

PEGylierte anorganische Nanopartikel

Ajay S. Karakoti, Soumen Das, Suntharampillai Thevuthasan und Sudipta Seal*

Metalloxide · Nanopartikel · Oberflächenmodifizierung · Polyethylenglycol · Theranostik

Der Einsatz anorganischer Nanopartikel in der Diagnose und Therapie hat sich zu einem bedeutenden Faktor bei der Behandlung von Krankheiten entwickelt. Die Oberflächenmodifizierung anorganischer Oxide ist wichtig, um eine Vielfalt von Größen und Formen, gute Löslichkeit, Langzeitstabilität und das Anbinden selektiver funktionaler Gruppen zu ermöglichen. Dieser Kurzaufsatz beschreibt die Rolle von Polyethylenglycol (PEG) in der Oberflächenmodifizierung von Oxiden und konzentriert sich auf ihre biomedizinischen Anwendungen. Die PEGylierung ermöglicht die „Tarnung“ von Nanomaterialien, die sonst vom menschlichen Körper als Fremdstoffe erkannt werden. Zusätzlich wird die Rolle von PEG als strukturweisendes Element in der Synthese von Oxiden behandelt.

1. Einleitung

Bei allen größeren technologischen Fortschritten der letzten Jahrzehnte waren die Energiegewinnung und Fragen der medizinischen Versorgung von zentraler Bedeutung. Gerade die Behandlung von Krankheiten und die medizinische Versorgung sind eingebunden in komplexe ökonomische, soziale und ethische Systeme. Die gestiegene Lebenserwartung hat zu umfangreichen Forschungen bei der Behandlung und der Früherkennung von Erkrankungen geführt. Nach Fortschritten in Wissenschaft und Technik hat sich das Bild der medizinischen Forschung dabei gewandelt: Heutzutage sind ständige Beobachtung, lokale Behandlung und die Vorhersage der Effektivität einer bestimmten Behandlungsmethode der Standard. Um ein Problem an einer spezifischen Stelle oder einem spezifischen Organ zu behandeln, muss nicht länger der ganze Körper einem Medikament oder einer Bestrahlung ausgesetzt werden. Die neue Art der Behand-

lung von Krankheiten erfordert die kontrollierte, örtlich begrenzte Freisetzung eines Wirkstoffs, um eine lokale Aktivität hervorzurufen, die kontinuierlich beobachtet werden kann. Diese strengen Anforderungen der Medizin führen zu multidisziplinärer Forschung, die es erfordert, dass Moleküle und Materialien präzise kontrolliert werden können.

Es ist offenkundig, dass die kontrollierte Manipulation von Molekülen auf atomarer Ebene das Gebiet von Medizin und Gesundheitspflege verändert kann. An der Schnittstelle von Medizin und Nanotechnologie bildet sich das neue Gebiet der Nanomedizin heraus, das die Anwendung von Nanotechnologie in der Medizin zum Gegenstand hat.^[1] Bei der Nanotechnologie stehen Materialien im Mittelpunkt, deren Größe weniger als 100 nm beträgt; solche Materialien unterscheiden sich bezüglich ihrer physikalischen, chemischen, biologischen und optischen Eigenschaften deutlich von größeren Partikeln. Die Nanotechnologie hat ihr enormes Potenzial bereits durch die Abstimmung von Materialeigenschaften auf der atomaren und molekularen Ebene bewiesen. Nanomaterialien aus Metallen, Metalloxiden und -sulfiden, Legierungen oder Gemischen mit verschiedenen Formen, Größen und Dimensionalitäten (0D–3D) haben zu großen Verbesserungen auf den Gebieten Energie, Umweltschutz und Gesundheit geführt. Sowohl polymere als auch anorganische Nanopartikel (NPs) haben die Art, in der Wirkstoffe genutzt und an die Zielorgane befördert werden, neu definiert.^[1–9] Die Miniaturisierung der Wirkstofftransporter ermöglicht dabei Therapien, die nicht nur besser auf die Krankheit, sondern auch besser auf den einzelnen Patienten zugeschnitten sind.^[5–8] Die Fähigkeit, Materialien durch die Anbindung verschiedener Moleküle auf atomarer Ebene

[*] Dr. A. S. Karakoti, Dr. S. Thevuthasan
Environmental and Molecular Sciences Laboratory, PNNL
Richland, WA (USA)
Dr. S. Das, Prof. S. Seal
NanoScience and Technology Center
University of Central Florida, Orlando, FL-32816 (USA)
Prof. S. Seal
Advanced Materials Processing and Analysis Center
University of Central Florida, Orlando, FL-32816 (USA)
Prof. S. Seal
Mechanical Materials and Aerospace Engineering
University of Central Florida, Orlando, FL-32816 (USA)

präzise zu modifizieren, hat die Nanomaterialien mit zusätzlichen Funktionen ausgestattet und das neue Feld der Nanovektoren erschlossen.^[1,10–13] Die Oberfläche von NPs kann auf verschiedene Arten vektorisiert werden, um z.B. 1) eine passivierende Polymerschicht, 2) eine Fluoreszenzsonde zur Detektion oder 3) eine biomolekulare Einheit zur Erkennung von bestimmten Zielen anzubinden, oder um 4) durch spezielle Konjugationsstrategien schaltbare Oberflächen zu erhalten, die in Abhängigkeit vom pH-Wert oder der Mikroumgebung der Zielzellen aktiviert oder deaktiviert werden.

Sowohl anorganische als auch polymere NPs werden derzeit in Bezug auf biomedizinische Anwendungen untersucht. Weiche, polymere NPs werden seit langem in der Medizin verwendet, aber auch anorganische NPs, z.B. aus Metallen, Metalloxiden und Halbleitern, finden weitverbreitet Anwendung.^[1,14–20] Der Hauptunterschied zwischen anorganischen NPs und polymeren Nanomaterialien liegt in der aktiven Mitwirkung der letzteren in Diagnose und Therapie. Polymere NPs sind meist als Träger eines aktiven Wirkstoffs oder als Wirtmaterial zur Anbindung von Fluoreszenzsonden konzipiert und können so konstruiert werden, dass sie aktiv oder passiv Wirkstoffe ans Ziel bringen. Andererseits können anorganische Nanomaterialien oft die gleichen Funktionen wie polymere NPs erfüllen und bieten zusätzliche Vorteile als Therapeutika (z.B. Gold, Silber und Ceroxid).^[21–26] Fluoreszenzsonden für hochauflösende Verfahren (z.B. Quantenpunkte^[27–29]) und als bildgebende und/oder magnetische Kontrastmittel^[30–33] (z.B. Gold, Silber, Eisenoxid und Gadolinium). Um die Vorteile anorganischer NPs für therapeutische Anwendungen und den Wirkstofftransport nutzen zu können, müssen einige wesentliche Aspekte beachtet werden:

- 1) Die Oberfläche der NPs muss maßgeschneidert sein, um einerseits die große Oberfläche und Reaktivität zu erhalten, andererseits aber ungewollte Reaktionen der NPs mit dem menschlichen Körper zu vermeiden oder zu reduzieren.
- 2) Es muss gezeigt werden, dass bei der erforderlichen Dosis eine hohe Biokompatibilität und keine systemische Toxizität gegenüber normalen Zellen und Geweben gegeben ist.

- 3) Die NPs sollten für längere Zeit im Blut verbleiben, um eine aktive Erkennung und die Aufnahme durch die Zielorgane zu gewährleisten.
- 4) Die NPs sollten sich nicht spezifisch im Körper anreichern, und eine Ausscheidung aus dem Körper sollte auf normalem Wege möglich sein.
- 5) Die Eigenschaften der NPs, wie die Größe, Verteilung und Oberflächenladung, sollten in der zellulären Umgebung unverändert bleiben.

Um die genannten Eigenschaften innerhalb einer „feindlichen“ zellulären Umgebung zu gewährleisten, muss die Oberfläche der NPs geschützt und/oder modifiziert werden. Nichtbeschichtete NPs können agglomerieren und werden durch das retikuläre Endothelsystem (RES) aus dem Körper ausgeschieden, was die biomedizinische Wirksamkeit beeinträchtigt.^[34] Oft wird die Oberfläche von NPs mit funktionellen Molekülen bedeckt, um eine gewünschte Funktion zu vermitteln. Die Oberflächenmodifikation von anorganischen NPs mit biokompatiblen Substanzen kann Eigenschaften wie ihre Oberflächenladung, Biokompatibilität und Löslichkeit gemäß den Anforderungen verändern. Verschiedene funktionelle Moleküle (einschließlich Polymeren, Makromolekülen und Biomolekülen) wurden bereits verwendet, um die Oberfläche von NPs zu modifizieren. Verbindungen wie Citrate, Amine, Nukleinsäuren, Peptide, Antikörper und Lipide wurden als Liganden für NP-Oberflächen untersucht.^[35] Zusätzlich wurden Polymere wie Polysaccharide, Polyacrylamid, Polyvinylalkohol, Poly-N-vinyl-2-pyrrolidon, Polyethylenglycol (PEG) und PEG-haltige Copolymeren für die Oberflächenbeschichtung von NPs verwendet, um zusätzliche Stabilität und Wasserlöslichkeit zu erreichen oder die Oberflächenladung zu modifizieren.^[34,36,37] Unter allen Polymeren, die zur Verbesserung der Löslichkeit und Biokompatibilität von NPs getestet wurden, sind PEG und PEG-haltige Copolymeren^[38,39] derzeit die populärsten und haben sich als besonders effektiv für die Abschirmung der Oberflächenladung von NPs erwiesen. Der Begriff PEGylierung wird speziell für die Anbindung oder Beschichtung von NP-Oberflächen mit PEG-Molekülen verwendet, die durch Adsorption, kovalente Bindung (über Ankergruppen) oder Einschluss erreicht werden kann.^[39,40]



Ajay S. Karakoti erhielt einen Masterabschluss in Chemie an der Universität Delhi (2001) und einen Masterabschluss in Technologie am Indian Institute of Technology in Bombay (2003). Er promovierte im August 2010 an der University of Central Florida. Seine Forschung konzentriert sich auf die Entwicklung und Raumtemperatursynthese von Seltenerdmetalloxid-Nanopartikeln. Zurzeit setzt er seine Arbeiten über Oxidnanopartikel als Postdoktorand am Pacific Northwest National Laboratory (PNNL) fort.



Soumen Das erhielt einen Masterabschluss in Biochemie an der Universität Calcutta (2004) und promovierte am Indian Institute of Technology in Kharagpur (2009). Zurzeit ist er als Postdoktorand am Advanced Materials Processing and Analysis Center and Nanoscience Technology Center der University of Central Florida in Orlando tätig. Dort erforscht er die Synthese von Seltenerdmetalloxid-Nanopartikeln und ihre Konjugation mit Biomolekülen zur Erzeugung von Therapeutika und den Mechanismus der Wechselwirkung von Nanopartikeln mit Zellen.

Es wurde vielfach gezeigt, dass PEGylierte NPs eine „Tarnung“ aufweisen, die einmalig auf dem Gebiet der Oberflächenbeschichtung ist. In diesem Sinne hat sich PEG zu einem sehr wichtigen Material entwickelt, das die biomedizinischen Eigenschaften von NPs verbessern und auf ihre Verwendung in biologischer Umgebung zugeschnitten werden kann.^[38,40-43] Verschiedene Übersichten haben bisher die PEGylierung von polymeren Verbindungen behandelt,^[38-40,42,44] während die PEGylierung von anorganischen NPs trotz ihrer Bedeutung größtenteils unbeachtet blieb. In diesem Kurzaufsatz stellen wir einige der aktuellen PEGylierungsstrategien für anorganische Materialien in Zusammenhang mit ihren Anwendungen vor. Zusätzlich bewerten wir die Bedeutung von PEG als Lösungsmittel für die Synthese von anorganischen Partikeln verschiedener Formen und Größen. Außerdem werden einige der interessanten Eigenschaften von Polyethylenglycol diskutiert, die es zu einem wichtigen Material für die Oberflächenbeschichtung in biomedizinischen Anwendungen und einem geschätzten Lösungsmittel für die Synthese von Nanomaterialien machen.

2. Physikalische und chemische Eigenschaften von Polyethylenglycol

Polyethylenglycol (PEG) ist das Polymer von Ethylen-glycol ($\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$). Es ist mit vielen verschiedenen Molekulargewichten von einigen Hundert bis hin zu mehreren Tausend Dalton verfügbar. PEGs mit niedrigem Molekulargewicht sind sehr gut wasserlöslich, wobei die Löslichkeit mit zunehmendem Molekulargewicht abnimmt. PEGs mit einem Molekulargewicht unter 800 Dalton sind bei Raumtemperatur flüssig und vollständig in Wasser löslich.^[45] PEG zeigt sehr gute Solvatisierungseigenschaften und bildet Komplexe mit verschiedenen Lanthanoid- und Übergangsmetallkationen.^[45-48] Diese Besonderheit ist hilfreich bei der Synthese von PEGylierten NPs in PEG als Lösungsmittel. Eine andere Eigenschaft, die sehr zur Popularität von PEG beigetragen hat, ist seine einmalige Stabilität gegen Oxidation und Reduktion, Zersetzung durch Säuren und Basen, mäßig hohe Temperaturen, Wasserstoffperoxid und Natriumborhydrid.^[45] Die endständigen OH-Gruppen von PEG können

selektiv oxidiert werden, um PEG mit verschiedenen Endgruppen zu funktionalisieren oder um große Liganden, z. B. Biomoleküle, anzubinden. Das Vorhandensein von sowohl hydrophilen als auch hydrophoben Gruppen in PEG hat es zu einem populären Lösungsmittel in „grünen Synthesen“ gemacht. Wegen der Möglichkeit, unter kontrollierten Bedingungen eine Phasentrennung herbeizuführen, wird PEG oft in wässrigen Zweiphasensystemen und besonders zur Trennung von Biomolekülen verwendet.^[49,50]

