellwachstum führen (siehe Abbildung 63 a). Beim Vergleichen der einzelnen Oberflächen ergaben sich die in Tabelle 28 aufgeführten Werte. Auf Poly(ϵ -Caprolacton) wachsen die Zellen der Zelllinie V315 besser als auf Poly(DL-Lactid), aber nicht signifikant besser als auf Glas oder Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (siehe Tabelle 28). Auf Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) wachsen die Zellen besser als auf Poly(DL-Lactid).

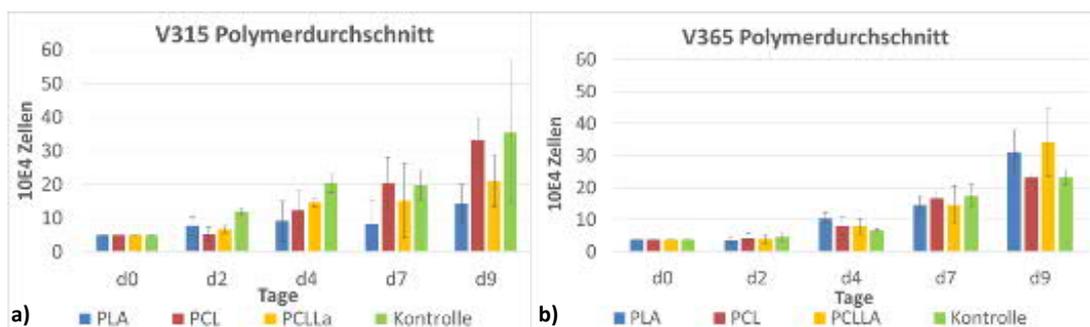


Abbildung 63: Wachstum einzelner Zelllinien auf unterschiedlichen Polymeren. a) Bei der Zelllinie V315 zeigen sich signifikant unterschiedliche Wachstumsverläufe auf den verschiedenen Polymeren. b) Zelllinie V365 wächst dagegen auf allen Oberflächen ähnlich gut.

Tabelle 28: Ergebnisse der Signifikanztests bei der Zelllinie V315.

p	PLA	PCLLA	Glas
PCL	0,008	0,3	0,2
PCLLA	0,0496		

Bei Zelllinie V365 (vergleiche Abbildung 63 b) ist der Unterschied zwischen den verschiedenen Polymeren hingegen nicht signifikant (ANOVA: $p = 0,6$).

Daraus ergeben sich zur Auswahl des passenden Polymers für die Scaffolds zur Geweberekonstruktion zwei Ansätze. Die erste Möglichkeit ist, das Polymer mit den passendsten mechanischen Eigenschaften zu verwenden, welches zusätzlich vom Degradationsverlauf am besten zur Anwendung passt. Die andere Möglichkeit wäre, vor der Herstellung der Scaffolds von jedem Patienten zunächst Zellen zu entnehmen und damit 2D-Zelltests durchzuführen. Auf die Art und Weise könnte man das Polymer bestimmen, auf welchem die Zellen des Patienten am besten wachsen. Allerdings sind selbst die Unterschiede bei einzelnen Zelllinien teilweise sehr gering, so dass sich die Frage stellt, ob das Ergebnis den Aufwand rechtfertigen würde.

Folglich ist es möglich, das Polymer allein nach den gewünschten Eigenschaften, wie den mechanischen Eigenschaften oder der Degradationsgeschwindigkeit, auszuwählen. Beziehungsweise ist es möglich, den Katalysator zu nutzen, mit dem sich das höhere Molekulargewicht ergibt.

5.4.1.3 Präadipozyten aus Ratten

Im zweiten Versuchsteil wurde der Fokus auf die unterschiedlichen Polymere, Copolymere und ein Terpolymer gelegt. Die Polymere wurden überwiegend unter Verwendung von Zinn(II)-2-ethylhexanoat als Katalysator hergestellt, nur in einem Fall wurde Eisen(III)perchlorat eingesetzt. Dafür wurde ein Polymer gewählt, welches im ersten Set nur durchschnittliche Ergebnisse ergeben hatte.

Um genauer zu untersuchen, ob unterschiedliche Polymere oder Co- oder Terpolymere einen Einfluss auf das Zellwachstum haben, wurde eine zweite Versuchsreihe durchgeführt. Es wurden primäre Präadipozyten aus Ratten verwendet und dabei die in Tabelle 29 aufgeführten Polymere betrachtet.

Tabelle 29: Die Polymere, welche für die 2D-Zelltests mit aus Ratten gewonnenen Präadipozyten eingesetzt wurden. Abkürzungen: Poly: P, ϵ -Caprolacton : CL, DL-Lactid: LA, Glycolid = GA, nicht gemessen = n. g., durchschnittliches Molekulargewicht: Mw, Katalysator: C, Eisen(III)perchlorat : $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$.

Polymer	[CL]:[LA]:[GA]	Katalysator	(Mw) $\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$
PCLLA	50:50:0	$\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$	22
PCL	100:0:0	$\text{Sn}(\text{Oct})_2$	80
PLGA	[0]:[75]:[25]	$\text{Sn}(\text{Oct})_2$	50
PLGA	[0]:[80]:[20]	$\text{Sn}(\text{Oct})_2$	39
PCLGA	[80]:[0]:[20]	$\text{Sn}(\text{Oct})_2$	66
PCLLAGA	[60]:[25]:[15]	$\text{Sn}(\text{Oct})_2$	53
Kontrolle	reines Glas		

Auch bei diesem Zelltest ergab sich auf allen Oberflächen ein sehr ähnliches Zellwachstum (siehe Abbildung 64). Dabei wurden wiederum die mit dem Hämozytometer bestimmten, gemittelten Zellzahlen gegen die Zeit in Tagen aufgetragen. Wie beim ersten Testteil kann kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Oberflächen festgestellt werden. Fast alle der getesteten Polymere enthalten ϵ -Caprolacton. Um zu überprüfen, ob ein bestimmter Anteil an Caprolacton im Polymer besonders günstig ist, wurden diese für die Rattenpräadipozyten gesondert verglichen (siehe Abbildung 65).

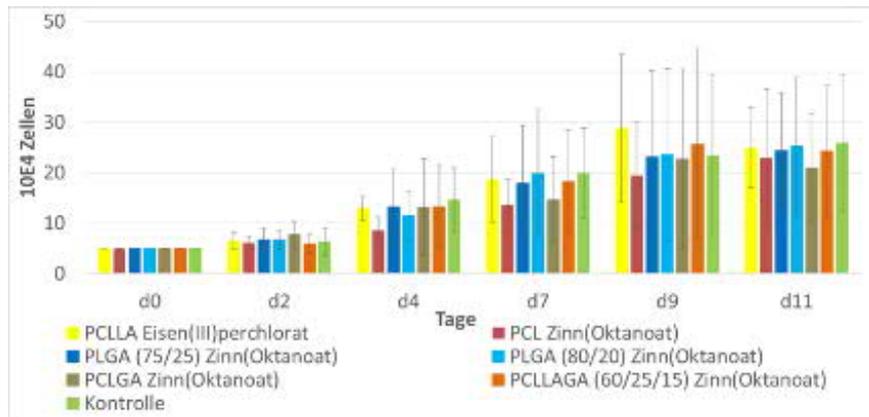


Abbildung 64: Das durchschnittliche Zellwachstum der Rattenpräadipozyten auf den beschichteten Glasoberflächen weist keine großen Unterschiede auf.

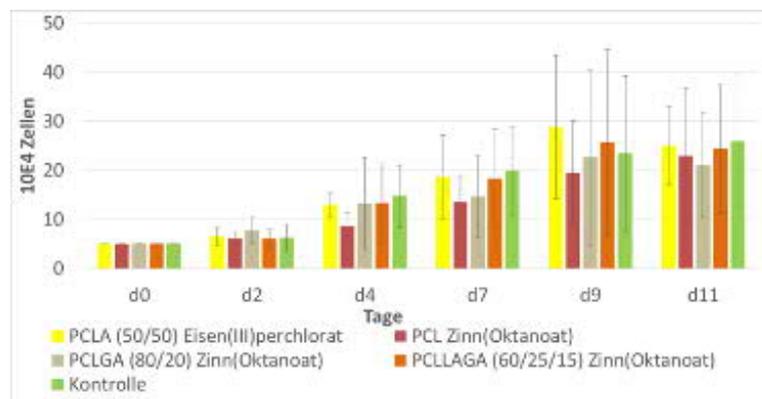


Abbildung 65: Vergleich des Zellwachstums auf den ϵ -Caprolacton-haltigen Polymeren.

Dabei erkennt man, wie man bereits im Übersichtsbild 64 gesehen hat, eine leichte Bevorzugung von PCLLA. Außerdem scheinen die Zellen am schlechtesten auf der reinen Poly(ϵ -Caprolacton)-Probe zu wachsen. Insgesamt ergibt sich jedoch kein statistisch signifikanter Effekt des ϵ -Caprolacton-Anteils (ANOVA(Caprolacton-haltig): $p = 0,13$). Vergleicht man jedoch die einzelnen ϵ -Caprolacton-haltigen Polymere untereinander, ergibt sich, dass auf Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) signifikant mehr Zellen wachsen als auf der reinen Poly(ϵ -Caprolacton)-probe (ANOVA(PCLLA/PCL): $p = 0,02$). Der Vergleich der anderen caprolactonhaltigen Polymere führt nicht zu signifikanten Unterschieden, das heißt, sie sind alle annähernd gleich gut für das Zellwachstum geeignet.

PLGA wird sehr häufig für Tissue-Engineering-Anwendungen genutzt. Häufig wird 75% Lactid und 25% Glycolid verwendet [173, 295, 296]. Bei höherem Glycolidanteil lässt sich das Polymer zunehmend schlechter lösen. Bei 50% Glycolidanteil ist es in organischen Lösungsmitteln wie Chloroform kaum mehr zu lösen. Reines Polyglycolid lässt sich nur in hochfluorierten Lösungsmitteln wie Hexafluorisopropanol lösen.

Es wurden zwei verschiedene PLGA-Copolymere hergestellt, um herauszufinden, ob es einen Grund dafür gibt, dass in der Literatur meist PLGA (75/25) verwendet wird und nicht andere Zusammensetzungen, beispielsweise PLGA (80/20).

Es konnte keine Bevorzugung einer Copolymervariante gegenüber der anderen durch die Zellen gezeigt werden (ANOVA: $p = 0,88$, vgl. Abbildung 66).

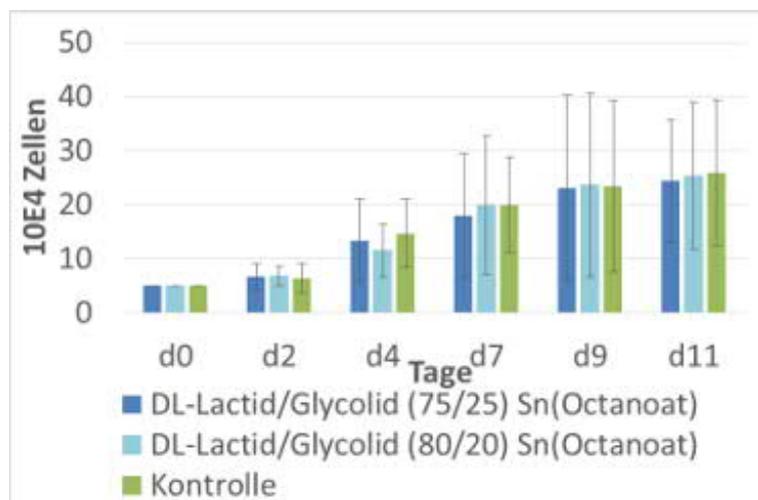


Abbildung 66: Vergleich des Zellwachstums auf zwei verschiedenen PLGA-Copolymeren (75/25) und (80/20).

Abschließend lässt sich feststellen, dass der Einfluss der verschiedenen Polymere auf das Zellwachstum sehr gering ist. Für die Anwendung bedeutet das, dass die Polymere nach anderen Gesichtspunkten, wie den mechanischen Eigenschaften oder auch der Degradationszeit ausgewählt werden können.

Einzig bei der Wahl zwischen PCLLA und PCL sprechen die Ergebnisse der Untersuchungen mit den Rattenpräadipozyten für PCLLA.

5.4.1.4 Differenzierung der Präadipozyten

Es wurde überprüft, ob die unterschiedlichen Oberflächen einen Einfluss auf die Differenzierung der Präadipozyten haben. Präadipozyten differenzieren nur *in vivo*, möchte man *in vitro* Differenzierung erreichen, muss Differenzierungsmedium zu den Zellen gegeben werden. Dieses enthält unter anderem Isobutyl-1-methylxanthin (IBMX), Cortisol und Indomethacin.

Die Zellen wuchsen wie bei den vorherigen Zellversuchen auf polymerbeschichtetem Glas bzw. unbeschichtetem Glas als Kontrolle. Die Oberflächen wurden mit Ölrot gefärbt und in 4- und 10-facher Vergrößerung fotografiert. Adipozyten weisen durch das Anfärben der eingelagerten Fetttröpfchen mit Ölrot eine Rotfärbung auf.

Bei den Tests wurde analysiert, ob die unterschiedlichen Substanzen (Polymere oder Glas) oder Katalysatorrückstände von der Herstellung der Polymere einen Einfluss auf die Differenzierung der Präadipozyten haben.

Abbildung 67 zeigt die Übersicht über die Ergebnisse von Zelllinie 1. Die Bilder wurden bei 4-facher Vergrößerung erstellt. Die Bilder wurden so sortiert, dass Oberflächen, welche mit dem gleichen Polymer beschichtet wurden, untereinander stehen. Die zinnkatalysierten Polymere sind mit a) gekennzeichnet, die eisenkatalysierten Polymere mit b). Das einzeln stehende Bild zeigt die Glaskontrolle. Die Präadipozyten sind langgestreckt, während die Adipozyten eine kugelige Form besitzen. Als zusätzliches Unterscheidungsmerkmal dient das Anfärben der in den Adipozyten eingelagerte Fetttröpfchen mit Ölrot.

Auf den Oberflächen, welche mit Polymer beschichtet wurden, sind einige Adipozyten zu sehen. Auf der Glasoberfläche dagegen erkennt man ausschließlich Präadipozyten. Zwischen den Polymeroberflächen gibt es aber kaum Unterschiede, somit scheinen weder die Polymere noch die Katalystoren einen großen Einfluss auf die Differenzierung der Zellen zu haben. Einzig auf dem Copolymer PCLLA (c) scheinen sich mehr differenzierte Adipozyten zu befinden und es scheint somit etwas besser geeignet zu sein als die anderen Oberflächen.

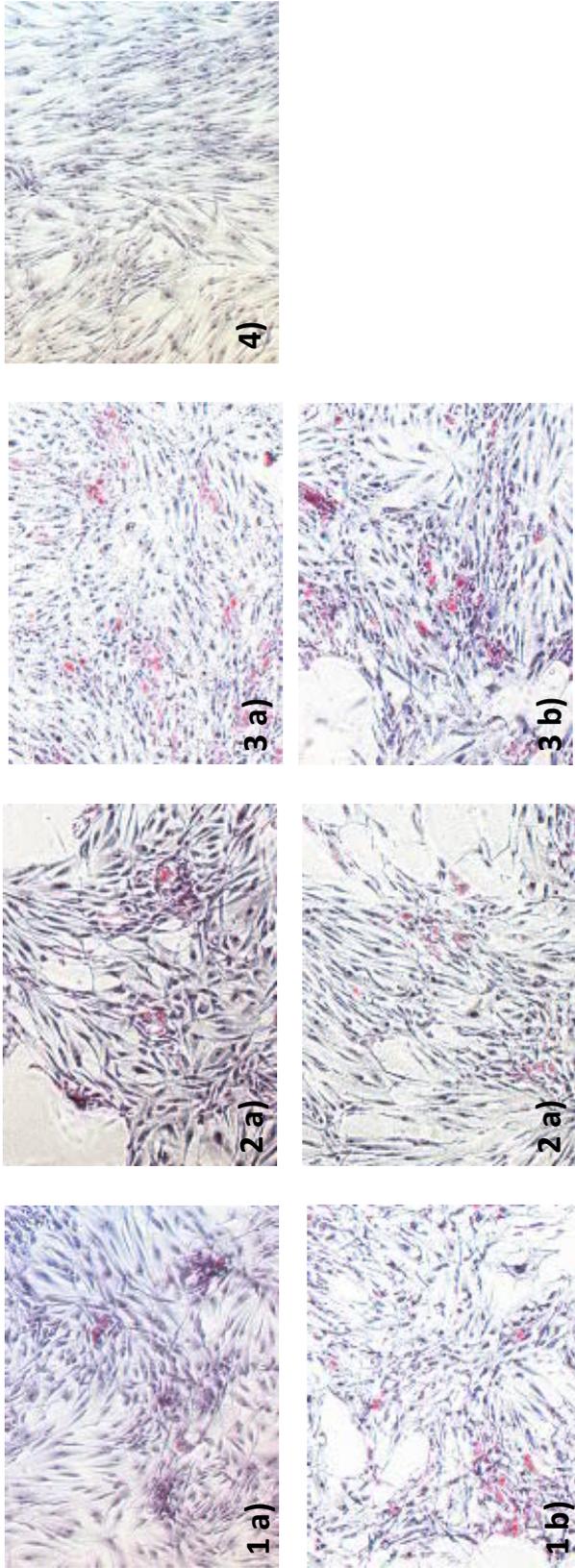


Abbildung 67: Übersicht über die Differenzierungsversuche der Präadipozyten von Zelllinie 1 bei 4-facher Vergrößerung. Man erkennt die undifferenzierten langgestreckten Präadipozyten und die kugelig reifen Adipozyten. Die Adipozyten sind durch Ölrot, welches das eingelagerte Lipid anfärbt, rot gefärbt. Die Bilder wurden so sortiert, dass Oberflächen mit den gleichen Polymeren, aber unterschiedlichem Katalysator untereinander stehen: 1) Poly(DL-Lactid), 2) Poly(ϵ -Caprolacton), 3) Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid), 4) unbeschichtetes Glas. Dabei sind die eisenkatalysierten Proben mit a), die zinnkatalysierten Proben mit b) gekennzeichnet. Man erkennt, dass die Präadipozyten auf den Polymeren ähnlich gut differenziert sind. Dagegen sind auf dem unbeschichteten Glas nur Präadipozyten zu sehen und keine Adipozyten. Folglich scheint Polymer deutlich besser zur Differenzierung von Präadipozyten geeignet zu sein als unbeschichtetes Glas.

5.4.1.5 Diskussion

Die 2D-Zellversuche legen nahe, dass weder der Katalysator noch das Polymer in Kurzzeitexperimenten einen großen Einfluss auf die Zellkompatibilität haben. Dies passt zu Ergebnissen von M. Schappacher, welche humane Osteoprogenitorzellen auf Poly(ϵ -Caprolacton)-beschichteten Glasplättchen wachsen ließ. Die Poly(ϵ -Caprolacton)-Proben waren mit unterschiedlichen Katalysatoren synthetisiert worden und es konnte keine Cytotoxizität festgestellt werden [192].

Bezüglich der Polymersubstanzen ließ sich bei den Zellauszählungen der Rattenpräadipozyten feststellen, dass das Zellwachstum auf den Copolymer-Oberflächen besser funktioniert als auf Poly(ϵ -Caprolacton). Vergleiche der anderen Polymere ergaben jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Aufgrund der kurzen Testdauer ist, außer bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (siehe Abbildung 59), nicht von einer beginnenden Degradation der Polymere auszugehen. Folglich kamen die Zellen mit den Polymeren nur oberflächlich in Kontakt. Es ist überwiegend nicht davon auszugehen, dass Degradationsprodukte oder Katalysatorrückstände in die Lösung gekommen sind. Eine Verlängerung wäre unmöglich gewesen, da bereits die Auszählungen am Tag 11 mit sinkenden Zellzahlen zeigten, dass die Präadipozyten unter diesen Bedingungen nicht so lange überleben können.

Bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) ergibt sich jedoch innerhalb einer Woche gewisse Degradation, so dass in dem Fall Degradationsprodukte in die Lösung gekommen sein können. Dennoch kann man auch bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) keine signifikante Vorliebe eines Katalysators beobachten. Aufgrund der Kürze der Zeit sind die 2D-Tests nur bedingt in der Lage gewebesrelevante Toxizitätseffekte abzubilden, sondern es würden eher akute Toxizitätseffekte deutlich werden.

Bei den Differenzierungstests erwiesen sich die Polymere eindeutig dem reinen Glas überlegen. Die Polymere sind alle annähernd gleich gut geeignet zur Differenzierung der Präadipozyten. Einzig auf dem Copolymer Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) scheinen mehr Adipozyten zu sein und somit wirkt es geeigneter zur Differentiation der Präadipozyten als die anderen Polymere.

Insgesamt empfiehlt sich PCLLA als interessanter Kandidat für die Rekonstruktion von Fettgewebe.

5.4.2 3D-Untersuchungen: Einwachsverhalten der Zellen

Um die Scaffolds auf ihre Zelltauglichkeit zu testen, wurden Zelleinwachsungstests durchgeführt. Dabei wurden zwei verschiedene Zelllinien eingesetzt:

- Präadipozyten
- Periodontale Ligament Fibroblasten

Präadipozyten werden in der Rekonstruktion von Fettgewebe verwendet, periodontale Ligament Fibroblasten in der Zahnmedizin. Diese beiden Zelltypen zu vergleichen bietet sich an, weil Präadipozyten den Fibroblasten morphologisch sehr ähnlich sind, sie nehmen erst während der Differenzierung Lipide auf und werden zu den typischen runden Adipozyten [297].

Die Präadipozyten wurden im Rahmen der Kooperation mit Dorothea Axel-Siegel vom Universitätsklinikum Tübingen von den Medizinisch-Technischen Assistentinnen Birgit Schreiner und Ulrike Schmidt untersucht. Die periodontalen Ligament Fibroblasten wurden von Susanne Proksch vom Universitätsklinikum Freiburg analysiert.

Für die Tests wurden Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds mit unterschiedlichen Porengrößen hergestellt. Bei den Präadipozyten wurden Scaffolds mit zuckergenerierten Poren in der Größe 125-150 μm und 800-1250 μm miteinander verglichen. Für die Fibroblasten wurden Scaffolds mit Zuckerporen in den Größen 150-250 μm und 800-1250 μm verwendet.

5.4.2.1 Präadipozyten

Um die Zellkompatibilität der Scaffolds zu testen wurden Viabilitätstests mit Fluoresceindiacetat durchgeführt. Fluoresceindiacetat ist ein unpolares, nicht fluoreszierendes Molekül, welches durch Zellmembranen von lebenden Zellen diffundieren kann [190]. In lebenden Zellen wird es durch zellinterne Esterasen in das polare, grünleuchtende Fluorescein umgewandelt. Dieses verbleibt aufgrund seiner Polarität in den Zellen und färbt sie somit grün an [298]. Folglich lässt sich damit überprüfen, ob die Zellen, welche auf dem Scaffold wachsen, leben oder nicht. Für die Untersuchung wurden die Scaffolds in dünne Scheiben geschnitten. Als Vergleich wurde das Zellwachstum direkt auf dem Zellkulturgefäß aus Polystyrol getestet. Dabei zeigte sich, dass auf Polystyrol die Zellen deutlich weniger dicht wachsen als auf dem Poly(ϵ -Caprolacton)-scaffold, siehe Abbildung 68.

Wie man allerdings auf Abbildung 68 auch erkennen kann, wuchsen die Zellen zwar auf dem Scaffold, aber nicht in den Scaffold ein. Aufgrund der Hydrophobie des Materials schwammen die Scaffolds anfangs auf dem Zellmedium. Teilweise rutschten auch die Zellen durch die Poren des Scaffolds hindurch.

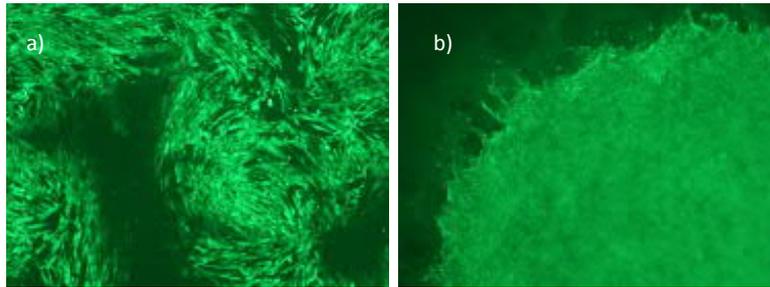


Abbildung 68: Vergleich des Zellwachstums auf Polystyrol a) und einem Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffold b). Die Zellbesiedelung auf dem Scaffold ist deutlich dichter als auf dem Polystyrol.

Um ein Einwachsen der Zellen zu ermöglichen, wurden die Scaffolds bei den Folgeversuchen zunächst in Zellmedium inkubiert. Erst nachdem die Scaffolds Zellmedium aufgenommen hatten, wurden die Zellen auf die Scaffolds gegeben.

Es wurden verschiedene Porengrößen getestet:

- 125-150 μm
- 800-1240 μm

Der Scaffold mit den kleinen Porengrößen wird vollständig von den Zellen bewachsen und zwar sowohl die Poren (Zucker und Dioxan-generiert) als auch auf der Scaffoldoberfläche (siehe Abbildung 69 a)). Das Zellwachstum in den Makroporen wirkt etwas dichter als in den Mikroporen, allerdings gibt es auch in den Mikroporen lokale Zellwachstumsmaxima.

Bei dem Scaffold mit den großen Makroporen wachsen Zellen in den Makroporen, wobei sie die kleineren Poren (um 800 μm) im Vergleich zu den großen Poren ($>1000 \mu\text{m}$) bevorzugen (siehe Abbildung 69 b). Im Falle der großen, um 1000 μm großen Poren wachsen die Zellen kaum ein, sondern wachsen überwiegend auf dem Rand der Poren und somit höchstwahrscheinlich in den Mikroporen.

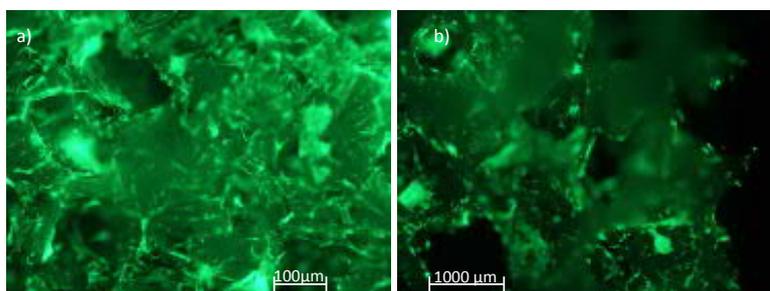


Abbildung 69: Vergleich des Zellwachstums in einem Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffold mit unterschiedlichen Porengrößen, a) 125-150 μm und b) 800-1250 μm . Bei beiden Scaffolds zeigt sich gutes Zellwachstum, der Scaffold mit den kleineren Poren zeigt stärkeres Einwachsen der Zellen. Im Fall der großporigen Scaffolds wachsen zwar Präadipozyten in den 800 μm Poren, nicht jedoch in den großen 1250 μm Poren.

5.4.2.2 Periodontale Ligament Fibroblasten

Periodontale Ligament Fibroblasten werden verwendet um Zahngewebe zu rekonstruieren (siehe Abschnitt 2.2.1 auf Seite 26). Sie zu untersuchen ist interessant, weil Fibroblasten den undifferenzierten Präadipozyten morphologisch sehr ähnlich sind und sie auch eine ähnlich Größe besitzen. Das Ziel war es herauszufinden, ob die Fibroblasten große oder kleine Porengrößen bevorzugen. Weiterhin wurde überprüft, ob das Molekulargewicht des Polymers, aus dem der Scaffold hergestellt wurde, einen Unterschied im Zellverhalten verursacht.

Um den Einfluss der Porengröße untersuchen zu können wurden Scaffolds aus Poly- ϵ -Caprolacton in den Porengrößen:

- 150-250 μm
- 800-1250 μm

verwendet. Durchgeführt wurden die Zellwachstumsversuche von Susanne Proksch von der Universitätsklinik Freiburg. Das Zellwachstum wurde mittels Histologie und Rasterkraftelektronenmikroskopie (REM) untersucht. Dafür wurden dünne Schnitte der Scaffolds verwendet. Es zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei den Präadipozyten. In den Scaffold mit den kleinen Porengrößen wandern die Zellen gut ein und es bildet sich, wie man im Rasterelektronenbild (Abbildung 70 b)) sehen kann, ein dichtes Gewebe. Im Histologiebild (Abbildung 70 a)) erkennt man, dass einige Zellen (lila) in den Scaffold eingewandert sind. Bereits bei den Zellen mit den kleineren Makroporen zeigt sich, dass die Fibroblasten die Mikroporen etwas bevorzugen. Ein großer Teil der Zellen wachsen in den Verstrebungen der Poren (siehe Abbildung 70 a), also in den Mikroporen. Sie wachsen jedoch auch in den Makroporen und wie das REM-Bild (Abbildung 70 b) zeigt, werden diese auch überwachsen und dichtes Gewebe gebildet.

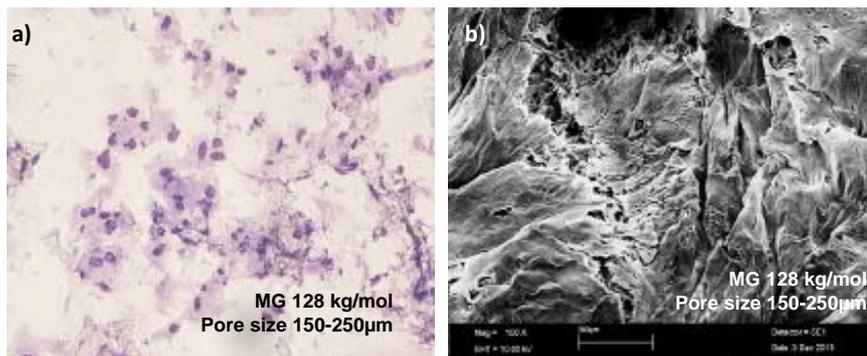


Abbildung 70: Zelleinwuchsversuch von humanen periodontalen Ligament Fibroblasten in ein Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffold (Porengröße 150-250 μm). a) Histologiebild, einige Zellen sind in den Scaffold eingewandert. b) Rasterelektronenmikroskopie, es hat sich dichtes Gewebe gebildet und zwar auch in der Pore, die man im oberen Bereich des Bildes erahnen kann.

