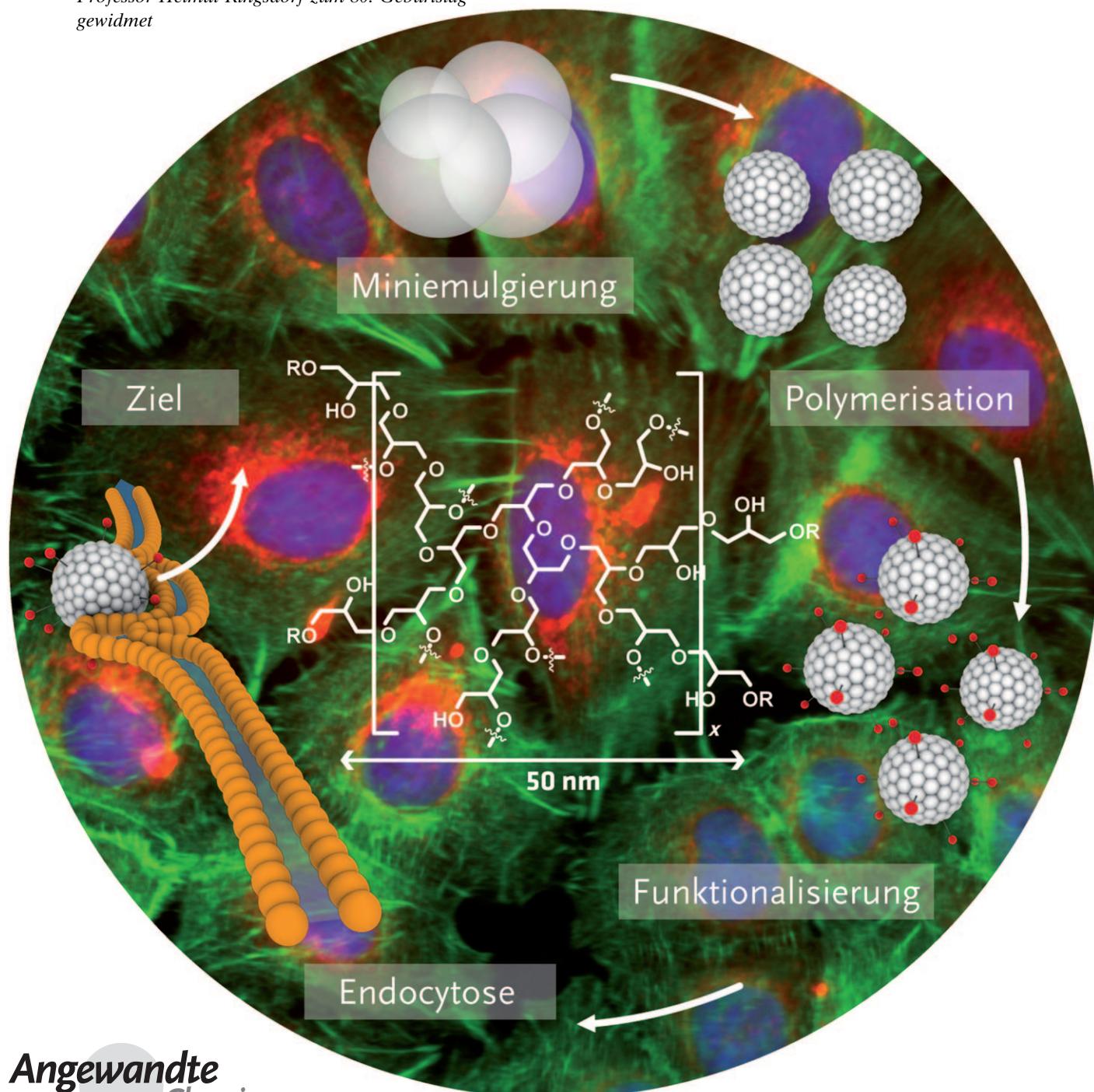


# Biokompatible funktionalisierte zellgängige Polyglycerinmikrogele\*\*

Adam L. Sisson, Dirk Steinhilber, Torsten Rossow, Pia Welker, Kai Licha und Rainer Haag\*