In kolloidalen Suspensionen sind NPs im Allgemeinen geladen und somit elektrostatisch stabilisiert.^[51] Eine Veränderung des umgebenden Mediums der NPs zu Serum oder der Transfer in ein zelluläres Umfeld führen jedoch mit der Zeit zu einem Verlust der Oberflächenladung und so zu einer Aggregation der NPs. Die Oberflächenladung von NPs wird oft vom körpereigenen Verteidigungsmechanismus erkannt, der die NPs als Fremdkörper identifiziert. Folglich stehen NPs einer großen Herausforderung gegenüber, wenn sie Zielorgane im Inneren des menschlichen Körpers erreichen sollen, und es ist notwendig, sie mit einer Tarnung zu versehen. Bei biomedizinischen Anwendungen von NPs wird die Oberflächen-PEGylierung am häufigsten als Maskierungsstrategie genutzt.^[38,39,44] Diese Tarnung kommt in einer „erhöhten Permeabilität und Retention“ (enhanced permeation and retention; EPR-Effekt) zum Ausdruck: Durch die PEGylierten Oberflächen werden nichtspezifische Wechselwirkungen mit Opsonin-Proteinen und die Aufnahme durch das retikuläre Endothelsystem (RES) vermieden.^[39] Als Ergebnis des EPR-Effekts können PEGylierte NPs leicht in die porösen Blutgefäße von kanzerösem oder Tumorgewebe eindringen, während gesundes Gewebe dichte Blutgefäße aufweist, deren Wände nicht leicht zu durchdringen sind. Eine längere Zirkulationszeit im Blut erhöht die Chancen der NPs, das kanzeröse oder tumorhafte Gewebe zu erreichen.^[38] Die PEGylierung kann die Zirkulationszeit verlängern, weil die Ladung der NPs abgeschirmt, die Hydrophilie erhöht und die nötige Flexibilität hergestellt werden.^[39] Auch seine Nicht-Immunogenität und das Vorhandensein von kompletten Toxizitätsprofilen von verschiedenen PEG-Molekülen haben die Popularität von PEG als passive Schutzbeschichtung für NPs erhöht. Verschiedene Theorien über die verbesserte



Suntharampillai Thevuthasan ist als Wissenschaftler in der Gruppe für Interfacial Spectroscopy Diffraction am EMSL des PNNL tätig, wo er vor allem Themen aus der Oberflächenchemie wie die Wechselwirkungen zwischen Ionen und festen Substraten oder Anwendungen von Ionenstrahlen im Zusammenhang mit dünnen Oxidfilmen und Nanomaterialien erforscht. Er ist Mitglied der AVS, Science and Technology of Materials, Interfaces and Processing, sowie Coautor von über 200 wissenschaftlichen Beiträgen und einigen Buchkapiteln.



Sudipta Seal ist Professor für Mechanical Materials Aerospace Engineering und Direktor des Advanced Materials Processing and Analysis Center (AMPAC) und Nanoscience Technology Center der University of Central Florida, Orlando. Unter seinen Auszeichnungen sind ein Office of Naval Research Young Investigator Award, JSPS- und Alexander von Humboldt-Stipendien und ein Royal Society of Engineering Distinguished Visiting Professor Fellowship am Imperial College, London. Er ist Fellow of the American Association of Advancement of Science, Autor von über 300 Veröffentlichungen, zahlreichen Buchkapiteln, drei Büchern über Nanotechnologie und 14 Patenten. Die von ihm entwickelte Technologie gab Anlass zur Gründung zweier Firmen.

Tarnung von NPs durch PEGylierung wurden vorgeschlagen und umfangreich behandelt:^[39]

- 1) Die Abschirmung der Oberflächenladung und die Erhöhung der Hydrophilie verringern die Wechselwirkung mit Opsonin-Proteinen und erschweren die Identifizierung durch diese.
- 2) Die Verringerung der freien Oberflächenspannung der NPs in flüssigen Medien minimiert die Wechselwirkung mit Proteinen.
- 3) Durch eine Kompression der flexiblen PEG-Ketten auf der NP-Oberfläche bei der Annäherung von Proteinen werden Abstoßungskräfte erzeugt.
- 4) Die hohe Mobilität der flexiblen PEG-Ketten minimiert die Wechselwirkungsdauer mit den Proteinen, wodurch jegliche spezifische Anbindung verhindert wird.
- 5) Die PEGylierung der NP-Oberfläche steigert die Anlagerung von Dysopsonin-Proteinen, welche die Aufnahme durch Phagozyten unterdrücken.
- 6) Wegen der hohen Dichte an PEG-Ketten auf der NP-Oberfläche bietet sich den Opsonin-Proteinen keine Angriffsfläche, sodass die Aufnahme durch das RES verhindert wird.

Die Fähigkeit, Opsonin-Proteine abzustoßen, kann schon mit einer minimalen Oberflächendichte von PEG erreicht werden. Die Neigung von PEG, Proteine abzustoßen, hängt nicht von der Art der Wechselwirkung zwischen den NPs und PEG ab, da sowohl kovalent als auch elektrostatisch gebundenes PEG eine gute Proteinabstoßung zeigen.^[52] Dennoch kann die kovalente Anbindung sicherstellen, dass das PEG nicht während der Lagerung in Medien mit hoher Ionenstärke oder während der Zirkulation im Blut verlorengieht. In verschiedenen Berichten wird das Erreichen einer hohen Oberflächendichte von PEG auf NPs in Zusammenhang mit dem Einfluss der Verzweigung (sternförmiges PEG) und des Molekulargewichts von PEG behandelt. Man geht davon aus, dass höhermolekulares PEG durch seine langen Ketten eine bessere Flexibilität bietet, allerdings ist es unmöglich, mit so großen Molekülen eine hohe Oberflächendichte zu erreichen.^[52] Gleichermassen können verzweigte PEGs durch sterische Abstoßung die Anbindung von benachbarten PEG-Molekülen verhindern, was zu leeren Stellen auf der Oberfläche führt, die gerade ausreichen, um eine nichtspezifische Anlagerung von Opsonin-Proteinen zu ermöglichen. Deshalb wird eine hohe Dichte von kurzkettigen PEG-Molekülen bevorzugt, um eine optimale Tarnung zu erreichen, obwohl zu kurze Ketten wiederum zu starr sein könnten, um genug Flexibilität zu bieten. Es wurde gezeigt, dass die Proteinabstoßungsfähigkeit von PEG im Allgemeinen mit steigendem Molekulargewicht zunimmt, jedoch kann eine effiziente Proteinabstoßung auch mit einer sehr hohen Oberflächendichte von sehr kurzen PEG-Ketten erreicht werden.^[39,40]

Das am besten geeignete Molekulargewicht von PEG, um die erforderliche Maskierung zu erreichen, liegt bei 1500–5000 Da.^[39] Der Anwendungsbereich und die Wechselwirkung von PEG-Molekülen kann durch die Entwicklung von PEG-Blockcopolymeren sowie durch die Anbindung großer Liganden und zielspezifischer Biomoleküle variiert werden. Jedoch sind die oben genannten Punkte nur als allgemeine

Richtlinien für die Entwicklung von PEGylierten Systemen zu verstehen.

Die PEGylierung von NPs führt zu wichtigen Eigenschaften, z.B. Biokompatibilität, Wasserlöslichkeit, verringerte enzymatische Zersetzung und Nicht-Immunogenität. Zusätzlich hilft die PEGylierung, die Oberflächenladung von Nanopartikeln abzuschirmen, was als wichtiger Parameter für die Verlängerung der Zirkulationszeit im Blut und eine erhöhte Zellaufnahme angesehen wird.

Citrate, Amine, Acrylate und andere Liganden mit Carboxyfunktionen führen in Abhängigkeit vom pH-Wert des Mediums zu einer positiven oder negativen Oberflächenladung der Nanopartikel. Während die Oberflächenladung die Löslichkeit oder Suspendierbarkeit der NPs verbessert, werden die Zirkulationszeit im Blut und die Aufnahme der NPs reduziert. Die Langzeitstabilität und Aggregation in konzentrierter ionischer und aggressiver zellulärer Umgebung kann auch ein Problem sein. Man kann diskutieren, ob die wechselseitige Anziehung zwischen positiv geladenen Proteinen auf der Zelloberfläche und negativ geladenen Nanopartikeln zu einer erhöhten Aufnahme von Nanopartikeln führt, aber die Aussichten auf eine erfolgreiche Aufnahme geladener Nanopartikel in einem lebenden Organismus sind relativ gering. Die pH-abhängige Umkehrung der Oberflächenladung kann zur Abgabe von Wirkstoffen oder zur Verdrängung von Liganden von der Oberfläche genutzt werden. Interessanterweise haben Methoden auf Oligonukleotid- und DNA-Basis trotz der negativen Ladung zu einer erhöhten Aufnahme von NPs geführt.^[35] Der Mechanismus einer solchen Aufnahme ist noch immer schwer zu bestimmen; bisher ging man von der Adsorption bestimmter Proteine mit anschließender Identifizierung und Aufnahme durch die Zelle aus.

3. PEG als Lösungsmittel für die Synthese von anorganischen Nanopartikeln: Größen- und Formselektivität

PEG wurde vielfach verwendet, um eine einfache Herstellung von anorganischen NPs mit verschiedenen Größen und Formen in wässrigen Medien zu ermöglichen. Die Selbstanordnung solcher NPs zu geordneten Strukturen kann Materialien für verschiedene Anwendungen von der Sensorik bis hin zur Katalyse liefern. Nanostäbe, Nanodrähte, Nanobänder und Nanoprismen zeigen in Abhängigkeit von ihrer Form unterschiedliche elektronische, magnetische und physikochemische Eigenschaften.^[53] Diese anisotropen Nanostrukturen haben im Vergleich zu kugelförmigen NPs verbesserte Eigenschaften in der biomedizinischen Diagnose und Therapie.^[53]

PEG hat bereits sein enormes Potenzial für die Selbstanordnung von Oxid- und Metall-NPs zu Nanosternen, Nanodrähten oder Nanobändern gezeigt. Seine Fähigkeit zur Komplexierung von Übergangs-, Seltenerd-, Alkali- und Erdalkalimetallen kann für die Konstruktion von geordneten Nanostrukturen genutzt werden, wobei PEG als weiches Templat wirkt.^[46,47] Die spezifische Oberflächenadsorption von PEG-Molekülen auf bestimmten kristallographischen

Ebenen kann auch dazu dienen, das Wachstum von NPs entlang der betreffenden kristallographischen Ebene anzuhalten, und durch orientierte Anlagerung in einem kolloidalen Medium können anisotrope NPs entstehen. Das Wachstum von NPs über die freiliegenden kristallographischen Ebenen kann zu eindimensionalen Nanostrukturen führen und anhand des Molekulargewichts von PEG genau eingestellt werden. Auf ähnliche Art und Weise können Metallvorstufen durch die Bildung von Metallionen-PEG-Kügelchen angeordnet werden, aus denen dann mesoporöse Mikrokugeln gebildet werden, die aus mehreren kristallinen NPs bestehen.^[54] In Tabelle 1 sind großen- und formselektive Synthesen von wichtigen anorganischen NPs aufgelistet, bei denen PEG als strukturweisendes Templat zugesetzt wurden.

Ceroxid-NPs werden für eine Reihe von Anwendungen genutzt, von der Katalyse bis hin zu Elektrolyten in Festoxidbrennstoffzellen (solid-oxide fuel cells, SOFCs). Unsere Arbeitsgruppe hat gezeigt, dass die Selbstanordnung von Ceroxid-NPs zu oktaedrischen Überstrukturen durch PEG beschleunigt wird.^[55] Diese Oktaeder wurden in wässriger Lösung mit 5–40 Vol.-% PEG₆₀₀ (MW = 600 Da) erhalten. Eine weitere Erhöhung der PEG-Konzentration steigerte die Viskosität der Lösung in einer Weise, dass die Selbstanordnung der Partikel durch Einschränkung ihrer freien Orientierung und Bewegung sterisch behindert war. Analog wurde eine Lösung mit 2 Vol.-% PEG₆₀₀ für die sonochemische Herstellung von Cer-Zirconium-Oxid-NPs mit sehr großer

Oberfläche verwendet,^[56] und Cer-Nanostäbe wurden mit Hilfe von Ultraschall in Gegenwart von 1 Gew.-% PEG₆₀₀ als strukturweisendes Templat hergestellt.^[57] Die einstündige Behandlung mit Ultraschall bei Raumtemperatur ergab 100–150 nm lange Nanostäbe mit Durchmessern unter 10 nm. Das Molekulargewicht und die Konzentration von PEG spielen eine wichtige Rolle bei der Bildung von Nanostäben, die nur in Lösungen von 0.5–5 Gew.-% PEG_{<2000} erfolgt.

Die Synthese und Selbstanordnung von Zinkoxid-Nanostrukturen mit PEG als Lösungsmittel wurde ausführlich untersucht. Dreidimensionale Morphologien wie Sterne und Prismen sowie Blüten aus Nanostäben und Nanoröhren konnten in entsprechenden Hydrothermalverfahren hergestellt werden.^[58] Geradkettige PEGs mit Molekulargewichten von 300, 600 und 10 000 Dalton ergaben kugelförmige, sternförmige oder blumenähnliche Anordnungen aus Zinkoxid-Nanostäben, während Zinkoxid-Nanoröhren nur bei Verwendung von PEG₂₀₀₀ gefunden wurden (Abbildung 1). Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass zu kurze oder zu lange PEG-Ketten möglicherweise nicht zur Bildung von Röhren führen, weil sie nicht genug einrollen, um als Templat für eine Röhrenstruktur zu dienen.^[60] Kurzkettige Polymere (PEG₄₀₀) wurden für die Synthese von langen Nanodrähten verwendet.^[60] Die PEG-Moleküle wirken dabei als strukturweisendes Templat, das das Wachstum bis zu 2 μm langer Zinkoxid-Nanodrähte aus basischer Lösung ermöglicht. Die Drähte ergeben sich, weil die bevorzugte Adsorp-

Tabelle 1: Verschiedene Strategien zur großen- und formselektiven Synthese von Metall- und Oxid-NPs unter Verwendung von PEG als Lösungsmittel (Größe und Form der NPs in Abhängigkeit vom Molekulargewicht von PEG).

