

Polymere Nanopartikel – Latex/Pseudolatex, Emulsionspolymerisation und pharmazeutische Anwendungen

Bernd R. Paulke, Fraunhofer Institut für angewandte Polymerforschung, Potsdam-Golm

1. Was ist (ein) Latex?

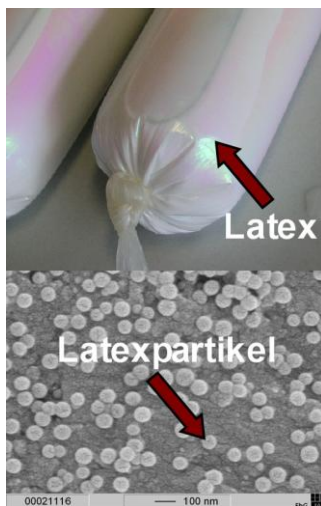


Abb. 1: Latex ist eine wässrige Suspension (siehe oben), die monodisperse kugelförmige Polymerpartikel (Latexpartikel, unterer Teil) enthält.

Eine homogene Verteilung mikroskopisch kleiner, einheitlich geformter Kunststoff-Teilchen in Wasser bezeichnet man als Latex. Das Wasser stellt die kontinuierliche Trägerphase dar, die Kunststoff-Teilchen oder Polymerkolloide bilden die disperse Phase (Abb. 1). Liegt ihr mittlerer Durchmesser deutlich unter 150nm, dann spricht man heute auch von polymeren Nanopartikeln. Die Polymerkolloide in einem Latex können aber auch z.B. 15µm im Durchmesser betragen.

Typisch für einen Latex sind die vergleichsweise große, spezifische Oberfläche ($0.2\text{m}^2/\text{g} - 200\text{m}^2/\text{g}$) sowie die hohe Grenzflächenenergie der dispersen Phase, was Latices zu thermodynamisch metastabilen Systemen macht.

Das Vorbild stellt – wie so oft – die Natur: Der Saft des Kautschukbaumes (*Hevea Brasiliensis*) enthält Nanoteilchen aus Polyisopren in breiter Größenverteilung. In der wässrigen Phase findet man grenzflächenaktive Substanzen, die zur kolloidalen Stabilität des Latex beitragen. Die Partikel sind weitgehend kugelförmig. Naturkautschuk wird, insbesondere seit der Erfindung der Vulkanisation 1839 durch Charles Goodyear, zur Herstellung von Gummi verwendet. Der Mensch erlernte erst im 20. Jahrhundert,

vergleichbare Nanopartikel aus synthetischen Polymeren herzustellen [1]. Dafür werden geeignete, hydrophobe, ungesättigte Wiederholungsbausteine (Monomere) in einer lipophilen Phase gelöst und mittels eines Emulgators in Wasser verteilt. In der unter Rühren entstandenen Emulsion wird durch thermischen Zerfall sog. Initiator eine radikalische Polymerisation gestartet, die hier als Emulsionspolymerisation bezeichnet wird (Abb. 2A)[2, 3]. Voraussetzung ist die drastische Verminderung der Sauerstoff-Konzentration in der Flotte, z.B. durch Spülen mit Stickstoff [4]. Als Biradikal inhibiert Sauerstoff die Radikal-Kettenreaktion. Die zugegebene Emulgator-Menge, Temperatur und Salzgehalt der Flotte entscheiden darüber, ob im System die kritische Mizellbildungskonzentration erreicht oder überschritten ist. Ist das der Fall, so enthält die Wasserphase neben Monomertropfen im Mikrometerbereich und molekular-dispers gelösten Einzelmolekülen des Monomers auch Emulgatormizellen. Das sind kugel- oder stäbchenförmige Assoziationskolloide mit Dimensionen zwischen 2-3nm Kugeldurchmesser und 30-80nm Stäbchenlänge. Sie können in ihrem hydrophoben Kernraum per Solubilisation oder Quellung Monomermoleküle aufnehmen und somit zu potenziellen Polymerisationsorten werden. Wo entstehende Radikale auf Monomer-Einheiten treffen, dort entstehen Polymerketten (Abb. 2B). Bedingt durch die Initiator-Auswahl geschieht die Radikalbildung bei der Emulsionspolymerisation vorrangig in der (kontinuierlichen) Wasser- und nicht in der (dispersen) Ölphase. In den großen Öltröpfen findet so kaum Polymerisation statt, dafür aber im Wasser und zum Teil in den Mizellen. Gesteuert wird dies über die Wahrscheinlichkeiten, mit denen Radikale auf die einzelnen