Professor Helmut Ringsdorf zum 80. Geburtstag  
gewidmet



Dendritische Architekturen in Form kugelförmiger Gebilde mit niedriger Viskosität und zugleich hoher Dichte an funktionellen Oberflächengruppen haben vielfältige chemische und biomedizinische Anwendungen gefunden.<sup>[1]</sup> Dies gilt nicht nur für die monodispersen und bisher nur aufwändig herzustellenden perfekten Dendrimere, sondern auch für die hyperverzweigten Polymere, die üblicherweise in einer Stufe hergestellt werden und in ihren Eigenschaften den perfekten Dendrimeren sehr ähnlich sind.<sup>[2]</sup> Hyperverzweigtes Polyglycerin (HPG),<sup>[3]</sup> das traditionell durch anionische Ringöffnungspolymerisation von Glycidol (3-Hydroxypropylenoxid)<sup>[4]</sup> hergestellt wird, stellt eine solche Klasse von „dendrimerähnlichen“ Polymeren dar. HPGs weisen eine hohe Biokompatibilität auf und wurden mit Molgewichten bis zu  $M_n \approx 1$  MDa (Durchmesser  $\approx 10$  nm), enger Polydispersität und guter Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln hergestellt.<sup>[5]</sup> Makrogele auf HPG-Basis wurden bereits für den Transport von Wirkstoffen und für die Gewebezüchtung (Tissue Engineering) entwickelt.<sup>[6]</sup> Bislang gibt es jedoch noch keine effiziente Syntheseroute zu biokompatiblen und wasserlöslichen Mikrogele im Nanometerbereich (10–200 nm).<sup>[7,8]</sup> Mikrogele sind spezielle, hochmolekulare Polymere, die die Eigenschaften von hyperverzweigten wie auch von makroskopisch vernetzten Materialien aufweisen und durch Polymerisation in abgegrenzten Volumina (Emulsionen, Micellen usw.) hergestellt werden können.<sup>[8a]</sup> Mikrogele können analog zu linearen Polymeren gelöst werden, wobei ihre Konformation wegen vereinzelter Vernetzungen weitestgehend fixiert ist. Vernetzte Poly(*N*-isopropylamid)(PNIPAM)-Mikrogele wurden bereits intensiv hinsichtlich ihrer physikalischen Reaktion auf externe Stimuli sowie auf ihre Eignung als neuartige Materialien und Wirkstofftransporter untersucht.

Auf Grundlage der allgemeinen Endozytosestudien von Nanopartikeln<sup>[9]</sup> stellen wir die Hypothese auf, dass Polyglycerinmikrogele (PG- $\mu$ -Gele) optimaler Größe effizient und ungestört in Zellen aufgenommen werden. Weiterhin sind sie vielversprechende Bausteine für den Wirkstofftransport und die Diagnostik. Dabei sollten Partikeldurchmesser zwischen 25 und 50 nm gemäß diesen vorhergehenden Studien für die zelluläre Aufnahme am besten geeignet sein, da sich Nanopartikel in diesem Größenbereich durch den Effekt der verbesserten Permeation und Retention (enhanced permeation and retention effect) vornehmlich passiv in krankheitsbelasteten Geweben anreichern.<sup>[10]</sup>

Die Polymerisation in Miniemulsionen schien uns am vielversprechendsten, um Partikel in der erforderlichen Größenordnung herzustellen. Miniemulsionen sind spezielle Heterophasendispersionen stabiler Nanotröpfchen in einer kontinuierlichen, unlöslichen Phase.<sup>[11]</sup> Durch starkes Scheren des zweiphasigen Systems in Gegenwart eines geeigneten Tensids entstehen Tröpfchen mit enger Größenverteilung, die in der Größenordnung von 20–200 nm einstellbar sind. Jedes Tröpfchen wirkt hierbei als einzelner Nanoreaktor, in dem eine Reihe von Polymerisationen initiiert werden kann, wodurch Produkte definierter Größe erzeugt werden.<sup>[12]</sup> Hochmolekulare, lineare Polymere wie Polyester,<sup>[13]</sup> Polyurethane,<sup>[14]</sup> und Polyether (Diol/Bisepoxid)<sup>[15]</sup> wurden auf diese Weise ausgehend von Diolen und zweiwertigen Elektrophilen hergestellt. Die Ausweitung dieser Methode auf verzweigte Monomere führt dabei zu hochverzweigten und vernetzten Produkten. Auf diese Weise können maßgeschneiderte Nanopartikel hergestellt werden, die sich durch weitere Merkmale wie Bioabbaubarkeit und Oberflächenfunktionalisierung auszeichnen.<sup>[16]</sup>