Material	Synthese	MW(PEG) [g mol ⁻¹]	Morphologie	Lit.
ZnO	Hydrothermalverfahren in alkalischer Lösung	2000	sternförmig (parallele Nanoröhren mit sechszähliger Symmetrie)	[58]
		10000	blumenähnlich (mit gleichmäßig geformten Nanostäben als Blütenblätter)	[58]
	Hydrothermalverfahren auf einem Glassubstrat (Wachstum von Nanoröhren auf Glas)	2000	geordnete Bereiche von Nanoröhren (Durchmesser 40–200 nm, Länge 2 μm)	[59]
	Hydrothermalverfahren in absolutem Ethanol	400	Nanodrähte (Durchmesser 30–50 nm, Länge 2 μm)	[60]
	Nasschemische Synthese in Gegenwart von PEG mit Carboxy-Endgruppen in absolutem Ethanol	–	Wasserlösliche NPs (10 nm)	[61]
CeO ₂	Hydrothermalverfahren in absolutem Ethanol	20000	Mikrokugeln aus einzelnen Nanostäben	[54]
	Ultraschallbehandlung von Cernitrat und Hydrolyse mit Natriumhydroxid in 0.5–5% PEG bei Raumtemperatur	600	Nanostäbe (Durchmesser 5–10 nm, Länge 50–150 nm)	[57]
	Impuls-Ultraschallbehandlung zur Herstellung von CeO ₂ -ZrO ₂ durch doppelte alkalische Behandlung mit Ammoniumhydroxid, gefolgt von Natriumhydroxid	600	Partikel (3.7–13.5 nm) mit großer spezifischer Oberfläche (226 m ² g ⁻¹)	[56]
	Nasschemische Synthese im wässrigen Medium mit Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel, gefolgt von einer Alterung der NPs (7–14 Tage)	600	Überoktaeder aus einzelnen Kristalliten (3–5 nm)	[55]
TiO ₂	Hydrothermalbehandlung in absolutem Ethanol, PEG und Harnstoff (saures Medium)	–	Kern-Schale-Mikrokugeln	[62]
Fe ₃ O ₄	Hydrothermalbehandlung im alkalischen Medium	4000	Nanodrähte (Durchmesser 20–35 nm, Länge 1 μm)	[63]
Sb	Hydrothermalbehandlung in Gegenwart eines Reduktionsmittels und PEG	10000	Nanobänder	[64]
Ag	Hochtemperaturreduktion in PEG	200	Nanopartikel (4 nm) und Nanoprismen	[65]

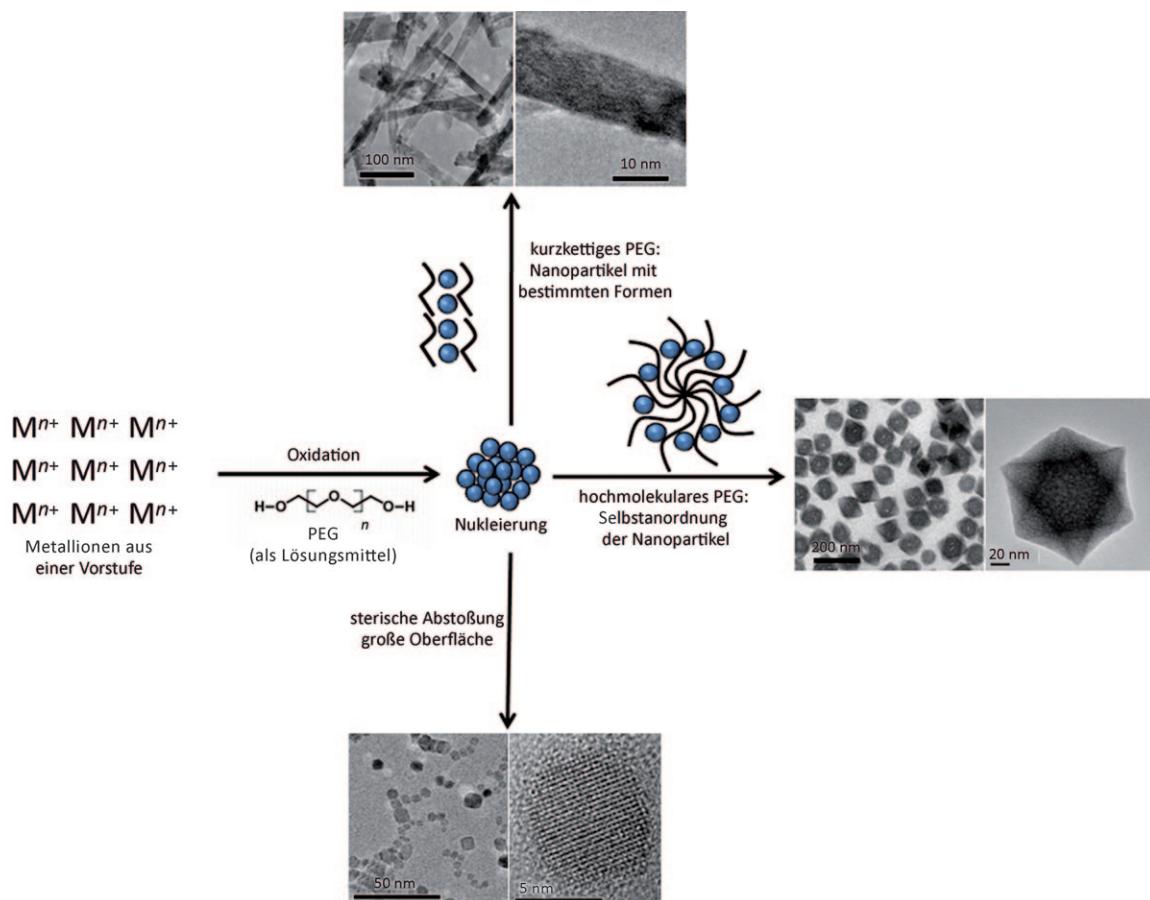


Abbildung 1. Templateffekt von PEG, das während der Synthese der Nanopartikel (NPs) als Lösungsmittel eingesetzt wird. Die spezifische Adsorption von PEG-Molekülen an bevorzugten kristallographischen Ebenen der NPs führt zur Bildung von Nanostäben und Nanoröhren in Abhängigkeit des Molekulargewichts von PEG. Die Komplexierung und Assoziation von PEG mit Metallionen kann für die Selbstanordnung von Nanopartikeln in symmetrische Formen, z. B. Überoktaeder (Sterne), genutzt werden. PEG kann auch die orientierte Anlagerung von NPs fördern oder die Agglomeration verhindern, wodurch sehr kleine NPs mit großen spezifischen Oberflächen erhalten werden können.

tion von kurzkettigem PEG die Wachstumskinetik der kolloidalen NPs in spezifische kristallographische Richtungen verändert, sodass ein anisotropes Wachstum stattfindet. Die Morphologie kann auch durch Lösungsmittelmoleküle beeinflusst werden, indem sie PEG solvatisieren und damit die Wechselwirkung zwischen PEG und den Oxid-NPs reduzieren. Deshalb begünstigt ein Wechsel des Lösungsmittels von Ethanol zu Wasser die Bildung von kugelförmigen Partikeln. Durch eine Reihe von Kontrollexperimenten und mithilfe von hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie wurde gezeigt, dass ein weiches Templat aus höhermolekularem PEG (MW = 20000) zur Bildung von Röhrenstrukturen führt, die sich innerhalb weniger Stunden in große Globuli umwandeln.^[54] Die Konzentration der Zinkionen war innerhalb der Globuli, wo sie an PEG gebunden waren, deutlich höher als in der umgebenden Lösung. Eine weitere Hydrothermalbehandlung dieser Globuli ergab Mikrokugeln, die die einzelnen Nanoröhren enthielten. Durch diesen Templateffekt von PEG₂₀₀₀₀ wurde die Anordnung von Nanoröhren aus z. B. ZnO, La(OH)₃, MnO₂ und Bi₂S₃ in Mikrokugeln verwirklicht.^[54]

Difunktionalisiertes PEG wurde auch für die Synthese von wasserlöslichen ZnO-Partikeln mit Durchmessern unter

10 nm verwendet, und ZnO-Ellipsoide wurden mit PEG₁₀₀₀₀ bei 60 °C hergestellt.^[61] Die Gruppe von Mirkin verwendete PEG als Opfermaterial bei der Erzeugung von positiven und negativen Nanostrukturen durch Dip-Pen-Nanolithographie (DPN).^[66] Kurzkettiges PEG₂₀₀₀ wurde als Photolack genutzt, der nach chemischem Ätzen zur Bildung von positiven monolithischen Strukturen führt, wobei einige Nachteile von Alkanthiolen überwunden werden konnten.

PEG wurde auch als weiches Templat für die Herstellung von Titandioxid-Nanostrukturen^[62] und von metallischen NPs aus z. B. Gold, Silber^[65] und Antimon eingesetzt. Großflächige Antimon-Nanobänder wurden durch hydrothermale Reduktion von Antimon in einem PEG-Medium hergestellt.^[64] Mit ZnO, TiO₂ und Cu₂O wurde beobachtet, dass niedermolekulares PEG einen geringeren sterischen Einfluss hat als langkettiges PEG. Zum Beispiel verringert sich die Länge von Nanoröhren von 2–3 µm (mit PEG₈₀₀) auf 100 nm (mit PEG₂₀₀₀₀).

Daraus kann man ableiten, dass die Komplexierungsfähigkeit von PEG gegenüber Metallen und seine bevorzugte Adsorption an definierten kristallographischen Ebenen für die Selbstanordnung von NPs mit verschiedenen Formen und Größen genutzt werden kann. Diese Adsorption beeinflusst

tigt in erster Linie das Wachstum von NPs entlang der PEG-beschichteten kristallographischen Ebenen zu einem Grad, der von der Länge und dem Molekulargewicht des Polymers abhängt, und ermöglicht es den NPs, anisotrop an den Ebenen zu wachsen, an denen kein PEG adsorbiert ist. Die Synthese von NPs in PEG-haltigen Medien könnte den zusätzlichen Vorteil haben, dass PEGylierte NPs direkt zugänglich sind, sodass weitere Schritte für die Oberflächenmodifizierung entfallen.

4. PEGylierte anorganische NPs: Synthese und Anwendungen

Die PEGylierung von NPs verbessert ihre Tarnung und Biokompatibilität. Die Möglichkeit, die Eigenschaften von anorganischen NPs genau anzupassen, macht sie zu vielversprechenden Kandidaten für biomedizinische Anwendungen. In Kombination mit den ihnen eigenen, einstellbaren Eigenschaften, können spezielle Liganden (z.B. Peptide, Proteine, Zucker, Oligonukleotide, Amine, Polysaccharide und Antikörper) für Bioerkennungsprozesse, Fluoreszenz und/oder Sensorik direkt oder indirekt an die Oberfläche anorganischer NPs gebunden werden. Metall-NPs wie Goldnanostäbe und -Nanoschalen werden derzeit mit Blick auf therapeutische Anwendungen in der Behandlung von Krebs und Tumoren geprüft. Metalloxide wie Eisen- und Gadoliniumoxid werden als magnetische Kontrastmittel eingesetzt, während Siliciumdioxid-NPs vorrangig dazu genutzt werden, die Oberfläche von Metallen und Metalloxiden zu passivieren, einen dielektrischen Kern für die Anbindung von Goldnanoschalen zur Verfügung zu stellen und auch als funktionelle Schale verschiedene Liganden zur Vektorisierung von NPs zu immobilisieren. Darüber hinaus werden Halbleiter-NPs, z.B. Quantenpunkte, gegenwärtig für diagnostische Anwendungen in der Tiefengewebsbildung entwickelt. Die PEGylierung von NPs stellt nicht nur die nötige Biokompatibilität und Löslichkeit im wässrigen Medium her, sondern verlängert auch die Zirkulationszeit der NPs im Blut und verbessert damit die gezielte Freisetzung, ohne dass eine systemische Toxizität auftritt. Wie in Abbildung 2 gezeigt, kann die PEGylierung von NPs erreicht werden, indem 1) die PEG-Moleküle direkt auf der Oberfläche physisorbiert werden. Diese Adsorption kann durch die Synthese der NPs im PEG-Medium oder mithilfe anderer thermischer/hydrothermaler Methoden erzielt werden. 2) Monofunktionalisiertes PEG wurde auch kovalent an NPs-Oberflächen angebunden. Diese Strategie ist besonders für anorganische Materialien nützlich, die eine hohe Bindungsaffinität für selektive Elemente zeigen. 3) Difunktionalisierte PEG-Moleküle können einerseits kovalent an NPs binden, andererseits unterstützen sie zusätzlich die Vektorisierung der NPs mit selektiven Liganden für Nachweis, Wirkstofftransport und Therapie. Diese drei Strategien sind für Metall- und Metalloid-NPs sowie für Quantenpunkte gebräuchlich. Sie werden in den folgenden Abschnitten erläutert.

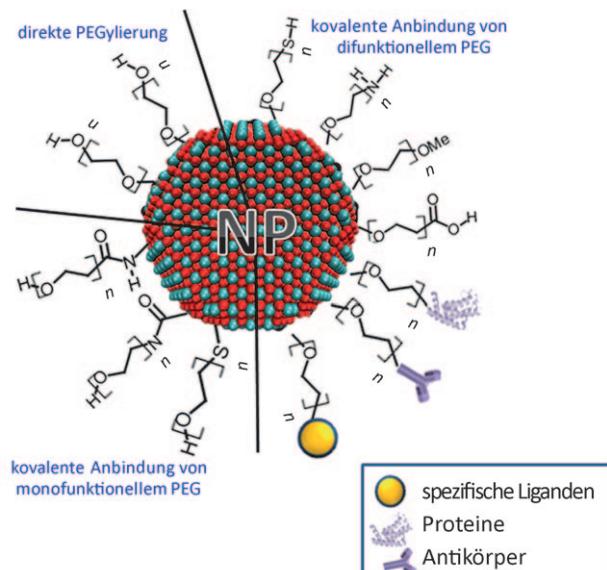


Abbildung 2. Verschiedene Strategien für die PEGylierung von Nanopartikeln. Alle Strategien führen zu Nanopartikeln, die wasserlöslich sind und Opsonin-Proteine abweisen. Die direkte PEGylierung (durch physikalische oder elektrostatische Adsorption) hat den Vorteil einer einfachen Synthese. Monofunktionalisierte PEGs können dazu verwendet werden, kovalente Bindungen zwischen PEG-Molekülen und den NPs zu knüpfen, was zu einer hohen Langzeit- und Dispersionsstabilität führt. Die Vektorisierung von NPs kann mit difunktionalisierten PEG-Molekülen erreicht werden, wobei die freien Endgruppen des PEG kovalent an andere Polymere, Fluoreszenzsonden und zielgerichtete Antikörper oder Proteine gebunden werden können.