Beim Scaffold mit den großen Poren wandern nur wenige Zellen in den Scaffold ein. Im Histologiebild sieht man, dass ganz vereinzelt Zellen in den Makroporen sind, überwiegend befinden sich die Zellen in den Verstrebungen der Makroporen und somit in den Mikroporen (siehe Abbildung 71 a). Diese Beobachtung wird durch die Rasterelektronenmikroskopie bestätigt. Das Bild zeigt eine Makropore, am inneren Rand der Makroporen befinden sich einzelne Zellen. Der überwiegende Teil der Zellen wächst allerdings auf der Verstrebung der Pore und somit in den Mikroporen (siehe Abbildung 71 b). Es ist zu vermuten, dass die Zellen überwiegend in den Dioxan-generierten kleineren Poren wachsen.

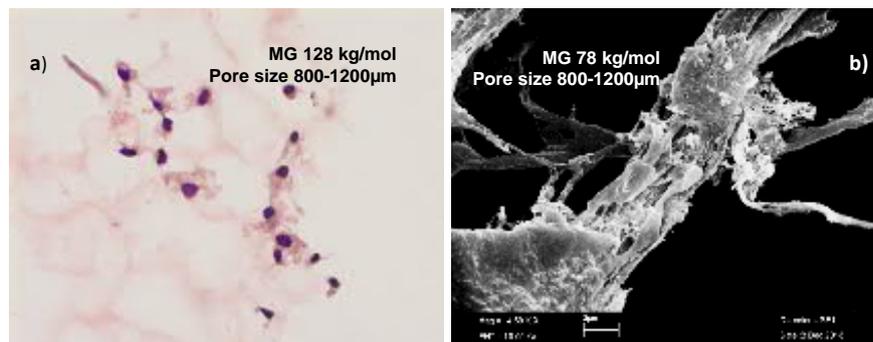


Abbildung 71: Zelleinwuchsversuch von humanen periodontalen Ligament Fibroblasten in ein Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffold mit 800-1250 μm Porengröße. a) Histologiebild, wenige Zellen sind in den Scaffold eingewandert. b) Rasterelektronenmikroskopie, die Zellen wachsen nur auf den Verstrebungen zwischen den Poren nicht in die Pore hinein.

Um den Einfluss des Molekulargewichts zu untersuchen wurden Scaffolds aus Polymeren mit $78 \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ und $129 \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ hergestellt. Das Molekulargewicht bestimmt darüber, wie leicht die Scaffolds handhabbar sind. So sind Scaffolds mit höherem Molekulargewicht stabiler, lassen sich leichter schneiden und gehen dabei nicht so leicht kaputt wie Scaffolds mit niedrigerem Molekulargewicht. Daher bestand die Möglichkeit, dass auch die Zellen einen Unterschied zwischen den Scaffolds mit unterschiedlichen Molekulargewicht feststellen und eines bevorzugen. Allerdings konnte kein Unterschied im Zellwachstum aufgrund des Molekulargewichtes festgestellt werden.

5.4.2.3 Diskussion

Das Zellwachstum von Präadipozyten und Fibroblasten in ähnlichen Scaffolds zu vergleichen ist interessant, da beide Zellen morphologisch sehr ähnlich sind.

Fibroblasten bevorzugen die Scaffolds mit den kleineren Makroporengrößen (150-250 μm). Schon bei diesen Scaffolds bevorzugen die Fibroblasten in einem geringem Maße die Mikroporen. Bei den großporigen Scaffolds (800-1250 μm) wachsen die Fibroblasten nur am Rand und überwiegend an den Verstrebungen der Makroporen und somit in deren Mikroporen.

Die Präadipozyten wurden mittels Fluoresceindiacetat auf ihre Viabilität untersucht und es konnte gezeigt werden, dass die Zellen auf und in den Poren lebensfähig sind. Präadipozyten wachsen sowohl in die Scaffolds mit den kleinen Makroporen (125-150 μm) als auch in die Scaffolds mit den großen Makroporen (800-1250 μm) gut ein. Bei den Scaffolds mit den großen Makroporen wachsen sie in Makroporen bis zu 1000 μm , jedoch kaum in den größeren Poren. Bei den Präadipozyten lässt sich keine Bevorzugung der Mikroporen beobachten, sie wachsen sowohl in die Makro- als auch in die Mikroporen gut ein.

Daraus lässt sich schließen, dass für Präadipozyten größere Poren in Betracht kommen und der Größenbereich von 600-800 μm sehr geeignet ist. Für die Fibroblasten dagegen sollten Scaffolds mit Makroporen bis zu 300 μm gut sein.

5.5 Zusammenfassung der Scaffoldergebnisse

Die Scaffolds wurden mittels einer Kombination des Porogen-Herauslösenden-Ansatzes unter Verwendung von Zucker und der Phasenseparationsmethode (TIPS) hergestellt. Während des Prozesses gibt es zwei Hinweise darauf, ob die Scaffold stabil sein werden. Ab einem polymerabhängigen minimalen Molekulargewicht (bei Poly(ϵ -Caprolacton) 45 $\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$) bildete sich ein weißer Polymerrand oberhalb des Zuckers. Dieser Umstand ermöglicht es, den Endpunkt der Phasenseparation zu erkennen (welcher circa nach einer halben Stunde eintritt) und nicht wie üblich mindestens 2 h warten zu müssen [286, 299, 300]. Ein weiterer Hinweis auf die Stabilität der Scaffolds ist, dass stabile Scaffolds während der Extraktion schwimmen. Instabile Scaffolds, hergestellt aus Polymer mit zu geringer Molmasse, sinken zu Boden und zerfallen dort.

Durch die Verwendung zweier Methoden zu Bildung von Poren ergeben sich zwei unterschiedliche Porenverteilungen in einem Scaffold. Die zuckergenerierten Poren (Makroporen) sind bei allen Polymeren morphologisch identisch. Die TIPS-/Dioxan-generierten Poren (Mikroporen) dagegen variieren in ihrer Struktur je nachdem, welches Polymer verwendet wurde. Dabei reicht die Morphologie von rechteckigen Poren mit festen Wänden, bei Poly(ϵ -Caprolacton), bis zu großen, weit einsehbaren Hohlräumen aus Polymerfasern, im Fall von Poly(DL-Lactid). Die Porosität der Scaffolds ist mit ca. 80% ziemlich hoch. Die einzige Ausnahme sind die feinporigen Poly(DL-Lactid)-Scaffolds, bei welchen nur 73% Porosität gemessen wurde. Allerdings waren diese feinporigen Scaffolds während der Degradation vor der Messung der Porosität zusätzlich geschrumpft (siehe Seite 110). Eine mögliche Erklärung für das Schrumpfen der Poly(DL-Lactid)-Scaffolds mit den kleinsten Porengrößen ist, dass die Polymermenge zwischen den Zuckerkörnern mit niedrigerer Porengröße sinkt. Dies könnte dazu führen, dass das Polymer nicht mehr die nötige Stabilität bieten kann. Ein möglicher Ansatzpunkt wäre es, die Polymerlösung in einer höheren Konzentration anzusetzen. Zum Beispiel könnte eine 10%ige Polymerlösung anstelle der 5%igen Lösung verwendet werden.

Eventuell würde dies auch insgesamt zu einer Erhöhung der Stabilität führen und somit dazu, dass auch geringeres Molekulargewicht genutzt werden könnte. Durch Beobachtung der Diffusion eines Farbstoffes durch einen Scaffold konnte die durchgängige Interkonnektivität seiner Poren nachgewiesen werden. Bei den Degradationstests konnte gezeigt werden, dass zumindest bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) und Poly(DL-Lactid) die Porengröße und die Porosität einen Einfluss auf die Degradation haben. Bei Scaffolds aus Poly(ϵ -Caprolacton) waren die Unterschiede so gering, dass sie nicht aussagekräftig waren. Während der Degradation nimmt das Molekulargewicht ab, bis der Scaffold schließlich zerfällt. Die Porengröße nimmt vermutlich über den höheren Diffusionsaustausch Einfluss auf die Degradation, also die Abnahme des Molekulargewichts. So zerfielen die Scaffolds mit den größten Poren am schnellsten. Bei Poly-DL-Lactid lag das kritische untere Molekulargewicht bei $80 \frac{kg}{mol}$, bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) um $40 \frac{kg}{mol}$. Bei Poly(ϵ -Caprolacton) wurde im Verlauf der Degradationsversuche das kritische untere Molekulargewicht nicht erreicht. Allerdings legen die Erfahrungen bei der Herstellung der Scaffolds einen Wert von $45 \frac{kg}{mol}$ nahe. Beim Abbau von Polymeren werden zuerst die amorphen Regionen, anschließend die kristallinen Strukturen abgebaut [15]. Es ist davon auszugehen, dass Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) durch die längeren Wiederholungseinheiten weniger kristallin und folglich leichter abbaubar war, als die reinen Polymere. Dies erklärt die die schnellere Degradation von Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid).

Es wurden neuartige Scaffolds hergestellt und deren Morphologie untersucht. Dass unterschiedliche Polymere bei gleicher Herstellungsweise zu unterschiedlichen Morphologien führen können, wurde in der Literatur noch kaum beschrieben. Durch die Kombination zweier unterschiedlicher Größenverteilungen der Poren in einem Material sind die Scaffolds interessant für Co-Zellkultur-Experimente mit unterschiedlich großen Zellen.

Es wurden 2D-Zellwachstumstests mit Präadipozyten durchgeführt, um zu überprüfen, ob sich ein Polymer oder Katalysator besonders gut für Präadipozyten eignet. Es konnte keine eindeutige Vorliebe der Zellen festgestellt werden. Die Rattenpräadipozyten bevorzugten signifikant Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) im Vergleich zu Poly(ϵ -Caprolacton), dies galt jedoch nicht für menschliche Präadipozyten. Folglich konnten für die 3D-Zelltests die Polymere mit den geeignetsten Eigenschaften, zum Beispiel bezüglich der Degradation oder Mechanik, zur Scaffoldherstellung genutzt werden.

Für die Scaffoldeinwachstests wurde Poly(ϵ -Caprolacton) gewählt, da es bessere mechanische Eigenschaften und eine längere Degradationszeit als Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) besitzt. Bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) kommt es bereits innerhalb einer Woche zu einer Verringerung des Molekulargewichts um durchschnittlich 14%.

Die Präadipozyten wuchsen sowohl in die Scaffolds mit kleinen Poren (125-150 μm) als auch in die Scaffolds mit großen Poren (800-1250 μm) gut ein. Dabei gab es keine besondere Bevorzugung der Mikro- oder der Makroporen. Die Präadipozyten wurden mittels Fluoresceindiaceetat auf ihre Viabilität untersucht, und es konnte gezeigt werden, dass die Zellen an und in den Poren lebensfähig sind. Die Fibroblasten hingegen wuchsen besser in die Scaffolds mit den kleinen Poren (150-250 μm) ein als in die Scaffolds mit den großen Poren (800-1250 μm). Bereits bei den Scaffolds mit kleinen Porengrößen zeigte sich eine deutlich Bevorzugung der Mikroporen gegenüber der Makroporen durch die Fibroblasten. Die Scaffolds könnten sich zum Beispiel gut für eine Co-Kultur von Präadipozyten und periodontalen Ligamentfibroblasten eignen, da die Präadipozyten in den Makro- und Mikroporen wachsen, während die Fibroblasten die Mikroporen bevorzugen. In der Literatur wurde gezeigt, dass eine Co-Kultur von Präadipozyten und vaskulären Fibroblasten zu einer Differentiation der Fibroblasten zu Myofibroblasten führt, welche an der Wundheilung und Gewebeumgestaltung beteiligt sind [301, 302].

6 Wachstumskammer

6.1 Grundlegendes über die Wachstumskammern

Um das Wachstum des Gewebes nicht zu beeinträchtigen, muss die Vorläuferstruktur (also zum Beispiel der Scaffold) die Kompressionskräfte, die im Körper auftreten, aushalten, sonst kann es zum Schrumpfen des Gewebes kommen [259]. Die Frage, ob die Scaffolds alleine den Kompressionskräften standhalten können, wurde bei den mechanischen Tests an den Scaffolds untersucht. Diese am Fraunhofer IWM durchgeführten mechanischen Tests ergaben, dass die Scaffolds nur eine Belastung von circa 40 kPa bzw. circa 5 N standhalten, bevor sie mechanisch instabil werden (vergleiche Abschnitt 5.2.3). Damit das System Alltagsbelastungen wie einer mechanischen Belastung in Liegeposition standhalten kann, sollten es vorzugsweise eher 200 N sein. In Bauchlage werden die Brüste mit dem Körpergewicht belastet werden, dies wird sich jedoch auch auf den Rest des Körpers mitverteilen. Wenn man bei 55 kg von einer Belastung von 10 kg ausgeht und somit circa 100 N, sollten 200 N den Anforderungen genügen.

Um einen ausreichenden Schutz der Scaffolds und damit des Gewebes gewährleisten zu können, wurde der Einsatz von Wachstumskammern untersucht. In diese wird der Scaffold hineingegeben und ist so vor den Kompressionskräften oder auch äußeren Kompressionen geschützt. Die Wachstumskammer dient auch als Hilfsmittel bei der Vaskularisierung, dabei wird das vaskuläre System des Tieres oder Patienten genutzt [170, 303, 304]. Die Wachstumskammer dient dabei als Schutz von verschiedenen Vaskularisierungsstrategien [164, 305] oder auch als Entzündungsverursacher, welches ebenso zur Vaskularisierung führt [169]. Ein Beispiel für eine Vaskularisierungsstrategie ist die Verwendung eines kleinen Stück autologes Fettgewebe, welches noch mit dem vaskulären System des Tieres verbunden ist [171].

In Vorversuchen des medizinischen Kooperationspartners, Dr. Jürgen Dolderer, wurden nicht bioabbaubare Wachstumskammern aus Polycarbonat genutzt [303]. Diese haben allerdings den Nachteil, dass man sie wieder aus dem Körper entfernen muss. Man kann darin zwar Gewebe züchten, zur endgültigen Anwendung muss die Kammer jedoch explantiert und das fertige Gewebe retransplantiert werden.

Um die Explantation zu vermeiden, war eines der Ziele der vorliegenden Arbeit eine bioabbaubare Kammer herzustellen. Der Heilungsprozess könnte dann zum Beispiel mittels bildgebender Verfahren wie MRI kontrolliert werden.

Die durchgeführten Untersuchungen sind in Abbildung 84 zusammengefasst.

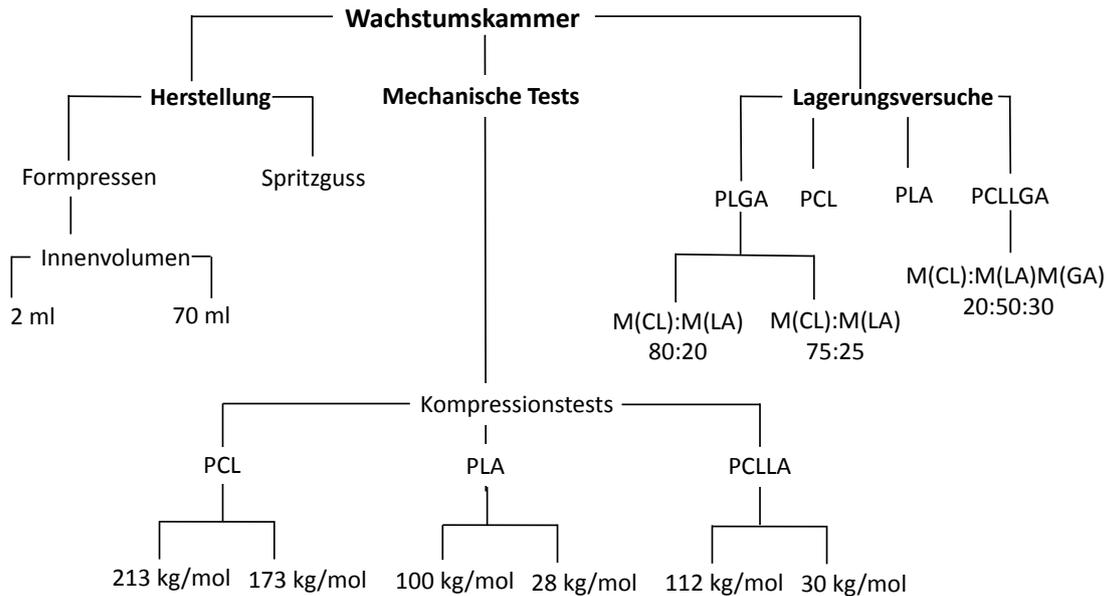


Abbildung 72: Überblick über die Untersuchung der Wachstumschamber.

Zur Herstellung der Wachstumschamber bieten sich zwei Methoden besonders an: der Spritzguss und das Formpressen. Es wurde analysiert, welches Verfahren das geeignetere ist. Mit den bioabbaubaren Wachstumschammern wurden mechanische Tests (Kompressionstests durchgeführt), um zu überprüfen, ob sie den mechanischen Anforderungen genügen. Diese Tests wurden wiederholt, um den Einfluss des Materials und des Molekulargewichts analysieren zu können.

Wenn man die bioabbaubaren Wachstumschammern einsetzen möchte, muss man wissen, wie lange man sie lagern kann. Dafür wurden mit den polymeren Ausgangsstoffen Lagerungsversuche durchgeführt. Analysiert wurde die Lagerungsfähigkeit von den reinen Polymeren Poly(ϵ -Caprolacton) und Poly(DL-Lactid), ebenso von den Copolymeren Poly(DL-Lactid-co-Glycolid) ($[M]_{CL}:[M]_{LA}$ 75:25 und $[M]_{CL}:[M]_{LA}$ 80:20). Außerdem wurde ein Terpolymer Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid-co-Glycolid)) auf seine Lagerungsfähigkeit hin analysiert.

Die Formen für die Wachstumschammern wurden in Zusammenarbeit mit der mechanischen Werkstatt des Makromolekularen Instituts entwickelt. Zunächst wurde der Spritzguss als Methode untersucht. Dafür wurde eine Form hergestellt, in die das geschmolzene Polymer gespritzt werden konnte. Diese erwies sich jedoch nicht als zweckmäßig. Das Polymer wurde häufig nicht flüssig genug, um gespritzt werden zu können. Anstatt in die Form zu fließen, verklebte das Polymer häufig die Spritze so sehr, dass sie beim anschließenden Pressen des Kolbens zerstört wurde. Aus diesem Grund wurde vom Spritzguss Abstand genommen.

Somit wurde das Formpressen analysiert. Dafür wurden Schmelz-Presswerkzeuge angefertigt (siehe Abbildung 73 a)).

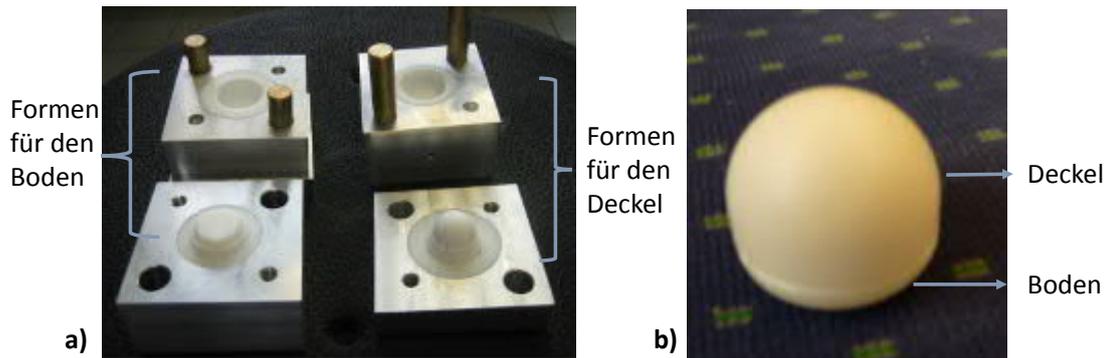


Abbildung 73: a) Formen für die Herstellung der kleinen Wachstumskammer. Die Formen auf der linken Seite sind für den Boden der Wachstumskammer, jene auf der rechten Seite für den Deckel. b) Photo einer bioabbaubaren Wachstumskammer.

Eine Form für den unteren Bereich der Wachstumskammer, den Boden, und eine für den oberen Bereich, den Deckel (zur Begriffserklärung siehe Abbildung 73 b)), jede Form besteht dabei aus zwei Teilen. In diese Formen konnte das Polymer direkt gegeben und im Ofen geschmolzen werden. Die Formteile können, solange das Polymer nicht geschmolzen sind, nicht aufeinander gesetzt werden, da dafür der Platzbedarf des festen Polymers zu hoch ist. So wird das Polymer zunächst in dem einen Formteil geschmolzen, während das andere Formteil mit erwärmt wird. Erst nachdem das Polymer geschmolzen ist, werden die Formteile zusammengesetzt und abschließend unter Druck abgekühlt. Problematisch sind die beim Schmelzen entstehenden Gasblasen, welche hinterher auch in der Wachstumskammer zu sehen sind und Schwachstellen darstellen. Teilweise konnten die Gasblasen während des Schmelzens mit einer Kanüle geöffnet und so zerstört werden.

Die Wachstumskammern wurden in zwei Größen hergestellt: Eine Kammer mit 2 ml Innenvolumen, eine mit 70 ml Innenvolumen.

6.2 Mechanische Untersuchung der Wachstumskammern

Um zu überprüfen, ob die Wachstumskammern stabil genug sind um den Kompressionskräften im Körper bzw. den Alltagsbelastungen stand zu halten, wurden mechanische Tests durchgeführt. Das Interesse lag dabei auf der Belastbarkeit der Wachstumskammern als Gesamtsystem, also nicht auf der Belastbarkeit der verwendeten Materialien alleine. Die mechanischen Eigenschaften der Polymere sind teilweise in der Literatur zu finden und können als Vergleich dienen [306], [263] [307] [308]. Die mechanischen Messungen wurden in Kooperation mit dem Fraunhofer IWM von Dr. Raimund Jäger und Daniel Ebel durchgeführt. Zur Vorbereitung der Messungen wurden die Wachstumskammern 3 Tage bei 37°C im Brutschrank mit Wasser gesättigt.

Anschließend wurden die Wachstumskammern Belastungstests in einem servohydraulischem Testsystem (MTS Bionix) axial getestet, dabei wurde auf die Wachstumskammern kontinuierlich steigender Druck ausgeübt, bis das System beschädigt wurde. Abbildung 74 zeigt die Schnittzeichnung der Wachstumskammern.

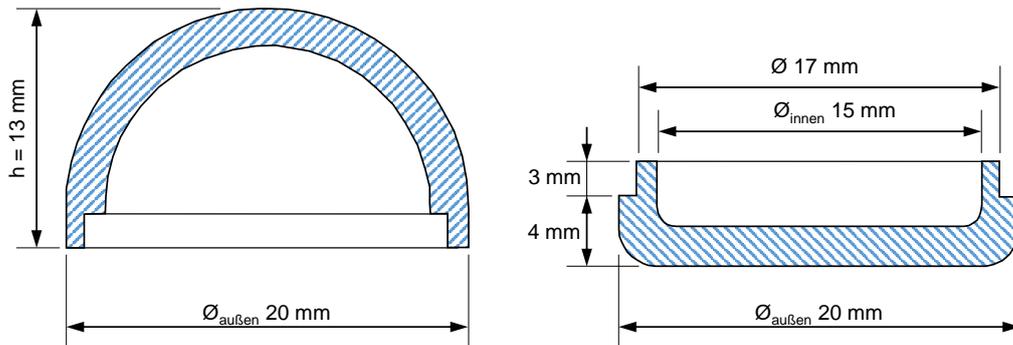


Abbildung 74: Schnittzeichnung der Wachstumskammer mit Ma\ss en.

Die Tests wurden zweimal durchgef\ohrt, um die Auswirkungen den Einfluss des Materials und Strukturabweichungen ber\uecksichtigen zu k\ohnnen.

Beim ersten Test wurde der Deckel auf den Boden aufgesetzt und untersucht, bei welcher Kraft die geschlossene Wachstumskammer mechanische Sch\ad en aufweist.

Es wurden drei verschiedene Wachstumskammern getestet (siehe Tabelle 30), eine aus Poly(ϵ -Caprolacton) (PCL), eine aus Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (PCLLA) (80/20), die dritte aus Poly(DL-Lactid)(PLA).

Tabelle 30: Die beim ersten mechanischen Test verwendeten Materialien.

Material	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
Poly(DL-Lactid)	104,3	57,8	1,8
Poly(ϵ -Caprolacton)	213,3	110,0	1,9
Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (80/20)	111,7	45,1	2,4

Der Kompressionsweg und die dafür benötigte Kraft wurden aufgezeichnet und die Werte miteinander verglichen (siehe Abbildung 75 a) und Tabelle 31). Ein Material, das Alltagsbelastungen, wie Schlafen auf dem Implantat, aushalten können soll, muss eine hohe Kraft aushalten können. Als Belastungsziel wurde 200 N festgelegt, was ungefähr einer möglichen Belastung von 20 kg entspricht und somit für die gewünschte Anwendung ausreichend sein sollte. Es könnten somit circa $2,5 \frac{N}{cm^2}$, bei einer angenommenen Brustauflagefläche von 10 cm im Durchmesser, ausgehalten werden. Die Probe sollte durch die Krafteinwirkung nicht zu stark komprimiert werden, weil dies das wachsende Gewebe schädigen könnte. Andererseits dürfte eine völlig starre Wachstumskammer, die sich nur unter sehr hohem Kraftaufwand verbiegen lässt, als unangenehm empfunden werden [160]. Eine gewisse elastische Verformbarkeit wäre daher vorteilhaft. Durch die Kompression darf es aber nicht zur irreversiblen Schädigung der Wachstumskammer kommen, sondern eine reversible Deformation sollte ermöglicht werden. Um gleichzeitig für den Patienten angenehm und sicher genug zu sein, wäre eine Wachstumskammer ideal, welche einer geringeren Kompression relativ wenig Kraft entgegen bringt. Dies vermittelt das Gefühl einer gewissen Flexibilität. Andererseits darf die Wachstumskammer nicht zu weit komprimiert werden, folglich sollte ab einem gewissen Kompressionsweg eine deutlich höhere Kraft zur weiteren Kompression benötigt werden.

Die Wachstumskammer aus **Poly(DL-Lactid)** konnte mit circa 7,5 mm am weitesten komprimiert werden, dafür wurde mit 680 N die größte Kraft benötigt (siehe Tabelle 31). Damit kann sie fast auf die Hälfte des ursprünglichen Wertes von 13 mm komprimiert werden. Die **Poly(ϵ -Caprolacton)-Wachstumskammer** konnte um circa 4,5 mm komprimiert werden, wofür 256 N benötigt wurden. Am geringsten konnte die Wachstumskammer aus **Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid)** komprimiert werden. Zur Komprimierung um 3,8 mm wurden nur 66 N benötigt. Damit kann mit der geringsten Kraft am stärksten komprimiert werden und dürfte sich aus dem Grund weniger steif anfühlen. Jedoch wird die Wachstumskammer durch die Kompression zerstört. Um die Poly(ϵ -Caprolacton)-Wachstumskammer um den selben Wert zu komprimieren wie die Copolymer-Wachstumskammer benötigt man 3-mal so viel Kraft. Den größten Kraftaufwand, um eine Kompression zu erreichen, benötigt man bei Poly(DL-Lactid), dann bei Poly(ϵ -Caprolacton) und den geringsten bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid).

Tabelle 31: Ergebnisse des ersten Kompressionstests. Das System bestehend aus Deckel und Boden wurde insgesamt getestet.

Material	F (N)	Weg (mm)
Poly(DL-Lactid)	680,0	7,5
Poly(ϵ -Caprolacton)	256,0	4,5
Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (80/20)	71	3,8

Das Photo (Abbildung 75 b) zeigt die Wachstumskammern nach dem Belastungstest.

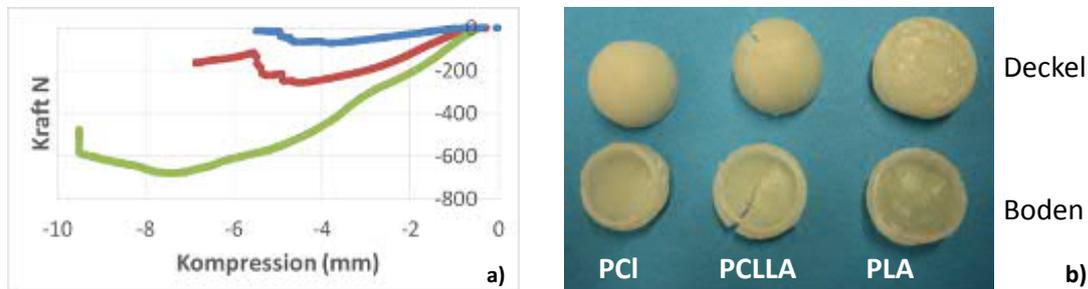


Abbildung 75: a) Auftragung der Kraft, gegen den Kompressionsweg beim Testen des Wachstumskammersystems aus Deckel und Boden. Poly(DL-Lactid) kann am weitesten komprimiert werden, bevor das System Schaden nimmt, gefolgt von Poly(ϵ -Caprolacton). Die Probe aus Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) hielt die geringste Belastung aus. b) Photo der Wachstumskammern nach dem Kompressionstest. Die Poly(ϵ -Caprolacton)-probe wurde nur leicht flacher, während die Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid)-Probe gerissen ist und Poly(DL-Lactid) deutlich eingedrückt wurde.

Die Wachstumskammer aus dem **Copolymer (PCLLA)** erwies sich als das instabilste System, es riss während des Belastungstests ein.

Die Wachstumskammer aus **Poly(DL-Lactid)** konnte weit gestaucht werden, ohne dass der Boden in den Deckel hineingedrückt wurde, und nur der Deckel wurde verformt. Allerdings blieb die Wachstumskammer nach dem Belastungstest flach und es konnte zunächst keine Relaxation beobachtet werden. Erst nach circa vier Stunden konnte eine Erholung der Poly(DL-Lactid)-Kammer festgestellt werden. Es hatte sich erneut eine leichte Wölbung ausgebildet.