Hier stellen wir eine neue Synthese hochmolekularer PG- $\mu$ -Gele vor, die auf der säurekatalysierten Polyaddition von zwei preisgünstigen und leicht verfügbaren Bausteinen beruht: dem Triol Glycerin (**1**) und dem Trisepoxid Triglycidylglycerinether (**2**; Schema 1). Durch die Miniemulsionsbedingungen ist es möglich, einzelne PG- $\mu$ -Gele mit Durchmessern bis 80 nm zu erhalten, die eine vollständige Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln, einschließlich Wasser, aufweisen.<sup>[17]</sup> Unser System beruht auf inversen Miniemulsionen, in denen die polaren Monomere in unpolarem Cyclohexan dispergiert werden. Ein Poly(ethylen-co-butylen)-block-poly(ethylenoxid)-Tensid erwies sich dabei als geeigneter Stabilisator der Glycerin/Trisepoxid-Nanotröpfchen,<sup>[18]</sup> besonders unter Beimischung einer kleinen Menge des Ultrapophoben Dimethylsulfoxid (DMSO), das die Destabilisierung der Tröpfchen durch Ostwald-Reifung unterdrückt.<sup>[19]</sup> Die Herstellung der Miniemulsionen erfolgte durch Behandlung mit einer Ultraschalllanze, und die nachfolgende Polymerisation in den „Nanoreaktoren“ wurde durch Zugabe von *p*-Toluolsulfonsäure (*p*-TSA) als Säurekatalysator gestartet. Die durch kationische Ringöffnungspolymerisation erzeugten Nanopartikel haben eine definierte Größe, da die kontinuierliche, das Monomer nicht lösende Phase Fusionen von dispergierten Tröpfchen verhindert. Die Produkte wurden nach Fest/flüssig-Extraktion in Hexan und anschließender Dialyse in Wasser quantitativ und tensidfrei isoliert.

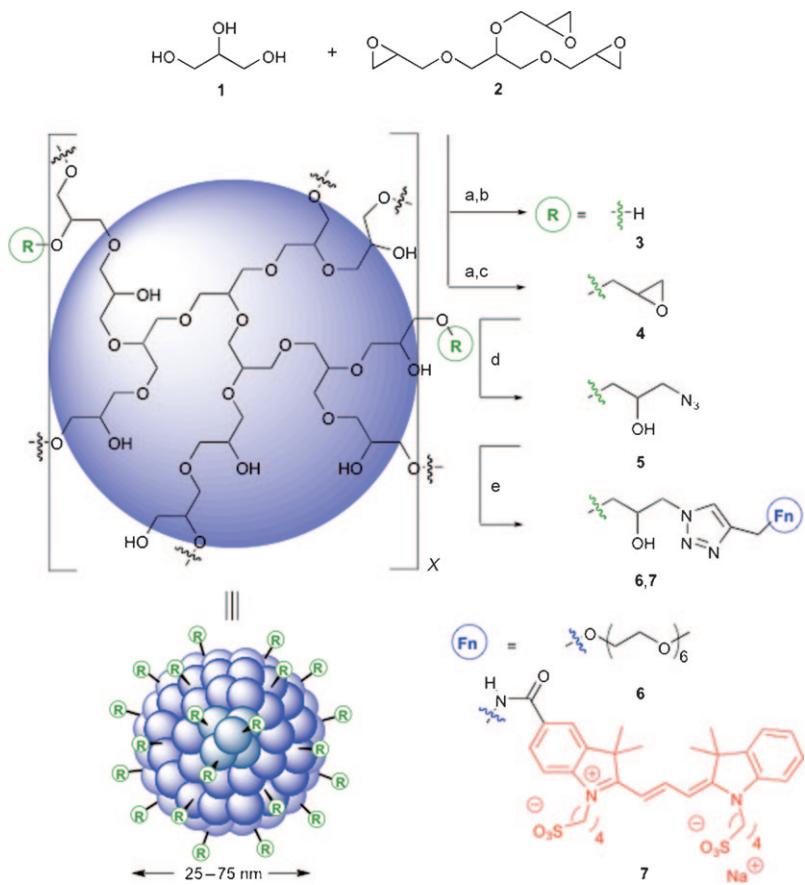
Um die Größe der Nanopartikel zu steuern, wurden verschiedene Parameter variiert (siehe Tabelle 1). Bei konstanter 0.2 mM Tensidkonzentration in Cyclohexan konnten durch Variation des Volumenverhältnisses von dispergierter Phase (Monomer + DMSO) zu kontinuierlicher Phase die PG- $\mu$ -Gele **3a–d** mit einstellbaren Durchmessern zwischen 25 und 65 nm hergestellt werden.

Ein Vergleich der Produkte **3a** und **3b** zeigt, dass bei 25 nm eine untere Grenze der Partikeldurchmesser erreicht wird. Ein weiterer Faktor, der den Durchmesser beeinflusst, ist das anfängliche 1/2-Monomerverhältnis. Vergleicht man die Produkte **3d–f**, wird offensichtlich, dass eine größere Menge an Glycidylglycerinether **2** im Reaktionsgemisch zu kleineren

[\*] Dr. A. L. Sisson, D. Steinhilber, T. Rossow, Prof. Dr. R. Haag  
Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin  
Takustraße 3, Berlin 14195 (Deutschland)  
Fax: (+49) 30-838-53357  
E-Mail: haag@chemie.fu-berlin.de  
Homepage: <http://www.polytree.de>  
P. Welker, Dr. K. Licha  
mivenion GmbH, Robert-Koch-Platz 4, Berlin 10115 (Deutschland)

[\*\*] Wir danken der Alexander von Humboldt-Stiftung für die finanzielle Unterstützung von A.L.S., Helmut Schlaad für die Bereitstellung des Tensids sowie Wiebke Fischer und Andrea Schulz für TEM-Aufnahmen.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200901583> zu finden.