Bestandteile des Polymerisationssystems treffen. Die Öltröpfchen stellen ein Reservoir dar, das die Polymerisationsorte per Diffusion mit Monomer-Molekülen versorgt. Bei den üblichen Monomeren in der Emulsionspolymerisation – Styren, Methylmethacrylat, Butylacrylat, Vinylchlorid, Vinylacetat – reichen wenige Anlagerungsschritte an ein Primärradikal dafür aus, dass die entstehende Polymerkette in Wasser unlöslich wird, ausfällt und sich dabei mit anderen ausfallenden Ketten zu einem Primärpartikel von etwa 10nm Durchmesser vereinigt (Abb. 2B und C). Mit den Primärpartikeln ist eine (disperse) Polymerphase entstanden, die durch Quellung Monomer aus den Öl-Tropfen aufnimmt. In diesen, monomergequollenen Latexteilchen geht die radikalische Polymerisation weiter, bis sie durch Monomerverarmung zum Erliegen kommt. Der im System vorhandene Emulgator befindet sich zu Beginn des Prozesses adsorbiert an der Tropfenoberfläche oder in Form von Mizellen in der Flotte bzw. molekular-dispers gelöst im Wasser. Mit zunehmendem Partikelwachstum und simultan schrumpfender Tropfenoberfläche verteilen sich die Emulgatormoleküle um. Zu Beginn vorhandene Mizellen verschwinden durch Partikelbildung und –wachstum in ihrem Kern bzw. durch Umpositionierung der Emulgatormoleküle auf die wachsende, kolloidal verteilte Polymeroberfläche, die dadurch gegen Aggregation und Koagulation stabilisiert wird. Einen zusätzlichen Beitrag leisten dabei geladene Initiatorfragmente (ehem. Primärradikale, z.B. Sulfatgruppen als Überbleibsel von Sulfatanionradikalen aus dem thermischen Zerfall von Peroxidisulfaten), die als hydrophile Endgruppen der (hydrophoben) Polymerketten in die Teilchenoberfläche eingebaut werden. Dort sind sie mitverantwortlich für die elektrostatische Abstoßung gleichsinnig geladener, benachbarter Polymerteilchen, d.h. für die elektrostatische Stabilisierung des metastabilen, kolloidalen Systems (Abb. 2C und D).