Der Deckel der **Poly(ϵ -Caprolacton)**-Wachstumskammer hat sich nach dem erstem Test kaum verändert. Der Grund für das frühe Versagens des Systems war wahrscheinlich eine Luftblase im unterem Bereich des Deckels, diese erwies sich als Schwachstelle. An der Stelle wurde der Boden in den Deckel hinein gedrückt, weshalb der Belastungstest des Systems an diesem Punkt beendet wurde. Dabei wurde der Deckel jedoch noch nicht geschädigt.

Aufgrund dessen wurde dieser Deckel mehrmals einzeln getestet, wobei er sich als sehr elastisch erwies. Er wurde dreimal sehr flach gedrückt (siehe Tabelle 32), erholte sich, auch nach der dritten Belastung, teilweise wieder und bildete wieder eine Wölbung aus, wobei circa 9 mm von 13 mm wieder erreicht wurden.

Die beiden ersten Belastungstests wurden relativ vorsichtig durchgeführt. Sobald keine Kraft mehr auf die Wachstumskammer ausgeübt wurde, regenerierte die Form sich wieder. Beim dritten Mal dagegen wurde überprüft, wie weit man sie komprimieren kann, bis sie völlig zerstört wird bzw. sich nicht mehr regenerieren kann. Einen Überblick über die Ergebnisse geben Abbildung 76 und Tabelle 32.

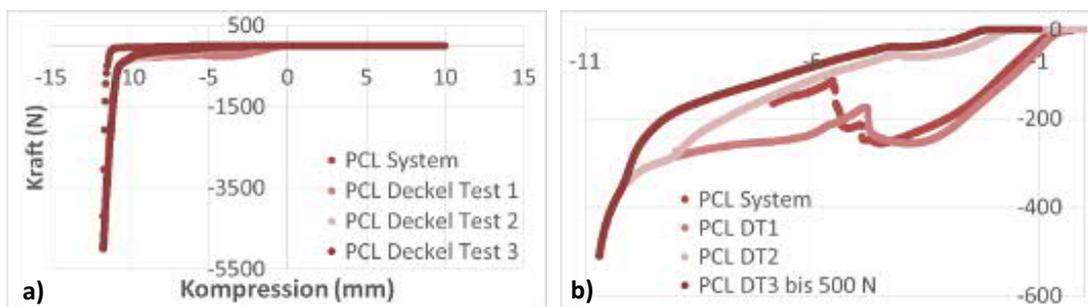


Abbildung 76: a) Übersicht über die Belastungstests des Poly(ϵ -Caprolacton)-Deckels. Nach den ersten beiden Versuchen erholte sich der Deckel jeweils sehr schnell, sodass weitere Tests durchgeführt wurden. Nach dem dritten Test wölbte sich der Deckel auch wieder, blieb aber deutlich flacher als vorher. b) Ausschnittsvergrößerung der Belastungstests. Der Deckel wurde durch die vorherigen Tests immer etwas vorgeschädigt, im niedrigen Kompressionswegbereich bis circa 5 mm ist daher immer weniger Kraft nötig, um eine Kompression zu erreichen.

Tabelle 32: Ergebnisse Kompressionstest der Poly(ϵ -Caprolacton) -Wachstumskammer.

Material	Weg (mm)	Kraft (N)	Weg bis 256 N
PCL-Wachstumskammer	4,5	256,0	4,5
PCL-Deckel-Test1	9	285,0	7,5
PCL-Deckel-Test2	10,0	327,0	8,8
PCL-Deckel-Test3	11,7	5000,0	9,8

Der Unterschied der Komprimierung zwischen dem zweiten und dritten Test ist relativ klein, allerdings wurde die 15-fache Kraft benötigt um die größere Komprimierung zu erreichen. Nach dem zweiten Test erholte sich die Verformung der Wachstumskammer vollständig, nach dem 3. Test blieb die Wachstumskammer verformt.

Im Bildteil 76 b) wurde der Bereich bis 500 N für alle Test vergrößert dargestellt. Es wird deutlich, dass die Belastungstests zu Folgeschäden führen. Während bei der vollständigen Wachstumskammer 220 N nur zur einer Kompression von 4,5 mm geführt haben, sind es beim 3. Test bereits 9,8 mm (siehe Tabelle 32).

Bis 10 mm lässt sich die Wachstumskammer noch relativ leicht komprimieren, danach wird der benötigte Kraftaufwand deutlich höher (siehe Abbildung 77). Während bis 10 mm nur $27 \frac{N}{mm}$ benötigt werden, sind es zwischen 10-10,8 mm schon $327 \frac{N}{mm}$. Im Bereich 11,1-11,67 mm wird dieser Wert noch einmal deutlich auf $2574 \frac{N}{mm}$ erhöht. Eine mögliche Erklärung dafür ist die irreversible Verformung der Wachstumskammer ab 11 mm. Dafür spricht, dass bei einer Kompression um 11 mm auf 2 mm komprimiert wird. Der ursprüngliche Wert war 13 mm.

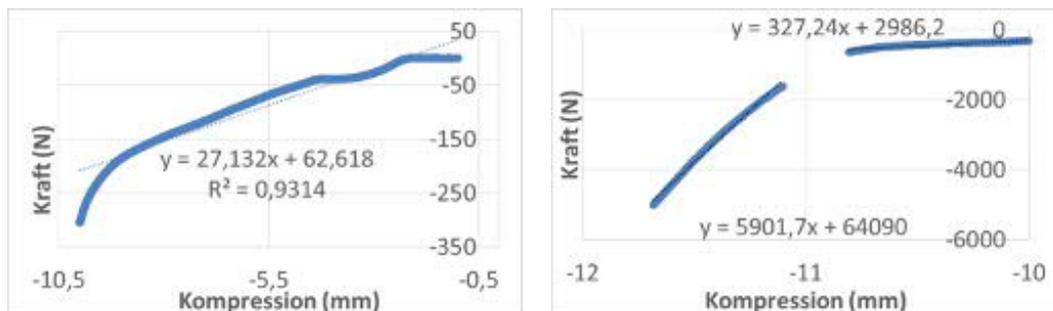


Abbildung 77: Analyse des 3. Belastungstestes von Poly(ϵ -Caprolacton) a) Belastung bis 10 mm, der Anstieg der benötigten Kraft ist relativ gering. b) Belastung von 10 mm-11,7 mm, um ab 10 mm Kompression weitere Kompression zu erreichen, muss die Kraft deutlich stärker ansteigen als vorher. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die Wachstumskammer ab 10 mm irreversibel verformt wird.

Um sicherere Ergebnisse zu erzielen, wurde der Belastungstest wiederholt, wiederum an einem servohydraulischem Testsystem (MTS 797). Dabei wurden dieselben Polymerarten genutzt. Jedoch mussten teilweise andere Polymere mit unterschiedlichem Molekulargewicht verwendet werden (siehe Tabelle 33).

Tabelle 33: Die beim zweiten mechanischen Test verwendeten Materialien. Abkürzungen: Poly(DL-Lactid) = PLA, Poly(ϵ -Caprolacton) = PCL, Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (Cl:LA = 80:20) = PCLLA, Eisen(III)perchlorat = $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$

Material, Katalysator	Mw ($\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$)	Mn ($\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$)	PDI
PLA, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$	28,4	18,2	1,6
PCL, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$	173,5	78,7	2,2
PCLLA, $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$	29.947	17.821	1,68
PCLLA, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$	111.700	46.113	2,42

Um genug Material für die Poly(ϵ -Caprolacton)-Probe zu erhalten, wurden unterschiedliche ϵ -Caprolacton-Polymere zusammen in einer Form geschmolzen. Davon wurde eine GPC-Probe angefertigt, um das Molekulargewicht zu bestimmen. Das Molekulargewicht des Polymers, aus welchem die Poly(DL-Lactid)-Probe hergestellt wurde, war mit $28 \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ sehr niedrig. Zunächst konnte eine stabile Wachstumskammer hergestellt werden, jedoch verformte sich diese beim 2-tägigen Sättigen mit Wasser bei 37°C . Aus diesem Grund wurden direkt Deckel und Boden separat gemessen und nicht zunächst das gesamte System mit Deckel auf dem Boden. Um zu vergleichbaren Ergebnissen zu kommen, wurden bei den anderen Polymeren dementsprechend ebenfalls Deckel und Boden separat gemessen. Bei Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) wurden eine zinn- und eine eisenkatalysierte Probe gegeneinander getestet. Die anderen Polymere wurden alle mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat als Katalysator hergestellt.

Die Proben wurden wiederum so lange belastet, bis sie beschädigt wurden (siehe Abbildung 78).

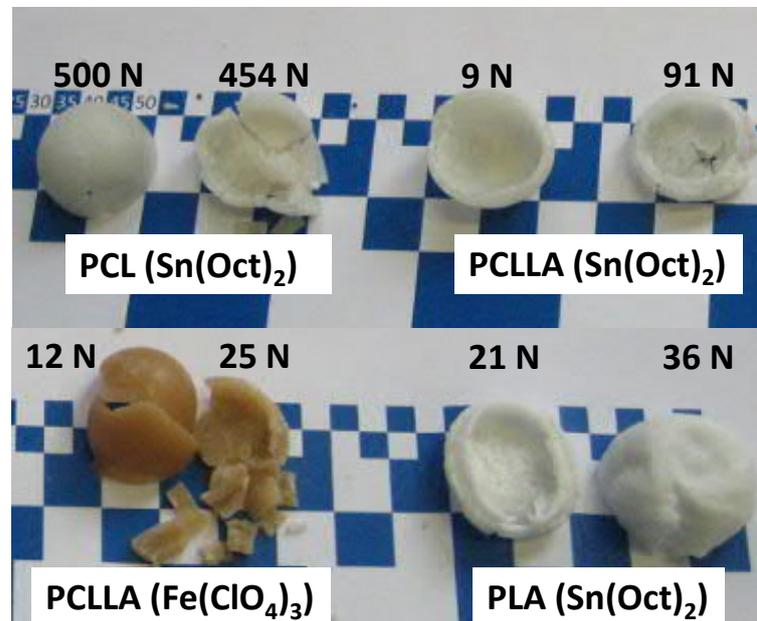


Abbildung 78: Die Wachstumskammern unmittelbar nach dem zweiten Belastungstest. Man erkennt die unterschiedlichen Zerstörungswege. Bei Poly(ϵ -Caprolacton) war die größte Kraft notwendig, bei der eisenkatalysierten Copolymerprobe die geringste.

Auch bei diesem Test ergeben sich Unterschiede darin, wie die einzelnen Wachstumskammern zerstört wurden. Während der Deckel der Poly(ϵ -Caprolacton)-Wachstumskammer kaum beschädigt scheint, wurde die eisenkatalysierte Copolymerprobe völlig zerstört. Bei der Poly(DL-Lactid)-Probe erkennt man, wie sich die Probe beim Sättigen im Wasser verformt hatte.

Abbildung 79 zeigt, um welche Weglänge die Wachstumskammern komprimiert werden konnten und wie viel Kraft dafür benötigt wurde. Im Bildteil a) wurden die Ergebnisse der Wachstumskammerdeckel, im Bildteil b) die Böden der Wachstumskammern verglichen. Man erkennt deutlich, dass der Deckel der Poly(ϵ -Caprolacton)-Wachstumskammer mit 8,6 mm am stärksten komprimiert werden konnte. Der zweithöchste Wert ergab sich bei der Poly(DL-Lactid)-Probe mit 3,8 mm, dies ist nicht einmal halb so viel wie die Poly(ϵ -Caprolacton)-Probe.

Auch bei der Kraft, die auf die Wachstumskammer ausgeübt werden konnte, bevor sie zerdrückt wurde, stellte sich die Poly(ϵ -Caprolacton)-Wachstumskammer als die belastbarste heraus. Sie hielt fast 500 N aus und damit fast 25 mal so viel wie die zweitbelastbarste Wachstumskammer, wiederum die Poly(DL-Lactid)-Probe, welche mit 20 N belastet werden konnte. Die eisenkatalysierte Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid)-Probe war mit 11,8 N etwas belastbarer als die zinnkatalysierte Probe mit 9,5 N.

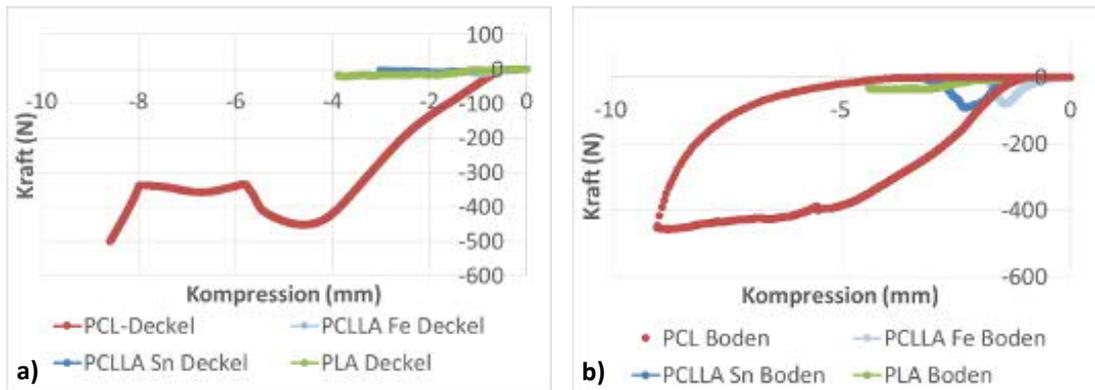


Abbildung 79: Mechanische Belastungstests von Deckel a) und Boden b) der Wachstumskammern aus unterschiedlichen Polymermaterialien.

Tabelle 34: Ergebnisse des zweiten Kompressionstest, es wurde der Deckel und der Boden getrennt getestet. Abkürzungen: Poly(DL-Lactid) = PLA, Poly(ϵ -Caprolacton) = PCL, Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) (Cl:LA = 80:20) = PCLLA, Eisen(III)perchlorat = $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$

Material	Deckel		Boden	
	F (N)	Weg (mm)	F (N)	Weg (mm)
PLA, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$	20	3,8	36,0	4,0
PCL, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$	498,6	8,6	456,0	8,8
PCLLA, $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$	11,8	1,0	79,7	1,4
PCLLA, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$	9,6	1,9	90,6	2,3

Die Tabelle 34 fasst die Ergebnisse zusammen. Die Tests wurden auch mit den Böden der Wachstumskammern durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 34 und Abbildung 79 b) dargestellt. Es ergibt sich ein ähnliches Bild wie bei den Belastungstests der Deckel der Wachstumskammern. Die Wachstumskammer aus Poly(ϵ -Caprolacton) kann wiederum am stärksten komprimiert werden. Ihr Boden kann doppelt so stark komprimiert werden wie der der Wachstumskammer aus Poly(DL-Lactid). Bei der anwendbaren Kraft ergibt sich ein etwas anderes Bild als bei den Deckeln. Zwar hält Poly(ϵ -Caprolacton) auch hier die höchste Kraft aus, Poly(DL-Lactid) jedoch in dem Fall am wenigsten. Die Wachstumskammer aus dem zinnkatalysierten Copolymer toleriert höhere Belastung. Poly(ϵ -Caprolacton) übersteht mit 454 N eine fünfmal höhere Kraft als die zinnkatalysierte Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid)-Probe. Die eisenkatalysierte Probe kann weniger Kraft aushalten als die Wachstumskammer aus Poly(DL-Lactid). Zusammenfassend kann man sagen, dass die Böden der Wachstumskammer stärker komprimiert werden konnten als die Deckel. Dies dürfte damit zusammenhängen, dass die Deckel eine viel stärkere Wölbung besitzen als die Böden. Bis auf die Poly(ϵ -Caprolacton)-Probe hielten alle Böden mehr Kraft aus als der Deckel.

6.3 Lagerungsversuche

Möchte man bioabbaubare Wachstumskammern einsetzen, müssen sie eine gewisse Zeit lagerbar sein. Um dies zu überprüfen, wurden stellvertretend für die Wachstumskammern die unbearbeiteten Polymere über einen längeren Zeitraum untersucht. Dabei wurden die Polymere bei Raumtemperatur in Schnappdeckelgläsern gelagert. Die Degradation wurde durch Messen des Molekulargewichts mittels GPC überprüft. Abbildung 80 zeigt die Ergebnisse.

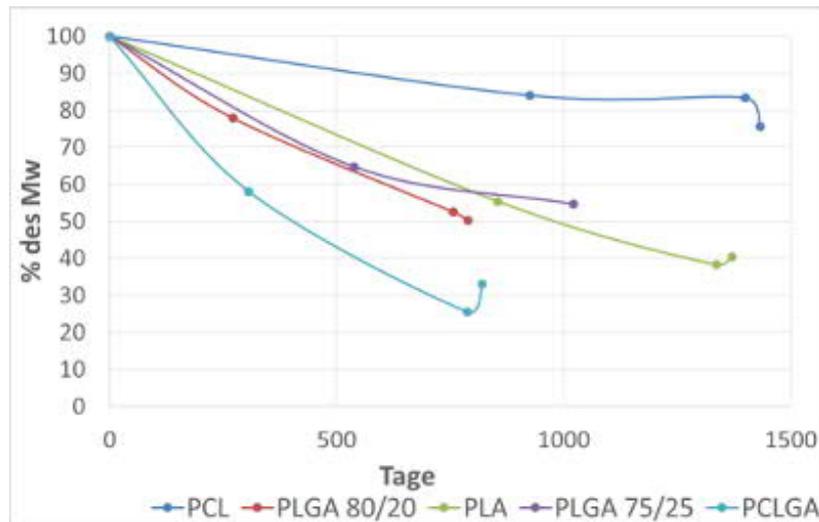


Abbildung 80: Degradationsuntersuchung der unverarbeiteten Polymere. Es wurde untersucht wie viel Prozent des ursprünglichen Molekulargewichts bei Untersuchungszeitpunkt noch vorhanden war.

Da maximal vier Messpunkte zur Verfügung stehen, kann nur eine grobe Abschätzung des Degradationsverlaufs gegeben werden. Es ist jedoch sehr deutlich, dass Poly(ϵ -Caprolacton) im beobachteten Zeitpunkt kaum degradiert. Nach fast vier Jahren besitzt das Polymer immer noch 75% seines ursprünglichen Molekulargewichts. Eine Wachstumskammer aus Poly(ϵ -Caprolacton) dürfte folglich auch nach 4 Jahren noch stabil sein.

Wenn man von einer gewünschten Lagerzeit von einem Jahr ausgeht, sind außer dem Terpolymer alle Polymer passabel. Nach 365 Tagen besitzen sie noch mindestens 76% ihres ursprünglichen Molekulargewichts. Aus ihnen hergestellte Wachstumskammern sollten somit nach einem Jahr noch stabil sein. Problematisch wird es beim Terpolymer, welches nach einem Jahr nur noch etwas über 50% seines Molekulargewichts aufzuweisen hat. Bei Wachstumskammern aus diesem Polymer müsste man eine geringere Lagerfähigkeit angeben. Möchte man, dass nach dem Zeitraum noch 80% des Molekulargewichts erhalten bleiben, beträgt die Dauer der Lagerfähigkeit 5 Monate.

Tabelle 35: Degradation der unverarbeiteten Polymere. Es wurde untersucht, wie viel Prozent des ursprünglichen Molekulargewichts beim Untersuchungszeitpunkt noch vorhanden war. Abkürzungen: P = Poly, CL = Caprolacton, LA = Lactid, GA = Glycolid, t = vergangene Zeit seit Herstellung, %= verbliebenes Molekulargewicht in %

Polymer	[M] _{Cl} : [M] _{La} : [M] _{Ga}	t (d)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	%
PCL	100:0:0	0	78,6	100
PCL	100:0:0	925	66,1	84
PCL	100:0:0	1400	65,6	83
PCL	100:0:0	1433	59,5	76
PLA	0:100:0	0	85,2	100
PLA	0:100:0	855	47,3	55
PLA	0:100:0	1336	32,6	38
PLA	0:100:0	1370	34,4	40
PLGA	0:80:20	0	42,4	100
PLGA	0:80:20	272	33,0	77
PLGA	0:80:20	756	22,3	53
PLGA	0:80:20	790	21,3	50
PLGA	0:75:25	0	63,2	100
PLGA	0:75:25	538	40,9	65
PLGA	0:75:25	1021	34,5	55
PCLLAGA	400:1000:600	0	14,9	100
PCLLAGA	400:1000:600	306	8,6	58
PCLLAGA	400:1000:600	787	3,8	16
PCLLAGA	400:1000:600	821	4,9	33

6.4 Diskussion

Die Herstellung der Wachstumskammern durch Formpressen ist praktikabler als durch Spritzguss. Allerdings verbleiben beim Formpressen Luftblasen in der Wachstumskammer und stellen ein ungelöstes Problem dar, sodass weiterer Verbesserungsbedarf besteht.

Poly(ϵ -Caprolacton)-Wachstumskammern erwiesen sich durch die mechanischen Messungen als geeignetstes Material für die Anwendung in der Geweberekonstruktion. Sie halten am meisten Last aus und relaxieren über weite Strecken. Allerdings sind sie sehr steif und es besteht somit noch Verbesserungsbedarf. Gut wäre ein Material, das sich ähnlich verhält wie Poly(ϵ -Caprolacton), jedoch bei beginnender Belastung noch stärker komprimiert werden kann.

Wachstumskammern aus Poly(DL-Lactid) relaxierten deutlich langsamer und unvollständiger als jene aus Poly(ϵ -Caprolacton). Das Copolymer aus Caprolacton- und DL-Lactid riss bei den mechanischen Studien ein und scheint somit ungeeignet. Das Einreißen bedeutet einen völligen Verlust der Stabilität und könnte im Gewebe zu Verletzungen führen.

Das Molekulargewicht hat einen Einfluss auf die Stabilität. Dies wird vor allem im Vergleich der Poly(DL-Lactid)-Proben deutlich: das Molekulargewicht der Probe im ersten Test lag circa 5 mal-höher als im zweiten Durchgang. Dies führte dazu, dass die erste Poly(DL-Lactid)-Probe 30-mal mehr Kraft aushielt als die zweite Probe.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich Poly(ϵ -Caprolacton) für mechanisch belastete Teile gut eignet. Ist das Molekulargewicht von Poly(DL-Lactid) ausreichend hoch (um $100 \frac{kg}{mol}$), eignet sich auch dieses als Wachstumskammermaterial. Dieser Wert passt gut zur Literatur, wo ein Mindestwert für Poly(DL-Lactid) von $100 \frac{kg}{mol}$ beschrieben wurde, um gute mechanische Eigenschaften zu erreichen [263]. In jedem Fall sollte es deutlich über $30 \frac{kg}{mol}$ liegen, ansonsten verformt sich die Wachstumskammer bereits bei Sättigung mit Wasser. Das Copolymer ist im trockenem Zustand sehr elastisch, verliert diese Elastizität jedoch durch die Sättigung mit Wasser. Da es höchstens 90 N aushält, ist seine Eignung für die Anwendung für lasttragende Elemente zweifelhaft. Damit die mechanischen Eigenschaften besser sind, sollte das Molekulargewicht des Copolymers deutlich über $100 \frac{kg}{mol}$ liegen, idealerweise um $200 \frac{kg}{mol}$ oder höher sein.

7 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Herstellung biobbaubarer Implantatstrukturen (Scaffold und Wachstumskammer) aus biokompatiblen Polymeren. Einige wichtige Ergebnisse der Arbeit sind in Abbildung 81 zusammengefasst.

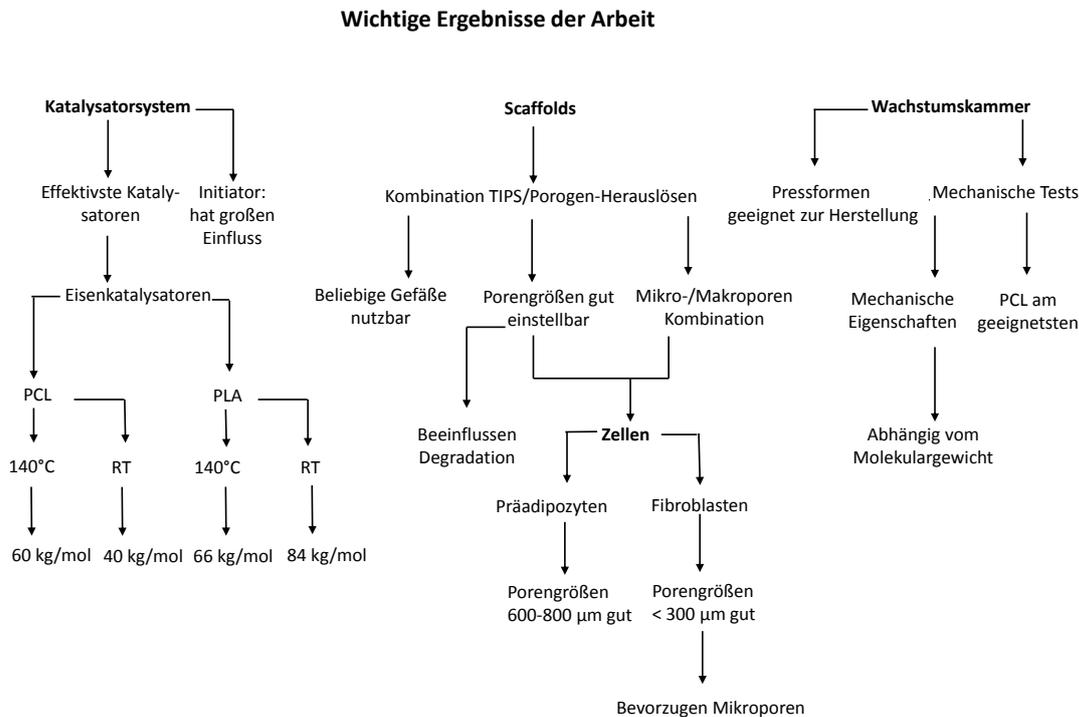


Abbildung 81: Darstellung einiger wichtiger Ergebnisse der Dissertation. Die Hauptthemen der Doktorarbeit waren die Untersuchung eines Katalysatorsystems, Herstellung und Untersuchung von Scaffolds und Wachstumskammern und Zelluntersuchungen.

Um die Biokompatibilität der bioabbaubaren Polymere zu erhöhen, wurde nach einem alternativen Katalysator für die ringöffnende Polymerisation gesucht. Der Grund dafür ist, dass der Standardkatalysator Zinn(II)-2-ethylhexanoat zwar einige Vorteile hat, wie gute Löslichkeit und hohe Aktivität [51, 103], allerdings dürfen in einem Polymer, das in der Biomedizin eingesetzt werden soll, maximal 20 ppm Zinn(II)-2-ethylhexanoat verbleiben. Zinn(II)-2-ethylhexanoat aus dem Polymer vollständig zu entfernen ist jedoch schwierig [111, 114].

Als Katalysatoren wurden Enzyme, (Erd)alkalikatalysatoren und Eisenkatalysatoren untersucht. Um in der Biomedizin verwendbar zu sein, müssen die mit den Katalysatoren herstellbaren Polymere mindestens ein Molekulargewicht von $15 \frac{kg}{mol}$ besitzen [240]. Für die in dieser Arbeit gezeigte Methode der Scaffoldherstellung wird jedoch ein Molekulargewicht von $40 \frac{kg}{mol}$ benötigt. Die untersuchten Enzyme ergaben Polymere, die mit bis zu $30 \frac{kg}{mol}$ im für die Biomedizin relevanten Molekulargewichtsbereich lagen.

Dafür reichten niedrige Temperaturen von 25-70°C aus. Die Polymere erreichten jedoch nicht das erforderliche Molekulargewicht, um die in dieser Arbeit entwickelte Scaffoldherstellungsmethode nutzen zu können. Zusätzlich lag die Ausbeute mit durchschnittlich 36% zu niedrig, sodass beschlossen wurde, die Enzyme nicht weiter zu untersuchen. Durch Optimierung der Temperatur, des Initiators, der Kombination aus beidem sowie dem Enzymanteil sollte aber sowohl eine Erhöhung des Molekulargewichts als auch der Ausbeute möglich sein. Dies hätte aber den Rahmen der Arbeit gesprengt.

Die (Erd)Alkalikatalysatoren waren erst ab 70°C katalytisch aktiv. Es konnten in geringer Ausbeute Polymere mit einem Molekulargewicht von $15 \frac{kg}{mol}$ hergestellt werden. Bei 70°C wird auch mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat kein höheres Molekulargewicht erreicht. Eine Erhöhung der Temperatur auf 140°C verbesserte die Ausbeute, nicht jedoch das Molekulargewicht der Erdalkali-katalysierten Reaktionen. Es konnten somit Polymere hergestellt werden, welche prinzipiell in der Biomedizin verwendet werden können, jedoch wiederum nicht bei der hier genutzten Scaffoldmethode. Als Initiatoren wurden nur Benzylalkohol und Wasser verwendet. Es ist denkbar, dass mit anderen Initiatoren sowohl höheres Molekulargewicht als auch höhere Ausbeute erreicht werden kann, jedoch nicht im Rahmen dieser Arbeit.

Die Eisenkatalysatoren erwiesen sich als die effektivsten Katalysatoren. Das höchste Molekulargewicht konnte mit Eisen(III)perchlorat, Eisen(III)bromid und Eisen(III)chlorid erreicht werden. Bei 140°C wurden mit Eisen(III)bromid und Ascorbinsäure in Kombination bis zu $59 \frac{kg}{mol}$ bei der Polymerisation von ϵ -Caprolacton erzielt. Polymerisation von ϵ -Caprolacton bei Raumtemperatur ergab bis zu $40 \frac{kg}{mol}$ und die Polymerisation von DL-Lactid $80 \frac{kg}{mol}$ in guter Ausbeute. Somit können sowohl bei 140°C als auch bei Raumtemperatur Polymere mit einem Molekulargewicht hergestellt werden, das für die eingesetzte Scaffoldmethode ausreicht.

Die Polymerisationsfähigkeit der Eisenkatalysatoren korreliert mit dem HSAB-Prinzip. Je weicher der Ligand ist, desto besser katalysiert der Katalysator.