4.1. Metall-NPs

Die Verwendung von Gold-NPs in der Therapie ist seit langem ein Paradebeispiel (Tabelle 2). Seit der Erfindung des Immungold-Verfahrens im Jahr 1971^[67] wurden Gold-NPs vielfach für die Markierung von gezielt wirkenden Proteinen und Biomakromolekülen in biomedizinischen Anwendungen verwendet.^[40,67] Der starke Kontrast von Gold-NPs in der Elektronenmikroskopie ist ein Vorteil für die Visualisierung von Zellen und Gewebeteilen. Derzeit werden Gold-NPs in zahlreichen biomedizinischen Anwendungen eingesetzt, die unter anderem empfindliche diagnostische Untersuchungen, (photo)thermische Ablation und die Verstärkung der Strahlentherapie von Tumoren beinhalten.^[68–70] Es wurde gezeigt, dass Citrat-, Amin-, Acrylat-, Protein-, Antikörper- und DNA-bedeckte Gold-NPs in Zellen eindringen und daher als Wirkstofftransporter dienen können.^[35]

PEGyierungsstrategien für Gold-NPs beruhten vorrangig auf PEGs mit SH-Endgruppen, weil Gold hoch affin an Thiolgruppen bindet (S-Au-Bindungsenergie: 47 kcal mol⁻¹). Über das optimale Molekulargewicht herrscht Uneinigkeit, und niedermolekulares PEG (< 5000 Dalton) wird oft gegenüber PEGs mit höheren Molekulargewichten bevorzugt. Kurzkettiges niedermolekulares PEG ist bereits ausreichend, um die Oberfläche von NPs komplett zu bedecken. Trotzdem ist die Länge des Spacers (d.h. der Verbindung zwischen der NP-Oberfläche und PEG) besonders dann wichtig, wenn zusätzlich Fluoreszenzsonden an die NP-Oberfläche gebunden

Tabelle 2: Die Herstellung PEGylierter Gold-NPs in Abhängigkeit von PEG-Molekulargewicht und -Endgruppen für biomedizinische Anwendungen.

Funktionalität	MW(PEG) [g mol ⁻¹]	Ankergruppe	Anwendung/Eigenschaften	Lit.
Monofunktionalisiert: MeO-PEG-SH	5682	SH	Hohe Stabilität gegenüber Aggregation bei höheren Ionenstärken/Salzkonzentrationen.	[73]
Monofunktionalisiert: PEG-TA	2000	Disulfidbrücke S-S	TA-modifiziertes PEG zeigt höhere Stabilität als SH-modifiziertes PEG auf Goldkolloiden. 20 und 40 nm große Gold-NPs weisen lange Zirkulationszeiten im Blut auf, während gleichzeitig die nichtspezifische Aufnahme durch Plasmaproteine vermieden wird.	[71]
Monofunktionalisiert: PEG- <i>b</i> -PAMA	4800– 13 300	Tertiäre Aminogruppe	Die Stabilität hängt von der PAMA-Kettenlänge ab – eine kürzere Kette führt zu höherer Stabilität. Hohe Verteilungsstabilität – 4 Tage in 95 % Serum.	[72]
Monofunktionalisiert: PEG-SH	5000	SH	PEGylierte Goldnanoschalen wurden für die Behandlung von Tumoren mit NIR-induzierter photothermischer Abtragung verwendet. Eine komplette Rückbildung des Tumors wurde erreicht.	[22]
Reines PEG	6000	Physisorption	Die direkte PEGylierung wurde während der Synthese unter Synchrotron-Röntgenstrahlung beobachtet. Die PEGylierten Gold-NPs zeigten hohe kolloidale Stabilität und erhöhten die Zellmortalität unter Bestrahlung sehr effizient.	[74, 75]
Monofunktionalisiert: N6-PEG	2210	N-Endgruppe	Einstufige Reduktion und PEGylierung von Goldkolloiden mit Plasstrahlen unter Atmosphärendruck.	[76]
Homodifunktionalisiert: HS-PEG-SH	3878	SH	Selbstanordnung von Goldnanostäben mit Goldkolloiden. Das Rezeptor-Ligand-System wurde durch die Wechselwirkung von Biotin mit Streptavidin nachgewiesen.	[73]
Heterodifunktionalisiert: HO-PEG-SH	1427	SH	Cumarin-derivatisiertes PEG-SH wurde an Gold-NPs gebunden und zeigte niedrige Zytotoxizität, nichtspezifische endozytische Aufnahme und konnte mithilfe von Farbstoff-Fluoreszenz unter hoher Auflösung aufgespürt werden.	[77]
Heterodifunktionalisiert: Acetal-PEG- <i>b</i> -PAMA	5100 + 3800	Tertiäre Aminogruppe	PEG- <i>b</i> -PAMA kann Goldionen direkt zu PEGylierten Gold-NPs reduzieren. Verschiedene Liganden wie Biotin können an PEG gebunden werden, um funktionalierte PEGylierte Gold-NPs zu erhalten.	[78]
Heterodifunktionalisiert: HOOC-PEG-2SH	1347	Dithiol	Monoklonale Antikörper, gebunden an PEGylierte Gold-NPs, wurden zur Entwicklung von sehr stabilen optischen Kontrastmitteln für die Markierung von Pankreaskarzinomgewebe verwendet	[79]

werden. Monofunktionalisiertes PEG-SH kann zur Passivierung von Goldoberflächen verwendet werden, wenn keine weiteren Liganden nötig sind. Die Thiolgruppe bildet eine starke Bindung zu den Gold-NPs, und die dadurch fest gebundene PEG-Schicht erhöht die Stabilität der Goldkolloide gegenüber Aggregation in verschiedenen Pufferlösungen/Medien und bei hohen Ionenkonzentrationen. Thiooctsäure (TA) enthält eine cyclische Disulfidfunktion, die auch für die kovalente Anbindung von PEG an Gold genutzt werden kann.^[71] Gold-NPs, die mit TA-modifiziertem PEG₅₀₀₀ versehen wurden, verfügten über bessere Eigenschaften als Thiol-modifizierte PEG-Gold-NPs.

Auch die Größe der Gold-NPs spielt bei der Stabilisierung durch PEG eine wichtige Rolle: Bei einem Vergleich von 20, 40 und 80 nm großen PEGylierten Gold-NPs wurde deutlich, dass die 20 und 40 nm großen Gold-NPs erheblich beständiger gegen Aggregation waren als die 80 nm großen kolloidalen Gold-NPs.^[71] Die Ergebnisse wurden auch durch eine pharmakokinetische Studie gestützt, in der die 20 und 40 nm großen PEGylierten Gold-NPs im Vergleich zu den 80 nm großen Gold-NPs eine verzögerte Clearance aus dem Blut aufweisen. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die 80 nm großen Gold-NPs die niedrigste PEG-Dichte auf der Oberfläche haben und darum nichtspezifisch an Plasmaproteine binden und von der Leber aufgenommen werden. Die geringe Oxidationsbeständigkeit von Thiolen und die Austauschreaktionen mit anderen Thiol-haltigen Substanzen im

Körper sorgen dafür, dass die Funktion von Thiol-PEG-modifizierten Gold-NPs nur für eine begrenzte Zeit erhalten bleibt.

Es wurde deutlich, dass Polyethyleneglycol-*block*-Poly(2-*N,N*-dimethylaminoethyl)methacrylat (PEG-*b*-PAMA) die Langzeitstabilität von PEGylierten NPs erhöht.^[72] Die tertiäre Aminogruppe von PAMA in PEG-*b*-PAMA kann sehr stark an die Oberfläche von Gold-NPs binden. Dadurch entstehen Partikel, die auch bei hohen Ionenkonzentrationen ($I=2.0$) stabile Dispersionen bilden. Der Mechanismus der Immobilisierung von PEG-*b*-PAMA auf Goldoberflächen ist nicht aufgeklärt; man nimmt an, dass die Verzweigung am endständigen Stickstoffatom durch Anwendung sekundärer und tertiärer Aminogruppen die schwache N-Au-Bindung (6 kcal mol⁻¹) verstärkt. Es wurde außerdem gezeigt, dass bei einem Verhältnis von über 33 000 tertiären Aminogruppen pro Gold-NP eine komplette Abschirmung des Zeta-Potentials der NPs und eine sehr hohe Dispersionsstabilität (4 Tage in 95 % menschlichem Blutserum) erreicht wird. Kürzere PAMA-Ketten und drei Aminogruppen in der Seitenkette sind nötig, um die NPs komplett mit PEG zu bedecken. Mit Acetal-PEG-*b*-PAMA können aus einer Lösung von Goldionen durch direkte Reduktion Gold-NPs mit einer sehr engen Größenverteilung erzeugt werden, die bereits mit einer PEG-Schicht bedeckt sind. An die Acetalgruppen können verschiedene Liganden angebunden werden, um die Gold-NPs weiter zu funktionalisieren.

4.1.1. Gold-Nanoschalen

Die NIR-Absorptionseigenschaften von PEGylierten Goldnanoschalen wurden zur Behandlung von Tumorzellen genutzt.^[23] Diese Konstrukte aus einem dielektrischen Siliciumdioxid-Kern, der mit einer sehr dünnen Goldschicht bedeckt ist, verfügen über abstimmbare optische Eigenschaften. Durch Einstellen des Verhältnisses von Kern- zu Schalendicke können diese NPs Licht im NIR-Bereich mit einem sehr hohen Absorptionsquerschnitt absorbieren. Die Eindringtiefe von Licht in Gewebe ist im NIR-Bereich optimal, sodass diese Strahlung für die Behandlung von tief im Gewebe sitzenden Tumoren verwendet werden kann. Nanoschalen mit einer Beschichtung aus monofunktionalisiertem Thiol-PEG wurden zur Behandlung von Tumorzellen in Mäusen eingesetzt und bewirkten eine komplett Rückbildung der Tumore innerhalb von 10 Tagen nach der Behandlung.^[22] Die EPR der PEGylierten Nanoschalen wurde durch Temperaturmessungen am Tumor und an nichttumorhaften Stellen in einigen Millimetern Entfernung bestimmt, wobei für letztere ein ähnliches Temperaturprofil wie bei nichtbehandelten Mäusen erhalten wurde.

4.1.2. Vektorisierung von Gold-NPs mit PEG

Gold-NPs, die mit homo- und heterodifunktionalisiertem PEG modifiziert sind, können zur Einführung einer zusätzlichen Funktionalität oder für die Vektorisierung von NPs verwendet werden. Die Selbstanordnung von Goldkolloiden, die mit Goldnanostäben verbunden sind, wurde mit homodifunktionalisiertem PEG (HS-PEG-SH) gezeigt.^[73] Dabei wurden die PEGylierten Goldnanostäbe über eine Thiolgruppe an den kolloidalen Gold-NPs verankert. Eine Erhöhung der Dichte der PEG-Moleküle auf den Nanostäben erhöhte die Zahl an Kolloidpartikeln an den Goldstäben. In ähnlicher Weise wurde ein Biotin-Derivat an PEGylierte Gold-NPs mit Thiol-Endgruppen gebunden. Auf diese Weise modifizierte Gold-NPs konnten in einem Rezeptor-Ligand-System über die Biotingruppe des difunktionalisierten PEGs an Streptavidin binden.^[78]

Mit einem heterodifunktionalisierten PEG (z.B. HS-PEG-TA, HS-PEG-NH₂, HS-PEG-COOH) wurden Cumarin-Farbstoffmoleküle an der Oberfläche von Gold-NPs verankert, und ihre Zytotoxizität wurde durch konfokale Fluoreszenzmikroskopie untersucht.^[77] Es konnte gezeigt werden, dass die PEGylierten Gold-NPs durch nichtspezifische Endozytose aufgenommen werden, und anhand der Fluoreszenzmarkierung ließen sich die Partikel mit einer Genauigkeit im Nanometerbereich verfolgen. Das heterodifunktionalisierte PEG ermöglichte auch die Immobilisierung von verschiedenen Antikörpern, Peptiden und Proteinen auf Gold-NPs.^[77,79-81] Durch die kovalente Bindung von PEGylierten Gold-NPs mit monoklonalen Antikörpern wurde ein Marker für menschliches Krebsgewebe entwickelt.^[79] Die starke Streuung von PEGylierten Gold-NPs wurde dabei genutzt, um den Tumor und sein Bindegewebe in der tatsächlichen räumlichen Ausdehnung sichtbar zu machen.

4.1.3. Thiol-freie PEGylierung von Gold-NPs

Neben Thiol-basierten Ansätzen wurden auch verschiedene andere Methoden für die Synthese PEGylierter Gold-NPs untersucht. Unter anderem wurde die direkte PEGylierung von Gold-NPs durch Bestrahlung mit Synchrotron-Röntgenstrahlung beschrieben.^[74,75] Durch diese Methode konnten wasserlösliche PEGylierte Gold-NPs aus einer Lösung von Goldionen und PEG₆₀₀₀ innerhalb von 5 min erhalten werden. Die PEGylierung hatte eine erhebliche Aufnahme der NPs in Zellen zur Folge, ohne dass Exozytose oder Toxizität über einen längeren Zeitraum nachgewiesen werden konnten. Zusätzlich wurde die Wirksamkeit einer Strahlentherapie erhöht, indem die Beschädigung der Krebszellen durch Röntgenstrahlung verstärkt wurde. Furusho et al.^[76] haben eine einstufige Plasmastrahlsynthese von PEGylierten Gold-NPs beschrieben. Die Wechselwirkung von Plasmastrahlen, die durch dielektrisch behinderte Entladung erzeugt wurden, mit Goldchlorid ergab stabile PEGylierte NPs mit einer engen Größenverteilung.

Auch wurden PEGylierte Dendrimere zur Verkapselung von Gold-NPs verwendet. Die Goldnanocluster wachsen dabei im Bereich zwischen den PEGylierten PAM-Dendronen.^[82,83] Durch Erhöhung der Dendron-Generation kann eine geschlossene Kern-Schale-Morphologie erreicht werden. Für eine enge Größenverteilung der Gold-NPs haben sich halbkugelförmige Dendronen bewährt. Beim Wechsel der Dendronform von einer Halbkugel zu einem Ellipsoid verbreitert sich die Größenverteilung.