**Schema 1.** Synthese reiner PG- $\mu$ -Gеле und oberflächenfunktionalisierter PG- $\mu$ -Gelpartikel:  
a) Cyclohexan/DMSO/Blockcopolymer, Ultraschall-initiierte Miniemulsionsbildung  
4×1 min; b) p-TSA (kat.), 115°C, 16 h; c) p-TSA (kat.), 115°C, Variation der Reaktionszeit (Tabelle 2); d)  $\text{NaN}_3$ , DMF, 60°C, 24 h; e) Propargylderivat,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Natriumascorbat,  $\text{H}_2\text{O}$ , 24 h.

**Tabelle 1:** Variation der Reaktionsparameter zur Steuerung der Partikelgrößen.<sup>[a]</sup>

Produkt	Monomer-verhältnis <sup>[b]</sup>	Monomer [mg] <sup>[c]</sup>	DMSO [mL]	Durchmesser [nm]
3a	3:2	135	0.05	$23.7 \pm 2.8$ <sup>[d]</sup>
3b	3:2	270	0.1	$22.4 \pm 2.2$ <sup>[e]</sup>
3b	3:2	270	0.1	$24.1 \pm 2.5$ <sup>[d]</sup>
3c	3:2	1080	0.2	$49.0 \pm 7.6$ <sup>[d]</sup>
3d	3:2	2160	0.4	$67.3 \pm 5.9$ <sup>[d]</sup>
3e	3:3	2160	0.4	$54.3 \pm 6.0$ <sup>[d]</sup>
3f	3:1	2160	0.4	$80.6 \pm 6.9$ <sup>[d]</sup>

[a] Konstante Parameter: 15 mL Cyclohexan, 20 mg Tensid, 20 mg p-TSA.

[b] Alkohol/Epoxid-Verhältnis. [c] Summe der Mengen 1 und 2 mit dem zuvor genannten Verhältnis. [d] Durch DLS bestimmt. [e] Durch TEM bestimmt.

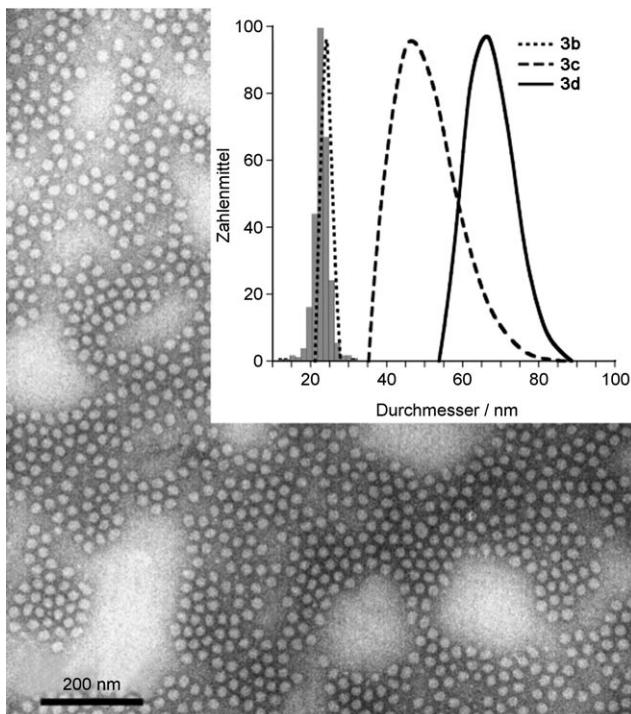
Partikeldurchmessern führt. Dies kann durch den höheren Verzweigungsgrad und die kompaktere Struktur der Mikrogele, hervorgerufen durch stärkere Vernetzung, erklärt werden. Inverse-gated-<sup>13</sup>C-NMR-spektroskopische Untersuchungen (Hintergrundinformationen) lassen auf einen Verzweigungsgrad (Verhältnis von Ether- zu Hydroxysauer-

stoffatomen) von etwa 60% im typischen Fall von **3d** schließen. Weitere Studien zur inneren Struktur sind bereits im Gange. Partikelgrößen wurden durch dynamische Lichtstreuung (DLS) und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM; siehe Abbildung 1) bestimmt.