Der Initiator hat einen großen Einfluss auf das erreichbare Molekulargewicht. Mit Allylphenol konnte das höchste Molekulargewicht erreicht werden. Dafür ergeben Reaktionen mit Benzylalkohol häufig kürzere Reaktionszeiten. Ein Kompromiss ist Azidohexanol. Mit diesem kann ein fast so hohes Molekulargewicht erreicht werden wie mit Allylphenol; dafür ist die Reaktionsgeschwindigkeit mit Azidohexanol höher.

Sowohl mit Allylphenol als auch mit Azidoalkohol verfärbt sich die Eisensalz-Caprolacton-Lösung grünlich und wird anschließend braun. Dies wurde auch mittels UV-VIS-Spektroskopie bei Eisen(III)perchlorat untersucht. Es ist davon auszugehen, dass Allylphenol bzw. Azidohexanol die Liganden ersetzt und diese nach und nach durch ϵ -Caprolacton bzw. die wachsende Polymerkette ausgetauscht werden.

Da mit diesen Initiatoren höheres Molekulargewicht erreicht werden kann als mit Benzylalkohol, ist davon auszugehen, dass diese Koordination des Alkohols vorteilhaft für die Reaktion ist. Azidohexanol ebenso wie Propargylalkohol bieten zudem als Initiator die Möglichkeit, die hergestellten Polymere mittels Clickreaktion zu funktionalisieren [309]. Allylphenol ist ein gute Initiator für die ringöffnende Polymerisation, folglich ist davon auszugehen, dass auch Tyrosin, mit dem Allylphenol eine starke strukturelle Ähnlichkeit besitzt, als Initiator für die ringöffnende Polymerisation geeignet ist. Dies ermöglicht die Herstellung von Protein-Polymerhybriden.

Bei 140°C ist das mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat erreichbare Molekulargewicht höher als bei Eisenkatalysatoren. Das ändert sich jedoch bei niedrigeren Temperaturen, weil Zinn(II)-2-ethylhexanoat dann als Katalysator ineffektiv ist. Auch ein höherer Katalysatoranteil und höhere Temperatur verringern mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat das Molekulargewicht nicht jedoch mit Eisenkatalysatoren, vermutlich weil Eisenkatalysatoren weniger zu Umesterungen neigen als Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Damit ist der Wunsch nach einer Verringerung der Nebenreaktionen erfüllt.

Weitere im Abschnitt 3 "Ziel und Strategie" genannte wünschenswerte Eigenschaften eines Alternativkatalysatoren waren Robustheit, die Möglichkeit, das Molekulargewicht kontrollieren zu können, und reproduzierbarere Ergebnisse als mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Die Ergebnisse mit Eisen(III)chlorid und vor allem mit Eisen(III)perchlorat sind reproduzierbarer als mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Bezüglich der Robustheit der Katalysatoren ergeben sich kleine Einschränkungen: Eisen(III)perchlorat muss getrocknet werden, bevor es als effektiver Katalysator angewendet werden kann. Auch Eisen(III)bromid muss getrocknet werden. Die Arbeit zeigt, dass insbesondere in Eisen(III)bromid verbliebene Wasserspuren das Resultat verschlechtern. Eisen(III)bromid bevorzugt Wasser als Initiator, jedoch wurde unter diesen Bedingungen geringeres Molekulargewicht als mit den anderen Initiatoren erreicht. Robust ist hingegen Eisen(III)chlorid, bei dem Wasserspuren in der Reaktion die geringste Auswirkung zeigten. Mit Eisen(III)perchlorat und mit Abstrichen mit Eisen(III)chlorid ist es möglich, die Bedingungen so zu wählen, dass man ein bestimmtes Molekulargewicht herstellen kann. Somit erfüllt Eisen(III)perchlorat die gewünschten Kriterien für einen Alternativkatalysator zu Zinn(II)-2-ethylhexanoat.

Aus den bioabbaubaren Polymeren wurden Zellvorläuferstrukturen (Scaffolds) hergestellt. Durch eine Kombination der Temperatur-induzierten Phasenseparation (TIPS), wobei der fest-flüssig Phasenseparationsansatz gewählt wurde, und dem Herauslösen eines Porenbildners (Zucker) wurden die Poren erzeugt. Es konnten dreidimensionale Scaffolds mit interkonnektierten Poren hergestellt werden. Die Porengröße konnte durch die Zuckerkörnung festgelegt werden. Die Scaffolds wurden mittels Lichtmikroskopie und Rasterelektronenmikroskopie untersucht.

Durch die Lichtmikroskopie konnte festgestellt werden, dass die Makroporen im gewünschten Größenbereich lagen und dass die Poren untereinander verbunden sind. Die Interkonnektivität wurde mittels der Diffusion eines Farbstoffs durch den Scaffold bestätigt.

Die Rasterelektronenmikroskopie zeigte, dass die Morphologie der Scaffolds vom verwendeten Polymer abhängt. Während Poly(ϵ -Caprolacton) kanalartige, relativ geschlossene Mikroporen ausbildete, ergab Poly(DL-Lactid) große, offene Hohlkörper (nanofibröse Strukturen), welche durch Polymerfasern gebildet werden. Eine mögliche Erklärung ist eine schlechtere Löslichkeit von Poly(DL-Lactid) in Dioxan, sodass es früher aus den einfrierenden Dioxantröpfchen verdrängt wird, was zu einer Flüssig-Flüssig-Phasenseparation und zu offeneren Strukturen führt. Hingegen wurden Poly(ϵ -Caprolacton) und Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) erst durch die Kristallisation des Dioxans aus dem Lösungsmittel verdrängt, was zur Fest-Flüssig-Phasenseparation und den beschriebenen schachtartigen Strukturen führt.

Um die Vaskularisierung nicht zu stören sollten die Mikroporen mindestens $10\ \mu\text{m}$, besser $30\ \mu\text{m}$ groß sein [186]. Die Mikroporen in den Scaffolds mit Makroporen von $125\text{-}150\ \mu\text{m}$ waren größtenteils unter $10\ \mu\text{m}$ und somit tendenziell zu klein. Bei den Scaffolds mit den Makroporen im Bereich von $500\text{-}600\ \mu\text{m}$ bzw. $800\text{-}1250\ \mu\text{m}$ waren die Mikroporen bei annähernd allen Polymeren mindestens $10\ \mu\text{m}$ eher deutlich über $30\ \mu\text{m}$ groß. Eine Ausnahme bildeten die Poly(ϵ -Caprolacton)-Scaffolds, bei denen sich in den Grenzbereichen zu den Makroporen teils nur $5\ \mu\text{m}$ Poren ergaben. Aber auch da waren sie überwiegend über $10\ \mu\text{m}$ und bis zu $50\ \mu\text{m}$ groß.

Der Einfluss der Makroporengröße und der Mikroporen wurde mit periodontalen Ligamentfibroblasten und Präadipozyten untersucht. Obwohl beide Zelllinien morphologisch und auch von der Größe her sehr ähnlich sind, konnten Unterschiede festgestellt werden.

So bevorzugten die Fibroblasten die Materialien mit kleineren Makroporen ($150\text{-}250\ \mu\text{m}$) und wiesen auch dort eine gewisse Vorliebe für die Mikroporen auf. Dort wuchsen ausreichend viele Zellen ein, sodass ein dichtes Gewebe gebildet werden konnte. In die Scaffolds mit großen Makroporen ($800\text{-}1250\ \mu\text{m}$) hingegen wuchsen nur wenige Fibroblasten ein und befanden sich fast ausschließlich in den Mikroporen.

Die Präadipozyten hingegen wuchsen sowohl in die Scaffolds mit kleinen ($125\text{-}150\ \mu\text{m}$) als auch in solche mit großen Makroporen ($800\text{-}1250\ \mu\text{m}$) gut ein. Es konnte keine Bevorzugung der Mikroporen festgestellt werden. Von den großen Makroporen wurden nur jene bis $1000\ \mu\text{m}$ bewachsen. Mit Fluoresceindiacetat, einem Farbstoff, welcher in lebenden Zellen in das grünfluoreszierende Fluorescein umgewandelt wird, konnte die Viabilität der Präadipozyten in und auf den Poren nachgewiesen werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die Scaffolds somit sowohl für den Einsatz in der Zahnmedizin als auch für die Regeneration von Fettgewebe geeignet sind. Für die Fibroblasten wird man Scaffolds mit einer Porengröße bis $300\ \mu\text{m}$ wählen, wohingegen für die Präadipozyten $600 - 800\ \mu\text{m}$ große Makroporen gut geeignet sind. Wenn die Scaffolds zur Regeneration von Fettgewebe *in situ*, also direkt im Körper, mit Zellen bewachsen werden sollen, ist das Einbringen von biologischen Molekülen nicht notwendig. Trotzdem sollte man in Erwägung ziehen, die Scaffolds um Wachstumsfaktoren wie den basischen Fibroblast-Wachstumsfaktor (bFGF) zu ergänzen [159].

Um das wachsende Gewebe und den Scaffold zu schützen bietet sich die Verwendung von Wachstumskammern an, außerdem werden sie in einigen Vaskularisierungsstrategien verwendet [164, 305]. In dieser Arbeit wurden bioabbaubare Wachstumskammern hergestellt. Diese ermöglichen die Regeneration des Gewebes mit nur einer Operation. Bei den sonst verwendeten nicht bioabbaubaren Wachstumskammern aus beispielsweise Polycarbonat ist das nicht möglich [303]. Zur Herstellung der Wachstumskammern erwies sich das Formpressen als geeigneter als das Schmelzgussverfahren. Bei den Belastungstests wurden Wachstumskammern aus Poly(ϵ -Caprolacton), Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) und Poly(DL-Lactid) untersucht. Dabei wurde auch der Einfluss des Molekulargewichts analysiert. Für die bioabbaubaren Wachstumskammern wurde ein Belastungsstabilität von 200 N angestrebt. Zusätzlich ist es vorteilhaft, wenn die Wachstumskammer nach einer Belastung möglichst schnell wieder regeneriert. Mit Poly(ϵ -Caprolacton-co-DL-Lactid) wurde das gewünschte Belastungsziel nicht erreicht. Bei Poly(DL-Lactid) wird ein Molekulargewicht um $100\ \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ benötigt, um die gewünschte Belastungsstabilität zu erreichen. Eine Wachstumskammer aus Poly(DL-Lactid) mit einem Molekulargewicht von $100\ \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$ kann 680 N standhalten. Allerdings benötigt die Wachstumskammer bei Verformung ziemlich lange, um sich wieder zu regenerieren. Die Wachstumskammern aus Poly(ϵ -Caprolacton) halten einer Belastung von bis zu 500 N stand. Unter einer Kompression von 10 mm, die einer fast vollständigen Kompression (Originalhöhe der Wachstumskammer 13 mm) entspricht, regenerierte sich die Verformung sehr schnell direkt nach Aufhebung der Belastung. Auch bei einer Kompression von über 10 mm regeneriert sich die Wachstumskammer teilweise. Somit ist Poly(ϵ -Caprolacton) das geeignetste Material für eine bioabbaubare Wachstumskammer.

Es wurden erfolgreich bioabbaubare Implantatwerkstoffe (Scaffolds und Wachstumskammern) für die regenerative Medizin hergestellt. Dafür wurden biokompatible Katalysatorsysteme untersucht und Polymere und Katalysatoren auf ihre Zellkompatibilität hin analysiert. Aus den Polymeren wurden bioabbaubare Scaffolds und Wachstumskammern hergestellt. Die Morphologie der Scaffolds wurde untersucht, ebenso wie ihre Mechanik und das Zelleinwachstumsverhalten. Die Wachstumskammer wurden bezüglich ihrer mechanischen Eigenschaften untersucht.

7.1 Ausblick

Durch Optimierung des Initiators wird eine weitere Erhöhung des Molekulargewichts möglich sein. In der Arbeit haben sich konjugierende Initiatoren als positiv herausgestellt. Mit Allylphenol und Azidohexanol erreicht man ein höheres Molekulargewicht als mit Propargylalkohol. Dies lässt darauf schließen, dass ein gewisser Abstand des konjugierenden Bereichs zur Alkoholgruppe hilfreich ist, um mit dem Monomer konjugieren zu können. Mittels dieser Ergebnisse wird die Optimierung der Initiatoren ermöglicht.

Um biologische Moleküle einzufügen, können die Propargylalkohol- und Azidohexanol-induzierten Polymere beispielsweise mittels der Clickreaktion und die Allylphenol-induzierten Polymere mittels der Thio-En-Reaktion funktionalisiert werden.

Durch Vernetzungen der Polymere könnte eine höhere Elastizität erreicht werden. Eventuell würde dies auch zu einer Stabilisierung führen. Das könnte die Nutzung von schneller degradierenden Polymeren wie Poly(DL-Lactid) ermöglichen.

Das System aus Scaffold und Wachstumskammer sollte in Langzeitversuchen *in vivo* auf seine Verträglichkeit und Effektivität getestet werden. Die Regenerationsfortschritte könnten dabei mittels Magnetresonanztomographie verfolgt werden.

8 Material und Methoden

8.1 Chemikalien

Tabelle 36: Chemikalien, die direkt benutzt wurden

Chemikalie	Hersteller
Acetonitril	Sigma-Aldrich
Adipinsäuredimethylester >99%	Aldrich
Aktivkohle 10-20 mesh	Wertstoffbörse
2-Allylphenol	Sigma-Adrich
6-Aminocapronsäure	Wertstoffbörse
Ammoniumchlorid	Grüssing
Ammoniumfluorid	Sigma-Aldrich
Ascorbinsäure Natriumsalz 99%	Alfa-Aesar
2,2'-Azobis(isobutylamidihydrochlorid)	Wako
Benzylalkohol	Merck
3-Bromo-1-propanol	Sigma-Aldrich
N-Bromsuccinimid	Aldrich
Calciumhydrid	Sigma-Aldrich
Calciumhydroxid	Sigma-Aldrich
Calcium-L-tartrate hydrat	Sigma
4-Chlor-1-butanol	ABCR
Chloroform	VWR
Chloroform (deutertiert)	Alfa Aesar
6-Chloro-1-hexanol	ABCR
3-Chloro-1-propanol	ABCR
Dichlormethan p.A.	VWR
Dioxan	Sigma-Aldrich
N,N'-Dimethylformamid	Merck
Eisen(II)acetat 95%	Aldrich
Eisen(II)bromid ultra dry	Alfa-Aesar
Eisen(II/III)oxid (nanopowder 50nm)	Aldrich
Eisen(III)bromid anhydrous +98%	Alfa Aesar
Eisen(III)chlorid	Sigma
Eisen(III)citrat tribasic monohydrat	Fluka
Eisen(III)fluorid 97%	Alfa Aesar
Eisen(III)nitrat nonahydrat	Acros
Eisen(III)perchlorat hydrat	Aldrich
Eisen(III)sulfat Hydrat	Fluka
Eisenchlorid(II) tetrahydrat	Sigma-Aldrich
Eisenchlorid(III) hexahydrat	Sigma-Aldrich
Fortsetzung	auf der nächsten Seite

Tabelle 36: Chemikalien, die direkt benutzt wurden: Fortsetzung

Chemikalie	Hersteller
Eisen(II)iodid anhydrous 97%	Alfa Aesar
Eisenoxalat Dihydrat	Aldrich
Eisen(II)sulfid	Fluka
Goethite	Aldrich
Kaliumhexacyanoferrat(II)	Fischer Scientific
Kaliumhexacyanoferrat(III)	Sigma
Kupfer(I)bromid Puratonic 99,998% metals basis	Alfa Aesar
Kupfer(II)sulfat	Alfa Aesar
Lipase immobilized <i>Thermomyces lanuginosus</i>	Sigma
Lipase aus <i>Candida Rugosa</i>	Fluka
Lipase aus <i>Rhizomucor miehei</i>	Sigma
Lipase aus <i>Thermomyces lanuginosus</i>	Sigma
Lipase B antarctica	Fluka
Lipozyme 435	Novozyme
Lipozyme RMIM	Novozyme
Molekularsieb 4A	Roth
Natriumascorbat	Sigma
Natriumhydroxid Plätzchen	Merck
Nicotinamid 99%	Acros
Propargylalkohol 99%	Alfa Aesar
Pyridin	Merck
Thionylchlorid	Merck
Zinn(II)-2-ethylhexanoate 96%	Alfa Aesar

Tabelle 37: Besonders behandelte Chemikalien

Chemikalie	Hersteller	Behandlung
ϵ -Caprolacton	Aldrich und Alfa Aesar	Über CaH_2 getrocknet und 2-3 mal destilliert, über Molsieb im ausgeheiztem Schlenkkolben unter Stickstoff aufgehoben
Benzylalkohol	Merck	2-mal destilliert
Eisen(III)perchlorat hydrat	Aldrich	An der Schlenkline getrocknet in ausgeheiztem Schlenkkolben unter Stickstoff aufgehoben
Eisen(III)bromid	Wahrscheinlich Sigma	An der Schlenkline getrocknet in ausgeheiztem Schlenkkolben unter Stickstoff aufgehoben
Eisen(III)chlorid	Sigma	An der Schlenkline getrocknet in ausgeheiztem Schlenkkolben unter Stickstoff aufgehoben

Tabelle 38: unsteriler Zucker

Gewünschte Körnungsgröße in μm	Art des Zuckers	Hersteller	Laden
800-1200	Raffinade	Südzucker	Real
250-1200	Brauner Rohrzucker	Mauritius Sun Sugar	DM
250-1200	Brauner Rohrzucker	Südzucker	Real
125-500	Weißer Zucker	Südzucker	Real

Tabelle 39: steriler Zucker

Gewünschte Körnungsgröße in μm	Art des Zuckers	Hersteller
125-1250	Cell-culture grade sugar	Sigma-Aldrich

Kleine Körnungsgrößen, die nicht durch Sieben erhalten werden konnten, wurden durch Mörsern hergestellt.

8.2 Experimentelle Durchführung

8.2.1 Polymerisation

Metallkatalysierte Reaktion

Die Reaktionen wurden in dreifach ausgeheizten Einhalskolben durchgeführt. Je nach Reaktionsvolumen wurde dabei ein 25-100 ml Einhalskolben verwendet. Die festen Chemikalien wurden in Wägeschälchen abgewogen und in den Kolben gegeben. Bei der Benutzung von ϵ -Caprolacton wurden die im Wägeschälchen verbliebenen Reste mit ϵ -Caprolacton in den Kolben gespült. Bei Benutzung von DL-Lactid wurden die Reste mit Monomer im Wägeschälchen vermengt und so in den Kolben gegeben. Caprolacton und Benzylalkohol blieben beim Ansetzen der Reaktion durchgängig unter Stickstoffatmosphäre. Bei festen Monomeren wurden die Chemikalien im Wägeschälchen vermischt und gemeinsam in den Kolben gefüllt. Getrocknete Katalysatoren wie Eisen(III)perchlorat wurden aus einem mit Stickstoff gefluteten Schlenkkolben abgewogen. Bei allen Reaktionen wurde darauf geachtet, dass die Chemikalien so schnell wie möglich aus dem Wägeschälchen in den vorbereiteten Kolben überführt werden. Zum Schluss wurde der jeweilige Initiator zugegeben.

Vor der Reaktion wurde der Kolben dreimal entgast und belüftet. Dies wird nur bei Eisen(III)perchlorat-haltigen Reaktionen und Reaktionen mit Propagylalkohol unterlassen. Propagylalkohol würde dabei ausgasen. Die Reaktionen mit Eisen(III)perchlorat verliefen teilweise so schnell, dass sie während dem Entgasen fest wurden. Die Kolben wurden in ein Ölbad gegeben, welches auf der jeweils gewünschten Temperatur konstant gehalten wird, und mittels eines Magnetrührers gerührt.

Das nach der Reaktion erhaltene Rohprodukt wird in Chloroform gelöst und in kaltem Methanol ausgefällt. Anschließend wird es 15 min bei 4°C und 12.000 rpm zentrifugiert. Methanol wird abdekantiert und das Rohprodukt in Chloroform gelöst. Abschließend wird Chloroform am Rotationsverdampfer entfernt. Das Produkt wird zunächst an der Gefriertrocknung und schließlich an der Schlenkline bis auf die ersten zwei Stellen nach dem Komma gewichtskonstant getrocknet.

Enzymkatalysierte Reaktion

Die Reaktionen wurden in einem dreifach ausgeheizten und mit Stickstoff gespülten Einhalskolben durchgeführt. Je nach Reaktionsvolumen wurde dabei ein 25 oder 50 ml Einhalskolben genutzt. Die immobilisierten Enzyme wurden in einem Wägeschälchen abgewogen und in den Kolben gegeben. Die nicht immobilisierten Enzyme sind flüssig und wurden mithilfe einer Eppendorfpipette abgemessen und zugegeben. Anschließend wurde das Monomer, entweder ϵ -Caprolacton oder DL-Lactid oder beide, hinzugegeben. Teilweise auch Glycolidzugabe zu ϵ -Caprolacton und/oder DL-Lactid, um damit Copolymere oder Tripolymere herzustellen. Zu Polymerisationen mit DL-Lactid als Monomer wurde Lösungsmittel zugegeben, dabei wurden Dioxan und THF ausprobiert. Zum Schluss wurde außer in wenigen Ausnahmen Initiator zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde dreimal entgast und belüftet. Anschließend wurde die Reaktion bei konstanter Temperatur im Ölbad gerührt. Die Reaktion lief so lange, bis sie zu fest wurde zum Rühren. Das Rohprodukt wurde in Chloroform gelöst und die immobilisierten Enzyme durch Filtration mit einem Faltenfilter vom Rohprodukt abgetrennt. Das gelöste Polymer wurde in kaltem Methanol im Eisbad ausgefällt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie bei den metallkatalysierten Reaktionen. Also 15 min Zentrifugation bei 4°C und 12.000 rpm, Abdekantieren des Methanols, erneutes Lösen in Chloroform, Abrotieren des Lösungsmittels und abschließendes Trocknen.

8.2.2 Funktionalisierungen

8.2.2.1 *Azidopropanol*

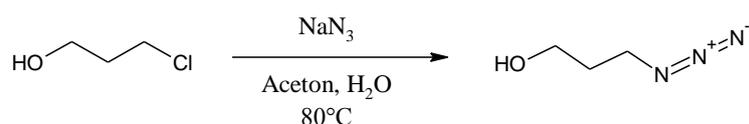


Abbildung 82: Reaktionsgleichung von Azidopropanol

Es wurden verschiedene Reaktionsbedingungen getestet. Als erfolgreich erwies sich die von D. Quémener [310].

8.2.2.2 Azidohexanol

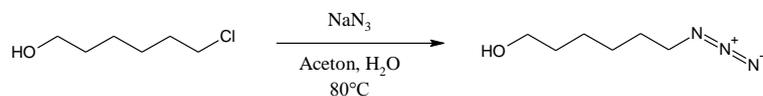


Abbildung 83: Reaktionsgleichung von Azidohexanol

Die Synthese wurde in Abwandlung der Synthese von D. Quémener [310] durchgeführt. In einen Zweihalskolben wurden 15 ml destilliertes Wasser und 90 ml Aceton vorgelegt. Dann wurden 7,82 ml Chlorhexanol zu gegeben und anschließend 9,35 g Natriumazid zugefügt. Die Reaktion rührte 24 h bei 80°C. Anschließend wurde das Aceton das Aceton unter vermindertem Druck entfernt und 60 ml Diethylether zugegeben. Diese Lösung wurde viermal mit 60 ml Diethylether mit einem Scheidetrichter einer Flüssig-Flüssig-Extraktion unterworfen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und der Diethylether unter vermindertem Druck abgetrennt. Das erhaltene gelbe Öl wurde am Hochvakuum gewichtskonstant getrocknet. Zur weiteren Reinigung wurde eine fraktionierte Destillation durchgeführt.

8.2.3 Herstellung von Filmen und Scaffolds

8.2.3.1 Filmsynthese mittels temperaturinduzierter Phasentrennung (TIPS)

Es wurde nach der Methode von Y. S. Nam vorgegangen [208]. Als Lösungsmittel wurde ein Gemisch aus Dioxan und Wasser eingesetzt. Es wurden 2,61 ml Dioxan vorgelegt und 0,39 ml Wasser zugegeben, also ein Verhältnis von (87/13). Dazu wurden 0,27 g Polymer (9 Gewichtsprozent) eingewogen. Die Mischung wurde homogen vermischt und in eine Petrischale gegossen. Diese wurde über Nacht bei -20°C gelagert. Anschließend wurden der Polymerfilm in einem Excikator getrocknet. Die so produzierten Filme wurden ungleichmäßig.

8.2.3.2 Filmsynthese mittels Fest-Flüssigphasenseparation

Die Versuche wurden ebenfalls in Petrischalen durchgeführt. Als Lösungsmittel wurde Dioxan verwendet. Es wurden 5 oder 0,5%-Gewichtsprozent des Polymers in Dioxan gelöst. Für 5% wurden 77 mg Polymer in 1,5 ml Dioxan, bei 0,5% 15,5 mg Polymer in 3 ml Dioxan gelöst. Die Lösung wurde in die Petrischale gegeben. Diese wurde mit Parafilm verschlossen und 12 h auf -20°C gekühlt.

Getrocknet wurde im Excikator. Es ergaben sich ungleichmäßige kristalline Filme.

8.2.3.3 3D-Scaffolds in Zentrifugenröhrchen mittels TIPS

Als Form wurden 30 ml Zentrifugenröhrchen von Carl Roth verwendet. 10 Gewichtsprozent (309 mg) Polymer wurden in Dioxan (2,52 ml, 2,61 g) gelöst und 0,48 ml Wasser zugegeben. Das Dioxan- zu Wasserverhältnis betrug (84/16). Das Polymer wurde bei 60°C gelöst. Die Zentrifugenröhrchen mit der Lösung wurden in ein auf -10°C vorgekühltes Falcon gegeben und eine halbe Stunde in einem Natriumchlorid/Eisbad eingefroren. Das Lösungsmittel wurde an der Gefriertrocknung entfernt. Dieses Prozedere wurde auch mit 5 und 7 Gewichtsprozent Polymer, entsprechend 150 mg bzw. 210 mg auf 3 ml Lösung, durchgeführt. Die Poren waren mit bloßem Auge nicht sichtbar und somit zu klein.

8.2.3.4 3D-Scaffolds mittels Fest-Flüssigphasentrennung

Analog zum TIPS-Ansatz wurde eine Fest-Flüssig-Phasentrennung versucht. Dazu wurden 5 Gewichtsprozent Polymer (150 mg auf 3 ml) in purem Dioxan auf -15°C abgekühlt. Diese Methode wurde auch mit 1%-3%-Gewichtsprozent untersucht. Es wurden auch weitere Lösungsmittel wie Tetrahydrofuran und Chloroform getestet, was jedoch erfolglos blieb..

8.2.3.5 Vorversuche zu 3D-Scaffolds mittels Porogen-herauslösendem Ansatz

Als Porogen wurden zunächst Natriumchlorid und Sorbitol getestet. Diese wurden in Bezug auf das eingesetzte Gewicht an Polymer in 9-fachem Überschuss verwendet. Schließlich fand Zucker (Saccharose) Anwendung. Zunächst wurde niedriger Überschuss (max. 6 bis 9-fache) an Zucker verwendet. Dies ergab jedoch keine homogenen Mischungen, teilweise kam es zur Trennung zwischen einer zuckerreichen und einer polymerreichen Phase. Auch ein 18-facher Überschuss führte noch nicht zum gewünschten Ergebnis. Eine weitere Steigerung des Überschusses auf 28,32 oder 36-fach zeigte den 32-fachen Zuckerüberschuss als praktikabelsten Ansatz. In dem Fall entsprach der Füllstand im Röhrchen der gewünschten Höhe des Scaffolds und die Polymerlösung ging genau bis an den oberen Rand des Zuckers. Die Polymerlösung bestand aus 5wt% Polymer, entsprechend 150 mg auf 3 ml Dioxan. Somit wurden 4,8 g Zucker verwendet.

8.2.3.6 unsterile Herstellung der Scaffolds

Es wurde eine 5%ige Polymerlösung in Dioxan hergestellt. In ein Zentrifugenröhrchen mit Rundboden wurde ein 32-facher Überschuss an gesiebttem Haushaltszucker gegeben. Durch vorheriges Sieben wurde die gewünschte Zuckerkörnungsgröße eingestellt. Die Polymerlösung wurde zum Zucker hinzugefügt und die Zucker-Polymerlösungsmischung wird in einem -15°C NaCl-Eisbad geliert. Den Zeitpunkt des vollständigen Gelierens erkennt man an der Bildung einer weißen Polymerschicht oberhalb des Zuckers. Dies ist meistens nach 15-30 min der Fall. Bei Polymeren mit zu niedrigem Molekulargewicht wird teilweise keine Polymerschicht gebildet, und dies ist ein Zeichen dafür, dass der Scaffold nicht stabil ist. Die Zentrifugenröhrchen wurden in 50 ml Falcons gegeben, welche genau an die Gefriertrocknungsanschlüsse passen. Das Gel wurde über Nacht (mindestens 16 h) an der Gefriertrocknung getrocknet und so das Dioxan entfernt. Wenn die Mischung zu kurz getrocknet wurde, zerfiel der Scaffold. Da die verfügbaren Gefriertrocknung nur über 8 Anschlüsse verfügt, konnten mit dieser Methode nur 8 Scaffolds pro Tag hergestellt werden.

Um den Zucker zu entfernen und somit die Poren zu erzeugen wird der Vorscaffold eine Woche in destilliertem Wasser extrahiert. Dabei wird das Wasser mehrmals täglich gewechselt. Am ersten Tag wurde das Wasser über einen Zeitraum von circa 3h jede halbe Stunde gewechselt, anschließend pro Tag dreimal.

Der fertig extrahierte Scaffold wurde an der Gefriertrocknung getrocknet und dann in sterilen Falcons aufbewahrt.

8.2.3.7 Sterile Herstellung der Scaffolds

Bei ersten Zelltests wurde teilweise Kontamination der Scaffolds mit Bakterien festgestellt. Aus diesem Grund wurden nachfolgende Scaffolds steril hergestellt. Dafür wurden alle benutzten Glasgeräte und sonstige Gefäße autoklaviert oder sterile Gefäße verwendet. Es wurde steriles Wasser von B. Braun Melsungen oder autoklaviertes MilliQ-Wasser genutzt. Der Zucker war cell-culture-tested Sugar von Sigma-Aldrich. Die Scaffolds wurden unter der Sterilbank hergestellt. Der Zucker wurde unter der Sterilbank mit autoklavierten Sieben gesiebt und in autoklavierten Schottflaschen gelagert.