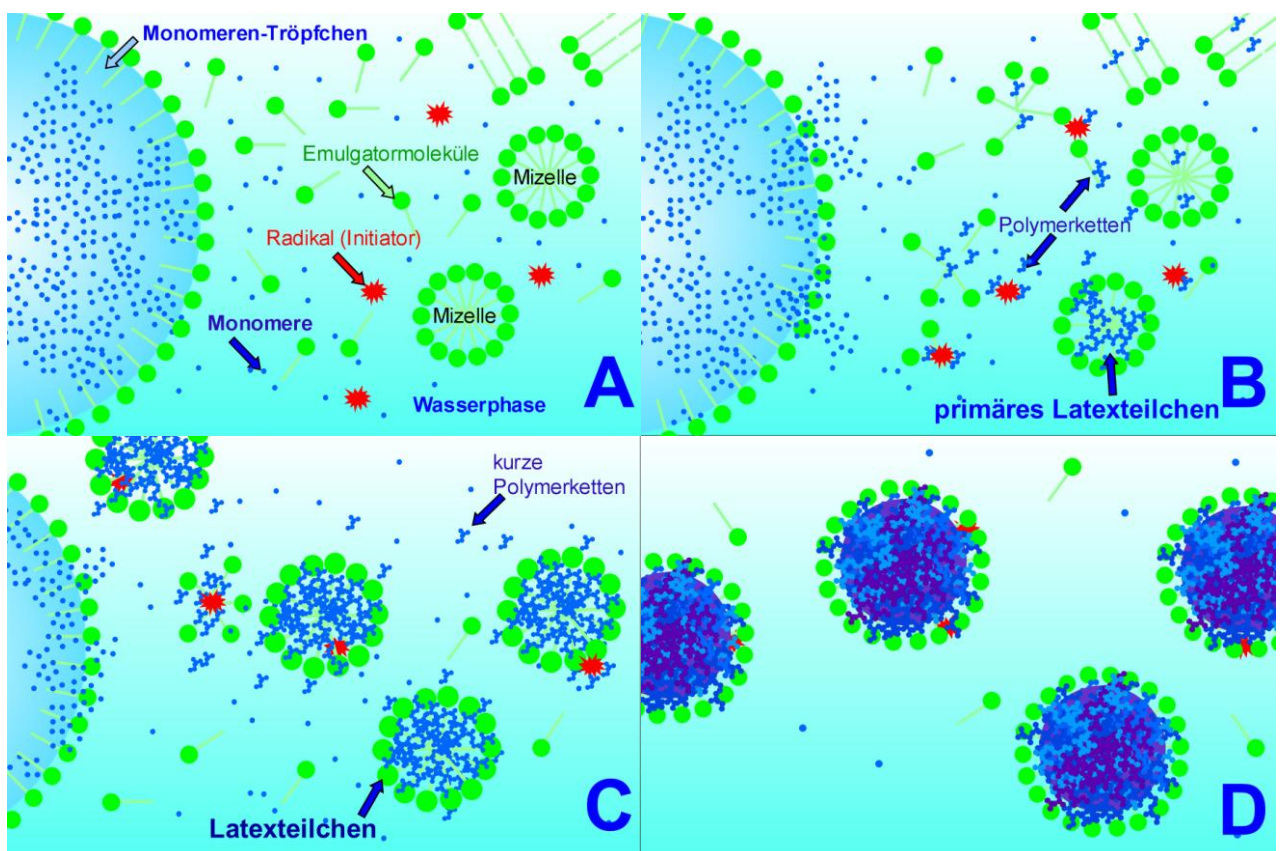


Abb. 2: Mechanismus der radikalischen Polymerisation in Emulsion (modifiziert nach [2-4])

2. Polymerisationsverfahren und Partikelgrößen

Per klassischer Emulsionspolymerisation sind Teilchengrößen zwischen etwa 30nm und ca. 600nm zugänglich. Emulgierung und Solubilisierung der Monomere sowie der Ablauf des Prozesses wurden im vorangegangenen Abschnitt erläutert. Die Emulsionscopolymerisation, die Saatpolymerisation in Emulsion und die emulgatorfreie, radikalische Polymerisation in Wasser stellen verfeinerte Spielarten der klassischen Variante dar und erweitern das Teilchengrößenintervall auf 15nm bis 2.500nm (2.5µm).

2.1 Emulsionscopolymerisation

Bei der Emulsionscopolymerisation wird ein hydrophobes, partikelbildendes Basismonomer mit einem hydrophilen Comonomer gemeinsam polymerisiert. Dafür müssen die polymerisationsfähigen Gruppen dieser Wiederholungsbausteine (Vinyl-, Acryl-, Methacryl-, ...) strukturell und polymerisationskinetisch zueinander passen, was sich in sog. Polymerisationsparametern ausdrückt. (Sie sind Tabellen zu entnehmen.) Häufig wird das hydrophile Comonomer dem polymerisierenden Latex schrittweise zudosiert oder permanent zugefahren (Zulaufverfahren), um optimale Einbauraten in die Teilchenoberfläche zu erreichen. So wird die Selbststabilisierung des Copolymers in Wasser verbessert. Bei konstantem Emulgatorgehalt sinkt die mittlere Teilchengröße im End-Latex.