Eine aussichtsreiche Alternative für die Entwicklung PEGylierter NPs ist die Anwendung eines doppelten Phasentransferprozesses auf Goldnanostäben. Die Gold-NPs wurden in CTAB (Cetyltrimethylammoniumbromid) synthetisiert und anschließend durch Ligandenaustausch mit PLGA-*b*-PEG-COOH beschichtet.^[84] Der lipophile Kern aus Poly(milchsäure-*co*-glycolsäure) (PLGA) wurde dabei als Basis genutzt, um die Ethyl-11-mercaptopoundecanoat-beschichteten Gold-NPs abzufangen.

4.1.4. PEGylierte und nicht-PEGylierte Gold-NPs im Vergleich

Mirkin und Mitarbeiter haben kürzlich eine Reihe einfacher und eigens konstruierter Liganden für medizinische und biologische Anwendungen besprochen.^[35] Verschiedene Oberflächenmodifikationen führen zu verschiedenen Oberflächenladungen und Größen von NPs, was wiederum eine selektive Aufnahme der Nanopartikel zur Folge hat. Zwar können Citrat- und Amin-funktionalisierte Gold-NPs in Zellen eindringen, aber die Nachteile dieser geladenen Nanopartikel sind deutlich. Die PEGylierung bietet eine bessere Alternative, da PEG-Moleküle die Oberflächenladung von Nanopartikeln vollständig abschirmen. Die Internalisierung von geladenen Partikeln wurde auf die Wechselwirkung zwischen den positiv geladenen NPs (Amine) und der negativ geladenen Zelloberfläche oder, für negativ geladene Nanopartikel [Citrat- oder Polyacrylsäure(PAA)-beschichtete NPs], auf ihre Wechselwirkung mit bestimmten Proteinen zurückgeführt.

Liganden wie Lipide, Peptide, Oligonukleotide/DNA und Antikörper können auf Goldnanopartikel aufgebracht werden, um bestimmte Funktionen für z.B. Wirkstoffabgabe, gezielte Zelltherapeutika oder Bildgebung bereitzustellen. Antikörper, die direkt auf NPs adsorbiert sind, sind relativ instabil, sodass in der Regel ein Ankermolekül erforderlich ist. Difunktionalisiertes PEG kann aber auch als Ankergruppe für größere Biomoleküle verwendet werden und ist in der Lage, die benötigten Eigenschaften für eine gezielte Wirkstoffabgabe zu liefern. Die interessantesten Eigenschaften zeigen jedoch DNA-Goldnanokonjugate.^[85] Es wurde demonstriert, dass bei einer größeren Oberflächenbeladung mit DNA bis zu einer Million Goldnanopartikel pro Zelle aufgenommen werden können.^[85,86] Die Dichte von DNA auf der NP-Oberfläche ist hierbei einer der entscheidenden Faktoren, da auch für NPs mit einer hohen Oberflächendichte an PEG eine bessere Internalisierung beobachtet wurde. Über einen direkten Vergleich der Zellgängigkeit von NPs mit PEGylierten und DNA-modifizierten Oberflächen (in vivo und in vitro) liegen bisher keine Berichte vor, aber negativ geladene DNA-beschichtete Gold-NPs werden deutlich besser aufgenommen als negativ geladene Citratbeschichtete NPs.^[87] Im Unterschied zu PEG-Molekülen, die Opsonin-Proteine abstoßen und so die Zirkulationszeit der NPs verbessern, wird für DNA-beschichtete Gold-NPs ein Internalisierungsmechanismus diskutiert, der einen Wechsel von einem negativen zu einem positiven Zetapotential sowie die Adsorption bestimmter Proteine beinhaltet.^[86] Während DNA-modifizierte Gold-NPs verschiedene interessante Eigenschaften haben, erfordert die Oberflächenmodifikation mit solchen Biomolekülen spezielle Vorkehrungen (Puffer, Einsatz DNA-kompatibler Chemikalien, beschränkte Einwirkungszeit) und aufwendige Reinigungsverfahren. Im Vorfeld wurde bereits die chemische Stabilität von PEG sowohl gegenüber milden oxidativen und reduktiven Bedingungen als auch bei mäßig hohen Temperaturen erwähnt. Wegen dieser Eigenschaften erhält PEG häufig den Vorzug gegenüber hochempfindlichen Biomolekülen und Proteinen.

4.1.5. Toxizität und Biokompatibilität von PEGylierten Gold-NPs

Trotz der Tatsache, dass eine PEGylierung die Biokompatibilität erhöht und die normale Ausscheidung von Gold-NPs aus dem Körper erleichtert, haben einzelne Berichte über toxische Reaktionen auf PEGylierte Gold-NPs einige Bedenken geweckt. Für 13 nm große PEGylierte Gold-NPs wurde eine akute Toxizität berichtet, die zu einer akuten Entzündung und Apoptose in der Leber von Mäusen führte.^[88] Trotz PEGylierung reicherteten sich die NPs bis zu sieben Tage nach der Injektion in der Leber an. Dagegen war gezeigt worden, dass der Austausch von toxischen Tensiden wie CTAB auf Goldnanostäben gegen eine PEG-Beschichtung die Kolloidstabilität und Biokompatibilität erhöht. Der sehr hohe LC₅₀-Wert wird auch im Zusammenhang mit der Messung hoher Dosen der NPs in anderen Organen diskutiert, die diese unspezifisch aufnehmen.^[89] Obwohl in verschiedenen Beiträgen die hohe Biokompatibilität und lange Verweildauer von Gold-NPs im Blut demonstriert wurden, erfordern die vereinzelten Berichte über die Toxizität von PEGylierten

NPs eine vollständige Untersuchung. Die Bindung von PEG an die Gold-NP-Oberfläche über Thiole oder tertiäre Amine muss mit Blick auf ihre Stabilität vollständig charakterisiert werden. Es muss auch gezeigt werden, dass die Oberflächenfunktionalisierung für die gesamte Zeit, die ein NP im Körper verbleiben könnte, stabil ist. Außerdem kann es während des Prozesses der NP-Funktionalisierung zur Adsorption anderer Chemikalien auf der Oberfläche kommen. Darum ist es sehr wichtig, alle verwendeten Materialien sorgfältig zu reinigen, um zu vermeiden, dass eine Toxizität durch unerwünschte, an der Oberfläche adsorbierte Chemikalien fälschlicherweise den PEGylierten NPs zugeschrieben wird.

4.2. Nano-Metallocide

Metallocide bilden eine vielseitige Klasse technologisch wichtiger Verbindungen. Aufgrund ihrer Reaktionsträgheit werden sie in der Biomedizin als Zahn- und Knochenersatz oder Implantatmaterial verwendet. Oxidmaterialien werden aber nicht mehr nur als passive, inerte Füllmaterialien, sondern auch als aktive Stofftransporter, magnetische Kontrastmittel und therapeutische Materialien eingesetzt. Im Zuge einer Miniaturisierung werden passive Oxidpartikel in aktive Nanomaterialien gewandelt, was ihren Anwendungsbereich erweitert. Hierbei finden Aluminiumoxid, Siliciumdioxid, Eisenoxid, Gadoliniumoxid und Ceroxid jetzt besondere Beachtung. Seit der Entdeckung von mesoporösem Nano-Siliciumdioxid im Jahr 1992 wurde es für verschiedene Zwecke verwendet (auch in Kosmetika und für den Wirkstofftransport).^[90] Hohle Siliciumdioxid-NPs haben verbreitete Anwendung im Wirkstofftransport gefunden.^[18,91] Auch Eisenoxid-NPs zeigen ein großes Potenzial für verschiedene nanobiomedizinische Anwendungen, einschließlich der Hyperthermie-Behandlung von Tumorzellen, des Wirkstofftransports und des Einsatzes als magnetische Kontrastmittel.^[3,33] In letzter Zeit mehren sich auch die Studien zu Ceroxid-NPs als Antioxidantien.^[21] Ein derartiger Trend zur biomedizinischen Anwendung von Oxid-NPs induziert natürlich auch die Entwicklung ihrer PEGylierten Varianten. In diesem Abschnitt werden wir uns auf die PEGylierung von Eisenoxid-NPs konzentrieren und andere Oxidsysteme nur kurz erwähnen.

Die Oberflächen-PEGylierung von Oxid-NPs kann durch Adsorption, elektrostatische Wechselwirkungen und über kovalente Bindungen erreicht werden. Die Hydroxygruppen auf der Oberfläche von Oxid-NPs (die in wässrigen Medien hergestellt wurden) können für die direkte PEGylierung genutzt werden. Wenn NPs jedoch in einem organischen Medium hergestellt werden, ist eine zusätzliche Behandlung notwendig, um die Oberfläche zu aktivieren. Die Herstellung von Oxid-Nanopartikeln in PEG kann durch die Bildung von M-O-C-Bindungen auch zu einer direkten PEGylierung führen, was für Cerioxid-, Eisenoxid- und Siliciumdioxid-NPs gelang.^[21,43,92,93] Auch wurde funktionalisiertes PEG verwendet, das OH- und COOH-Endgruppen trägt oder auf das Copolymeren wie PEI (Polyethylenimin),^[94] PMMA (Poly-

methylmethacrylat),^[93] oder PAMAM (Polyamidoamin)^[95] aufgepfropft waren.

4.2.1. PEGylierung von Eisenoxid mithilfe von Silanen

Magnetische Eisenoxid-NPs (MIPs) werden häufig mit einer Kombination aus PEG und einem Silan beschichtet. Bei dieser Methode wird die starke Bindung der Silangruppe an die Oberfläche von Oxid-NPs ausgenutzt. PEGylierte MIPs kann man durch zwei Methoden herstellen: erstens durch Beschichtung der NPs mit einer Silangruppe unter Verwendung von APTMS (Aminopropyltrimethoxysilan) oder AP-TES (Aminopropyltriethoxysilan) und anschließende Funktionalisierung der endständigen Aminogruppe durch PEG mit einer Carboxy-Endgruppe. Zweitens kann auch zuerst ein PEG-Silan hergestellt und dann mit MIPs behandelt werden, um PEGylierte MIPs mit einer primären Silanschale und PEG als externer Schale zu erhalten.^[96] Mit der DLVO-Theorie (nach Derjaguin und Landau, Verwey und Overbeek) wurde gezeigt, dass PEG-Silan die MIPs durch sterische Abstoßung stabilisiert.^[97] Die äußere PEG-Beschichtung kann auch Fluoreszenzfarbstoffe, die an einer Siliciumdioxidschicht auf den MIPs gebunden sind, vor photochemischem Abbau schützen.^[98] Die Bewegung der Partikel unter dem Einfluss eines Magnetfelds kann dann mithilfe des Fluoreszenzfarbstoffs verfolgt werden. Auf die gleiche Weise wurde auch magnetisches Gadoliniumoxid in einer fluoreszierenden inneren Silanschale PEGyliert.^[99] Bei einem Vergleich von PEG₂₅₀-COOH, PEG₂₀₀₀-COOH, PEG₂₀₀₀-OCH₃ und PEG₂₀₀₀-NH₂ wies mit PEG₂₀₀₀-OCH₃ beschichtetes Gadoliniumoxid die längste Zirkulationszeit im Blut und die höchste Anreicherung im Tumor auf. Der Austausch der Methoxygruppe durch eine Amin- oder Carboxyfunktion führte wegen der höheren Oberflächenladung dieser Verbindungen zu einer verstärkten Anreicherung von NPs in Leber und Milz. Trotz der kleinen Größe zeigen die sehr dicht mit PEG₂₅₀-COOH funktionalisierten NPs freie Zirkulation im Blut und die geringste Aufnahme durch Leber oder Milz. Mit einer ähnlichen Strategie konnte auch difunktionalisiertes PEG an Gadoliniumoxid-NPs verankert werden.^[100] Die endständige Carboxygruppe wurde zur Anbindung eines Rhodaminfarbstoffs als Fluoreszenzmarker genutzt. Im Vergleich zu unbeschichteten NPs wiesen die PEGylierten Gadoliniumoxid-NPs eine geringere Relaxivität auf. Allerdings erhöhte sich die Relaxivität mit zunehmender Dauer der Aufreinigung durch Dialyse, was vermutlich auf das Ablösen von nur lose gebundenen PEG-Molekülen zurückzuführen ist.

4.2.2. PEGylierung durch Ligandenaustausch

MIPs, die in hochsiedenden nichtwässrigen Lösungsmitteln hergestellt wurden und mit Ölsäure, Hexan oder Triocetylphosphinoxid (TOPO) auf ihrer Oberfläche stabilisiert sind, können durch Ligandenaustausch, z. B. mit PEG-Silan, PEG-PEI, PEG-PAMAM, PO-PEG (Phosphinoxid-funktionalisiertes PEG) oder PEG-Fettsäuren, direkt aus dem nichtwässrigen in ein wässriges Medium überführt werden.^[94-97,101,102]

Eine Reihe von PEGylierten magnetischen NPs ist mit ihren Eigenschaften und Anwendungen in Tabelle 3 aufgeführt. PEGylierte magnetische NPs behalten trotz der PEGylierung alle ihre relaxometrischen Eigenschaften. Die Größe der NPs wächst nach dem Ligandenaustausch gegen PEG in Abhängigkeit vom Molekulargewicht der PEG-Beschichtung. Dieser kleine Anstieg der Partikelgröße kann zwar die Aufnahme in Zellen beeinträchtigen, im Gegenzug verringert die PEG-Beschichtung dafür aber die nichtspezifische Adsorption durch das RES. Somit konnte gezeigt werden, dass die Gesamtaufnahme von NPs ohne zielführende Liganden in Tumorzellen sich durch den EPR-Effekt erhöht, wobei die porösen Blutgefäße von Tumorzellen und die durch PEG verlängerte Zirkulationszeit der NPs genutzt werden.^[96]

4.2.3. Einstufige PEGylierung von magnetischen NPs

Auch die direkte Synthese von MIPs und magnetischen NPs mit eigens dafür entwickelten PEG-Derivaten ist möglich. Zusätzlich zur PEGylierung haben diese einstufigen Synthesen den Vorteil, dass sie kleine NPs mit einheitlichen Größen liefern. PEGylierte Magnetit-NPs von 4 und 9.8 nm Größe wurden direkt durch thermische Zersetzung von [Fe(acac)₃] in Pyrrolidon und PEG hergestellt, wobei PEG mit einer und zwei Carboxy-Endgruppen kovalent an die Hydroxygruppen der Oberflächen gebunden wurde.^[104] Die Steigerung des PEG-Molekulargewichts von 550 bis 5000 verbessert die Löslichkeit der MIPs, erhöht aber die Partikelgröße und schwächt die magnetischen Eigenschaften ab. Die Ppropf-Copolymerisation von PEGMEA (PEG-Methylether-Acrylat) mit Polymethylmethacrylat durch radikalische Atomtransferpolymerisation wurde zur Herstellung von MIPs in PPEGMEA-PMMA verwendet, die durch Mifällung von Fe²⁺ und Fe³⁺ in Gegenwart des Polymers erhalten wurden.^[93] Durch Einsatz längerer PMMA-Seitenketten konnte die Oberflächenladung effektiv abgeschirmt werden. MIPs wurden auch direkt in dem biologische Ablagerungen hemmenden Polymer von (Trimethoxysilylpropyl)methacrylat (TMSMA) hergestellt, das mit PEG und Silan verbunden ist.^[107] Die in situ erzeugten NPs waren in PBS-Puffer bei pH 1-10 gut dispergiert. Sie zeigten auch eine sehr geringe Aufnahme durch Makrophagen und eine sehr geringe Zytotoxizität, was sie zu aussichtsreichen Kandidaten für Kernresonanz-Kontrastmittel macht.