Das Polymer wurde in autoklavierten 25-100 ml Einhalskolben abgewogen und mit Dioxan gelöst. Das Dioxan wurde mittels einer Eppendorfpipette einer nur für diese Verwendung verwendeten Flasche entnommen, um Kontamination des Dioxans auszuschließen. Alle weiteren Schritte mit Ausnahme der Lyophilisation wurden unter der Sterilbank durchgeführt. Die Polymer-Dioxan-Lösung wurde zu einem 32-fachen Überschuss an zellkulturgeeigneten Zucker gegeben. Es wurden verschiedene Scaffoldformen hergestellt:

- kleine, längliche in einem sterilem Eppendorftube (1 ml Volumen)
- kleine, halbrunde in sterilen Zellkulturröhrchen (1 ml Volumen)

- größere, halbrunde in autoklavierten Zentrifugenröhren mit Rundboden (2 ml Volumen, Carl-Roth (K945.1))

Die Polymer-Zucker-Mischung wurde in einem -15°C NaCl/Eisbad geliert. Die Deckel der Eppendorftubes und Zellkulturröhrchen wurden geschlossen und mit einer spitzen Nadel eingestochen. Auf diese Weise wurde die Trocknung ermöglicht, aber gleichzeitig die Kontamination durch Luftzufuhr minimiert. Für die Zentrifugenröhrchen gab es keinen Deckel, so dass sie durch mehrere Schichten Parafilm verschlossen werden mussten. Allerdings ergab sich dabei das Problem, dass der Parafilm an der Gefriertrocknung teilweise gerissen ist und so dennoch eine Kontamination nicht auszuschließen war.

Die Eppendorftubes, Zellkulturröhrchen und Zentrifugenröhrchen wurden in autoklavierte 2l-Einhalskolben gegeben und diese verschlossen. In einen 2l Kolben passen circa 20 kleinere Gefäße. Auf diese Weise konnte die bei der obigen Methode aufgetretene Limitierung auf 8 Scaffolds pro Tag umgangen werden. Statt 8 Scaffolds pro Tag ergab diese Methode die Möglichkeit 160 Scaffolds pro Tag herzustellen. Die gefriergetrockneten Scaffolds wurden in sterilem Wasser, welches mit 10% Kanamycin versetzt war, extrahiert. Die Extraktion wurde in autoklavierten Schottflaschen durchgeführt. Abschließend wurden die extrahierten Scaffolds in sterile Gefäße und einen sterilen 2l Kolben gegeben und wiederum an der Gefriertrocknung getrocknet. Zur Aufbewahrung wurden sie unter der Sterilbank in sterile Falcons gegeben und diese mit Parafilm verschlossen.

8.2.3.8 Degradationstest

Zur Untersuchung der Degradation wurden kleine, halbrunde Scaffolds in Zellkulturröhrchen hergestellt. Die Herstellung verlief analog zur unsterilen Herstellung nach Abschnitt 8.2.3.6. Mit 9 g NaCl auf 1l Wasser wurde eine isotonische Lösung hergestellt. Jeweils 5 Scaffolds wurden mit ausreichend Kochsalzlösung in Zellkulturröhrchen übereinander gegeben. Insgesamt wurden von jeder Polymerprobe 12 Scaffolds hergestellt. Die Zellkulturröhrchen wurden bei 280 rpm bei 37°C in einem Schüttelinkubator geschüttelt. Nach Ende der ersten Woche fiel auf, dass der Auftrieb der unteren Scaffold die darüberliegenden Scaffolds teilweise aus dem Wasser gedrückt hatten und zusätzlich ein Teil des Wassers verdunstet war. Die Scaffolds, die sich außerhalb des Wassers befanden, wurden entsorgt. In ihrem Fall wäre keine Aussage möglich gewesen, wie lange sie im Wasser waren. Von den restlichen wurden pro Woche ein bis zwei Stück in flüssigen Stickstoff überführt und im eingefrorenen Zustand in Scheiben geschnitten. Die Scheiben wurden mittels Lichtmikroskop und Rasterelektronenmikroskop (REM) untersucht. Das Wasser wurde nach jeder Probenentnahme ausgetauscht. Nach der ersten Woche wurden die Scaffolds mit 2 ml Eppendorftubes unter Wasser gedrückt.

Dabei ergab sich durch den Auftrieb der Scaffolds teilweise das Problem, dass die Scaffolds gequetscht wurden. Zusätzlich zu der visuellen Untersuchung der Scaffolds wurde die Abnahme des Molekulargewichts durch GPC-Proben überprüft.

8.2.3.9 Mechanische Tests

Zur Herstellung der Scaffolds für die mechanischen Tests wurde eine Variante der unsterilen Herstellung der Scaffolds (Abschnitt 8.2.3.6) verwendet. Eine Rundung der Scaffolds würde die Auswertung der mechanischen Daten erschweren. Aus dem Grund wurde die Rundung der Scaffolds abgeschnitten und 1,5 * 1,5 cm große Zylinderförmige Scaffolds hergestellt. Dazu wurden 2 ml der Polymerlösung mit der entsprechenden Menge Zucker in die Zellkulturröhrchen gegeben. Nach dem erstem Gefriertrocknungsprozess, also noch mit enthaltenem Zucker, wurde die Rundung abgeschnitten. Die weitere Herstellung erfolgte wie im oben erwähnten Abschnitt beschrieben. Die Scaffolds wurden zu Dr. Raimund Jäger am Fraunhofer IWM gebracht, von dessen Mitarbeitern die mechanischen Tests an einem *MTS Bionix* durchgeführt wurden. Als Problem stellte sich heraus, dass die Scaffolds kaum Wasser aufgenommen hatten. Eigentlich sollten die Tests im mit Wasser gesättigtem Zustand durchgeführt werden. Allerdings diffundierte so wenig Wasser in die Scaffolds, dass man sie nur als befeuchtet bezeichnen konnte.

8.2.4 Wachstumskammer

Die Negativ-Formen zur Herstellung der Wachstumskammern wurden von der mechanischen Werkstatt des Instituts für Makromolekulare Chemie hergestellt. Zunächst wurde eine Spritzform entwickelt. Die Polymere waren jedoch häufig zu viskos und klebrig, um aus der Spritze gedrückt zu werden.

Aus diesem Grund wurde eine Gussform entwickelt, in welcher das Polymer direkt geschmolzen und unter Druck ausgehärtet wurde. Die Gussform besteht aus Aluminium mit einem Teflonkern. Ohne Teflonkern würde das Polymer die Gussform zusammenkleben und nicht mehr ablösbar sein.

Es wurden Gussformen in zwei verschiedenen Größen angefertigt ($V = 2\text{ml}$ und $V = 20\text{ml}$). Um eine kleine Wachstumskammer herzustellen, wurden für den Deckel 2 g Polymer abgewogen, dieses in den unteren Teil der Form gegeben und bei 120°C im Trockenschrank geschmolzen. Für den Boden der kleinen Wachstumskammer wird analog vorgegangen und es wurden ebenfalls circa 2 g Polymer eingesetzt. Bei Polymeren mit besonders hohem Molekulargewicht wurde eine höhere Temperatur benötigt, bis 140°C . Damit die Gussformteile sich nicht ungleichmäßig ausdehnen, wurde der obere Teil der Wachstumskammerform ebenfalls in den Ofen gelegt. Sobald das Polymer vollständig geschmolzen ist, wurde die Form aus dem Ofen genommen und zusammengesetzt.

Mittels eines Gewichtes wurde das Polymer in der Form über Nacht und unter Druck, aushärten gelassen. Mithilfe von Schrauben wurden die zusammengesetzten, erkalteten Formteile auseinander gedrückt. Um die entstandene Polymerform unbeschadet aus der Wachstumskammerform zu lösen, wurde etwas flüssiger Stickstoff auf des Polymer gegeben. Durch die Stickstoffabkühlung zog sich das Polymer zusammen und konnte ohne größeren Aufwand aus der Form genommen werden.

Für die Herstellung einer großen Wachstumskammer wurden für den Boden 20 g und für den Deckel 25 g eingewogen.

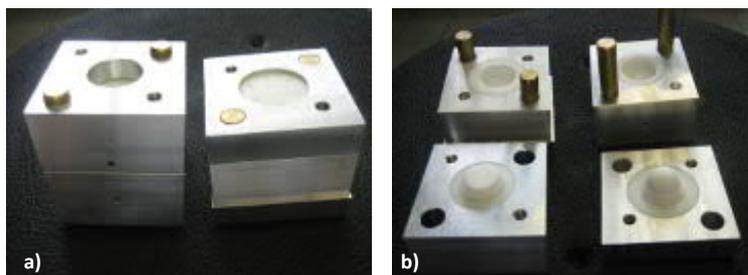


Abbildung 84: Wachstumskammergeussform für die kleine Wachstumskammer hergestellt von der mechanischen Werkstatt des Makromolekularen Instituts. a) Ansicht der zusammengesetzten Form. b) Innenaufbau der Wachstumskammerform.

8.2.4.1 Mechanische Untersuchung der Wachstumskammer

Die Wachstumskammern wurden ebenfalls zu Dr. Raimund Jäger am Fraunhofer IWM gebracht. Sein Mitarbeiter Daniel Ebel führte an einem MTS Bionix durch. Die Wachstumskammern wurden vor dem Messen eine Woche mit Wasser gesättigt. Anschließend wurden am MTS Bionix Belastungsmessungen durchgeführt. Dabei wurden die Wachstumskammern bis zur Zerstörung mit zunehmender Kraft belastet.

Veröffentlichungen

Poster

C. Hege, S. Schiller (2013, 24. April), Reconstruction of soft tissue with biodegradable polymers, Poster bei der EUROBioMat, Deutsche Gesellschaft für Materialkunde (DGM), Weimar

C. Hege, S. Schiller (2013, 28. Mai), Porous 3D-Biopolymers for generation of vascularized tissues, Poster bei „First International Symposium on Vascular Tissue Engineering“, Boerhaave CME, Leiden, Niederlande

C. Hege, S. Schiller (2013, 26-28. September), Herstellung einer vielseitig verwendbaren Polymerplattform durch neue nichttoxische Katalysatoren, Poster bei der DGBM, Gesellschaft für Biomaterialien, Erlangen, *BioNanomat*, 2013, **14**, 215.

C. Hege, S. Proksch, D. Siegel-Axel, S. Schiller (2014, 10-13. Juni), Biodegradable polymers for tissue engineering made with non-toxic catalysts, Poster bei TERMIS EU 2014/Chapter Meeting, TERMIS, Genua, Italien, *J Tissue Eng Regen Med*, 2014; **8 (Suppl. 1)**, 444

C. Hege, S. Proksch, V. Le Houerou, J. Dolderer, R. Jäger, D. Siegel-Axel, S. Schiller (2014, 6.-8. November), Herstellung einer vielseitig verwendbaren Polymerplattform durch neue nichttoxische Katalysatoren, Poster bei der DGBM, Gesellschaft für Biomaterialien, Dresden, *BioNanomat*, 2014, **15**, 193.

C. Hege, S. Schiller (2015, 24/25. Juni), Alternative catalysts for energy efficient catalyzation of Ring-Opening polymerization, Poster bei „15th EPF Congress“, EPF, International Congress Centre Dresden (ICCD), Dresden

Postertalks

C. Hege, S. Schiller (2012, 2. November), Herstellung von 3D-Polymerarchitekturen mittels nicht-toxischer Katalysatoren für Tissue Engineering, Poster & Vortrag bei der DGBM, Gesellschaft für Biomaterialien, Handwerkskammer Hamburg, Hamburg

C. Hege, Susanne Proksch, Raimund Jäger, Stefan Schiller (2015, 12. November), 3D porous scaffolds for tissue engineering: morphology and influence of pore sizes, Poster & Vortrag bei der DGBM, Gesellschaft für Biomaterialien, Konzerthaus Freiburg, Freiburg

Vorträge

C. Hege, S. Proksch, V. Le Houerou, J. Dolderer, D. Siegel-Axel, R. Jäger, S. Schiller (2014, 11. Oktober), Porous 3D-Scaffolds for tissue engineering made of biodegradable polymers, Vortrag bei „18. Chirurgische Forschungstage“, Deutsche Gesellschaft für Chirurgie, Medizinische Hochschule Hannover, Zahnklinik, Hannover

C. Hege, S. Dengler, B. Eberle, (2015, 25.Juni), Hybrids of nanoparticles with porphins or dyes for optical limiting, Vortrag bei “15th EPF Congress”, EPF, International Congress Centre Dresden (ICCD), Dresden

Artikel und Reviews

C. S. Hege, S. M. Schiller, Non-toxic catalysts for ring-opening polymerizations of biodegradable polymers at room temperature for biohybrid materials, *Green Chemistry*, 2014, **16**, 1410-1416

S. Dengler, C. Hege, B. Eberle, Preparation and characterization of novel nanosized hybrid materials and their nonlinear optical properties, *Proc. of SPIE*, 2014, **9253**, 925317-1 - 925317-7

C. S. Hege, S. M. Schiller, New Bioinspired Materials for Regenerative Medicine, *Current Molecular Biology Reports*, 2015, **1**, 77-86

Patente

S. Dengler, C. Hege, B. Eberle, O. Muller, Verfahren zur Begrenzung einer optischen Leistung, Leistungsbegrenzer und damit ausgestattetes Gerät, Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2015/057506

Literatur

- [1] Emily J. North and Rolf U. Halden. Plastics and environmental health: the road ahead. *Reviews on Environmental Health*, 28(1):1–8, 2013.
- [2] R. C. Thompson, C. J. Moore, F. S. vom Saal, and S. H. Swan. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526):2153–2166, 2009.
- [3] Michel Vert. Aliphatic polyesters: Great degradable polymers that cannot do everything. *Biomacromolecules*, 6(2):538–546, 2005.
- [4] PlasticsEurope - Association of Plastic Manufacturers. Plastics - the Facts 2014/2015 An analysis of European plastics production, demand and waste data. Technical report, PlasticEurope Association of Plastic Manufacturers und epro (European Association of Plastics Recycling & Recovery Association), 2015.
- [5] Subrahmaniyan Kasirajan and Mathieu Ngouajio. Polyethylene and biodegradable mulches for agricultural applications: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(2):501–529, 2012.
- [6] Tadahisa Iwata. Biodegradable and Bio-Based Polymers: Future Prospects of Eco-Friendly Plastics. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(150):3210–3215, 2015.
- [7] David K. A. Barnes, Francois Galgani, Richard C. Thompson, and Morton Barlaz. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 364(1526):1985–1998, 2009.
- [8] Murray R Gregory. Environmental implications of plastic debris in marine settings—entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 364(1526):2013–2025, 2009.
- [9] W. Amass, A. Amass, and B. Tighe. A review of biodegradable polymers: Uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polymer International*, 47(2):89–144, 1998.
- [10] Emo Chiellini and Roberto Solaro. Biodegradable polymeric materials. *Adv. Mater. (Weinheim, Ger.) FIELD Full Journal Title:Advanced Materials (Weinheim, Germany)*, 8(4):305–313, 1996.
- [11] Isabelle Vroman and Lan Tighzert. Biodegradable polymers. *Materials*, 2(2):307–344, 2009.

- [12] Ann-Christine Albertsson and Sigbritt Karlsson. Degradable Polymers for the Future. *Polymers from Renewable Resource and their Degradation*, 123:114–123, 1994.
- [13] A. G. Andreopoulos and T. Theophanides. Degradable Plastics: A Smart Approach to Various Applications. *Journal of Elastomers and Plastics*, 26(4):308–326, 1994.
- [14] Achim Göpferich. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials*, 17(2):103–14, jan 1996.
- [15] R Chandra and Renu Rustgi. Biodegradable Polymers. *Progress in Polymer Science*, 23(97):1273–1335, 1998.
- [16] Sindhu Doppalapudi, Anjali Jain, Wahid Khan, and Abraham J. Domb. Biodegradable polymers-an overview. *Polymers for Advanced Technologies*, 25(5):427–435, 2014.
- [17] Yoshito Ikada and Hideto Tsuji. Biodegradable polyesters for medical and ecological applications. *Macromolecular Rapid Communications*, 21(3):117–132, feb 2000.
- [18] Philippa J. Hocking. The Classification, Preparation, and Utility of Degradable Polymers. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 32(January 2011):35–54, 1992.
- [19] R. E. Drumright, P. R. Gruber, and David E. Henton. Polylactic Acid Technology. *Advanced Materials*, 12(23):1841–1846, dec 2000.
- [20] Gerald Scott. ‘Green’ polymers. *Polymer Degradation and Stability*, 68(1):1–7, 2000.
- [21] M. Keck, L. P. Kamolz, and M. Frey. Tissue engineering generation of adipose tissue: An overview of current standards and possibilities. *European Surgery - Acta Chirurgica Austriaca*, 42(4):164–170, 2010.
- [22] Robert Langer and Joseph P Vacanti. Tissue Engineering. *Science*, 260:920–926, 1993.
- [23] Linda G. Griffith and Gail Naughton. Tissue engineering—current challenges and expanding opportunities. *Science (New York, N.Y.)*, 295(5557):1009–1014, 2002.
- [24] Dietmar W. Hutmacher. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21(24):2529–43, dec 2000.
- [25] Thomas Weigel, Gregor Schinkel, and Andreas Lendlein. Design and preparation of polymeric scaffolds for tissue engineering. *Expert review of medical devices*, 3(6):835–51, nov 2006.

- [26] Shoufeng Yang, Kah-Fai Leong, Zhaohui Du, and Chee-Kai Chua. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue engineering*, 7(6):679–689, 2001.
- [27] Shoufeng Yang, Kah-Fai Leong, Zhaohui Du, and Chee-Kai Chua. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques. *Tissue engineering*, 8(1):1–11, 2002.
- [28] Tingli Lu, Yuhui Li, and Tao Chen. Techniques for fabrication and construction of three-dimensional scaffolds for tissue engineering. *International journal of nanomedicine*, 8:337–50, jan 2013.
- [29] M. Vert, S. M. Li, G. Spenlehauer, and P. Guerin. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 3:432–446, 1992.
- [30] David F Williams. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29(20):2941–53, jul 2008.
- [31] Michel Vert. Degradable and bioresorbable polymers in surgery and in pharmacology: Beliefs and facts. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(2):437–446, 2009.
- [32] Sigbritt Karlsson and Ann-christine Albertsson. Biodegradable polymers and environmental interaction. *Polymer Engineering & Science*, 38(8):1251–1253, 1998.
- [33] Charlotte K Williams. Synthesis of functionalized biodegradable polyesters. *Chemical Society reviews*, 36(10):1573–1580, 2007.
- [34] Vasile C Lipsa R., Tudoraschi N. Poly-hydroxyacids in Biomedical Applications Synthesis and Properties of Lactic Acid Polymers. *e-Polymers*, 87(087):1–42, 2010.
- [35] Maria Ann Woodruff and Dietmar Werner Hutmacher. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*, 35(10):1217–1256, oct 2010.
- [36] Marianne Labet and Wim Thielemans. Synthesis of polycaprolactone: a review. *Chemical Society reviews*, 38(12):3484–504, dec 2009.
- [37] Masahiko Okada. Chemical syntheses of biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 27(1):87–133, 2002.
- [38] Jinjin Zhang, Jiao Xiong, Yangyang Sun, Ning Tang, and Jincai Wu. Highly iso-selective and active catalysts of sodium and potassium monophenoxides capped by a crown ether for the ring-opening polymerization of rac-Lactide. *Macromolecules*, 47(22):7789–7796, 2014.

- [39] Yang-Yang Fang, Wei-Jie Gong, Xiu-Juan Shang, Hong-Xi Li, Jun Gao, and Jian-Ping Lang. Synthesis and structure of a ferric complex of 2,6-di(1H-pyrazol-3-yl)pyridine and its excellent performance in the redox-controlled living ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone. *Dalton Transactions*, 43(22):8282, 2014.
- [40] Christopher J Whiteoak, Blerina Gjoka, Eddy Martin, Marta Martínez Belmonte, Eduardo C. Escudero-Adán, Cristiano Zonta, Giulia Licini, and Arjan W Kleij. Reactivity control in iron(III) amino triphenolate complexes: Comparison of monomeric and dimeric complexes. *Inorganic Chemistry*, 51(20):10639–10649, 2012.
- [41] Shiro Kobayashi. Enzymatic ring-opening polymerization and polycondensation for the green synthesis of polyesters. *Polymers for Advanced Technologies*, 26(7):677–686, 2015.
- [42] Andrew P. Dove. Organic catalysis for ring-opening polymerization. *ACS Macro Letters*, 1(12):1409–1412, 2012.
- [43] K. Rezwan, Q. Z. Chen, J. J. Blaker, and A. R. Boccaccini. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(18):3413–31, jun 2006.
- [44] John C Middleton and Arthur J Tipton. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, 21(23):2335–2346, dec 2000.
- [45] K. Chujo, H. Kobayashi, J. Suzuki, S. Tokuhara, and M. Tanabe. Ring-Opening Polymerization of Glycolide. *Die Makromolekulare Chemie*, 100(2397):262–266, 1966.
- [46] Jeffrey L. Atkinson and Sergey Vyazovkin. Thermal Properties and Degradation Behavior of Linear and Branched Poly(L-lactide)s and Poly(L-lactide-co-glycolide)s. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 213(9):924–936, may 2012.
- [47] Soo-Hong Lee, Byung-Soo Kim, Soo Hyun Kim, Sung Won Choi, Sung In Jeong, Il Keun Kwon, Sun Woong Kang, Janeta Nikolovski, David J Mooney, Yang-Kyoo Han, and Young Ha Kim. Elastic biodegradable poly(glycolide-co-caprolactone) scaffold for tissue engineering. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 66(1):29–37, jul 2003.
- [48] Zhen Pan and Jiandong Ding. Poly(lactide-co-glycolide) porous scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Interface focus*, 2(3):366–77, jun 2012.
- [49] Sung In Jeong, Byung-Soo Kim, Young Moo Lee, Kyo Jin Ihn, Soo Hyun Kim, and Young Ha Kim. Morphology of elastic poly(L-lactide-co-epsilon-

- caprolactone) copolymers and in vitro and in vivo degradation behavior of their scaffolds. *Biomacromolecules*, 5(4):1303–9, 2004.
- [50] Hans R. Kricheldorf, Thomas Mang, and J. Michael Jonte. Polylactones. 1. Copolymerization of Glycolide and ϵ -Caprolactone. *Macromolecules*, 17(4):2173–2181, 1984.
- [51] AC Albertsson and IK Varma. Recent developments in ring opening polymerization of lactones for biomedical applications. *Biomacromolecules*, 4(6):1466–1486, nov 2003.
- [52] P A Gunatillake and R Adhikari. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *European cells & materials*, 5:1–16, may 2003.
- [53] Sarang Sharma, Dharendra Srivastava, Shibani Grover, and Vivek Sharma. Biomaterials in tooth tissue engineering: A review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(1):309–315, 2014.
- [54] Brendan J. O’Keefe, Marc a. Hillmyer, and William B. Tolman. Polymerization of lactide and related cyclic esters by discrete metal complexes. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (15):2215–2224, 2001.
- [55] Malcolm H. Chisholm and Zhiping Zhou. New generation polymers: the role of metal alkoxides as catalysts in the production of polyoxygenates. *Journal of Materials Chemistry*, 14(21):3081–3092, 2004.
- [56] C G Pitt, M M Gratzl, G L Kimmel, J Surles, and a Schindler. Aliphatic polyesters II. The degradation of poly (DL-lactide), poly (epsilon-caprolactone), and their copolymers in vivo. *Biomaterials*, 2(4):215–20, oct 1981.
- [57] Lakshmi S. Nair and Cato T. Laurencin. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 32(8-9):762–798, aug 2007.
- [58] Hak-joon Sung, Carson Meredith, Chad Johnson, and Zorina S Galis. The effect of scaffold degradation rate on three-dimensional cell growth and angiogenesis. *Biomaterials*, 25(26):5735–42, nov 2004.
- [59] Stuart M. Thomas, Robert DiCosimo, and Vasantha Nagarajan. Biocatalysis: Applications and potentials for the chemical industry. *Trends in Biotechnology*, 20(6):238–242, 2002.
- [60] Brahatheeswaran Dhandayuthapani, Yasuhiko Yoshida, Toru Maekawa, and D. Sakthi Kumar. Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. *International Journal of Polymer Science*, 2011(ii):1–19, 2011.
- [61] Hongfan Sun, Lin Mei, Cunxian Song, Xiumin Cui, and Pengyan Wang.

- The in vivo degradation, absorption and excretion of PCL-based implant. *Biomaterials*, 27(9):1735–40, mar 2006.
- [62] D. Goldberg. A review of the biodegradability and utility of poly(caprolactone). *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 3(2):61–67, 1995.
- [63] Minna Hakkarainen, Anders Höglund, Karin Odelius, and Ann-Christine Albertsson. Tuning the release rate of acidic degradation products through macromolecular design of caprolactone-based copolymers. *Journal of the American Chemical Society*, 129(19):6308–12, 2007.
- [64] C. G. Pitt, F. I. Chasalow, Y. M. Hibionada, D. M. Klimas, and A. Schindler. Aliphatic polyesters. I. The degradation of poly(caprolactone) in vivo. *Journal of Applied Polymer Science*, 26(11):3779–3787, nov 1981.
- [65] Hartwig Höcker and Helmut Keul. Ring-Opening Polymerization and Ring-Closing Depolymerization. *Advanced Materials*, 6:21–36, 1994.
- [66] K N Houk, Arash Jabbari, H K Hall, and Carlos Aleman. Why δ -valerolactone polymerizes and γ -butyrolactone does not. *The Journal of organic chemistry*, 73(7):2674–8, 2008.
- [67] Andrzej Duda, Adam Kowalski, Stanislaw Penczek, Hiroshi Uyama, and Shiro Kobayashi. Kinetics of the ring-opening polymerization of 6-, 7-, 9-, 12-, 13-, 16-, and 17-membered lactones. Comparison of chemical and enzymatic polymerizations. *Macromolecules*, 35(11):4266–4270, 2002.
- [68] Oskar Nuyken and Stephen Pask. Ring-Opening Polymerization—An Introductory Review. *Polymers*, 5(2):361–403, apr 2013.
- [69] W Saiyasombat, R Molloy, T.M Nicholson, a.F Johnson, I.M Ward, and S Poshyachinda. Ring strain and polymerizability of cyclic esters. *Polymer*, 39(23):5581–5585, 1998.
- [70] Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, and Peter Wrothers. Conformational analysis: ring strain. In *Organic Chemistry*, pages 454–457. Oxford University Press, 2001.
- [71] Andrzej Duda and Adam Kowalski. Thermodynamics and Kinetics of Ring-Opening Polymerization. In *Handbook of Ring-Opening Polymerization*, pages 1–51. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009.
- [72] Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, and Peter Wrothers. Nucleophilic addition to the carbonyl group. In *Organic chemistry*, page 145. Oxford University Press, 1 edition, 2001.
- [73] Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, and Peter Wrothers. Con-

- formational analysis: rings containing sp²-hybridized carbon atoms. In *Organic Chemistry*, pages 471–472. Oxford University Press, 2001.
- [74] Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, and Peter Wrothers. Saturated heterocycles and stereoelectronic. In *Organic Chemistry*, page 1134. Oxford University Press, 2001.
- [75] Satu Strandman, Julien E. Gautrot, and X. X. Zhu. Recent advances in entropy-driven ring-opening polymerizations. *Polym. Chem.*, 2(4):791–799, 2011.
- [76] Andrzej Duda and Adam Kowalski. Thermodynamics of Ring-Opening Polymerization. In Philippe Dubois, Olivier Coulembier, and Jean-Maire Raquez, editors, *Handbook of Ring-Opening Polymerization*, chapter 1, page 5. WILEY-VCH Verlag GmbH, 1 edition, 2009.
- [77] Shiro Kobayashi. Lipase-catalyzed polyester synthesis – A green polymer chemistry. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 86(4):338–365, 2010.
- [78] Shuichi Matsumura. Enzymatic Synthesis of Polyesters via Ring-Opening Polymerization. *Adv. Polym Sci Polym Sci*, 194:95–132, 2006.
- [79] S Namekawa, S Suda, H Uyama, and S Kobayashi. Lipase-catalyzed ring-opening polymerization of lactones to polyesters and its mechanistic aspects. *International journal of biological macromolecules*, 25(1-3):145–51, 1999.
- [80] Abdessamad Arbaoui and Carl Redshaw. Metal catalysts for ϵ - caprolactone polymerisation. *Polymer Chemistry*, 1(6):801, 2010.
- [81] Jan M Becker, Ryan J Pounder, and Andrew P Dove. Synthesis of Poly(lactide)s with Modified Thermal and Mechanical Properties. *Macromolecular rapid communications*, 31(22):1923–37, nov 2010.
- [82] Charlotte K Williams. Synthesis of functionalized biodegradable polyesters. *Chemical Society reviews*, 36(10):1573–1580, oct 2007.
- [83] Zhiyuan Zhong, Marc J K Ankoné, Pieter J Dijkstra, Christin Birg, Matthias Westerhausen, and Jan Feijen. Calcium methoxide initiated ring-opening polymerization of epsilon -caprolactone and L-lactide. *Polymer Bulletin*, 57:51–57, 2001.
- [84] Christine Jérôme and Philippe Lecomte. Recent advances in the synthesis of aliphatic polyesters by ring-opening polymerization. *Advanced drug delivery reviews*, 60(9):1056–76, jun 2008.
- [85] Odile Dechy-Cabaret, Blanca Martin-Vaca, and Didier Bourissou. Control-

- led ring-opening polymerization of lactide and glycolide. *Chemical Reviews*, 104(12):6147–6176, 2004.
- [86] Takeshi Endo. General Mechanism in Ring-Opening Polymerization. In Philippe Dubois, Olivier Coulembier, and Jean-Marie Raquez, editors, *Handbook of Ring-Opening Polymerization*, pages 56–57. WILEY-VCH Verlag GmbH, 2009.
- [87] Yann Sarazin and Jean-François Carpentier. Discrete Cationic Complexes for Ring-Opening Polymerization Catalysis of Cyclic Esters and Epoxides. *Chemical Reviews*, 115(9):3564–3614, 2015.
- [88] William J Bailey, Zhende Ni, and Shang-Ren Wu. Synthesis of Polycaprolactone via a Free Radical Mechanism. Free Radical Ring-Opening Polymerization of 2-Methylene-1,3-Dioxepane. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 20(1982):3021–3030, 1982.
- [89] Guillaume G Hedir, Craig a. Bell, Rachel K. O’Reilly, and Andrew P. Dove. Functional Degradable Polymers by Radical Ring-Opening Copolymerization of MDO and Vinyl Bromobutanoate: Synthesis, Degradability and Post-Polymerization Modification. *Biomacromolecules*, 16(7):2049–2058, jul 2015.
- [90] Isabell S. R. Karmel, Maxim Khononov, Matthias Tamm, and Moris S. Eisen. Uranium-mediated ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone: a comparative study. *Catal. Sci. Technol.*, 5(12):5110–5119, 2015.
- [91] Seema Agarwal. Chemistry, chances and limitations of the radical ring-opening polymerization of cyclic ketene acetals for the synthesis of degradable polyesters. *Polymer Chemistry*, 1(7):953, 2010.
- [92] Lei Li, Bo Liu, Dongtao Liu, Chunji Wu, Shihui Li, Bo Liu, and Dongmei Cui. Copolymerization of Caprolactone and L-Lactide Catalyzed by Multinuclear Aluminum Complexes: An Immortal Approach. *Organometallics*, 33(22):6474–6480, nov 2014.
- [93] Clare Bakewell, Andrew J P White, Nicholas J Long, and Charlotte K Williams. 8 - Quinolinolato Gallium Complexes: Iso-selective Initiators for rac - Lactide Polymerization. *Inorg. Chem.*, 52:12561–12567, 2013.
- [94] Abderramane Amgoune, Christophe M. Thomas, and Jean François Carpentier. Yttrium complexes as catalysts for living and immortal polymerization of lactide to highly heterotactic PLA. *Macromolecular Rapid Communications*, 28(6):693–697, 2007.
- [95] Sophie M. Guillaume and Jean-François Carpentier. Recent advances in metallo/organo-catalyzed immortal ring-opening polymerization of cyclic carbonates. *Catalysis Science & Technology*, 2(5):898, 2012.