2.2 Saatpolymerisation

Bei der Saatpolymerisation wird ein fertiger Latex aus einem vorgeschalteten Prozess erneut zur Polymerisation vorgelegt. Dafür werden Emulgator, Monomer und Initiator zugegeben. Voraussetzung ist die Quellbarkeit des vorgelegten Polymers mit dem Monomer. Das Polymer aus der Vor- und der Saatstufe müssen dabei nicht übereinstimmen; es kann auch ein zweites Polymer mit anderen Eigenschaften entstehen. Vorteile des Prozesses bestehen in der Kontrolle über die Partikelkonzentration, die Partikelmorphologie und den Größenzuwachs der Polymerpartikel. Somit lässt sich z.B. eine vorgegebene Soll-Teilchengröße über Saat-Stufen in der Regel erreichen. Auf der anderen Seite ist der kontrollierte Aufbau von Kern-Schale-Partikeln möglich.

2.3 emulgatorfreie radikalische Polymerisation

Per emulgatorfreier, radikalischer Polymerisation in Wasser gelingt in einem Schritt die Präparation von größeren Submikron-Teilchen und sogar von Mikropartikeln mit enger Größenverteilung. Die Spezifik liegt zum einen darin, aus Primärradikalen und wenigen Wiederholungseinheiten den notwendigen Emulgator ‚in situ‘ selbst zu synthetisieren. Ergänzt wird das durch ein sehr schmales Zeitfenster für die Entstehung kolloidal stabiler Primärpartikel. Im Resultat wächst eine vergleichsweise kleine Teilchenpopulation, stabilisiert mit wenig Emulgator, zu einer uniformen, hohen Teilchengröße heran.

3. Theorien zur Emulsionspolymerisation

Schon bald nach der großindustriellen Etablierung der Technologie der Emulsionspolymerisation (um 1930) wurden erste, qualitative Vorstellungen zum Mechanismus veröffentlicht. Fikentscher erkannte die wässrige Phase – und nicht die Monomertropfen – als Ort der Polymerisation [5]. Nach Harkins stellen die Mizellen mit dem darin solubilisierten Monomer den Ort der Initiierung der Polymerisationsreaktion dar [6]. Als entscheidend für die Polymerisationsgeschwindigkeit sah Harkins den Monomeranteil der Latexpartikel an. Eine Quantifizierung der Vorstellungen von Harkins erreichte das Modell von Smith und Ewart von 1948 [7]. Es hielt sich bis in die 70er Jahre, wurde durch Ugelstad / 1967 reformiert und erweitert (Oligomere, Quellung, Mizellpolymerisation) [8], aber dann durch die ‚Theorie der homogenen Nukleierung‘ von Robert

M.Fitch / 1971 weitgehend verdrängt und abgelöst [9]. Heute geht man selbst bei den hydrophobsten, in Emulsion polymerisierbaren Monomeren davon aus, dass die ersten Wachstumsschritte im Wasser, außerhalb der Mizellen, erfolgen.

4. Was bedeutet metastabil?

Jedes System strebt den energetisch niedrigsten Zustand an. Für Latex bedeutet das die permanente Tendenz, die Oberfläche zu verkleinern, d.h. zu koaleszieren oder zu aggregieren. Dagegen muss der Präparator geeignete Maßnahmen im Sinne der kolloidalen Stabilität ergreifen, also z.B. Emulgator zusetzen oder über die Latexsynthese geladene Gruppen auf die Nanopartikel-Oberfläche bringen.