Unter den gewählten Bedingungen wurde eine vollständige Reaktion erreicht, was <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopisch durch die quantitative Umsetzung der Epoxidinheiten nachgewiesen wurde. Durch kürzeres Heizen des Reaktionsgemisches können aber auch Nanopartikel ähnlicher Größe und Qualität hergestellt werden, die immer noch eine signifikante Menge an nicht umgesetzten Epoxidgruppen tragen (siehe Tabelle 2). Diese Epoxidgruppen lassen sich in einer Ringöffnungsreaktion mit Natriumazid umsetzen und eröffnen so einen einfachen Zugang zu Azid-funktionalisierten PG- $\mu$ -Gelen **5**. Diese reaktiven Substrate eignen sich mit bis zu 0.19 Azideinheiten pro Glycerinwiederholungseinheit gut für eine Weiterverarbeitung. Beispielsweise wurde ein propargylierter Polyethylenglycolmonomethylether (mPEG 350) mit **5b** (0.15 Azideinheiten pro Glycerinwiederholungseinheit) durch kupferkatalysierte Sharpless/Huisgen-Klickreaktion erhalten.<sup>[20]</sup> Durch IR-Spektroskopie (Hintergrundinformationen) wurde eine quantitative Reaktion nachgewiesen, was belegt, dass alle Azidgruppen im resultierenden PG- $\mu$ -Gel gut zugänglich sind. Dies deutet entweder auf das Vorliegen einer sehr expandierten Serie von Netzwerken hin, oder es liegen als Resultat des Polymerisationsmechanismus alle nicht umgesetzten Epoxidgruppen an der Oberfläche der Partikel. Die DLS- und TEM-Analysen der mPEG-schalenfunktionalisierten PG- $\mu$ -Gelen **6** sind exemplarisch in Abbildung 2 dargestellt.

Um die Aufnahme dieser PG- $\mu$ -Gelen in Zellen zu untersuchen, wurde **5d** (0.05 Azideinheiten pro Glycerinwiederholungseinheit) gemäß Schema 1 mit einem Fluoreszenzfarbstoff konjugiert. Der Fluorophor beruht auf einem Indocarbocyaninfarbstoff (ICC; Absorptionsmaximum 550 nm, Fluoreszenzmaximum 580 nm), dessen Monocarboxyeinheit in ein Propargylamid umgewandelt wurde, um den Farbstoff durch eine Klickreaktion an das Mikrogel **5d** zu kuppeln.<sup>[21]</sup> Gemäß ersten Tests zur zellulären Aufnahme ordnen sich die so gebildeten Nanopartikel **7** bei 37°C im perinuklearen Bereich von menschlichen Lungenkrebszellen an, mit einer signifikant reduzierten Aufnahme bei 4°C. Dagegen führte ein niedermolekularer Kontrollfarbstoff **8** mit einer Triglycerineinheit nicht zu einer zellulären Fluoreszenz. Diese Befunde (Abbildung 3) lassen auf einen großenabhangigen endozytotischen Mechanismus der Zellaufnahme schließen. In zukünftigen Arbeiten werden wir dieses Phänomen detaillierter erforschen.

Ausgehend von unseren Vorarbeiten nahmen wir an, dass sich diese neuen Polyglycerinmaterialien durch eine hohe



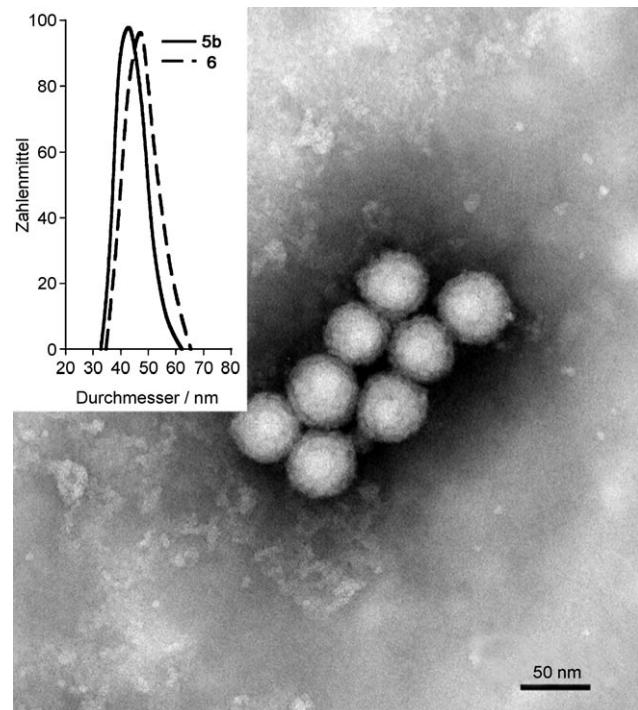
**Abbildung 1.** TEM-Aufnahme von PG- $\mu$ -Gel 3b, negativ mit Phosphorwolframsäure kontrastiert. Einschub: DLS-Kurven der PG- $\mu$ -Gеле 3b–d und ein Histogramm des PG- $\mu$ -Gels 3b, bei dem Partikelgrößen von der TEM-Aufnahme vermessen wurden.