- [96] Indra K. Varma, Ann-Christine Albertsson, Ritimoni Rajkhowa, and Rajiv K. Srivastava. Enzyme catalyzed synthesis of polyesters. *Progress in Polymer Science*, 30(10):949–981, oct 2005.
- [97] S. W. Duchiron, E. Pollet, S. Givry, and L. Avérous. Mixed systems to assist enzymatic ring opening polymerization of lactide stereoisomers. *RSC Adv.*, 5(103):84627–84635, 2015.
- [98] Deivasagayam Dakshinamoorthy and Frédéric Peruch. Titanium complexes based on aminodiol ligands for the ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone, rac- β -butyrolactone, and trimethylene carbonate. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 49(24):5176–5185, dec 2011.
- [99] Mon-wei Hsiao, Guan-shan Wu, Bor-hunn Huang, and Chu-chieh Lin. Synthesis and characterization of calcium complexes: Efficient catalyst for ring-opening polymerization of L-lactide. *Inorganic Chemistry Communications*, 36:90–95, oct 2013.
- [100] Hans R Kricheldorf. Syntheses of biodegradable and biocompatible polymers by means of bismuth catalysts. *Chemical reviews*, 109(11):5579–94, nov 2009.
- [101] Bijja Rajashekhar and Debashis Chakraborty. Co (II) and Mn (II) catalyzed bulk ring-opening polymerization of cyclic esters. *Polymer Bulletin*, 71(9):2185–2203, 2014.
- [102] Yen Jen Chen, Hsin Jou Fang, Sodio C N Hsu, Nai Yuan Jheng, Hui Chen Chang, Siou Wei Ou, Wei Te Peng, Yi Chun Lai, Jia Yun Chen, Pao Lin Chen, Chien Han Kao, Zhi Xian Zeng, Jyun Lin Chen, and Hsuan Ying Chen. Improving the ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone and l-lactide using stannous octanoate. *Polymer Bulletin*, 70(3):993–1001, 2013.
- [103] Andrew P. Dove. Controlled ring-opening polymerisation of cyclic esters: polymer blocks in self-assembled nanostructures. *Chemical Communications*, (48):6446, 2008.
- [104] Jincai Wu, Te Liang Yu, Chi Tien Chen, and Chu Chieh Lin. Recent developments in main group metal complexes catalyzed/initiated polymerization of lactides and related cyclic esters. *Coordination Chemistry Reviews*, 250(5-6):602–626, 2006.
- [105] M. Möller, R. Kange, and J L Hedrick. Sn(OTf)₂ and Sc(OTf)₃: Efficient and versatile catalysts for the controlled polymerization of lactones. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 38(11):2067–2074, jun 2000.
- [106] Kajsa Stridsberg and Ann-christine Albertsson. Ring-opening polymerization of 1,5-dioxepan-2-one initiated by a cyclic tin-alkoxide initiator in

- different solvents. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 37(16):3407–3417, aug 1999.
- [107] Donald J. Darensbourg, Poulomi Ganguly, and Damon Billodeaux. Ring-opening polymerization of trimethylene carbonate using aluminum(III) and tin(IV) salen chloride catalysts. *Macromolecules*, 38(13):5406–5410, 2005.
- [108] Javaid H Khan, Francois Schue, and Graeme a George. Heterogeneous ring-opening polymerization of lactones for biomedical applications. *Polymer International*, 58(3):296–301, mar 2009.
- [109] G Schwach, R Engel, J Coudane, and M Vert. Zn lactate as initiator of DL-Lactid ring opening polymerization and comparision with Sn octanoate. *Polymer bulletin*, 776:771–776, 1996.
- [110] Adam Kowalski, Andrzej Duda, and Stanislaw Penczek. Kinetics and Mechanism of Cyclic Esters Polymerization Initiated with Tin(II) Octoate. 3.† Polymerization of L,L-Dilactide. *Macromolecules*, 33(Ii):7359–7370, 2000.
- [111] A. Stjerndahl, A. Finne-Wistrand, A. C. Albertsson, C. M. Bäckesjö, and U. Lindgren. Minimization of residual tin in the controlled Sn(II)octoate-catalyzed polymerization of ϵ -caprolactone. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 87(4):1086–1091, 2008.
- [112] MC C. Tanzi, P Verderio, M. G. Lampugnani, M. Resnati, E. Dejana, and E. Sturani. Cytotoxicity of some catalysts commonly used in the synthesis of copolymers for biomedical use. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 5:393–396, 1994.
- [113] Giuliana Gorrasi, Daniela Pappalardo, and Claudio Pellecchia. Polymerization of ϵ -caprolactone by sodium hydride: From the synthesis of the polymer samples to their thermal, mechanical and barrier properties. *Reactive and Functional Polymers*, 72(10):752–756, oct 2012.
- [114] Anna Stjerndahl, Anna Finne Wistrand, and Ann Christine Albertsson. Industrial utilization of tin-initiated resorbable polymers: Synthesis on a large scale with a low amount of initiator residue. *Biomacromolecules*, 8(3):937–940, 2007.
- [115] Sirpa Vuorinen, Mohammed Lahcini, Timo Hatanpää, Markku Sundberg, Markku Leskelä, and Timo Repo. Bismuth(III) alkoxide catalysts for ring-opening polymerization of lactides and ϵ -caprolactone. *Macromol. Chem. Phys.*, 214:707–715, 2013.
- [116] G. Schwach, J. Coudane, R. Engel, and M. Vert. More about the polymerization of lactides in the presence of stannous octoate. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 35(16):3431–3440, 1997.

- [117] Hong Li, Jun Wu, Sylvain Brunel, Christiane Monnet, Roselyne Baudry, and Pierre Le Perchec. Polymerization of Lactides and Lactones by Metal-Free Initiators. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 44(23):8641–8643, nov 2005.
- [118] Ann-Christine Albertsson and Rajiv K Srivastava. Recent developments in enzyme-catalyzed ring-opening polymerization. *Advanced drug delivery reviews*, 60(9):1077–93, jun 2008.
- [119] Rajiv K. Srivastava and Ann Christine Albertsson. High-molecular-weight poly(1,5-dioxepan-2-one) via enzyme-catalyzed ring-opening polymerization. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 43(18):4206–4216, 2005.
- [120] Bahar Yeniad, Hemantkumar Naik, and Andreas Heise. Lipases in polymer chemistry. *Adv Biochem Engin/Biotechnol*, 125:69–95, 2011.
- [121] Alexander Klibanov. Why are enzymes less active in organic solvents than in water? *Trends in Biotechnology*, 15(3):97–101, 1997.
- [122] Alexander M Klibanov. Improving enzymes by using them in organic solvents. *Nature*, 409(January):241–246, 2001.
- [123] Ying Mei, Ajay Kumar, and Richard Gross. Kinetics and Mechanism of *Candida antarctica* Lipase B Catalyzed Solution Polymerization of ϵ -Caprolactone. *Macromolecules*, pages 5530–5536, 2003.
- [124] Huan Dong, Shu-gui Cao, Zheng-qiang Li, Si-ping Han, De-lin You, and Jia-cong Shen. Study on the Enzymatic Polymerization Mechanism of Lactone and the Strategy for Improving the Degree of Polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 37:1265–1275, 1998.
- [125] Shiro Kobayashi and Akira Makino. Enzymatic polymer synthesis: an opportunity for green polymer chemistry. *Chemical reviews*, 109(11):5288–353, nov 2009.
- [126] Saskia Huijser, Bastiaan B P Staal, Juan Huang, Robbert Duchateau, and Cor E Koning. Topology characterization by MALDI-ToF-MS of enzymatically synthesized poly(lactide-co-glycolide). *Biomacromolecules*, 7(9):2465–9, sep 2006.
- [127] Marc Hans, Helmut Keul, and Martin Moeller. Ring-opening polymerization of DD-lactide catalyzed by novozyme 435. *Macromolecular Bioscience*, 9(3):239–247, 2009.
- [128] Rajiv K. Srivastava and Ann-Christine Albertsson. Enzyme-Catalyzed Ring-Opening Polymerization of Seven-Membered Ring Lactones Lea-

- ding to Terminal-Functionalized and Triblock Polyesters. *Macromolecules*, 39(1):46–54, jan 2006.
- [129] a Kumar and R a Gross. Candida antarctica lipase B catalyzed polycaprolactone synthesis: effects of organic media and temperature. *Biomacromolecules*, 1(1):133–8, jan 2000.
- [130] Vernon C. Gibson, Edward L. Marshall, Diana Navarro-Llobet, Andrew J. P. White, and David J. Williams. A well-defined iron(II) alkoxide initiator for the controlled polymerisation of lactide. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (23):4321–4322, nov 2002.
- [131] Brendan J O’Keefe, Laurie E Breyfogle, Marc a Hillmyer, William B Tolman, and Brendan J O Keefe. Mechanistic comparison of cyclic ester polymerizations by novel iron(III)-alkoxide complexes: single vs multiple site catalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 124(16):4384–93, apr 2002.
- [132] Brendan J. O’Keefe, Susanne M Monnier, Marc A Hillmyer, and William B Tolman. Rapid and Controlled Polymerization of Lactide by Structurally Characterized Ferric Alkoxides. *Journal of the American Chemical Society*, 123(2):339–340, jan 2001.
- [133] David S. McGuinness, Edward L. Marshall, Vernon C. Gibson, and Jonathan W. Steed. Anionic iron(II) alkoxides as initiators for the controlled ring-opening polymerization of lactide. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 41(23):3798–3803, 2003.
- [134] YongSheng Wang, HongMei Sun, XuePing Tao, Qi Shen, and Yong Zhang. Enolate chelating N-heterocyclic carbene complexes of Fe(II): Synthesis, structure and their catalytic activity for ring-opening polymerization of caprolactone. *Chinese Science Bulletin*, 52(23):3193–3199, 2007.
- [135] Mu Z. Chen, Hong M. Sun, Wan F. Li, Zhing G. Wang, Qi Shen, and Yong Zhang. Synthesis, structure of functionalized N-heterocyclic carbene complexes of Fe(II) and their catalytic activity for ring-opening polymerization of caprolactone. *Journal of Organometallic Chemistry*, 691:2489–2494, 2006.
- [136] Jacob A Przyojski, Hadi D Arman, and Zachary J Tonzetich. Complexes of iron(II) and iron(III) containing aryl-substituted n-heterocyclic carbene ligands. *Organometallics*, 31(8):3264–3271, 2012.
- [137] B.B. Idage, S.B. Idage, a.S. Kasegaonkar, and R.V. Jadhav. Ring opening polymerization of dilactide using salen complex as catalyst. *Materials Science and Engineering: B*, 168(1-3):193–198, apr 2010.

- [138] Anders Sodergard and Mikael Stolt. Ring-Opening Polymerization of L-lactide by Means of Different Iron Compounds. *Macromolecular Symposia*, 130:393–402, 1998.
- [139] Anders Sodergard and Mikael Stolt. 6096855_Process_for_the_preparation_of_polyhydroxy_acids.pdf, 1997.
- [140] Ravikumar R. Gowda and Debashis Chakraborty. Environmentally benign process for bulk ring opening polymerization of lactones using iron and ruthenium chloride catalysts. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 301(1-2):84–92, mar 2009.
- [141] Ashley B. Biernesser, Bo Li, and Jeffery a. Byers. Redox-Controlled Polymerization of Lactide Catalyzed by Bis(imino)pyridine Iron Bis(alkoxide) Complexes. *Journal of the American Chemical Society*, 135(44):16553–16560, nov 2013.
- [142] Hans R Kricheldorf and Dirk-Olaf Damrau. Polymerization of L-lactide with Fe (II) lactate and other resorbable Fe (II) salts. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 198:1767–1774, 1997.
- [143] Piotr Dobrzynski, Janusz Kasperczyk, Henryk Janeczek, and Maciej Bero. Synthesis of biodegradable glycolide/l-lactide copolymers using iron compounds as initiators. *Polymer*, 43(9):2595–2601, apr 2002.
- [144] Mikael Stolt, Katarzyna Krasowska, Maria Rutkowska, Helena Janik, Ari Rosling, and Anders Sodergard. More on the poly(L-lactide) prepared using ferrous acetate as catalyst. *Polymer International*, 54(2):362–368, feb 2005.
- [145] Benjamin J. Ireland, Craig a. Wheaton, and Paul G. Hayes. Cationic Organomagnesium Complexes as Highly Active Initiators for the Ring-Opening Polymerization of ϵ -Caprolactone. *Organometallics*, 29(5):1079–1084, mar 2010.
- [146] Zigang Ge, Zhaoxia Jin, and Tong Cao. Manufacture of degradable polymeric scaffolds for bone regeneration. *Biomedical materials (Bristol, England)*, 3(2):022001, 2008.
- [147] Katalin Devaine-Pressing, Joshua H. Lehr, Michelle E. Pratt, Louise N. Dawe, Amy a. Sarjeant, and Christopher M. Kozak. Magnesium amino-bis(phenolato) complexes for the ring-opening polymerization of rac-lactide. *Dalton Trans.*, 2015.
- [148] Yang Wang, Wei Zhao, Xinli Liu, Dongmei Cui, and Eugene Y X Chen. Ligand-free magnesium catalyst system: Immortal polymerization of l - lactide with high catalyst efficiency and structure of active intermediates. *Macromolecules*, 45:6957–6965, 2012.

- [149] J. M. Contreras, D. Medina, Carrasquero-López, and R. R. Contreras. Ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone initiated by samarium acetate. *J. Polym. Res.*, 20:244, 2013.
- [150] Erin M. Broderick, Neng Guo, Carola S. Vogel, Cuiling Xu, Joerg Sutter, Jeffrey T. Miller, Karsten Meyer, Parisa Mehrkhodavandi, and Paula L. Diaconescu. Redox Control of a Ring-Opening Polymerization Catalyst. *Journal of the American Chemical Society*, 133(24):9278–9281, jun 2011.
- [151] Chen-Yen Tsai, Hong-Cyuan Du, Jen-Chieh Chang, Bor-Hunn Huang, Bao-Tsan Ko, and Chu-Chieh Lin. Ring-opening polymerization of cyclic esters initiated by zirconium, titanium and yttrium complexes. *RSC Advances*, 4(28):14527, 2014.
- [152] Andreas Sauer, Andreas Kapelski, Christophe Fliedel, Samuel Dagherne, Moshe Kol, and Jun Okuda. Structurally well-defined group 4 metal complexes as initiators for the ring-opening polymerization of lactide monomers. *Dalton transactions (Cambridge, England : 2003)*, 42(25):9007–23, 2013.
- [153] Mansour Haddad, Mohamed Laghzaoui, Richard Welter, and Samuel Dagherne. Synthesis and Structure of Neutral and Cationic Aluminum Complexes Supported by Bidentate O, P -Phosphenolate Ligands and Their Reactivity with Propylene Oxide and ϵ -Caprolactone. *Organometallics*, 28(15):4584–4592, 2009.
- [154] Nahrain E Kamber, Wonhee Jeong, Robert M Waymouth, Russell C Pratt, Bas G G Lohmeijer, and James L Hedrick. Organocatalytic ring-opening polymerization. *Chemical reviews*, 107(12):5813–40, dec 2007.
- [155] Catherine Zandonella. Tissue engineering: The beat goes on. *Nature*, 421(February):884–886, 2003.
- [156] R M Nerem and a Sambanis. Tissue engineering: from biology to biological substitutes. *Tissue engineering*, 1(1):3–13, 1995.
- [157] Fergal J. O’Brien. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3):88–95, mar 2011.
- [158] Yoshito Ikada. Challenges in tissue engineering. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 3(10):589–601, oct 2006.
- [159] Maria Cristina Tanzi and Silvia Farè. Adipose tissue engineering: state of the art, recent advances and innovative approaches. *Expert review of medical devices*, 6(5):533–51, sep 2009.
- [160] Mohit Prashant Chhaya, Ferry Petrus Wilhelmus Melchels, Boris Michael Holzapfel, Jeremy Grant Baldwin, and Dietmar Werner Huttmacher. Sustained regeneration of high-volume adipose tissue for breast reconstruction

- using computer aided design and biomanufacturing. *Biomaterials*, 52:551–560, 2015.
- [161] Lars Schropp, Ann Wenzel, Lambros Kostopoulos, and Thorkild Karring. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*, 23(4):313–323, 2003.
- [162] Mona K Marei, Samir R Nouh, Mohamed M Fata, and Adham M Faramawy. Fabrication of polymer root form scaffolds to be utilized for alveolar bone regeneration. *Tissue engineering*, 9(4):713–31, aug 2003.
- [163] Marco C. Bottino, Vinoy Thomas, Gudrun Schmidt, Yogesh K. Vohra, Tien Min Gabriel Chu, Michael J. Kowolik, and Gregg M. Janowski. Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration - A materials perspective. *Dental Materials*, 28(7):703–721, 2012.
- [164] Esther C Novosel, Claudia Kleinhans, and Petra J Kluger. Vascularization is the key challenge in tissue engineering. *Advanced drug delivery reviews*, 63(4-5):300–11, apr 2011.
- [165] François a Auger, Laure Gibot, and Dan Lacroix. The pivotal role of vascularization in tissue engineering. *Annual review of biomedical engineering*, 15:177–200, 2013.
- [166] LG Griffith and G Naughton. Tissue engineering—current challenges and expanding opportunities. *Science*, 295(5557):1009–1014, feb 2002.
- [167] Dietmar Werner Hutmacher, Jan Thorsten Schantz, Christopher Xu, Fu Lam, Kim Cheng Tan, and Thiam Chye Lim. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *Journal of Tissue Engineering and regenerative Medicine*, 1:245–260, 2007.
- [168] PX Ma. Scaffolds for tissue fabrication. *Materials today*, 7(5):30–40, may 2004.
- [169] Zhangsong Peng, Ziqing Dong, Qiang Chang, Weiqing Zhan, Zhaowei Zeng, Shengchang Zhang, and Feng Lu. Tissue Engineering Chamber Promotes Adipose Tissue Regeneration in Adipose Tissue Engineering Models Through Induced Aseptic Inflammation. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 20(11):875–885, 2014.
- [170] Juergen H Dolderer, Keren M Abberton, Erik W Thompson, John L Slavin, Geoffrey W Stevens, Anthony J Penington, and Wayne a Morrison. Spontaneous large volume adipose tissue generation from a vascularized pedicled fat flap inside a chamber space. *Tissue engineering*, 13(4):673–681, 2007.

- [171] Juergen H Dolderer, Erik W Thompson, John Slavin, Nicholas Trost, Justin J Cooper-White, Yang Cao, Andrea J O’connor, Anthony Penington, Wayne A. Morrison, and Keren M Abberton. Long-term stability of adipose tissue generated from a vascularized pedicled fat flap inside a chamber. *Plastic and reconstructive surgery*, 127(6):2283–92, jun 2011.
- [172] David F. Williams. To engineer is to create: The link between engineering and regeneration. *Trends in Biotechnology*, 24(1):4–8, 2006.
- [173] Moon Suk Kim, Hyun Hee Ahn, Yu Na Shin, Mi Hee Cho, Gilson Khang, and Hai Bang Lee. An in vivo study of the host tissue response to subcutaneous implantation of PLGA- and/or porcine small intestinal submucosa-based scaffolds. *Biomaterials*, 28(34):5137–43, dec 2007.
- [174] N. Davidenko, J.J. Campbell, E.S. Thian, C.J. Watson, and R.E. Cameron. Collagen–hyaluronic acid scaffolds for adipose tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 6(10):3957–3968, 2010.
- [175] D W Hutmacher. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues—state of the art and future perspectives. *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, 12(1):107–124, 2001.
- [176] M S Chapekar. Tissue engineering: challenges and opportunities. *Journal of biomedical materials research*, 53(6):617–620, 2000.
- [177] B. P. Chan and K. W. Leong. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European Spine Journal*, 17(S4):467–479, dec 2008.
- [178] Qiu Li Loh and Cleo Choong. Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 19(6):485–502, 2013.
- [179] Joan Zeltinger, Jill K Sherwood, Dionne A Graham, Ralph Müller, and Linda G Griffith. Effect of Pore size and Void Fraction on Cellular Adhesion, Proliferation, and Matrix Deposition. *Tissue engineering*, 7(5):557–572, 2001.
- [180] Vassilis Karageorgiou and David Kaplan. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 26(27):5474–91, sep 2005.
- [181] Fariba Dehghani and Nasim Annabi. Engineering porous scaffolds using gas-based techniques. *Current opinion in biotechnology*, 22(5):661–6, oct 2011.
- [182] James W S Hayami, Stephen D Waldman, and Brian G Amsden. Injectable, High Modulus, And Fatigue Resistant Composite Scaffold for Load-Bearing Soft Tissue Regeneration. *Biomacromolecules*, nov 2013.

- [183] Qiu Li Loh and Cleo Choong. Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 19(6):485–502, 2013.
- [184] Dennis Von Heimburg, Sascha Zachariah, Hendrik Kühling, Ingo Heschel, Heike Schoof, Bernd Hafemann, and Norbert Pallua. Human preadipocytes seeded on freeze-dried collagen scaffolds investigated in vitro and in vivo. *Biomaterials*, 22(5):429–438, 2001.
- [185] Y Cao, T I Croll, J G Lees, B E Tuch, and J J Cooper-White. Scaffolds, stem cells, and tissue engineering: A potent combination! *Australian Journal of Chemistry*, 58(10):691–703, 2005.
- [186] Tony G van Tienen, Ralf G.J.C Heijkants, Pieter Buma, Jacqueline H de Groot, Albert J Pennings, and Rene P.H Veth. Tissue ingrowth and degradation of two biodegradable porous polymers with different porosities and pore sizes. *Biomaterials*, 23(8):1731–1738, 2002.
- [187] Inam Ul Ahad, Andrzej Bartnik, Henryk Fiedorowicz, Jerzy Kostecki, Barbara Korczyk, Tomasz Ciach, and Dermot Brabazon. Surface modification of polymers for biocompatibility via exposure to extreme ultraviolet radiation. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 102(9):3298–310, sep 2014.
- [188] Blanka Rihova. Biocompatibility of biomaterials: Hemocompatibility, immunocompatibility and biocompatibility of solid polymeric materials and soluble targetable polymeric carriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 21(2):157–176, 1996.
- [189] C. J. Kirkpatrick, F. Bittinger, M. Wagner, H. Kohler, T. G. van Kooten, C. L. Klein, and M. Otto. Current trends in biocompatibility testing. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 212(2):75–84, feb 1998.
- [190] Robert W Hoppe and Barry D Bavister. Evaluation of the Fluorescein Diacetate (Fda) Vital Dye Viability Test with Hamster and Bovine Embryos. *Animal Reproduction Science*, 6(4):323–335, 1984.
- [191] Se Heang Oh and Jin Ho Lee. Hydrophilization of synthetic biodegradable polymer scaffolds for improved cell/tissue compatibility. *Biomedical Materials*, 8(1):014101, feb 2013.
- [192] Michèle Schappacher, Maude Le Hellaye, Reine Bareille, Marie-Christine Durrieu, and Sophie M. Guillaume. Comparative in vitro cytotoxicity toward human osteoprogenitor cells of polycaprolactones synthesized from various metallic initiators. *Macromolecular Bioscience*, 10(1):60–7, jan 2010.

- [193] K Kieswetter, Z Schwartz, D D Dean, and B D Boyan. The role of implant surface characteristics in the healing of bone. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*, 7(4):329–345, 1996.
- [194] D.-H. Kim, P. P. Provenzano, C. L. Smith, and A. Levchenko. Matrix nanotopography as a regulator of cell function. *The Journal of Cell Biology*, 197(3):351–360, 2012.
- [195] Tze-wen Chung, Der-zen Liu, and Shoei-Shen Sin-ya Wang. Enhancement of the growth of human endothelial cells by surface roughness at nanometer scale. *Biomaterials*, 24(25):4655–4661, nov 2003.
- [196] Tobias P Kunzler, Tanja Drobek, Martin Schuler, and Nicholas D Spencer. Systematic study of osteoblast and fibroblast response to roughness by means of surface-morphology gradients. *Biomaterials*, 28(13):2175–82, apr 2007.
- [197] Hideto Tsuji and Kensaku Ikarashi. In vitro hydrolysis of poly(L-lactide) crystalline residues as extended-chain crystallites. Part I: long-term hydrolysis in phosphate-buffered solution at 37 degrees C. *Biomaterials*, 25(24):5449–55, 2004.
- [198] J Fernández, A Larrañaga, A Etxeberria, W Wang, and J R Sarasua. A new generation of poly(lactide/caprolactone) polymeric biomaterials for application in the medical field. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102(10):3573–3584, oct 2014.
- [199] S.J de Jong, E.R Arias, D.T.S Rijkers, C.F van Nostrum, J.J Kettenes-van den Bosch, and W.E Hennink. New insights into the hydrolytic degradation of poly(lactic acid): participation of the alcohol terminus. *Polymer*, 42(7):2795–2802, mar 2001.
- [200] J E Bergsma, F R Rozema, R R M Bos, G Boeingr, W C De Bruijn, and A J Pennings. In tivo degradation and biocompatibility study of in vitro pre-degraded as-polymerized polylactide particles. *Biomaterials*, 16(4):267–274, 1995.
- [201] E J Bergsma, F R Rozema, R R Bos, and W C de Bruijn. Foreign body reactions to resorbable poly(L-lactide) bone plates and screws used for the fixation of unstable zygomatic fractures. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 51(6):666–670, 1993.
- [202] Colette S Ranucci and Prabhas V Moghe. Polymer substrate topography actively regulates the multicellular organization and liver-specific functions of cultured hepatocytes. *Tissue engineering*, 5(5):407–20, oct 1999.

- [203] Se Heang Oh, Il Kyu Park, Jin Man Kim, and Jin Ho Lee. In vitro and in vivo characteristics of PCL scaffolds with pore size gradient fabricated by a centrifugation method. *Biomaterials*, 28(9):1664–71, mar 2007.
- [204] M H Sheridan, L D Shea, M C Peters, and D J Mooney. Bioabsorbable polymer scaffolds for tissue engineering capable of sustained growth factor delivery. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 64(1-3):91–102, feb 2000.
- [205] Rajiv K Srivastava and Ann-Christine Albertsson. Porous scaffolds from high molecular weight polyesters synthesized via enzyme-catalyzed ring-opening polymerization. *Biomacromolecules*, 7(9):2531–8, sep 2006.
- [206] Meicong Wang, Lie Ma, Dan Li, Pengfei Jiang, and Changyou Gao. Preparation of polycaprolactone microspheres-aggregated scaffold with ultra big pores and fuzzy sphere surface by a one-step phase separation method. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 101(11):3219–27, nov 2013.
- [207] Guoping Chen, Takashi Ushida, and Tetsuya Tateishi. Preparation of poly(L-lactic acid) and poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams by use of ice microparticulates. *Biomaterials*, 22:2563–2567, 2001.
- [208] Y S Nam and T G Park. Porous biodegradable polymeric scaffolds prepared by thermally induced phase separation. *Journal of biomedical materials research*, 47(1):8–17, oct 1999.
- [209] Shuqiong Liu, Zhihang He, Guojie Xu, and Xiufeng Xiao. Fabrication of polycaprolactone nanofibrous scaffolds by facile phase separation approach. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 44:201–8, 2014.
- [210] N. Davidenko, J.J. Campbell, E.S. Thian, C.J. Watson, and R.E. Cameron. Collagen–hyaluronic acid scaffolds for adipose tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 6(10):3957–3968, 2010.
- [211] Guoping Chen, Takashi Ushida, and Tetsuya Tateishi. Development of biodegradable porous scaffolds for tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 17(1-2):63–69, nov 2001.
- [212] L D Harris, B S Kim, and D J Mooney. Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming. *Journal of biomedical materials research*, 42(3):396–402, dec 1998.
- [213] Nasim Annabi, Ali Fathi, Suzanne M Mithieux, Penny Martens, Anthony S Weiss, and Fariba Dehghani. The effect of elastin on chondrocyte adhesion and proliferation on poly (caprolactone)/elastin composites. *Biomaterials*, 32(6):1517–25, feb 2011.