Andererseits folgt aus diesen Voraussetzungen, dass ein Latex dazu neigt, auf seiner großen Oberfläche Fremdstoffe zu adsorbieren. Das nutzt man in der Technik beim Einsatz als Reinigungsmilch und Schmiermittel aus. – Die Teilchenoberfläche lässt sich aber genauso mit Biomolekülen belegen, also mit Peptiden, Antikörpern, Lektinen oder Enzymen. Die Kopplung von Enzymen kann einen Einstieg in die Biotechnologie bedeuten, von Antikörpern bishin in die Immundiagnostik. Die Bindung kann adsorptiv oder chemisch-kovalent erfolgen. Für die adsorptive Beladung sind hydrophobe Nanopartikel besonders geeignet, für die chemisch-kovalente Kopplung sind es hydrophile, funktionalisierte.

5. Wie kann man Nanopartikel-Latex gestalten? Was lässt sich variieren?

Latex entsteht vorzugsweise durch großindustrielle Emulsionspolymerisation. Eine Emulsion ungesättigter Monomer-Bausteine wird einer radikalischen Polymerisation unterworfen. Dabei entstehen Latexteilchen im Wasser, die bis zum Verbrauch des Monomers in den Tropfen weiterwachsen. Die Teilchen werden durch Diffusion über die Wasserphase mit Monomer-Molekülen versorgt.

Durch die Auswahl der Wiederholungseinheiten, das Mischungsverhältnis sowie die Art und Weise der Dosierung lassen sich polymere Nanopartikel nahezu universell gestalten: Dichte, Morphologie (Kugel, Himbeere, Kern-Schale), Oberflächenstruktur (glatt, ‚haarig‘), Hydrophilie / Hydrophobie, Oberflächenladungsdichte, Glasübergangstemperatur und Besetzung mit funktionellen Gruppen (Hydroxyl-, Carboxyl-, Thiol-, Amino-, Epoxy-, Aldehyd-....) sind präzise einstellbar.

Mit Farbstoffen, Fluoreszenzmarkern, Pigmenten und Wirkstoffen lassen sich polymere Nanopartikel u.a. durch Einschlusspolymerisation ausstatten. Bei den Farbstoffen oder Fluoreszenzmarkern ist es vorteilhaft, den Einschluss mit einer festen chemischen Bindung an die Polymermatrix zu verknüpfen, um ein Ausbluten bei späteren Arbeitsschritten zu verhindern. Die Bindung erfolgt mittels reaktiver Gruppen des Polymers (Epoxy-, Aldehyd-). Die Art der Vergesellschaftung mit einem Wirkstoff für ein Drug Targeting richtet sich nach dem gewünschten Freisetzungsprofil. Physikalisch in das Polymer-Kügelchen eingeschlossen, erreicht der Wirkstoff durch Diffusion die Partikelgrenzschicht und die Wasserphase. Diese Freisetzung geschieht langsam und stetig. Wird die Substanz alternativ über funktionelle Gruppen an die Oberfläche gekoppelt, dann bestimmt die reaktive Abspaltung, gesteuert z.B. über eine Enzymkonzentration, die Freisetzungsrates. Ähnliches gilt für die Wirkstofffreisetzung über einen enzymatischen Abbau der Nanopartikel oder einer wirkstoffhaltigen Schale. Beispiele hierfür stellen Polyalkylcyanoacrylat-Nanosphären dar. Bei hoher Beladung und schnellem Abbau ergibt sich ein sog. ‚burst release‘, - eine massive Wirkstofffreisetzung in relativ kurzer Zeit. - *D.h. bei Ansätzen zu einem gezielten Wirkstofftransport mittels polymerer Nanopartikel lässt sich das Freisetzungsprofil über die Wahl des Polymers und die Vorgehensweise bei der Einbindung des Wirkstoffes vorausbestimmen.*