**Tabelle 2:** Variation der Reaktionszeit führt zu epoxidfunktionalisierten Nanopartikeln durch unvollständige Reaktion.<sup>[a]</sup>

Produkt	t [h]	Epoxideinheiten/ Glyceroleinheiten <sup>[b]</sup>	Größe [nm] <sup>[c]</sup>
4a	3.0	0.19	44.3 $\pm$ 7.5
4b	5.5	0.15	45.7 $\pm$ 6.4
4c	7.5	0.12	48.1 $\pm$ 6.3
4d	12.0	0.05	47.2 $\pm$ 5.9
4e	16.0	ca. 0	45.2 $\pm$ 4.8
5b	–	0.15 (Azid)	44.2 $\pm$ 4.9
6	–	0.15 (mPEG)	47.1 $\pm$ 5.6

[a] Konstante Parameter: 15 mL Cyclohexan, 20 mg Tensid, 20 mg p-TSA, Monomerverhältnis 3:3, 1080 mg Monomermenge, 0.2 mL DMSO.  
[b] Durch  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie bestimmt. [c] Durchschnittsgröße durch DLS bestimmt.

Biokompatibilität auszeichnen sollten, da dies schon für niedermolekulare Analoga aufgezeigt worden war. Deshalb wählten wir 3d als Testsubstanz aus und untersuchten ihre Wirkung auf die Proliferation hämatopoietischer U-937-Zellen (Zellanzahl), Lebensfähigkeit und metabolische Aktivität [MTT-Test; MTT = 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid]. Die Experimente wurden in 10% fötalem Kalbserum unter Variation der Konzentration von 3d gegen reinen Puffer als Kontrolle und gegen das Apoptose hervorrufende Dexamethason (Dex) als Positivkontrolle durchgeführt (Abbildung 4). Nur eine sehr hohe



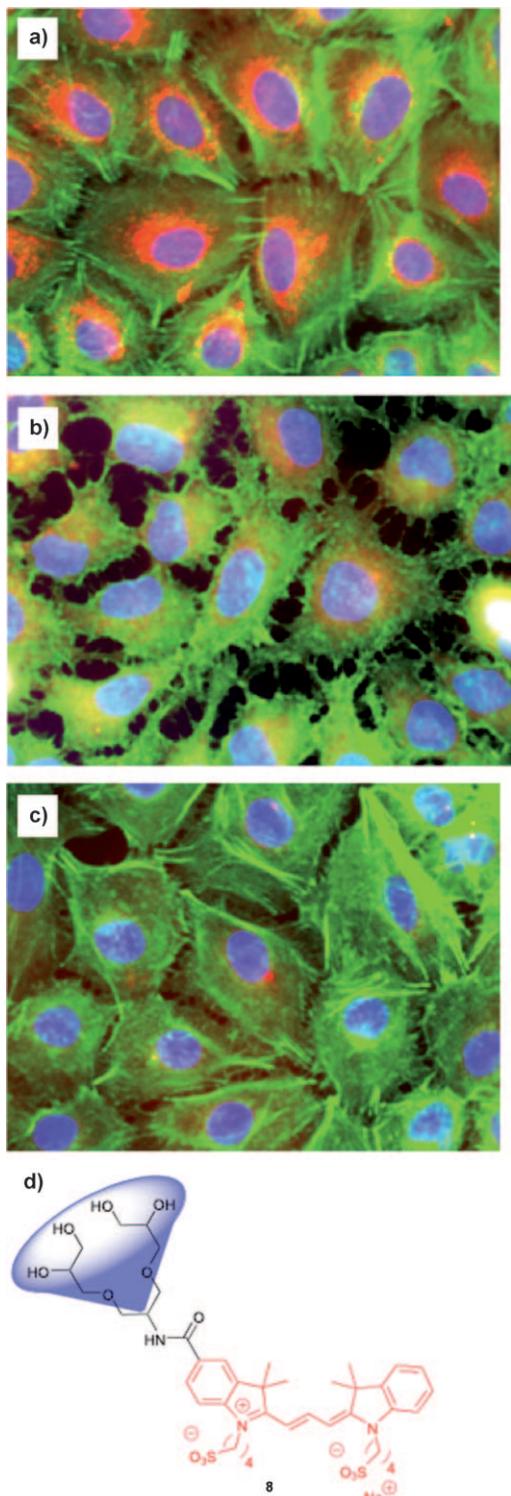
**Abbildung 2.** TEM-Aufnahme von PG- $\mu$ -Gel 6, negativ mit Phosphorwolframsäure kontrastiert. Einschub: DLS-Kurven der PG- $\mu$ -Gеле 5b und 6.