- [214] Mihye Kim, Bohee Hong, Jongman Lee, Se Eun Kim, Seong Soo Kang, Young Ha Kim, and Giyoong Tae. Composite system of PLCL scaffold and heparin-based hydrogel for regeneration of partial-thickness cartilage defects. *Biomacromolecules*, 13(8):2287–98, aug 2012.
- [215] Qiu Li Loh and Cleo Choong. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size. *Tissue engineering. Part B, Reviews*, 19(6):485–502, dec 2013.
- [216] Yanfang Yang, Jin Zhao, Yunhui Zhao, Liang Wen, Xiaoyan Yuan, and Yubo Fan. Formation of porous PLGA scaffolds by a combining method of thermally induced phase separation and porogen leaching. *Journal of Applied Polymer Science*, 109:1232–1241, 2008.
- [217] Christopher J Bettinger. Biodegradable elastomers for tissue engineering and cell-biomaterial interactions. *Macromolecular bioscience*, 11(4):467–82, apr 2011.
- [218] Andreas Greiner and Joachim H. Wendorff. Elektrosponnen: eine faszinierende Methode zur Präparation ultradünner Fasern. *Angewandte Chemie*, 119:5770–5805, 2007.
- [219] Wei He, Thomas Yong, Wee Eong Teo, Zuwei Ma, and Seeram Ramakrishna. Fabrication and endothelialization of collagen-blended biodegradable polymer nanofibers: potential vascular graft for blood vessel tissue engineering. *Tissue engineering*, 11(9-10):1574–88, 2005.
- [220] L Song, D Baksh, and R S Tuan. Mesenchymal stem cell-based cartilage tissue engineering: cells, scaffold and biology. *Cytotherapy*, 6(6):596–601, 2004.
- [221] L D Wright, R T Young, T Andric, and J W Freeman. Fabrication and mechanical characterization of 3D electrospun scaffolds for tissue engineering. *Biomedical materials (Bristol, England)*, 5:055006, 2010.
- [222] Linda G Griffith. Emerging design principles in biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 961:83–95, jun 2002.
- [223] Linda G. Griffith, Ben Wu, Michael J Cima, Mark J Powers, Beverly Chaignaud, and Joseph P Vacanti. In vitro organogenesis of liver tissue. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 831(617):382–397, 1997.
- [224] Iwan Zein, Dietmar W. Hutmacher, Kim Cheng Tan, and Swee Hin Teoh. Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 23(4):1169–1185, 2002.
- [225] L Moroni, J. R. De Wijn, and C. A. Van Blitterswijk. 3D fiber-deposited

- scaffolds for tissue engineering: Influence of pores geometry and architecture on dynamic mechanical properties. *Biomaterials*, 27(7):974–985, 2006.
- [226] E Sachlos and J T Czernuszka. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *European cells & materials*, 5:29–39; discussion 39–40, jun 2003.
- [227] Victor J. Chen and Peter X. Ma. Nano-fibrous poly(l-lactic acid) scaffolds with interconnected spherical macropores. *Biomaterials*, 25(11):2065–2073, may 2004.
- [228] Antonios G. Mikos, Georgios Sarakinos, Michelle D Lyman, Donald E Ingber, Joseph P. Vacanti, and Robert Langer. Prevascularization of porous biodegradable polymers. *Biotechnology and bioengineering*, 42(6):716–23, sep 1993.
- [229] PX Ma and JW Choi. Biodegradable polymer scaffolds with well-defined interconnected spherical pore network. *Tissue engineering*, 7(1):23–33, feb 2001.
- [230] Cédryck Vaquette, Céline Frochot, Rachid Rahouadj, and Xiong Wang. An innovative method to obtain porous PLLA scaffolds with highly spherical and interconnected pores. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 86(1):9–17, jul 2008.
- [231] Deniz Ozdil and Halil Murat Aydin. Polymers for medical and tissue engineering applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(12):1793–1810, 2014.
- [232] S Cohen, M C Baño, L G Cima, H R Allcock, J P Vacanti, C a Vacanti, and R Langer. Design of synthetic polymeric structures for cell transplantation and tissue engineering. *Clinical materials*, 13(1-4):3–10, 1993.
- [233] Xiaohua Liu, Jeremy M. Holzwarth, and Peter X. Ma. Functionalized Synthetic Biodegradable Polymer Scaffolds for Tissue Engineering. *Macromolecular Bioscience*, 12(7):911–919, jul 2012.
- [234] P Robert, J Mauduit, R M Frank, and M Vert. Biocompatibility and resorbability of a polylactic acid membrane for periodontal guided tissue regeneration. *Biomaterials*, 14(5):353–8, apr 1993.
- [235] Wei Ping Ye, Fu Sheng Du, Wei Hua Jin, Ji Yuan Yang, and Yong Xu. In vitro degradation of poly(caprolactone), poly(lactide) and their block copolymers: influence of composition, temperature and morphology. *Reactive and Functional Polymers*, 32(2):161–168, 1997.

- [236] Mădălina V. Natu, Hermínio C. de Sousa, and M.H. Gil. Influence of polymer processing technique on long term degradation of poly(ϵ -caprolactone) constructs. *Polymer Degradation and Stability*, 98(1):44–51, jan 2013.
- [237] Peter Plikk, Karin Odelius, Minna Hakkarainen, and a C Albertsson. Finalizing the properties of porous scaffolds of aliphatic polyesters through radiation sterilization. *Biomaterials*, 27(31):5335–47, nov 2006.
- [238] Hiroshi Uyama and Shiro Kobayashi. Enzyme-catalyzed polymerization to functional polymers. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 19-20:117–127, dec 2002.
- [239] Marc Hans, Helmut Keul, and Martin Moeller. Ring-opening polymerization of DD-lactide catalyzed by Novozyme 435. *Macromolecular bioscience*, 9(3):239–47, mar 2009.
- [240] W. J. Hendrikson, J. Rouwkema, C. a. van Blitterswijk, and L. Moroni. Influence of PCL molecular weight on mesenchymal stromal cell differentiation. *RSC Adv.*, 5(67):54510–54516, 2015.
- [241] Nouredine Ajellal, Jean-François Carpentier, Clémence Guillaume, Sophie M. Guillaume, Marion Helou, Valentin Poirier, Yann Sarazin, and Alexander Trifonov. Metal-catalyzed immortal ring-opening polymerization of lactones, lactides and cyclic carbonates. *Dalton Transactions*, 39(36):8363, 2010.
- [242] Chen-Yen Tsai, Hong-Cyuan Du, Jen-Chieh Chang, Bor-Hunn Huang, Bao-Tsan Ko, and Chu-Chieh Lin. Ring-opening polymerization of cyclic esters initiated by zirconium, titanium and yttrium complexes. *RSC Advances*, 4(28):14527–14537, 2014.
- [243] Xiaoying Wang, Kairong Liao, Daping Quan, and Qing Wu. Bulk ring-opening polymerization of lactides initiated by ferric alkoxides. *Macromolecules*, 38(11):4611–4617, 2005.
- [244] Lawrence Clark, Glen B Deacon, Craig M Forsyth, Peter C Junk, Philip Mountford, Josh P Townley, and Jun Wang. Synthesis and structures of calcium and strontium 2,4-di-tert-butylphenolates and their reactivity towards the amine co-initiated ring-opening polymerisation of rac-lactide. *Dalton transactions (Cambridge, England : 2003)*, 42(25):9294–312, 2013.
- [245] Tzu-Lun Huang and Chi-Tien Chen. Aluminium complexes containing pyrazolyl-phenolate ligands as catalysts for ring opening polymerization of ϵ -caprolactone. *Journal of Organometallic Chemistry*, 725:15–21, 2013.
- [246] Mark Leemhuis, Niels Akeroyd, John a.W. Kruijtzter, Cornelus F. van Nostrum, and Wim E. Hennink. Synthesis and characterization of allyl functio-

- nalized poly(α -hydroxy)acids and their further dihydroxylation and epoxidation. *European Polymer Journal*, 44(2):308–317, feb 2008.
- [247] Odile Dechy-Cabaret, Blanca Martin-Vaca, and Didier Bourissou. Controlled ring-opening polymerization of lactide and glycolide. *Chemical reviews*, 104(12):6147–76, dec 2004.
- [248] Miloud Bouyahyi and Rob Duchateau. Metal-Based Catalysts for Controlled Ring-Opening Polymerization of Macrolactones: High Molecular Weight and Well-Defined Copolymer Architectures. *Macromolecules*, 47:517–524, 2014.
- [249] Karsten Hemmrich and Dennis von Heimburg. Biomaterials for adipose tissue engineering. *Expert review of medical devices*, 3(5):635–645, 2006.
- [250] Shoufeng Yang, Kah-Fai Leong, Zhaohui Du, and Chee-Kai Chua. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques. *Tissue engineering*, 8(1):1–11, 2002.
- [251] Rosa Akbarzadeh and Azizeh-Mitra Yousefi. Effects of processing parameters in thermally induced phase separation technique on porous architecture of scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 102(6):1304–1315, 2014.
- [252] Peter A George, Katie Quinn, and Justin J Cooper-White. Hierarchical scaffolds via combined macro- and micro-phase separation. *Biomaterials*, 31(4):641–7, feb 2010.
- [253] S-H Hsu, S Huang, Y-C Wang, and Y-C Kuo. Novel nanostructured biodegradable polymer matrices fabricated by phase separation techniques for tissue regeneration. *Acta biomaterialia*, 9(6):6915–27, jun 2013.
- [254] Guoping Chen, Takashi Ushida, and Tetsuya Tateishi. Scaffold design for tissue engineering. *Macromolecular Bioscience*, 2(2):67–77, 2002.
- [255] B Subia, J. Kundu, and S. C. Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications. In Daniel Eberli, editor, *Tissue Engineering*, number 3, pages 141–159. InTech, 1 edition, mar 2010.
- [256] Michael W Findlay, Aurora Messina, Erik W Thompson, and Wayne a Morrison. Long-term persistence of tissue-engineered adipose flaps in a murine model to 1 year: an update. *Plastic and reconstructive surgery*, 124(4):1077–84, oct 2009.
- [257] Nazely Diban, Suvi P. Haimi, Lydia Bolhuis-Versteeg, Sandra Teixeira, Susanna Miettinen, André a. Poot, Dirk W. Grijpma, and Dimitrios Stamatialis. Effect of Surface Morphology of Poly(caprolactone) Scaffolds on

- Adipose Stem Cell Adhesion and Proliferation. *Macromolecular Symposia*, 334(1):126–132, 2013.
- [258] Jung-Seob Lee, Hwang Do Cha, Jin-Hyung Shim, Jin Woo Jung, Jong Young Kim, and Dong-Woo Cho. Effect of pore architecture and stacking direction on mechanical properties of solid freeform fabrication-based scaffold for bone tissue engineering. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 100(7):1846–53, jul 2012.
- [259] Seung-Woo Cho, Sang-Soo Kim, Jong Won Rhie, Hyun Mi Cho, Cha Yong Choi, and Byung-Soo Kim. Engineering of volume-stable adipose tissues. *Biomaterials*, 26(17):3577–85, jun 2005.
- [260] Antonio Nanci and Dieter D. Bosshardt. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontology 2000*, 40(1):11–28, feb 2006.
- [261] P. M. Bartold, S. Gronthos, S. Ivanovski, A. Fisher, and D. W. Huttmacher. Tissue engineered periodontal products. *Journal of Periodontal Research*, page <http://doi.wiley.com/10.1111/jre.12275>, 2015.
- [262] IFA (Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung). GESTIS-Stoffdatenbank, 2016.
- [263] I. Engelberg and J. Kohn. Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: A comparative study. *Biomaterials*, 12(3):292–304, 1991.
- [264] Paul T. Anastas and Mary M. Kirchhoff. Origins, current status, and future challenges of green chemistry. *Accounts of Chemical Research*, 35(9):686–694, 2002.
- [265] Alan D. Curzons, David N. Mortimer, David J. C. Constable, and Virginia L. Cunningham. So you think your process is green, how do you know? — Using principles of sustainability to determine what is green – a corporate perspective. *Green Chemistry*, 3(1):1–6, 2001.
- [266] Matthew J Stanford and Andrew P Dove. Stereocontrolled ring-opening polymerisation of lactide. *Chemical Society reviews*, 39(2):486–94, feb 2010.
- [267] Marion Helou, Olivier Miserque, Jean Michel Brusson, Jean François Carpentier, and Sophie M. Guillaume. Metal triflates as highly stable and active catalysts for the "immortal" ring-opening polymerization of trimethylene carbonate. *ChemCatChem*, 2:306–313, 2010.
- [268] Nouredine Ajellal, Jean-François Carpentier, Clémence Guillaume, Sophie M Guillaume, Marion Helou, Valentin Poirier, Yann Sarazin, and Alexander Trifonov. Metal-catalyzed immortal ring-opening polymerization of

- lactones, lactides and cyclic carbonates. *Dalton transactions (Cambridge, England : 2003)*, 39(36):8363–8376, 2010.
- [269] R. M. Daniel. The upper limits of enzyme thermal stability. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(1):74–79, 1996.
- [270] G. D. Haki and S. K. Rakshit. Developments in industrially important thermostable enzymes: A review. *Bioresource Technology*, 89(1):17–34, 2003.
- [271] Julien Cayuela, Philippe Bounor-Leganre, Veronique Cassagnau, and Alain Michel. Ring-Opening Polymerization of Caprolactone Initiated with Titanium n-Propoxide or Titanium Phenoxide. *Macromolecules*, 39(4):1338–1346, 2006.
- [272] Anders Sodergard and Mikael Stolt. Ring-Opening Polymerization of L-lactide by Means of Different Iron Compounds. *Macromolecular Symposia*, 130:393–402, 1998.
- [273] Tristan I Croll, Andrea J O’Connor, Geoffrey W Stevens, and Justin J Cooper-White. Controllable surface modification of poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) by hydrolysis or aminolysis I: physical, chemical, and theoretical aspects. *Biomacromolecules*, 5(2):463–73, 2004.
- [274] Ralph G Pearson. Hard and Soft Acids and Bases HSAB, Part 1. *Journal of Chemical Education*, 45:581–587, 1968.
- [275] Paul W Ayers. The physical basis of the hard/soft acid/base principle. *Faraday discussions*, 135:161–190; discussion 237–259, 503–506, 2007.
- [276] Hartmuth C Kolb, M G Finn, and K Barry Sharpless. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 40(11):2004–2021, jun 2001.
- [277] Hans R. Kricheldorf, Ingrid Kreiser-Saunders, and Andrea Stricker. Polylactones 48. SnOct 2 -Initiated Polymerizations of Lactide: A Mechanistic Study. *Macromolecules*, 33(3):702–709, 2000.
- [278] Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, and Peter Wrothers. Nucleophilic substitution at saturated carbon. In *Organic Chemistry*, page 408. Oxford University Press, 2001.
- [279] Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, and Peter Wrothers. Nucleophilic substitution at saturated carbon. In *Organic Chemistry*, page 442. Oxford University Press, 2001.
- [280] Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, and Peter Wrothers. Conjugate addition. In *Organic Chemistry*, page 237. Oxford University Press, 2001.

- [281] Paul W. Ayers. An elementary derivation of the hard/soft-acid/base principle. *Journal of Chemical Physics*, 122(14):130–133, 2005.
- [282] J Wolff. Perchlorate and the thyroid gland. *Pharmacological reviews*, 50(1):89–105, 1998.
- [283] G. Pearson. Hard and Soft Acids and Bases. *Journal of the American Chemical Society*, 85(22):3533–3539, 1963.
- [284] Ernesto Reverchon and Stefano Cardea. Supercritical fluids in 3-D tissue engineering. *The Journal of Supercritical Fluids*, 69:97–107, 2012.
- [285] Chris A Bashur, Lavanya Venkataraman, and Anand Ramamurthi. Tissue engineering and regenerative strategies to replicate biocomplexity of vascular elastic matrix assembly. *Tissue engineering. Part B, Reviews*, 18(3):203–17, jun 2012.
- [286] Yang Cao, Geraldine Mitchell, Aurora Messina, Lisa Price, Erik Thompson, Anthony Penington, Wayne Morrison, Andrea O’Connor, Geoffrey Stevens, and Justin Cooper-White. The influence of architecture on degradation and tissue ingrowth into three-dimensional poly(lactic-co-glycolic acid) scaffolds in vitro and in vivo. *Biomaterials*, 27(14):2854–64, may 2006.
- [287] Bit Na Lee, Da Yeon Kim, Hwi Ju Kang, Jin Seon Kwon, Young Hwan Park, Heung Jae Chun, Jae Ho Kim, Hai Bang Lee, Byoung Hyun Min, and Moon Suk Kim. In vivo biofunctionality comparison of different topographic PLLA scaffolds. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 100(7):1751–60, jul 2012.
- [288] P X Ma and R Zhang. Synthetic nano-scale fibrous extracellular matrix. *Journal of biomedical materials research*, 46(1):60–72, jul 1999.
- [289] H.-Y. Mi, X. Jing, and L.-S. Turng. Fabrication of porous synthetic polymer scaffolds for tissue engineering. *Journal of Cellular Plastics*, 51(2):165–196, 2015.
- [290] Yan Qi Goh and Chui Ping Ooi. Fabrication and characterization of porous poly(L-lactide) scaffolds using solid-liquid phase separation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19:2445–2452, 2008.
- [291] Ch. Schugens, V. Maquet, C. Grandfils, R. Jerome, and Ph. Teyssie. bio-degradable and macroporous polylactide implants for cell transplantation: 1. Preparation of macroporous polylactide supports by solid-liquid phase separation. *Polymer*, 37(6):1027–1038, 1996.
- [292] L L Whinnery, W R Even, J V Beach, and D a Loy. Engineering the macrostructure of thermally induced phase separated polysilane foams. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 34(8):1623–1627, 1996.

- [293] B.A. Harley, J H Leung, E Silva, and Lorna J Gibson. Mechanical characterization of collagen–glycosaminoglycan scaffolds. *Acta Biomaterialia*, 3(4):463–474, 2007.
- [294] Till Gruending, Michael Guilhaus, and Christopher Barner-Kowollik. Quantitative LC-MS of polymers: Determining accurate molecular weight distributions by combined size exclusion chromatography and electrospray mass spectrometry with maximum entropy data processing. *Analytical Chemistry*, 80(18):6915–6927, 2008.
- [295] Wenxin Wang, He Liang, Racha Cheikh Al Ghanami, Lloyd Hamilton, Michael Fraylich, Kevin M. Shakesheff, Brian Saunders, and Cameron Alexander. Biodegradable Thermoresponsive Microparticle Dispersions for Injectable Cell Delivery Prepared Using a Single-Step Process. *Advanced Materials*, 21(18):1809–1813, 2009.
- [296] CW Patrick Jr, PB Chauvin, and Patrick E T Al. Preadipocyte seeded PLGA scaffolds for adipose tissue engineering. . . . *engineering*, 5(2):139–151, 1999.
- [297] Charles W Patrick. Adipose Tissue Engineering : The Future of. *Seminars in Surgical Oncology*, 19(713):302–311, 2000.
- [298] K H Jones and J A Senft. An Improved Method To Determine Cell Viability By Simultaneous Staining With Fluorescein Diacetate - Propidium Iodide. *The journal of histochemistry and cytochemistry*, 33(1):77–79, 1985.
- [299] Laleh Safinia, Athanasios Mantalaris, and Alexander Bismarck. Nondestructive technique for the characterization of the pore size distribution of soft porous constructs for tissue engineering. *Langmuir*, 22(10):3235–3242, 2006.
- [300] Y M Lin, a R Boccaccini, J M Polak, a E Bishop, and V Maquet. Biocompatibility of poly-DL-lactic acid (PDLA) for lung tissue engineering. *Journal of biomaterials applications*, 21(2):109–18, oct 2006.
- [301] Lingni Yin, Wenwei Cai, Jing Sheng, and Yun Sun. Hypoxia induced changes of SePP1 expression in rat preadipocytes and its impact on vascular fibroblasts. *Int. J. Clin. Exp. Med*, 7(1):41–50, 2014.
- [302] Boris Hinz, Sem H. Phan, Victor J. Thannickal, Andrea Galli, Marie-Luce Bochaton-Piallat, and Giulio Gabbiani. The Myofibroblast. *The American Journal of Pathology*, 170(6):1807–1816, 2007.
- [303] Jürgen H Dolderer, Andreas Kehrer, Stefan M Schiller, Ulrich H Schröder, Konrad Kohler, Hans-Eberhard Schaller, and Dorothea Siegel-Axel. [De-novo generation of vascularized tissue using different configurations of

- vascular pedicles in perforated and closed chambers]. *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)*, 160(5-6):139–46, mar 2010.
- [304] Qiang Chang and Feng Lu. A novel strategy for creating a large amount of engineered fat tissue with an axial vascular pedicle and a prefabricated scaffold. *Medical hypotheses*, 79(2):267–70, aug 2012.
- [305] Michael W Findlay, Juergen H Dolderer, Nicholas Trost, Randall O Craft, Yang Cao, Justin Cooper-White, Geoffrey Stevens, and Wayne a Morrison. Tissue-engineered breast reconstruction: bridging the gap toward large-volume tissue engineering in humans. *Plastic and reconstructive surgery*, 128(6):1206–15, dec 2011.
- [306] Paul Roach, David Eglin, Kirsty Rohde, and Carole C. Perry. Modern biomaterials: A review - Bulk properties and implications of surface modifications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(7):1263–1277, 2007.
- [307] K. Van De Velde and P. Kiekens. Biopolymers: Overview of several properties and consequences on their applications. *Polymer Testing*, 21(4):433–442, 2002.
- [308] Richard A. Gross and Bhanu Kalra. Biodegradable Polymers for the Environment. *Science*, 297(4):803–808, 2002.
- [309] Benjamin Le Droumaguet and Kelly Velonia. Click Chemistry: A Powerful Tool to Create Polymer-Based Macromolecular Chimeras. *Macromolecular Rapid Communications*, 29(12–13):1073–1089, jul 2008.
- [310] Damien Quémener, Thomas P. Davis, Christopher Barner-Kowollik, and Martina H. Stenzel. RAFT and click chemistry: A versatile approach to well-defined block copolymers. *Chemical Communications*, (48):5051, dec 2006.

Index

- ringöffnende Polymerisation
 - ε-Caprolacton-Polymerisation, 45, 61, 70
 - Ascorbinsäurezugabe, 48
 - DL-Lactid-Polymerisation, 51, 65
 - Einführung, 13
 - Einfluss der Ansatzgröße, 62, 69, 71
 - Enzyme, 199
 - Initiatorverhältniseinfluss, 74, 78
 - Katalysatorvergleich, 45
 - Lösungsmiteleinfluss, 66
 - Lösungsmittelreaktionen, 61
 - Mechanismus, 14
 - Monomere, 10
- Biokompatibilität
 - Einführung, 30
- Biopolymere
 - Einführung, 6
- Eisenkatalysatoren
 - ε-Caprolacton-Polymerisation 140°C, 45
 - Copolymere 140°C, 52
 - DL-Lactid-Polymerisation bei 140°C, 51
 - Lösungsmittelreaktionen bei °C, 61
 - Literaturstand, 22
 - RT-Polymerisationen, 69
- Eisenkomplex
 - Einführung, 81
 - mögliche Auswirkung, 82
 - UV-VIS, 202
- Fettgewebe
 - 2D-Zellkompatibilitätstests, 111
 - 3D-*in-vitro*-Versuche, 123
 - Einführung, 26
- Plastik
 - Abbaubar, 5
- Einführung, 5
- Prädipozyten
 - Einführung, 40
- Scaffold
 - Degradation, 107
 - Diskussion, 127
 - Einleitung, 28
 - Herstellung, 91
 - Herstellungsmethoden, 32
 - Interkonnektivität, 105
 - mechanische Eigenschaften, 105
 - Morphologie, 94
 - Porosität, 104
 - sterile Herstellung, 156
 - unsterile Herstellung, 155
- Wachstumschamber, 130
 - Kompressionsstests, 132
- Zahngewebe
 - 3D-*in-vitro*-Versuche, 125
 - Einführung, 26
- Zellkompatibilität
 - 2D-Tests, 111

9 Danksagung

Zum Gelingen dieser Arbeit haben viele Leute beigetragen, denen ich an dieser Stelle für ihre Hilfe und Unterstützung danken möchte:

Zunächst Dr. Stefan Schiller, dafür dass ich die Doktorarbeit in seiner Arbeitsgruppe durchführen durfte.

Prof. Dr. Jürgen Rühle für wertvolle Diskussionen und hilfreiche Verbesserungen der Doktorarbeit.

Dr. Jürgen Dolderer vom Universitätsklinikum Regensburg dafür, dass meine Doktorarbeit sich in diese Richtung entwickelt hat.

Dr. Reinhard Ebert und Dr. Helge Bürsing dafür, dass sie mich unterstützt haben und ich auch am Fraunhofer IOSB an meiner Doktorarbeit arbeiten konnte.

Prof. Dr. Dorothea Siegel-Axel vom Universitätsklinikum Tübingen und Prof. Dr. Konrad Kohler vom Zentrum für Regenerationsbiologie und Regenerative Medizin (ZRM) Tübingen für wertvolle Lektionen in Bezug auf wissenschaftliche Kooperationen.

Den MTAs Birgit Schreiner und Ulrike Schmidt vom Universitätsklinikum Tübingen für die Durchführung der Zelltests mit Präadipozyten.

Prof. Dr. Thorsten Steinberg vom Universitätsklinikum Freiburg für die Ermöglichung der Zelltest mit periodontalen Ligament Fibroblasten.

Susanne Proksch vom Universitätsklinikum Freiburg für die Durchführung der Zelltests mit periodontalen Ligament Fibroblasten und die hilfreichen Diskussionen.

Dr. Raimund Jäger vom Fraunhofer IWM für die Ermöglichung der mechanischen Tests und wertvollen Diskussionen.

Daniel Ebel vom Fraunhofer IWM für die Durchführung der mechanischen Tests.

Prof. Dr. Dietmar Hutmacher von der Queensland University of Technology für das Ermöglichen der MikroCT-Tests und die Schaffung einer Perspektive.

Patrina von der Technischen Universität München für die gute Kooperation und wertvollen Diskussionen.

Markus Waitl, Marina Hagios, Ralf Hanselmann und Alfred Hasenhindl für das Messen vieler Proben.

Außerdem der Arbeitsgruppe von Dr. Stefan Schiller, insbesondere Milli und Lisa.

Lisa und meinem Azubi Andreas für das Unterstützen bei dem Spincoaten, ohne euch hätte ich das nie geschafft.

Besonders möchte ich meinen Korrekturlesern Biljana, Lisa, Leo, Milli, und insbesondere Ilja danken. Und vor allem Karin, welche sich die Zeit genommen hat die Doktorarbeit sprachlich zu verbessern.

Außerdem meiner Familie für die mein Forschungsgebiet bzw. auch schon Studienfach sehr exotisch waren, sich aber dennoch dafür interessiert und mich unterstützt haben. Insbesondere meinem Vater, welcher die Doktorarbeit auf sprachliche Korrektheit überprüfte.

Und zu guter Letzt dem Würzburger Chemieprofessor, welcher mir auf einem Wuppertaler Studieninformationstag klar machte, dass es nicht einseitig ist, Chemie zu studieren. Mit ihm fing alles an.

10 Anhang

10.1 Zusätzliche Informationen und Voruntersuchungen

10.1.1 Polymerisation mit Erdalkalikatalysatoren

10.1.1.1 Einfluss des Reaktionsverhältnisses

Für Calciumhydrid und Calciumhydroxid wurde überprüft, welchen Einfluss das Monomer- zu Katalysatorverhältnis auf das Molekulargewicht hat. Dafür wurden Reaktionen mit den folgenden Verhältnissen Monomer:Katalysator:Initiator ($[M]:[C]:[I]$) durchgeführt:

- 100:1:2
- 200:1:2
- 500:1:2

Abbildung 85 zeigt die Ergebnisse (Calciumhydrid in blau und Calciumhydroxid in braun gestreift). Das Molekulargewicht sinkt von durchschnittlich $8 \frac{kg}{mol}$ bei Calciumhydrid und $10 \frac{kg}{mol}$ bei Calciumhydroxid auf circa $2 \frac{kg}{mol}$. In Tabelle 40 wurden die Ausbeuten und Polydispersitäten eingetragen.

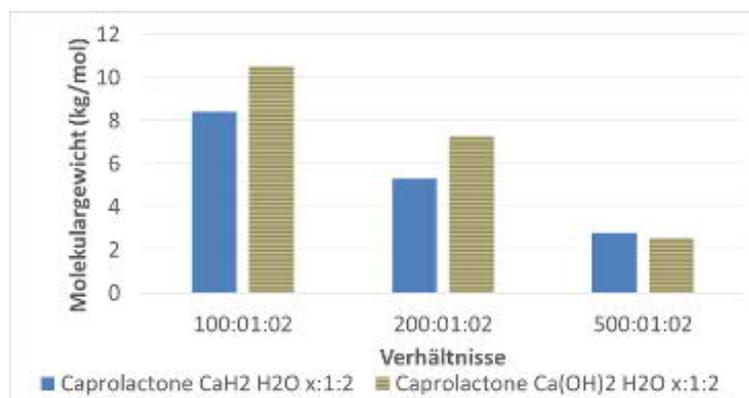


Abbildung 85: Untersuchung des Einflusses des Ansatzverhältnisses auf das Molekulargewicht bei der Polymerisation von Caprolacton mit Calciumhydrid (blau) und Calciumhydroxid (braun gestreift). Aufgetragen wurde das Molekulargewicht gegen das Verhältnis. Dabei zeigt sich, dass das Molekulargewicht mit steigendem Monomer- zu Katalysatorverhältnis sinkt.