6. Was macht Latex (= polymere Nanoteilchen in Wasser) für Anwender attraktiv?

Nanopartikel aus synthetischen Polymeren lassen sich einheitlich gestalten und größenidentisch herstellen. Der Mikrobiologe hat damit ein definiertes Substrat für Zellaufnahme-Experimente (Phyocytose, Endocytose) vor sich. Ein Biotechnologe kann auf einer geometrisch übersichtlichen, großen Fläche Enzyme koppeln. Der Immunologe bringt darauf Antikörper unter. Pharmazeutische Technologen arbeiten Wirkstoffe in die Kugeln ein oder beladen sie damit. Über den Einbau paramagnetischer Pigmente und die Beladung mit Schwermetallionen kommt man zu Kontrastmitteln. Der Nanotechnologe baut aus variabel gestalteten, (elektronen-)mikroskopisch kleinen Kügelchen heute makroskopische, hierarchische Strukturen auf, z.B. über die Präparation geordneter Schichten monodisperser Nanopartikel. Mehr und mehr wird diese Nanotechnologie mit anderen nanoskaligen Bausteinen, wie Würfeln oder Quadern, kombiniert.

All dies sind Hartkugel-Anwendungen von polymeren Nanopartikeln mit Glasübergangstemperaturen über 80°C. Durch eine stark veränderte Auswahl der Wiederholungseinheiten für eine Emulsionspolymerisation lassen sich aber auch z.B. -20°C erreichen. Solche Nanopartikel koaleszieren und verfilmen weit unterhalb der Raumtemperatur. Sie sind typisch für Lacke / Farben / Anstrichstoffe. In der Biomedizin eignen sie sich z.B. für funktionale, optisch transparente Beschichtungen von Mikrotitrationsplatten.

7. Biomedizinische Anwendungen polymerer Nanopartikel

Die erste, bemerkenswerte Anwendung synthetischer Polymerteilchen in der Biomedizin beschrieben Singer & Plotz 1956 [10]. Sie erfanden den Latex-Agglutinationstest. Hier wurde die Immunreaktion zwischen Antigen und Antikörper sichtbar gemacht, indem eine Komponente mit einem Latexpartikel verknüpft wurde, zunächst per adsorptiver Bindung, später kovalent. Dadurch, dass ein Antikörper 3 oder mehr Bindungsstellen besitzt, entstehen bei erfolgreicher Immunreaktion rasch große Agglutinate, die man mit bloßem Auge erkennen kann und somit den Antikörpernachweis einfach und sicher ermöglichen.

Bald darauf wurden monodisperse Polymerpartikel als geeignete Substrate für Phagozytose-Studien [11, 12] erkannt. Unmittelbar im Kontext erfolgte die Applikationserweiterung auf die intra- und extrazelluläre Zellmarkierung [13]. Nachdem man gelernt hatte, die Polymerpartikel im Kern oder nahe der Peripherie mit paramagnetischen Pigmenten auszustatten, gelang der Einstieg in die gezielte, magnetische Zellseparation unter Nutzung monoklonaler Antikörper (s. autologe Knochenmarkstransplantation) [14].

Die Erschließung dieser Applikationsfelder war eingebettet in einen allgemeinen Aufbruch zu neuen, polymeren Trenn- und Trägermaterialien. Dafür wurde ein Spektrum standardisierter, nahezu universell einsetzbarer Aktivierungs- und Kopplungsreaktionen erarbeitet (s. Bromcyan-, Glutaraldehyd-, Carbodiimid-, meta-Perjodat-Methode etc.) [15].

8. Nutzung und Weiterentwicklung polymerer Nanopartikel in der Pharmazie

In den 80er Jahren entdeckten Pharmazeuten und pharmazeutische Technologen die polymeren Nanopartikel als Träger von Wirkstoffen und Nanopartikeln. Sie erprobten die grundlegenden Polymerisationsverfahren und fokussierten sich in ihren Arbeiten auf Monomere, die bis dahin von geringerem Interesse waren, den Pharmazeuten aber für ihre Ambitionen besonders geeignet erschienen. Neben den Polyaldehyden [16] stellen die Polyalkylcyanoacrylate ein Beispiel dafür dar. Auf der außergewöhnlichen Elektronendichteverteilung ihrer Monomer-Bausteine basiert der ionische Polymerisationsmechanismus, der für diese Polymere typisch ist. Im Resultat kann bei diesen Latexsynthesen auf den Sauerstoff-Ausschluss verzichtet werden, was die experimentelle