PEG-Gallol (PEG₅₀₀₀ und PEG₅₅₀) kann auch zur Beschichtung von Eisenoxid-NPs in einem einstufigen Prozess verwendet werden. Die erhaltenen NPs können durch Gefriertrocknung als lagerfähige Nanopulver gewonnen werden, die sich wieder in Wasser lösen lassen.^[92] Des Weiteren können an eines der beiden Enden von PEG andere funktionelle Gruppen, z. B. Biotin und Dopamin, gebunden sein, und diese Derivate können nach wie vor zur einstufigen Beschichtung von Eisenoxid verwendet werden. Dank der Stabilisierung durch PEG-Gallol wurde für die Dopamin-funktionalisierten MIPs keine Eisenkorrosion beobachtet.

Tabelle 3: Verschiedene PEGyierte Systeme für magnetische NPs.

Funktionalität	MW(PEG) [g mol ⁻¹]	Ankergruppe	Anwendung/Eigenschaften	Lit.
Difunktionalisiert: Mal-PEG-NHS	5000	(3-Mercaptopropyl)- trimethoxysilan (MPTS)	PEGyierte Gd_2O_3 zeigt magnetische Relaxationseigenschaften in Abhängigkeit der Beschichtung.	[100]
Mono- und difunktionalisiert: $\text{NH}_2\text{-PEG-NH}_2$, HOOC-PEG-COOH , HOOC-PEG-OCH_3	250 und 2000	Polysiloxanschale	Mit Methoxy-PEG beschichtetes Gd_2O_3 zeigt die höchste Stabilität und Aufnahme durch Tumorzellen. Die Aufnahme verläuft in Abhängigkeit des Polymermolekulargewichts und/oder der Oberflächendichte.	[99]
Monofunktionalisiert: PEG-SiOMe ₃		Siliciumdioxidschale	Ein Fluoreszenzfarbstoff in der Siliciumdioxidschale war vor photochemischer Zersetzung geschützt. Der magnetische Wirkstoff konnte <i>in vitro</i> visualisiert werden.	[98]
Difunktionalisiert: Trifluorethylester(TFEE)- PEG-Silan	600	Silan	Mit TFEE-PEG modifizierte Nanopartikel sind sowohl in wässrigen als auch nichtwässrigen Lösungsmitteln löslich. TFEE kann in eine Amingruppe überführt und an zielführende Gruppen wie Folsäure gebunden werden.	[103]
Monofunktionalisiert: MPEG-COOH	1100	direkte Anbindung	Eintopfsynthese von PEGyierten Magnetit-NPs, die eine lange Zirkulationszeit zeigen.	[104]
Monofunktionalisiert (MPEG- Silan) und difunktionalisiert (TFEE-PEG-Silan)	–	Silan	PEGyierte NPs zeigen im Vergleich zu nicht-PEGyierten NPs eine erhöhte Aufnahme in Zellen. Mit Folsäure beschichtete NPs werden besser in Tumorzellen aufgenommen.	[105]
PEG-PEI	5000	PEI	Die transversale Relaxivität ist für micellare Systeme bei gleicher NP-Größe höher. Die Relaxivität nimmt mit steigender Partikelgröße der polymerbeschichteten NPs zu.	[94]
PEG-PAMAM	2000	PAMAM	Der Phasentransfer magnetischer NPs ist anfällig gegenüber Änderungen der Zusammensetzung des PEG-PAMAM-Copolymers.	[95]
Monofunktionalisiert: PO-PEG	550, 1100	PO	Einfacher Prozess zur Herstellung von wasserlöslichen Eisenoxid-NPs. PEG_{1100} konnte die Adsorption von Serumproteinen nicht komplett verhindern, erhielt aber die relaxometrischen Eigenschaften aufrecht.	[102, 106]
Mono- und difunktionalisiert: MPEG-Gallol und Biotin-PEG- Gallol	550 und 3400	Gallol	Ermöglicht die Gefriertrocknung und Resuspensionierung von magnetischen Nanopartikeln. Eine Korrosion von Eisenoxid wurde im Dopamin-System nicht beobachtet.	[92]
PEGMEA-PMMA	–	direkte Anbindung	Direkte Eintopfsynthese von Fe_3O_4 mit enger Größenverteilung in doppelt hydrophilen Polymergemischen.	[93]
TMSMA-PEGMA	475	Silan	Polymerbeschichtete NPs konnten in Tumorzellen detektiert werden, wo sie zu einem verstärkten Kontrast führten. Die NPs schützen vor biologischen Ablagerungen.	[107]

4.2.4. Therapeutische PEGyierte Metallocid-NPs

Mit Cerioxid-Nanopartikeln (CNPs) wurden kürzlich vielversprechende Ergebnisse in der Behandlung von Krankheiten erhalten, die durch reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) hervorgerufen werden.^[108] Durch den Wechsel zwischen den Oxidationsstufen + III und + IV können Cerverbindungen die Einelektronenreduktion und -oxidation von ROS katalysieren. Es konnte gezeigt werden, dass die PEGyiierung von CNPs ihre Aktivität in Bezug auf das Abfangen von Superoxid- und Peroxidradikalen erhöht. Zwar wurde die proteinabweisende Wirkung der PEGyierten CNPs nicht getestet, nichtsdestoweniger konnte aber erstmals demonstriert werden, dass PEG als aktive Beschichtung statt nur als passive Schutzschicht wirkt.^[21] So ergibt die Reaktion der CNPs mit Wasserstoffperoxid in Gegenwart von PEG einen Komplex, der das Abfangen von Peroxid fördert. Diese Ergebnisse eröffnen neue Perspektiven für die PEGyiierung, weil die PEG-Moleküle nicht nur eine nichtspezifische Proteinadsorption erschweren, sondern auch aktiv eine Funktion ausüben.

4.3. Quantenpunkte

Quantenpunkte (QDs) sind eine Klasse von Halbleiter-NPs, die dank ihrer hervorragenden Fluoreszenzeigenschaften großes Potenzial für biologische Anwendungen haben. Die neusten Fortschritte im Bereich wasserlöslicher QDs ermöglichen die Herstellung von zielspezifischen QDs, die für die Bildgebung (in Zellen und in tiefem Gewebe) und auch als effiziente Donoren für den resonanten Fluoreszenzenergietausch (FRET) verwendet werden können.^[109] QDs bestehen normalerweise aus einem Halbleiterkern (z. B. aus CdSe, CdTe) sowie aus einer Schale (z. B. aus ZnS, CdS), die ihre optischen Eigenschaften verbessert.^[110] QDs dienen auch als Hilfsmittel für die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen NPs und Zellen, da sie in verschiedenen Größen und Formen und mit verschiedenen Oberflächenbeschichtungen erhältlich sind, einfach detektiert werden können und hohe Fluoreszenzausbeuten liefern.^[111] Verschiedene Strategien für die Anbindung von PEG an QDs wurden verfolgt. Einige der gängigsten sind: 1) die Anbindung von $\text{H}_2\text{N-PEG}$ -Molekülen an QDs mit einem Überzug aus einem amphi-

philen Polymer über eine freie Carbonsäure-Gruppe (unter Verwendung von 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC)^[112,113] oder *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) und EDC^[114]), 2) die Kupplung von Thiol-modifiziertem PEG durch eine Thiol-Austauschreaktion^[115] und 3) die Anbindung von Phospholipid-PEG durch Physisorption auf Trioctylphosphinoxid-beschichteten QDs.^[116]

4.3.1. Organaufnahme und Wechselwirkung von PEG-QDs mit Zellen

PEG-Moleküle auf der Oberfläche von QDs reduzieren die Wechselwirkung der Partikel mit Zelloberflächen und extrazellulären Matrixproteinen, was zu einer Verringerung der nichtspezifischen Bindung an die Zelle führt. Die Oberflächendichte von PEG auf QDs kann auch die Wechselwirkung zwischen QDs und Zelle beeinflussen. Es wurde gezeigt, dass bereits wenige PEG-Moleküle an der Oberfläche genügen, um nichtspezifische Bindungen zu reduzieren.^[114] Die Wechselwirkung von QDs mit Zellen kann auch in Abhängigkeit von der Oberflächenmodifikation variieren, z. B. wurde für PEGylierte QDs eine viel geringere Wechselwirkung nachgewiesen als für QD-COOH und QD-NH₂.^[111] In einer In-vitro-Untersuchung konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Wechselwirkung zwischen Zellen und PEGylierten QDs in Komplettmedium (10% Kälberserum) zweimal höher ist als in Medien ohne Ergänzung.^[117] Die Oberflächenbeschichtung durch PEG beeinflusst auch die Aufnahme der QDs in Organe und ihre Blutzirkulationszeit. In-vivo-Untersuchungen in Mäusen haben gezeigt, dass subkutan injizierte CdSe/ZnS-PEG-QDs von der Injektionsstelle entfernt werden und sich in den Lymphknoten anreichern.^[118] Interessanterweise lagern sich QDs in Abhängigkeit von ihrer Oberflächenbeschichtung in Leber, Haut und Knochenmark ab.^[119] Die Leber ist jedoch das primäre Ablagerungsorgan für PEG-QDs.^[120] Eine verringerte Organaufnahme, längere Zirkulationszeiten im Blut und eine langsame Anreicherung von QDs in Tumoren wurden für PEG-QDs beschrieben.^[113,121-124] Die Größe der PEG-Moleküle beeinflusst auch die Blutzirkulationszeit und die Verteilung der QDs im Organismus. Für PEG-QDs mit niedrigem Molekulargewicht wurde eine Zirkulationsdauer von 12 min oder weniger gefunden, wohingegen PEG-QDs mit höherem Molekulargewicht eine verringerte Makrophagenerkennung, deutlich längere Zirkulationszeiten und eine verringerte Aufnahme durch die Lymphknoten und Leber aufweisen.^[112,119] Gleichermassen führt höhermolekulares PEG mit einem spezifischen Liganden oder Peptid an dem der PEG-QD-Verknüpfung entgegengesetzten Ende zu einer verbesserten Zielführung in Tumore und subzellulären Strukturen.^[115] Große QDs (wie PEG-Dihydroliponsäure-QDs) wurden hingegen in Organen wie Leber, Lunge und Milz angereichert, jedoch nicht in der Blase.^[125]

Die Clearance aus dem Organsystem ist eine weitere Anforderung an QDs für In-vivo-Bildgebungsverfahren. Untersuchungen zeigen eine Clearance von PEG-QDs erst aus der Leber, dann aus Milz und Knochenmark und zuletzt aus den Lymphknoten.^[119] Dennoch konnte gezeigt werden, dass CdSe/ZnS-QDs, die mit PEG und einem tumorspezifi-

schen Peptid funktionalisiert sind, die nichtspezifische Ausscheidung der QDs durch das lymphatische System reduzieren.^[117] Das Ausmaß der Wechselwirkung mit Zellen und die Toxizität von QDs, die mit PEG-Molekülen mit verschiedenem Molekulargewicht und verschiedenen Endgruppen funktionalisiert sind, sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

4.3.2. Zytotoxizität von QD-PEG

Im Hinblick auf biologische Anwendungen von QDs ist es sehr wichtig, ein grundlegendes Verständnis für die Wechselwirkung von QDs mit Zellen aufzubauen und mögliche zytotoxische Effekte der QDs zu ermitteln. Die Toxizität von QDs hängt hauptsächlich von ihrer Größe, Ladung, Konzentration, Biokompatibilität und (oxidativen, photolytischen und mechanischen) Stabilität ab. Bekannte Faktoren, die die Toxizität von QDs verursachen, sind Kernzersetzung und verstärkte Erzeugung von freien Radikalen sowie Wechselwirkungen mit Zellbestandteilen und Proteinen, die diese Strukturen unbrauchbar machen.^[118] Eine Zytotoxizitätsuntersuchung für PEG-Silan-beschichtete QDs zeigte minimale Auswirkungen und molekulare Reaktionen der exponierten Zellen.^[130] Eine Dosis-Wirkungs-Studie beschrieb die Zytotoxizität von QD-PEG-Amin und HOOC-QDs, aber für QDs mit nichtfunktionalisiertem PEG wurde keine Zytotoxizität beobachtet. Ähnliches wurde beim Vergleich von PEG-beschichteten QDs mit den unbeschichteten CdSe/CdS-QDs gefunden; für die PEG-beschichteten QDs wurde nur eine minimale Zytotoxizität beobachtet.^[126] Die PEGylierung hemmte die Aufnahme in Zellen.^[131] Für die Zytotoxizität spielt auch die Größe der PEG-Moleküle auf der QD-Oberfläche eine wichtige Rolle. Es wurde gezeigt, dass QDs, die mit hochmolekularem PEG beschichtet sind, weniger zytotoxisch sind als solche, die mit niedermolekularem PEG beschichtet sind.^[126] Zusätzlich zur Zytotoxizität wurde auch die Immunantwort von Zellen auf QDs mit PEG-, PEG-Amin- und Polyacrylsäure(PAA)-Oberflächenmodifizierung untersucht. Carboxy-beschichtete QDs (PAA) riefen eine starke Immunantwort hervor und erhöhten die Freisetzung von IL-1 β , IL-6 und IL-8 um das Zwei- bis Fünffache über einen Zeitraum von 48 h. Für PEG-beschichtete QDs wurde ein solcher Anstieg der IL-Freisetzung nicht beobachtet. Interessanterweise verursachten PEG-Amin-beschichtete QDs auch einen leichten Anstieg der Freisetzung von IL-6 und IL-8.^[128]

Die PEG-Beschichtung von QDs verringert ihre nichtspezifische Bindung und die Aufnahme in Organe und reduziert auch die Zytotoxizität und die Immunantwort von lebenden Zellen auf die Behandlung mit QDs. Die Biokompatibilität von hetero- und homodifunktionalisierten PEG-QDs mit Amin- oder Carboxy-Endgruppen wurde noch nicht eindeutig nachgewiesen. Obwohl die PEGylierung die NP-Stabilität erhöht und zu einer guten Verteilung beiträgt, wurde die Aggregation von hoch konzentrierten PEG-QDs in Pufferlösungen berichtet,^[125,132] was ihre Bandbreite und Anwendbarkeit einschränkt. Das PEG-Polymer erhöht auch die Partikelgröße, was wiederum die In-vivo-Anwendung von QDs begrenzen könnte. Außerdem ist der Einfluss der PEG-Dichte und -Konformation auf der Nanopartikeloberfläche

Tabelle 4: Eigenschaften, Biokompatibilität, Zellwechselwirkung und Zytotoxizität von QDs, die mit PEG-Molekülen von verschiedener Länge und mit verschiedenen Endgruppen funktionalisiert sind.