Tabelle 40: Polymerisation mit Calciumhydrid und Calciumhydroxid bei 140°C mit zweifachem Überschuss an Wasser als Initiator, die Reaktionszeit war bei allen Reaktionen 24 h - Vergleich des Einflusses des Monomer- zu Katalysatorverhältnisses. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

Katalysator	[M]:[C]:[I]	Ausb.	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
CaH ₂	100:1:2	83	15,5 (8,4)	8,1 (5,1)	1,9
Ca(OH) ₂	100:1:2	83	15,3 (10,5)	8,2 (6,3)	1,9
CaH ₂	200:1:2	56	5,3	4,0	1,3
Ca(OH) ₂	200:1:2	81	7,3	5,9	1,2
CaH ₂	500:1:2	7,0	2,7	1,2	2,8
Ca(OH) ₂	500:1:2	5,0	2,7	2,0	1,5

Während die Ausbeute bei [M]:[C]:[I] = 200:1:2 noch relativ gut ist, ist das Molekulargewicht deutlich abgesunken. Das Verhältnis [M]:[C]:[I] = 500:1:2 ist nicht mehr zur Polymerisation geeignet, sowohl die Ausbeute (7%) als auch das Molekulargewicht ($2,7 \frac{kg}{mol}$) sind sehr niedrig.

10.1.1.2 Einfluss des Initiators

Bei den Alkali- und Erdalkalikatalysatoren wurde der pure Katalysator gegen Katalysator mit Wasser als Initiator verglichen. Damit wurde ϵ -Caprolacton in den Verhältnissen [M]:[C]:[I] = 100:1:0 und 100:1:2 bei 140°C und 24 h Reaktionszeit polymerisiert. Abbildung 86 (helle Balken) zeigt, dass mit Natriumhydroxid das höchste Molekulargewicht erreicht werden kann.

Tabelle 41 zeigt die Reaktionszeiten und Verhältnisse.

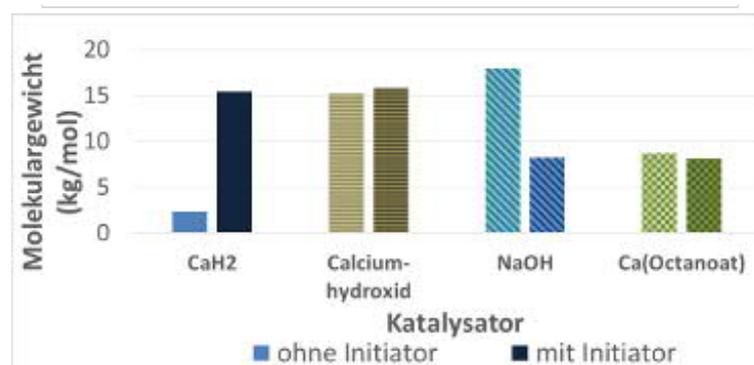


Abbildung 86: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit (Erd)Alkalikatalysator mit (dunkle Balken) und ohne Wasser (helle Balken) als Initiator im Verhältnis [M]:[C]:[I] = 100:1:0/100:1:2. Darstellung des Molekulargewicht gegen den Katalysator jeweils beim Verhältnis [100:1:0 (hell)] und [100:1:2 (dunkel)]. Es wurde jeweils das höchste erreichbare Molekulargewicht angegeben.

Tabelle 41: Polymerisation mit Alkali- und Erdalkalikatalsatoren bei 140°C ohne und mit Initiator - Ergebnisvergleich, die besten Ergebnisse. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

Katalysator	[M]:[C]:[I]	t (h)	Ausb.	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
CaH ₂	500:1:0	24	5	2,3	2	1,8
Ca(OH) ₂	100:1:0	24	80	15,2 (12,6)	5,2 (5,7)	2,9
NaOH	100:1:0	24	50	17,9 (13,0)	6,9 (5,9)	2,6
Ca(Oct.)	100:1:0	24	99	8,6	4,5	1,9
Ca(Tatrat)	1000:1:0	96	61	20,1	12, 5	1,6
CaH ₂	100:1:2	24	95	15,4 (8,4)	8,1 (5,1)	1,9
Ca(OH) ₂	100:1:2	24	87	15,8 (10,5)	8,2 (6,3)	1,9
NaOH	100:1:2	24	98	8,2 (7,9)	4 (3,9)	1,5
Ca(Oct.)	100:1:2	24	80	8,5	6,1	1,3

Calciumhydrid katalysiert ohne Wasser als Initiator sehr schlecht, es wird nur ein geringes Molekulargewicht ($5 \frac{kg}{mol}$) und eine geringe Ausbeute (24%) erreicht. Das beste Ergebnis liefert Natriumhydroxid, sowohl die Ausbeute (50%) als auch das Molekulargewicht ($18 \frac{kg}{mol}$) sind relativ hoch. Die Ausbeute mit Calciumtartrat (96%) ist zwar noch höher, ebenso das Molekulargewicht ($20 \frac{kg}{mol}$), allerdings kann mit dem Katalysator erst nach 96 h Reaktionszeit Polymer hergestellt werden.

Wenn Wasser als Initiator zugegeben wird, verändert sich die Aktivitätsreihenfolge der Katalysatoren (siehe Abbildung 86, dunkle Balken). In dem Fall führen Calciumhydrid und Calciumhydroxid zu deutlich höherem Molekulargewicht im Gegensatz Natriumhydroxid und Calcium(II)-2-ethylhexanoat. Die Ausbeuten und Reaktionszeiten sind in Tabelle 41 aufgetragen.

Die Ausbeute ist bei allen Katalysatoren mit Wasser als Initiator relativ hoch, am höchsten bei Natriumhydroxid. Calciumhydrid erreicht mit 95% auch eine sehr gute Ausbeute und mit $15,8 \frac{kg}{mol}$ das höchste Molekulargewicht und ist somit der effektivste Katalysator für das Verhältnis 100:1:2 mit Wasser als Initiator (vgl. Tabelle 41).

10.1.1.3 Einfluss der Temperatur

Bei Calciumhydrid wurde die Temperaturabhängigkeit untersucht und das bei der jeweiligen Temperatur erreichbare Molekulargewicht mit dem unter den Bedingungen mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat erreichbarem Molekulargewicht verglichen. Bei Calciumhydrid wurde Wasser als Initiator verwendet, bei Zinn(II)-2-ethylhexanoat Benzylalkohol. Abbildung 87 zeigt das Ergebnis. Sowohl bei Calciumhydrid als auch bei Zinn(II)-2-ethylhexanoat wurde das Verhältnis [M]:[C]:[I] = 100:1:2 genutzt.

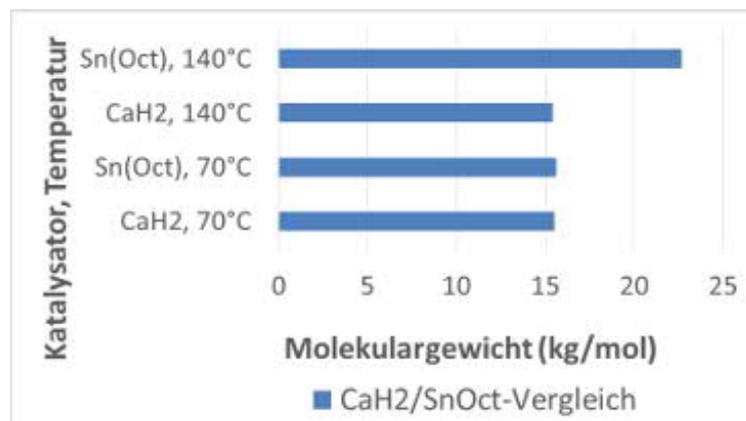


Abbildung 87: Einfluss der Temperatur auf die Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Calciumhydrid und Zinn(II)-2-ethylhexanoat .

Tabelle 42: Einfluss der Temperatur auf die Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Calciumhydrid und Zinn(II)-2-ethylhexanoat , beim Verhältnis 100:1:2. Es wurde das maximal erreichte Molekulargewicht und in Klammern das Durchschnittsmolekulargewicht angegeben.

Katalysator	°C	Zeit (h)	Ausb.	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
CaH ₂	140	24	83	15,4 (8,4)	8,1 (5,1)	1,9
CaH ₂	70		186	4,0	15,5	9,0 1,7
SnOct	140	24	90	22,7	8,6	2,6
SnOct	70	24	83	15,6	8,9	1,7

Das Molekulargewicht bei Zinn(II)-2-ethylhexanoat und Calciumhydrid ist relativ vergleichbar hoch, allerdings ist die Ausbeute bei Zinn(II)-2-ethylhexanoat deutlich besser.

10.1.2 Polymerisation mit Eisenkatalysatoren bei RT

Bei einigen Eisenkatalysatoren wurde untersucht, ob sie auch bei Raumtemperatur zur Polymerisation von ϵ -Caprolacton fähig sind. Dafür wurde Benzylalkohol als Initiator verwendet. Zunächst wurde das Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$ untersucht (siehe Abbildung 88). Eisen(III)perchlorat, Eisen(III)chlorid und Eisen(III)bromid liefern die besten Ergebnisse. Eisennitrat und Eisensulfid mit Ascorbinsäure führen zu geringerem Molekulargewicht.

Weiterhin wurde das Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$ untersucht. Abbildung 89 zeigt die Ergebnisse. Auch beim Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$ erweisen sich Eisen(III)perchlorat, Eisen(III)bromid und Eisen(III)chlorid als bessere Katalysatoren als die anderen Eisensalze. Eisen(III)fluorid ist unter diesen Bedingungen nicht zur Katalysation fähig und ergibt keine Ausbeute.

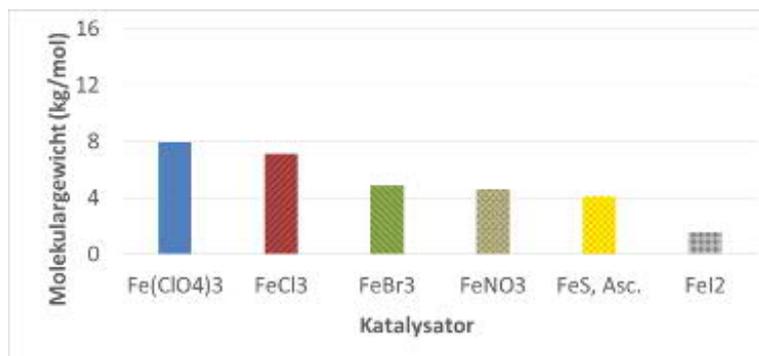


Abbildung 88: Polymerisation von ϵ -Caprolacton, aufgetragen wurde das mittlere Molekulargewicht gegen die unterschiedlichen Katalysatoren. Alle Reaktionen wurden mit Benzylalkohol bei RT in dem Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 200:1:5$ durchgeführt.

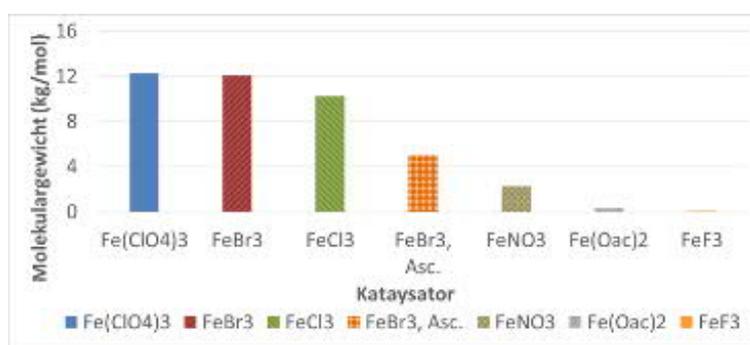


Abbildung 89: Mittleres Molekulargewicht gegen die unterschiedlichen Katalysatoren. Alle Reaktionen wurden mit Benzylalkohol bei RT und dem Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 400:1:5$ durchgeführt. Eisen(III)perchlorat, Eisen(III)bromid und Eisen(III)chlorid katalysieren unter den Bedingungen bei RT am besten.

Folglich bieten sich nur Eisen(III)perchlorat, Eisen(III)chlorid und Eisen(III)bromid für eine genauere Analyse an.

10.1.3 Polymerisation mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat

10.1.3.1 Reproduzierbarkeit

Die meisten Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat wurden bei 140°C und dem Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 2000:1:2$ durchgeführt. Wenn man alle Reaktionen in einem Diagramm aufträgt (siehe Abbildung 90), sieht man, dass die Ergebnisse stark schwanken.

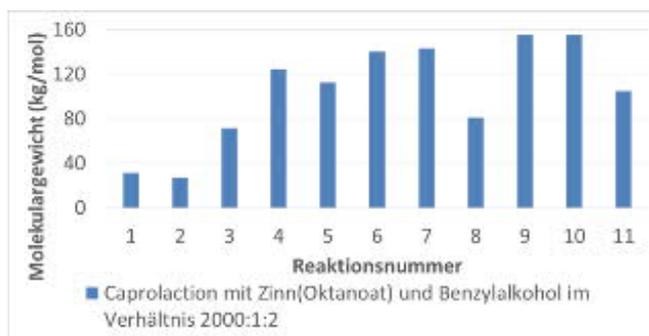


Abbildung 90: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Bei allen Reaktionen wurde das Verhältnis [Monomer:Katalysator:Initiator, M:C:I, 2000:1:2] verwendet, die Temperatur war bei allen Reaktionen 140°C. Aufgetragen wurde das Molekulargewicht gegen die Reaktionsnummer. Es zeigt sich, dass Reaktionen mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat zu einer großen Schwankungsbreite bezüglich des Molekulargewichts führen.

10.1.3.2 RT-Reaktionen

Es wurde untersucht, ob mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei Raumtemperatur polymerisiert werden kann, dazu wurde Zinn(II)-2-ethylhexanoat pur und bei Zugabe von Salzsäure (HCl) oder Ascorbinsäure untersucht (siehe Tabelle 43 und Abbildung 91). Zur Überprüfung wurden auch die Säuren pur als Katalysator analysiert.

Die Polymerisationen von ϵ -Caprolacton bei Raumtemperatur mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat mit Salzsäure oder auch Salzsäure und Ascorbinsäure allein blieben während der gesamten Reaktionszeit von 26 h flüssig, die Ansätze wurden jedoch nicht entsorgt, sondern im Abzug belassen. Nach circa 2 Wochen im Abzug, wurde festgestellt, dass sich in den Kolben Feststoff gebildet hatte, von welchem das Molekulargewicht gemessen wurde. Die Polymerisation mit purem Zinn(II)-2-ethylhexanoat bekam 60 Tage Reaktionszeit, ohne dass Polymer hergestellt werden konnte. Dagegen wurde bei Zugabe von Ascorbinsäure zu Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei Polymerisation von ϵ -Caprolacton nach einer Woche Polymer erzeugt.

Tabelle 43: Caprolactonpolymerisation mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat und Zusätzen bei RT. Zum Vergleich wurden die Zusatzstoffe als alleinige Katalysatoren verwendet. Als Verhältnis wurde [M]:[C]:[I] = 200:1:5 gewählt, der Zusatzstoff wurde in äquimolarer Menge zum Katalysator gegeben. Asc. = Ascorbinsäure

Katalysator	Initiator	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
SnOct	BnOH	1440	-	-	-	-
SnOct, HCl	BnOH	624	90	5,7	4,7	1,2
HCl	BnOH	624	55	4,2	3,6	1,2
SnOct, Asc.	BnOH	168	30,8	7,4	5,8	1,3
Asc.	BnOH	624	97	4,7	2,4	2,0

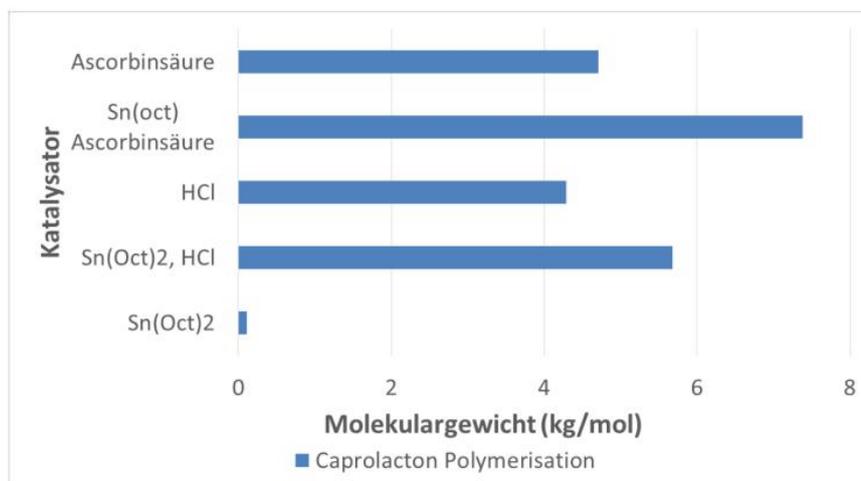


Abbildung 91: Polymerisation von ϵ -Caprolacton bei Raumtemperatur im Verhältnis [M]:[C]:[I] = 200:1:5 mit unterschiedlichen Zinn(II)-2-ethylhexanoat und Zusatzstoffen. Zusätzlich wurde die Polymerisationsfähigkeit der Zusatzstoffe allein analysiert.

Die einzige Variante, mit der Polymer in einer angemessenen Zeit gewonnen werden kann, ist die Kombination von Zinn(II)-2-ethylhexanoat mit Ascorbinsäure, mit der $7 \frac{kg}{mol}$ in einer Woche erreicht werden. Zinn(II)-2-ethylhexanoat katalysiert, indem es zunächst ins Alkoxid umgewandelt wird, dazu wird ein protischer Alkohol benötigt [277], eventuell kann diese Umwandlung durch Ascorbinsäure katalysiert werden, so dass sie bereits bei RT stattfinden kann.

10.1.4 Enzympolymerisation

Die Effektivität der einzelnen Enzyme wurde bei 60°C mit Benzylalkohol als Initiator untersucht. Dabei wurden die Lipase aus *Candida antarctica* (CALb) gegen die Lipase aus *Thermomyces lanuginosus* (TLL), gegen immobilisierte Variante der TLL (TLL im.), gegen die Lipase aus *Candida rugosa* (CR) und die immobilisierte Variante der Lipase aus *Rhicomucur Mihie* (RMIM) getestet. Als Reaktionstemperatur wurde für alle Enzyme aus RMIM 60°C genutzt, für RMIM und Zinn(II)-2-ethylhexanoat wurde 70°C als Reaktionstemperatur gewählt. Abbildung 92 zeigt die Ergebnisse.

Mit Enzymen kann bei 60/70°C höheres Molekulargewicht erreicht werden als bei 70°C mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Allerdings ist die Ausbeute der Enzymreaktionen deutlich niedriger als mit Zinn(II)-2-ethylhexanoat. Einzige Ausnahme ist RMIM bei 70%, allerdings konnte damit bei niedrigen Temperaturen kein Polymer gewonnen werden. Mit Novozyme 435 (der immobilisierten Variante von CALb) wurde der Einfluss von verschiedenen Initiatoren und der Variation der Temperatur untersucht.

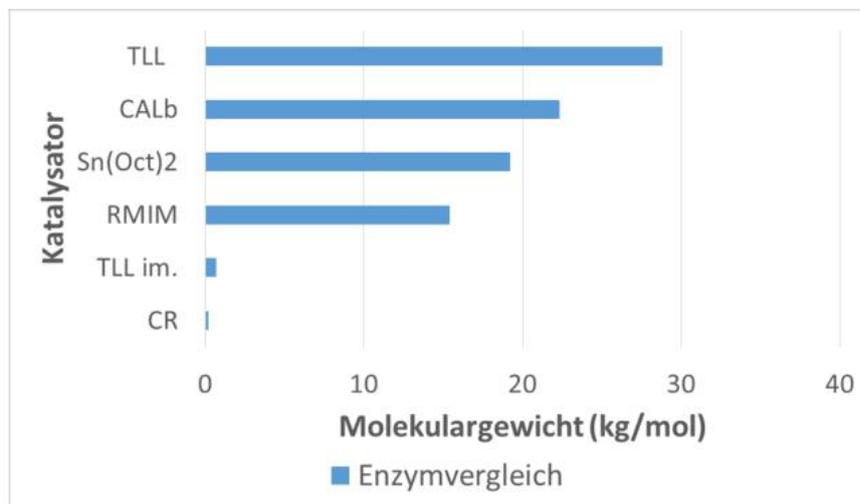


Abbildung 92: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit unterschiedlichen Enzymen und Zinn(II)-2-ethylhexanoat bei bis zu 70°C.

Tabelle 44: Caprolactonpolymerisation mit Novozym 435 und Initiatoren W Verhältnis [M]:[C]:[I] = 200:10%:1 unter Variation der Temperatur. Es wurde jeweils das Maximalmolekulargewicht angegeben, in Klammern steht das Durchschnittsmolekulargewicht.

Enzym	°C	[M]:[C]:[I]	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
CALb	60	2000:10wt%:1	4	44	28,8 (17,6)	16,3 (9,8)	1,7
SnOct	70	2000:1:2	48	81	19,2	13,2	1,8
RMIM	70	106:12,5wt%:1	24	87	15,4	8,6	1,2
TLL	60	2000:10wt%:1	7	2,9	28,8 (15,6)	16,3 (9,0)	2,9
TLL im.	60	2000:10wt%:2	1	5	0,7	0,7	1,0
CR	60	2000:10wt%:1	3	0,1	0,2	0,2	1,0

Dabei wurde das Verhältnis [M]:[C]:[I] = 200:10wt%:1 verwendet. Als Monomer diente ϵ -Caprolacton. Die Ergebnisse zeigt Abbildung 93. Der Einfluss der Temperaturerhöhung hängt stark vom verwendeten Katalysator ab. Benzylalkohol ergab bei 50°C nur 2 kg/mol, Erhöhung der Reaktionsztemperatur führte zu einer bis zu 14-fachen Erhöhung de Molekulargewichts. Initiation mit Propargylalkohol dagegen ergibt bei 50°C bereits 18,4 $\frac{kg}{mol}$ und die Erhöhung auf 60°C hat einen deutlich geringeren Einfluss als bei Benzylakohol. Mit Propargylalkohol kann selbst bei RT noch Polymer in einer relativ guten Ausbeute (45%) mit 12,5 $\frac{kg}{mol}$ hergestellt werden (siehe Tabelle 45).

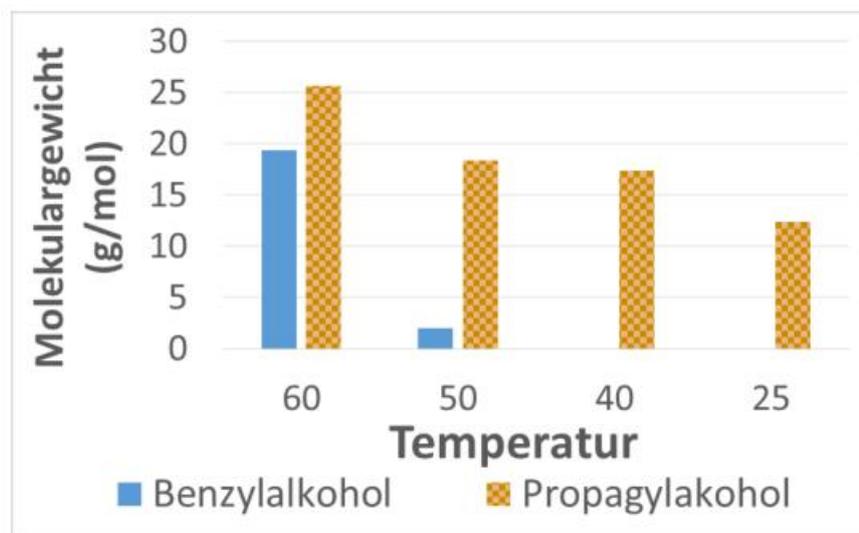


Abbildung 93: Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Novozym 435 im Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 200:10\%:1$ mit unterschiedlichen Initiatoren unter Variation der Temperatur.

Tabelle 45: Caprolactonpolymerisation mit Novozym 435 und Initiatoren W Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 200:10\%:1$ unter Variation der Temperatur. Es wurde jeweils das Maximalmolekulargewicht angegeben, in Klammern steht das Durchschnittsmolekulargewicht.

Initiator	°C	t (h)	Ausb. (%)	Mw ($\frac{kg}{mol}$)	Mn ($\frac{kg}{mol}$)	PDI
BnOH	60	4	44	28,8 (17,6)	16,3 (9,8)	1,7
BnOH	50	6	24,3	2,1 (2,0)	1,54 (1,45)	1,5
Propinol	60	27	34	25,6	14,6	1,8
Propinol	50	4	32	18,4	14,6	1,8
Propinol	40	2,5	24	17,4	11,6	1,5
Propinol	25	24	45	12,4	4,3	2,9

Bei 50/60°C wurde die Enzymkinetik untersucht, dabei wurden Benzylalkohol und Propargylalkohol als Initiatoren verwendet. Es ergab sich die Schwierigkeit, dass die Mischung bei 60°C nach 2 h aufgrund der zunehmenden Viskosität nicht mehr gerührt werden konnte. Bei der mit Propargylalkohol initiierten Reaktion wurde nach 2 h 5 ml Tetrahydrofuran zugegeben, um die Viskosität zu erniedrigen. Dadurch konnte in dem Fall die Reaktion weitergeführt werden. Bis auf einen deutlichen Ausreißer bei 3 h bleibt das Molekulargewicht auf einem Level (vgl. Abbildung 94). Bei 50°C wurden im Rahmen der kinetischen Untersuchungen nur Oligomere, mit sehr niedrigem Molekulargewicht hergestellt.

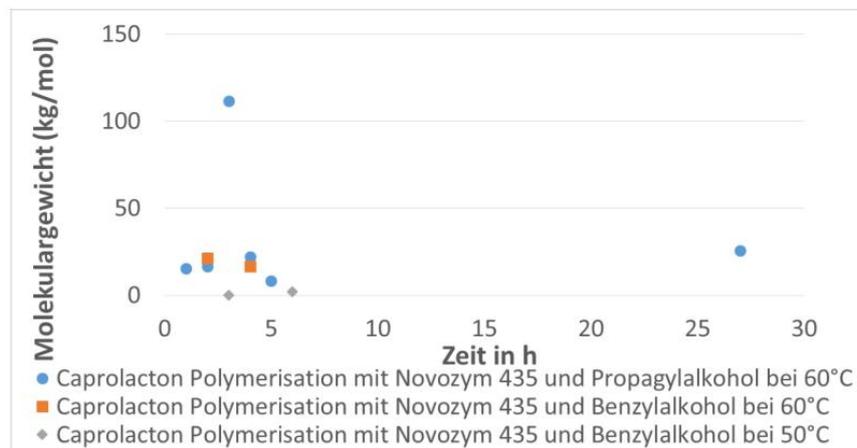


Abbildung 94: Kinetik der Polymerisation von ϵ -Caprolacton mit Novozym 435 im Verhältnis $[M]:[C]:[I] = 200:10\%:1$ mit unterschiedlichen Initiatoren bei 50/60°C.

10.1.5 UV-VIS-Untersuchung des Eisen-Allylphenolkomplexes

Bei Reaktionen von Eisen(III)chlorid und Eisen(III)perchlorat wurde bei Zugabe von Allylphenol ab fünffachem Überschuss eine Grünfärbung der gelb-orangen Lösung beobachtet, sodass von einer Komplexbildung auszugehen ist. Nach einiger Zeit verlor sich die grüne Färbung und wurde durch eine hellbraune Färbung ersetzt. Lösungen mit Eisen(III)bromid sind so dunkelbraun, dass bei ihnen keine Farbänderung nachgewiesen werden kann. Um die Komplexbildung zu überprüfen wurde mittels UV-VIS-Spektroskopie untersucht. Dafür wurde zunächst Eisen(III)perchlorat in Ethylacetat gegeben und nach und nach ein höherer Anteil an Allylphenol zugegeben. Direkt in ϵ -Caprolacton konnte die Komplexbildung nicht untersucht werden, weil die Reaktionsmischung in dem Fall polymerisierte, bevor die Messung abgeschlossen werden konnte. In Ethylacetat zeigte sich bei fünf-fachem Überschuss an Allylphenol bezüglich des Eisen(III)perchlorats eine Grünfärbung. Bei Zugabe von ϵ -Caprolacton färbte sich die Lösung nach einiger Zeit braun. Folglich kann man daraus schließen, dass Allylphenol durch ϵ -Caprolacton teilweise aus dem Eisenkomplex verdrängt wird (siehe Abbildung 95).

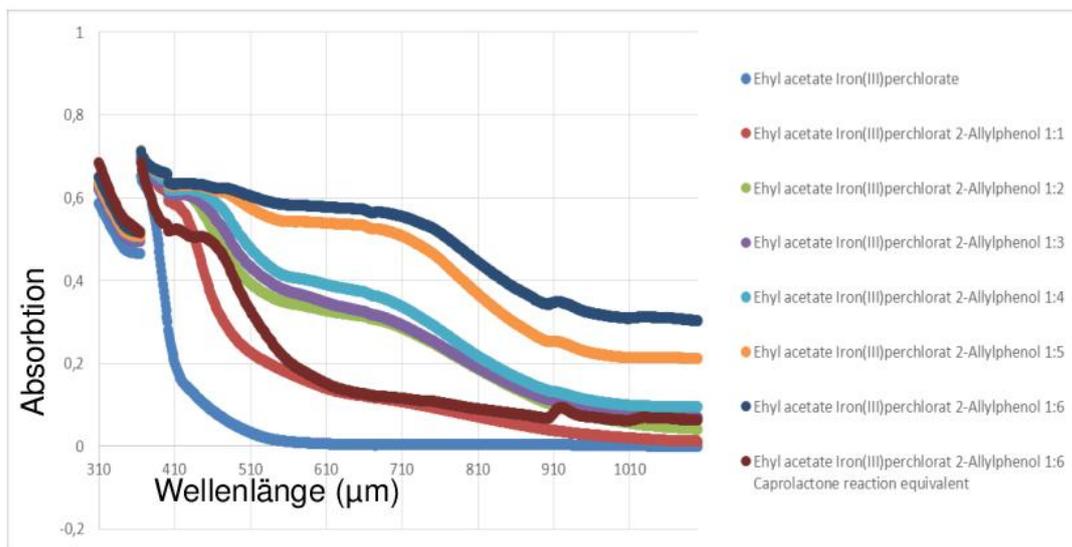


Abbildung 95: Analyse der Komplexbildung bei Verwendung von Allylphenol als Initiator bei Eisen(III)perchlorat als Katalysator.