Anordnung extrem vereinfacht [17]. Nach intensiver Beschäftigung mit der Nanopartikel-Präparation in heterophasigen Systemen unterteilte J. Kreuter die Syntheseprodukte in biologisch nicht abbaubar (Beispiel: Polystyren), langsam biologisch abbaubar (Beispiel: Polymethylmethacrylat) und schnell abbaubar (Beispiel: Polybutylcyanoacrylat) [18]. In dieses Eckpunkte-Schema lassen sich alle anderen Präparate (Homo- und Copolymere) zwanglos einordnen.

In der Polymerwissenschaft versteht man unter Abbau eine fortschreitende Reduktion des Molekulargewichts von Makromolekülen durch Kettenspaltung oder –verkürzung. Das ist bei den genannten Beispielen aber nicht der Fall. Durch Ester-Hydrolyse oder enzymatische Spaltung werden die Seitenketten (Methanolat, Butanolat) entfernt. Ein festes Polymermaterial wandelt sich somit in eine wasserlösliche Polysäure um. D.h. die Trägerpartikel lösen sich auf, sie verschwinden, aber die Polymerstruktur bleibt.

In interdisziplinären Grundlagenprojekten der Pharmazie in den 90er Jahren dienten polymere Nanopartikel als Referenzen zu Liposomen und festen Lipid-Nanopartikeln, sowie außerdem als Modellarzneistoffträger mit unterschiedlicher Kolloidstruktur (glatte Kugel, ‚haarig‘, Kern-Schale). Biologisch nicht abbaubare Polymerpartikel im Nanometerbereich mit eingestellten, physikochemischen Oberflächeneigenschaften wurden benutzt, um Korrelationen dieser Parameter zu den spezifischen Plasmaprotein-Adsorptionsmustern nach Blutkontakt sowie zur Körperverteilung der intravenös injizierten Modellträger zu ermitteln [19]. Dadurch wurde die Datenbasis zur Eiweiß-Wechselwirkung mit Polymeroberflächen bemerkenswert verbreitert. Der Mechanismus der Fragmentierung des Plasmaproteins C3 infolge des Kontakts mit einer hydrophoben Polymeroberfläche wurde einer Einsatz von Nanopartikeln aufgeklärt. Dieser Prozess spielt bei der Aktivierung des Immunsystems eine wichtige Rolle [20].

Besonderes Interesse erlangten polymere Nanopartikel in der Pharmazie, seit entdeckt wurde, dass mit ihrer Hilfe ein Zugang zur medikamentösen Therapie des zentralen Nervensystems besteht. Mit Polybutylcyanoacrylat-Nanopartikeln geeigneter Größe, Beschichtung und Wirkstoffbeladung gelang es J. Kreuter Mitte der 90er Jahre, mit dem Wirkstoff Dalargin die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden [21].

9. Pseudolatex / -latices oder Sekundärdispersionen

Ein Latex entsteht durch eine Polymeraufbaureaktion in Wasser, wobei die Erfordernisse der kolloidalen Stabilität eingehalten werden. Das Resultat ist gekennzeichnet durch eine vergleichsweise große, spezifische Oberfläche und eine hohe Oberflächenenergie. Dadurch sind solche kolloidalen Verteilungen thermodynamisch metastabile Systeme.

Aber auch ohne Polymeraufbaureaktion lässt sich dieser kolloiddisperse, metastabile Zustand erreichen. Dazu geht man von einer Lösung des Polymers in einer mit Wasser nicht mischbaren, organischen Phase aus und mixt diese unter Einsatz von Rührenergie mit einer ausreichend großen Wassermenge. Je nach Zugabeabfolge und Volumenverhältnis kann es dabei zu einer Phaseninversion kommen. Die notwendige, kolloidale Stabilität wird zum einen durch geeignete Zusätze (Emulgatoren, Stabilisatoren) und andererseits durch die Auswahl bzw. Gestaltung des Polymers (hydrophile Kettensequenzen, PEG-Blöcke etc.) erreicht. Entweder parallel zum Vermischen oder im Anschluss daran wird das organische Lösungsmittel durch anlegen von Vakuum abgezogen [22].