Konzentration von 3d ( $10^{-7}\text{ M} = 0.5\text{ mg mL}^{-1}$ ) hatte einen negativen Einfluss auf die Zellen, vergleichbar mit der Wirkung von  $10^{-5}\text{ M}$  Dex ( $0.004\text{ mg mL}^{-1}$ ). Daher halten wir diese neuartigen PG-Mikrogele für höchst biokompatible Materialien, die nur unwesentliche Wechselwirkungen mit biologischen Strukturen eingehen.

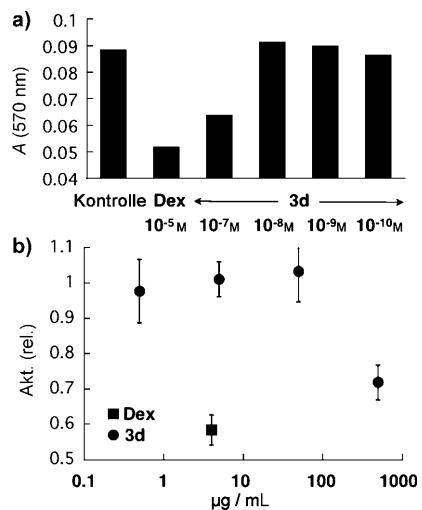
Wir haben einen einfachen und vielseitigen Ansatz zur Synthese von Polyglycerinmikrogele mit zuvor nicht erreichbaren Größen entwickelt. Dieser Ansatz eröffnet einen mühelosen Zugang zu definierten Materialien im Bereich von 25–75 nm. Diese Nanopartikel haben enge Größenverteilungen und können durch Klickreaktionen mit vielfältigen Gruppen funktionalisiert werden. Die Biokompatibilität der Polyglycerine ist sehr vielversprechend für zukünftige Anwendungen als Transportsysteme für Wirkstoffe und Fluoreszenzfarbstoffe. Wegen ihrer Größe werden die PG- $\mu$ -Gеле schnell und ohne Schäden zu verursachen durch einen endozytotischen Mechanismus in die Zelle aufgenommen. Unsere zukünftige Forschung wird sich auf die Konjugation von zellerkennenden Einheiten und das Beladen dieser hoch funktionalisierten Nanopartikel mit aktiven Farb- und Wirkstoffen konzentrieren.

Eingegangen am 23. März 2009,  
veränderte Fassung am 5. Juni 2009  
Online veröffentlicht am 20. August 2009

**Stichwörter:** Endozytose · Klickchemie · Emulsionen · Nanostrukturen · Polymerisation



**Abbildung 3.** Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Kultur einer menschlichen Lungenkrebszelllinie A549, mit ICC-markiertem PG- $\mu$ -Gel 7 4 h bei a) 37°C und b) 4°C inkubiert oder c) mit Kontrollfarbstoff 8 bei 37°C inkubiert. Das Aktinzytoskelett wurde mit Alexa-Fluor-488-Phalloidin (grün) kontrastiert, die Zellkerne mit DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol) (blau). d) Struktur von 8; roter Bereich: ICC(Indocarbocyanin)-Farbstoff-Fragment, blauer Kegel: niedermolekulares Polyglycerin-Dendron.



**Abbildung 4.** MTT-Test der Wirkung des Mikrogels 3d auf den Metabolismus menschlicher hämatopoetischer U-937-Zellen in einer Lösung aus Kalbserum mit Negativ- (reiner Puffer) und Positivkontrollen (Dex): a) metabolische Aktivität (in  $\text{mol L}^{-1}$ ) durch UV/Vis-Absorptionsmessungen mit Formazan bei  $\lambda = 570 \text{ nm}$ ; b) metabolische Aktivität (in  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) im Verhältnis zur Negativkontrolle. Vorschriften und Details zur Durchführung (Zellproliferation, Lebensfähigkeit) können den Hintergrundinformationen entnommen werden.