QD	PEG	MW(PEG) [g mol ⁻¹]	Eigenschaften/Biokompatibilität/Zellwechselwirkung/ Organaufnahme/Anwendung	Lit.
CdSe-ZnS, beschichtet mit amphiphilem Poly- mer	Methoxy- PEG	2000 550 350	Das Molekulargewicht von PEG hat keinen Einfluss auf die Verringerung nichtspezifi- scher Bindungen. Niedermolekulares PEG genügt, um den größten Teil nichtspezifischer Bindung aus- zuschalten.	[114]
CdSe-CdS, beschichtet mit amphiphilem Poly- mer	H ₂ N-PEG- Methylester	750 6000	Sowohl Zytotoxizität als auch Aufnahme durch Zellen sinken mit höherem Molekular- gewicht der PEG-QDs.	[126]
CdSe-ZnS, beschichtet mit amphiphilem Poly- mer	Methoxy- PEG Carboxy-PEG	750 5000 3400	QDs mit einem Überzug aus Methoxy-PEG mit höherem Molekulargewicht zeigen eine lange Zirkulationszeit im Blut (140 min).	[112]
CdSe-ZnS, beschichtet mit amphiphilem Poly- mer	Methoxy- PEG	5000 700	QDs, die mit höhermolekularem PEG funktionalisiert sind, reichern sich nicht in den Lymphknoten an.	[119]
TOPO-beschichtete QDs	PEG	2000	Verringerung der RES-Aufnahme und Förderung der Ausscheidung im Vergleich zu nichtbeschichteten QDs.	[127]
CdSe-ZnS Kugel (4.6 nm Durchmesser) Ellipsoid (12 nm x 6 nm Durchmesser)	PEG PEG-Amin PEG PEG-Amin	–	Über einen Zeitraum von 48 h wurde keine Zytotoxizität beobachtet. Nach 48 h wurde Zytotoxizität und ein Anstieg der IL-6- und IL-8-Abgabe beobachtet. Nach 48 h wurde Zytotoxizität beobachtet. Nach 48 h wurde Zytotoxizität und ein Anstieg der IL-8-Abgabe beobachtet.	[128]
CdSe-ZnS Kugel (4.6 nm Durchmesser) Ellipsoid (12 nm x 6 nm Durchmesser)	PEG PEG-Amin	–	Der kleinere hydrodynamische Durchmesser der PEG-Amin-QDs ermöglicht das Ein- dringen durch die Haut und die Lokalisierung in der Dermis, während PEG-QDs nach 8 h in der Epidermis lokalisiert sind. Größere PEG- und PEG-Amin-QDs sind nach 8 h in der Epidermis lokalisiert.	[111]
CdSe-CdS QDs	PEG	–	Die PEG-QDs dringen nur durch verletzte Haut in den Körper ein und sind daher bei intakter Haut nicht toxisch.	[129]
Mercaptoessigsäure- CdSe/ZnS	Methoxy- PEG	5000	Mit QD-PEG-Peptidkonjugaten können subzelluläre Ziele angesteuert werden.	[115]

auf ihre Schutzwirkung gegen biologische Ablagerungen noch größtenteils unerforscht.

5. Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Kurzaufsatz haben wir einige der gängigen Methoden für die PEGylierung von anorganischen NPs zusammengefasst, die die Bandbreite, Verwendbarkeit und Biokompatibilität von NPs für verschiedene biomedizinische Anwendungen erweitert haben. Das enorme Potenzial anorganischer NPs in der Therapie, der diagnostischen Bildgebung, der Behandlung und Vorbeugung von Krankheiten wurde durch die Tarnungseigenschaften erweitert, die durch eine PEG-Beschichtung möglich werden. Ein gezielter Auf-

bau und eine sorgfältige Synthese ermöglichen die Vektorisierung von NPs in Verbindung mit ihrer PEGylierung. Darum ist das Hauptaugenmerk in der Entwicklung PEGylierter NPs auf die Herstellung von multifunktionalisierten PEG-Molekülen gerichtet, die mit biologische Ablagerungen hemmenden Wirkstoffen, Fluoreszenzmarkern und anderen funktionellen Polymeren veredelt werden können. Diese Derivatisierung kann aus PEG eine zusätzliche Sonde machen, die an die anorganischen NPs gebunden ist, und mit deren Hilfe eine Vielzahl von Informationen aus einem einzigen Aufbau erhalten werden kann. Die PEGylierung ist somit nicht auf die Rolle als passive Beschichtung für die Abstoßung von Opsonin-Proteinen beschränkt, sondern sie kann auch aktiv am therapeutischen und diagnostischen Effekt und an der Bildgebung beteiligt sein. Zusätzlich sind

einstufige PEGylierungsstrategien für die direkte Herstellung von PEGylierten Nanopartikeln äußerst wünschenswert. Prozesse wie die Röntgenbestrahlung und dielektrisch behinderte Entladungen in Gegenwart von PEG als Lösungsmittel werden wahrscheinlich mehr Zuspruch erhalten, und neue einstufige PEGylierungsverfahren werden entwickelt werden. Da die Forschung multidisziplinär wird, werden neue Synthesemethoden, Konjugationsvermittler und Kuppelungsmoleküle für die effiziente Beschichtung und VerkapSELung noch kleinerer NPs mit verschiedensten Formen entwickelt werden. Der Einfluss der PEG-Oberflächendichte und des Molekulargewichts auf die Aufnahme von PEGylierten NPs in Zellen wird weiterhin für verschiedene Arten von Nanopartikeln untersucht. Es ist zu erwarten, dass die Forschung sich zunehmend auf die Untersuchung der spezifischen Wechselwirkung von verschiedenen Proteinen mit PEGylierten Oberflächen und die Rolle solcher Proteine in der Erhöhung oder Verringerung der Aufnahme der Nanopartikel in Zellen konzentriert. Da eine Anwendung von PEGylierten NPs im Körper vorgesehen ist, sind detaillierte Informationen über ihre Langzeitstabilität, Zytotoxizität und Wirksamkeit erforderlich, bevor sie als eine mögliche Alternative in technischem Maßstab hergestellt werden können.

Die Autoren bedanken sich bei der National Science Foundation (NSF NIRT: 0708172) für die Finanzierung der Nanotechnologieforschung. Teile dieser Arbeit wurden im Environmental Molecular Sciences Laboratory am Pacific Northwest National Laboratory (PNNL) durchgeführt und durch das Office of Biological and Environmental Research des U.S. Department of Energy unterstützt. Das PNNL ist ein nationales Labor, das für verschiedene Programme genutzt wird und vom U.S. DOE durch das Battelle Memorial Institute unter der Vertragsnummer DE-AC06-76RLO 1830 betrieben wird.

Eingegangen am 17. Mai 2010,
veränderte Fassung am 16. August 2010
Online veröffentlicht am 27. Januar 2011
Übersetzt von Dr. Juliane Keilitz, Toronto

- [1] K. Riehemann, S. W. Schneider, T. A. Luger, B. Godin, M. Ferrari, H. Fuchs, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 886; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 872.
- [2] R. Langer, *Nature* **1998**, *392*, 5.
- [3] Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson, *J. Phys. D* **2003**, *36*, R167.
- [4] R. K. Jain, *Nat. Med.* **2003**, *9*, 685.
- [5] R. Langer, D. A. Tirrell, *Nature* **2004**, *428*, 487.
- [6] S. M. Moghimi, A. C. Hunter, J. C. Murray, *Pharmacol. Rev.* **2001**, *53*, 283.
- [7] J. Panyam, V. Labhasetwar, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2003**, *55*, 329.
- [8] Y. Qiu, K. Park, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *53*, 321.
- [9] K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, K. M. Shakesheff, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 3181.
- [10] M. Ferrari, *Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 161.
- [11] C. Klumpp, K. Kostarelos, M. Prato, A. Bianco, *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.* **2006**, *1758*, 404.
- [12] S. Kommareddy, S. B. Tiwari, M. M. Amiji, *Technol. Cancer Res. Treat.* **2005**, *4*, 615.
- [13] W. Wu, S. Wieckowski, G. Pastorin, M. Benincasa, C. Klumpp, J. P. Briand, R. Gennaro, M. Prato, A. Bianco, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6358.
- [14] A. H. Faraji, P. Wipf, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2950.
- [15] T. Murakami, K. Tsuchida, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2008**, *8*, 175.
- [16] R. Bhattacharya, P. Mukherjee, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, *60*, 1289.
- [17] Y. Y. Liu, H. Miyoshi, M. Nakamura, *Int. J. Cancer* **2007**, *120*, 2527.
- [18] M. Vallet-Regi, F. Balas, D. Arcos, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7692; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7548.
- [19] Y. Wang, A. S. Angelatos, F. Caruso, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 848.
- [20] Z. P. Xu, Q. H. Zeng, G. Q. Lu, A. B. Yu, *Chem. Eng. Sci.* **2006**, *61*, 1027.
- [21] A. S. Karakoti, S. Singh, A. Kumar, M. Malinska, S. Kuchibhatla, K. Wozniak, W. T. Self, S. Seal, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14144.
- [22] D. P. O'Neal, L. R. Hirsch, N. J. Halas, J. D. Payne, J. L. West, *Cancer Lett.* **2004**, *209*, 171.
- [23] C. Loo, A. Lowery, N. J. Halas, J. West, R. Drezek, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 709.
- [24] L. Balogh, D. R. Swanson, D. A. Tomalia, G. L. Hagnauer, A. T. McManus, *Nano Lett.* **2001**, *1*, 18.
- [25] V. Alt, T. Bechert, P. Steinrucke, M. Wagener, P. Seidel, E. Dingeldein, E. Domann, R. Schnettler, *Biomaterials* **2004**, *25*, 4383.
- [26] A. Melaiye, Z. H. Sun, K. Hindi, A. Milsted, D. Ely, D. H. Reneker, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2285.
- [27] M. Bruchez, Jr., M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A. P. Alivisatos, *Science* **1998**, *281*, 2013.
- [28] W. C. W. Chan, S. M. Nie, *Science* **1998**, *281*, 2016.
- [29] X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, S. S. Gambhir, S. Weiss, *Science* **2005**, *307*, 538.
- [30] Y. M. Huh, Y. W. Jun, H. T. Song, S. Kim, J. S. Choi, J. H. Lee, S. Yoon, K. S. Kim, J. S. Shin, J. S. Suh, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12387.
- [31] S. H. Sun, H. Zeng, D. B. Robinson, S. Raoux, P. M. Rice, S. X. Wang, G. X. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273.
- [32] E. Katz, I. Willner, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6166; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6042.
- [33] A. H. Lu, E. L. Salabas, F. Schuth, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1242; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222.
- [34] D. E. Owens III, N. A. Peppas, *Int. J. Pharm.* **2006**, *307*, 93.
- [35] D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3352; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3280.
- [36] L. E. Euliss, J. A. DuPont, S. Gratton, J. DeSimone, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 1095.
- [37] J. H. Park, S. Lee, J. H. Kim, K. Park, K. Kim, I. C. Kwon, *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33*, 113.
- [38] M. J. Joralemon, S. McRae, T. Emrick, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 1377.
- [39] M. D. Howard, M. Jay, T. D. Dziublal, X. L. Lu, *J. Biomed. Nanotechnol.* **2008**, *4*, 133.
- [40] H. Otsuka, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2003**, *55*, 403.
- [41] P. K. Sudeep, Z. Page, T. Emrick, *Chem. Commun.* **2008**, 6126.
- [42] U. Wattendorf, H. P. Merkle, *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97*, 4655.
- [43] C. Yagüe, M. Moros, V. Grazu, M. Arruebo, J. Santamaría, *Chem. Eng. J.* **2008**, *137*, 45.
- [44] D. Bhadra, S. Bhadra, P. Jain, N. K. Jain, *Pharmazie* **2002**, *57*, 5.
- [45] J. Chen, S. K. Spear, J. G. Huddleston, R. D. Rogers, *Green Chem.* **2005**, *7*, 64.