Im Rahmen der großindustriellen Polymertechnologie werden solche Pseudolatices als Sekundärdispersionen bezeichnet [23].

10. Literatur

1. Q. Wang et al., Emulsion Polymerization, *Progr. Polym. Sci.* 19 (1994). pp. 703-753.
2. J. Ulbricht, *Grundlagen der Synthese von Polymeren*, 1978, Akademie-Verlag. Berlin.
3. B. Philipp, G. Reinisch, *Grundlagen der makromolekularen Chemie*, 1976, Akademie-Verlag. Berlin.
4. H.D. Dörfler, *Grenzflächen- und Kolloidchemie*, 1994, Wiley/VCH. Weinheim.
5. H. Fikentscher, *Angew. Chem.* 51(1938). pp. 433.
6. W.D. Harkins, *J.Amer.Chem.Soc.* 69 (1947). pp. 1428.
7. W.V. Smith, R.H. Ewart, *J.Chem.Phys.* 16(1948). pp. 592.
8. J. Ugelstad et al., *J.Polym.Sci* 5 (1), (1967). pp. 2281.
9. R.M. Fitch, L.B. Shih, *Progr.Colloid Polym.Sci.* 56(1975). pp. 1.
10. M.J. Singer, C.M. Plotz, *Amer.J.Med.* 21(1956). pp. 888.
11. K. Meißner et al., Immunobeads - Methodische Arbeiten für verschiedene Einsatzgebiete, *Z. Klin. Med.* 45(1990). pp. 1853.
12. W.E. Bucke, Leitzke, S., Diederichs, J. E., Borner, K., Hahn, H., Ehlers, Müller, R. H., Surface-modified amikacin-liposomes: Organ distribution and interaction with plasma proteins, *J. Drug Targ.* 5(2), (1997). pp. 99-108.
13. B.-R. Paulke et al., Synthesis of nanoparticles for brain cell labelling in vivo, *Acta Polymerica* 43(1992). pp. 288.
14. J. Ugelstad, P.C. Mork, Preparation and Biochemical and Biomedical Applications of New Monosized Polymer Particles, *Polymer Internat.* 30(1993). pp. 157.
15. G.T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, 2008, Academic Press. San Diego, London.
16. S. Margel et al., *J. Immunol. Meth.* 28(1979). pp. 341.
17. P. Couvreur, Polyalkylcyanoacrylates as colloidal drug carriers, *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 5(1), (1988). pp. 1-20.
18. J. Kreuter, Physicochemical characterization of polyacrylic nanoparticles, *Int. J. Pharm* 14(1983). pp. 43.
19. M. Lück et al., Analysis of plasma protein adsorption on polymeric nanoparticles with different surface characteristics, *J Biomed Mater Res* 39(3), (1998). pp. 478-85.
20. M. Luck et al., Complement activation by model drug carriers for intravenous application: determination by two-dimensional electrophoresis, *Biomaterials.* 20(21), (1999). pp. 2063-8.
21. A. Kreuter et al., Psoriasiform pustular eruptions from pegylated-liposomal doxorubicin in AIDS-related Kaposi's sarcoma, *Acta Derm Venereol* 81(3), (2001). pp. 224.
22. T. Blunk, Hochstrasser, D. F., Sanchez, J.-C., Müller, B. W., Müller, R. H., Colloidal Carriers for Intravenous Drug Targeting: Plasma Protein Adsorption Patterns on Surface-Modified Latex Particles Evaluated by Two-dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis, *Electrophoresis* 14(1993). pp. 1382-1387.
23. Wikipedia-Autoren, *Polymerdispersion 2009*, Wikipedia, Die freie Enzyklopädie.