- [1] a) D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard III, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 119–157; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 138–175; b) J. M. J. Fréchet, *J. Polym. Sci. Part A* **2003**, *41*, 3713–3725; c) S. Hecht, J. M. J. Fréchet, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 76–94; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 74–91; Anwendungen dendritischer Polymere: d) S. E. Stiriba, H. Frey, R. Haag, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1385–1390; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1329–1334; e) H. Frey, R. Haag, *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, Elsevier Science, Amsterdam, **2001**, S. 3997–4000.
- [2] a) A. Sunder, J. Heinemann, H. Frey, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 2499–2506; b) C. R. Yates, W. Hayes, *Eur. Polym. J.* **2004**, *40*, 1257–1281.
- [3] a) H. Frey, R. Haag, *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 257–267; b) H. Türk, A. Shukla, P. C. A. Rodrigues, H. Rehage, R. Haag, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 4187–4196.
- [4] Anionische Ringöffnungspolymerisation: a) E. J. Vandenberg, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.* **1985**, *23*, 915–949; b) A. Sunder, R. Hanselmann, H. Frey, R. Mühlaupt, *Macromolecules* **1999**, *32*, 4240–4246; kationische Ringöffnungspolymerisation: c) R. Tokar, P. Kubisa, S. Penczek, *Macromolecules* **1994**, *27*, 320–322; d) A. Dworak, W. Walach, B. Trzebicka, *Macromol. Chem. Phys.* **1995**, *196*, 1963–1970.
- [5] a) R. K. Kainthan, E. B. Muliawan, S. G. Hatzikiriakos, D. E. Brooks, *Macromolecules* **2006**, *39*, 7708–7717; b) R. K. Kainthan, S. R. Hester, E. Levin, D. V. Devine, D. E. Brooks, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4581.
- [6] M. H. M. Oudshoorn, R. Rissmann, J. A. Bouwstra and W. E. Hennink, *Biomaterials* **2006**, *27*, 5471–5479.
- [7] A. L. Sisson, I. Papp, K. Landfester, R. Haag, *Macromolecules* **2009**, *42*, 556–559.
- [8] a) M. Antonietti, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1813–1817; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1743–1747; b) S. Nayak, L. A. Lyon, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7862–7886; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7686–7708; c) M. Das, H. Zhang, E. Kumacheva, *Annu. Rev. Mater. Res.* **2006**, *36*, 117–142.

- [9] a) S. Zhang, J. Li, G. Lykotrafitis, G. Bao, S. Suresh, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 419–424; b) H. Gao, W. Shi, L. B. Freund, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 9469–9474; c) F. Osaki, T. Kanamori, S. Sando, T. Sera, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6520–6521; d) B. D. Chithrani, A. A. Ghazani, W. C. W. Chan, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 662–668.
- [10] a) H. Maeda, K. Greish, J. Fang, *Adv. Polym. Sci.* **2006**, *193*, 103–121; b) R. Haag, F. Kratz, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1218–1237; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1198–1215.
- [11] a) K. Landfester, *Top. Curr. Chem.* **2003**, *227*, 75–123; b) J. M. Asua, *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 1283–1346.
- [12] M. Antonietti, K. Landfester, *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 689–757.
- [13] a) K. Müller, M. Klapper, K. Müllen, *J. Polym. Sci. Part A* **2007**, *45*, 1101–1108; b) M. Barrère, K. Landfester, *Polymer* **2003**, *44*, 2833–2841.
- [14] a) M. Barrère, K. Landfester, *Macromolecules* **2003**, *36*, 5119–5125; b) K. Müller, M. Klapper, K. Müllen, *Colloid Polym. Sci.* **2007**, *285*, 1157–1161.
- [15] K. Landfester, F. Tiarks, H.-P. Hentze, M. Antonietti, *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 1–5.
- [16] a) J. K. Oh, D. J. Siegwart, H. Lee, G. Sherwood, L. Peteanu, J. O. Hollinger, K. Kataoka, K. Matyjaszewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5939–5945; b) C. J. Hawker, K. L. Wooley, *Science* **2005**, *309*, 1200–1205.
- [17] Wir beobachteten nur eine geringe Lösungsmittelabhängigkeit (untersucht wurden z. B. Methanol, reines Wasser und Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung). Des Weiteren stimmten die Partikel durchmesser in Lösung (bestimmt mit DLS) beinahe mit den Durchmessern der trockenen Partikel (bestimmt mit TEM) überein. Wir folgern daher, dass diese Mikrogele nicht sonderlich quellbar sind und eine relativ starre Struktur haben.
- [18] Das Tensid ist ein Poly(ethylen-co-butyl)-block-poly(ethylenoxid) mit  $M_n = 8100$ , 41 Gew.-% Ethylenoxid, 39 Gew.-% Ethylen, 20 Gew.-% Butylen, wie verwendet in: J. K. Oh, H. Dong, R. Zhang, K. Matyjaszewski, H. Schlaad, *J. Polym. Sci. Part A* **2007**, *45*, 4764–4772; Synthesedetails sind angegeben in: A. Thomas, H. Schlaad, B. Smarsly, M. Antonietti, *Langmuir* **2003**, *19*, 4455–4459.
- [19] T. Tadros, P. Izquierdo, J. Esquena, C. Solans, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2004**, *108–109*, 303–318.
- [20] a) H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056–2075; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021; b) J. E. Moses, A. D. Moorhouse, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1249–1262; c) R. Huisgen, *Angew. Chem.* **1968**, *80*, 329; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, *7*, 321; d) D. Fournier, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1369–1380.
- [21] a) A. Becker, C. Hessenius, K. Licha, B. Ebert, U. Sukowski, W. Semmler, B. Wiedenmann, C. Grötzing, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 327–331; b) K. Licha, C. Hessenius, A. Becker, P. Henklein, M. Bauer, S. Wisniewski, B. Wiedenmann, W. Semmler, *Bioconjugate Chem.* **2001**, *12*, 44–50.