- [46] R. D. Rogers, J. H. Zhang, C. B. Bauer, *J. Alloys Compd.* **1997**, 249, 41.
- [47] N. Uekawa, M. Endo, K. Kakegawa, Y. Sasaki, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, 2, 5485.
- [48] R. D. Rogers, A. H. Bond, C. B. Bauer, *Sep. Sci. Technol.* **1993**, 28, 1091.
- [49] M. L. Moody, H. D. Willauer, S. T. Griffin, J. G. Huddleston, R. D. Rogers, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, 44, 3749.
- [50] H. D. Willauer, J. G. Huddleston, R. D. Rogers, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2002**, 41, 2591.
- [51] S. Kuchibhatla, A. S. Karakoti, S. Seal, *Jom* **2005**, 57, 52.
- [52] M. Malmsten, K. Emoto, J. M. VanAlstine, *J. Colloid Interface Sci.* **1998**, 202, 507.
- [53] S. Kuchibhatla, A. S. Karakoti, D. Bera, S. Seal, *Prog. Mater. Sci.* **2007**, 52, 699.
- [54] X. F. Zhou, S. Y. Chen, D. Y. Zhang, X. F. Guo, W. P. Ding, Y. Chen, *Langmuir* **2006**, 22, 1383.
- [55] S. Kuchibhatla, A. S. Karakoti, S. Seal, *Nanotechnology* **2007**, 18.
- [56] J. X. Guo, X. Q. Xin, X. Zhang, S. S. Zhang, *J. Nanopart. Res.* **2009**, 11, 737.
- [57] D. Zhang, H. Fu, L. Shi, C. Pan, Q. Li, Y. Chu, W. Yu, *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 2446.
- [58] J. P. Liu, X. T. Huang, Y. Y. Li, K. M. Sulieman, F. L. Sun, X. He, *Scr. Mater.* **2006**, 55, 795.
- [59] J. Duan, X. T. Huang, E. Wang, *Mater. Lett.* **2006**, 60, 1918.
- [60] Z. Q. Li, Y. J. Xiong, Y. Xie, *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 8105.
- [61] B. K. Woo, W. Chen, A. G. Joly, R. Sammynaiken, *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 14292.
- [62] Y. M. Cui, L. Liu, B. Li, X. F. Zhou, N. P. Xu, *J. Phys. Chem. C* **2010**, 114, 2434.
- [63] F. A. Harraz, *Phys. E* **2008**, 40, 3131.
- [64] M. Zhang, Z. H. Wang, G. C. Xi, D. K. Ma, R. Zhang, Y. T. Qian, *J. Cryst. Growth* **2004**, 268, 215.
- [65] M. Popa, T. Pradell, D. Crespo, J. M. Calderon-Moreno, *Colloids Surf. A* **2007**, 303, 184.
- [66] R. G. Sanedrin, L. Huang, J. W. Jang, J. Kakkassetty, C. A. Mirkin, *Small* **2008**, 4, 920.
- [67] *Colloidal Gold: Principles, Methods, and Applications* (Hrsg.: M. Hayat), Academic Press, San Diego, **1989**.
- [68] S. Link, M. A. El-Sayed, *Int. Rev. Phys. Chem.* **2000**, 19, 409.
- [69] C. M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 4254; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 4128.
- [70] W. J. Parak, D. Gerion, T. Pellegrino, D. Zanchet, C. Micheel, S. C. Williams, R. Boudreau, M. A. Le Gros, C. A. Larabell, A. P. Alivisatos, *Nanotechnology* **2003**, 14, R15.
- [71] G. D. Zhang, Z. Yang, W. Lu, R. Zhang, Q. Huang, M. Tian, L. Li, D. Liang, C. Li, *Biomaterials* **2009**, 30, 1928.
- [72] D. Miyamoto, M. Oishi, K. Kojima, K. Yoshimoto, Y. Nagasaki, *Langmuir* **2008**, 24, 5010.
- [73] S. Pierrat, I. Zins, A. Breivogel, C. Sonnichsen, *Nano Lett.* **2007**, 7, 259.
- [74] C. J. Liu, C. H. Wang, C. C. Chien, T. Y. Yang, S. T. Chen, W. H. Leng, C. F. Lee, K. H. Lee, Y. Hwu, Y. C. Lee, C. L. Cheng, C. S. Yang, Y. J. Chen, J. H. Je, G. Margaritondo, *Nanotechnology* **2008**, 19.
- [75] C. J. Liu, C. H. Wang, S. T. Chen, H. H. Chen, W. H. Leng, C. C. Chien, C. L. Wang, I. M. Kempson, Y. Hwu, T. C. Lai, M. Hsiao, C. S. Yang, Y. J. Chen, G. Margaritondo, *Phys. Med. Biol.* **2010**, 55, 931.
- [76] H. Furusho, K. Kitano, S. Hamaguchi, Y. Nagasaki, *Chem. Mater.* **2009**, 21, 3526.
- [77] D. Shenoy, W. Fu, J. Li, C. Crasto, G. Jones, C. DiMarzio, S. Sridhar, M. Amiji, *Int. J. Nanomed.* **2006**, 1, 51.
- [78] T. Ishii, H. Otsuka, K. Kataoka, Y. Nagasaki, *Langmuir* **2004**, 20, 561.
- [79] W. Eck, G. Craig, A. Sigdel, G. Ritter, L. J. Old, L. Tang, M. F. Brennan, P. J. Allen, M. D. Mason, *ACS Nano* **2008**, 2, 2263.
- [80] H. Otsuka, Y. Akiyama, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8226.
- [81] S. Roux, B. Garcia, J. L. Bridot, M. Salome, C. Marquette, L. Lemelle, P. Gillet, L. Blum, P. Perriat, O. Tillement, *Langmuir* **2005**, 21, 2526.
- [82] E. Boisselier, A. K. Diallo, L. Salmon, C. Ornelas, J. Ruiz, D. Astruc, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 2729.
- [83] A. Harada, A. Yuzawa, T. Kato, C. Kojima, K. Kono, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2010**, 48, 1391.
- [84] D. Gentili, G. Ori, M. C. Franchini, *Chem. Commun.* **2009**, 5874.
- [85] C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature* **1996**, 382, 607.
- [86] D. A. Giljohann, D. S. Seferos, P. C. Patel, J. E. Millstone, N. L. Rosi, C. A. Mirkin, *Nano Lett.* **2007**, 7, 3818.
- [87] B. D. Chithrani, A. A. Ghazani, W. C. W. Chan, *Nano Lett.* **2006**, 6, 662.
- [88] W. S. Cho, M. J. Cho, J. Jeong, M. Choi, H. Y. Cho, B. S. Han, S. H. Kim, H. O. Kim, Y. T. Lim, B. H. Chung, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2009**, 236, 16.
- [89] R. G. Rayavarapu, W. Petersen, L. Hartsuiker, P. Chin, H. Janssen, F. W. B. van Leeuwen, C. Otto, S. Manohar, T. G. van Leeuwen, *Nanotechnology* **2010**, 21.
- [90] J. S. Beck, J. C. Vartuli, W. J. Roth, M. E. Leonowicz, C. T. Kresge, K. D. Schmitt, C. T. W. Chu, D. H. Olson, E. W. Shepard, S. B. McCullen, J. B. Higgins, J. L. Schlenker, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10834.
- [91] I. I. Slowing, J. L. Vivero-Escoto, C. W. Wu, V. S. Y. Lin, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, 60, 1278.
- [92] E. Amstad, S. Zurcher, A. Mashaghi, J. Y. Wong, M. Textor, E. Reimhult, *Small* **2009**, 5, 1334.
- [93] L. Gu, Z. Shen, C. Feng, Y. G. Li, G. L. Lu, X. Y. Huang, G. W. Wang, J. L. Huang, *J. Mater. Chem.* **2008**, 18, 4332.
- [94] U. I. Tromsdorf, N. C. Bigall, M. G. Kaul, O. T. Bruns, M. S. Nikolic, B. Mollwitz, R. A. Sperling, R. Reimer, H. Hohenberg, W. J. Parak, S. Forster, U. Beisiegel, G. Adam, H. Weller, *Nano Lett.* **2007**, 7, 2422.
- [95] M. L. Ji, W. L. Yang, Q. G. Ren, D. R. Lu, *Nanotechnology* **2009**, 20.
- [96] E. K. U. Larsen, T. Nielsen, T. Wittenborn, H. Birkedal, T. Vorup-Jensen, M. H. Jakobsen, L. Ostergaard, M. R. Horsman, F. Besenbacher, K. A. Howard, J. Kjems, *ACS Nano* **2009**, 3, 1947.
- [97] C. Barrera, A. P. Herrera, C. Rinaldi, *J. Colloid Interface Sci.* **2009**, 329, 107.
- [98] T. J. Yoon, J. S. Kim, B. G. Kim, K. N. Yu, M. H. Cho, J. K. Lee, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 1092; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1068.
- [99] A. C. Faure, S. Dufort, V. Josserand, P. Perriat, J. L. Coll, S. Roux, O. Tillement, *Small* **2009**, 5, 2565.
- [100] M. Ahren, L. Selegard, A. Klasson, F. Soderlind, N. Abrikossova, C. Skoglund, T. Bengtsson, M. Engstrom, P. O. Kall, K. Uvdal, *Langmuir* **2010**, 26, 5753.
- [101] E. K. Lim, J. Yang, M. Y. Park, J. Park, J. S. Suh, H. G. Yoon, Y. M. Huh, S. Haam, *Colloids Surf. B* **2008**, 64, 111.
- [102] H. Bin Na, I. S. Lee, H. Seo, Y. Il Park, J. H. Lee, S. W. Kim, T. Hyeon, *Chem. Commun.* **2007**, 5167.
- [103] N. Kohler, G. E. Fryxell, M. Q. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 7206.
- [104] Z. Li, L. Wei, M. Y. Gao, H. Lei, *Adv. Mater.* **2005**, 17, 1001.
- [105] C. Sun, R. Sze, M. Q. Zhang, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2006**, 78A, 550.
- [106] U. I. Tromsdorf, O. T. Bruns, S. C. Salmen, U. Beisiegel, H. Weller, *Nano Lett.* **2009**, 9, 4434.

- [107] H. Lee, E. Lee, D. K. Kim, N. K. Jang, Y. Y. Jeong, S. Jon, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7383.
- [108] A. S. Karakoti, N. A. Monteiro-Riviere, R. Aggarwal, J. P. Davis, R. J. Narayan, W. T. Self, J. McGinnis, S. Seal, *Jom* **2008**, *60*, 33.
- [109] I. L. Medintz, H. T. Uyeda, E. R. Goldman, H. Mattoussi, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 435.
- [110] Y. Ghasemi, P. Peymani, S. Afifi, *Acta Biomed.* **2009**, *80*, 156.
- [111] J. P. Ryman-Rasmussen, J. E. Riviere, N. A. Monteiro-Riviere, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 1344.
- [112] B. Ballou, B. C. Lagerholm, L. A. Ernst, M. P. Bruchez, A. S. Waggoner, *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 79.
- [113] X. Gao, Y. Cui, R. M. Levenson, L. W. K. Chung, S. Nie, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 969.
- [114] E. L. Bentzen, I. D. Tomlinson, J. Mason, P. Gresch, M. R. Warnement, D. Wright, E. SandersBush, R. Blakely, S. J. Rosenthal, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 1488.
- [115] A. Derfus, W. Chan, S. Bhatia, *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 961.
- [116] Y. Jin, X. Gao, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 571.
- [117] M. Akerman, W. Chan, P. Laakkonen, S. Bhatia, E. Ruoslahti, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 12617.
- [118] R. Hardman, *Environ. Health Perspect.* **2006**, *114*, 165.
- [119] B. Ballou, L. A. Ernst, S. Andreko, M. P. Bruchez, B. C. Lagerholm, A. S. Waggoner in *Nanomaterials for Application in Medicine and Biology* (Hrsg.: M. Giersig, G. Khomutov), Springer, Berlin, **2008**, S. 127.
- [120] N. V. Gopee, D. W. Roberts, P. Webb, C. R. Cozart, P. H. Siiiton, A. R. Warbritton, W. W. Yu, V. L. Colvin, N. J. Walker, P. C. Howard, *Toxicol. Sci.* **2007**, *98*, 249.
- [121] M. L. Schipper, Z. Cheng, S.-W. Lee, L. A. Bentolila, G. Iyer, J. Rao, X. Chen, A. M. Wu, S. Weiss, S. S. Gambhir, *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1511.
- [122] W. T. Al-Jamal, K. T. Al-Jamal, A. Cakebread, J. M. Halket, K. Kostarelos, *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 1696.
- [123] W. Cai, D.-W. Shin, K. Chen, O. Gheysens, Q. Cao, S. X. Wang, S. S. Gambhir, X. Chen, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 669.
- [124] R. S. H. Yang, L. W. Chang, J.-P. Wu, M.-H. Tsai, H.-J. Wang, Y.-C. Kuo, T.-K. Yeh, C. S. Yang, P. Lin, *Environ. Health Perspect.* **2007**, *115*, 1339.
- [125] H. Soo Choi, W. Liu, P. Misra, E. Tanaka, J. P. Zimmer, B. I. Ipe, M. G. Bawendi, J. V. Frangioni, *Nat. Biotechnol.* **2007**, *25*, 1165.
- [126] E. Chang, N. Thekkek, W. W. Yu, V. L. Colvin, R. Drezek, *Small* **2006**, *2*, 1412.
- [127] L. S. Meike, I. Gopal, K. Ai Leen, C. Zhen, E. Yuval, A. Assaf, K. Shay, A. B. Laurent, L. Jianqing, R. Jianghong, C. Xiaoyuan, B. Uri, M. W. Anna, S. Robert, W. Shimon, S. G. Sanjiv, *Small* **2009**, *5*, 126.
- [128] J. P. Ryman-Rasmussen, J. E. Riviere, N. A. Monteiro-Riviere, *J. Invest. Dermatol.* **2007**, *127*, 143.
- [129] N. V. Gopee, D. W. Roberts, P. Webb, C. R. Cozart, P. H. Siiiton, J. R. Latendresse, A. R. Warbitton, W. W. Yu, V. L. Colvin, N. J. Walker, P. C. Howard, *Toxicol. Sci.* **2009**, *111*, 37.
- [130] T. Zhang, J. L. Stilwell, D. Gerion, L. Ding, O. Elboudwarej, P. A. Cooke, J. W. Gray, A. P. Alivisatos, F. F. Chen, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 800.
- [131] E. Chang, W. Yu, V. Colvin, R. Drezek, *J. Biomed. Nanotechnol.* **2005**, *1*, 397.
- [132] E. Muro, T. Pons, N. Lequeux, A. Fragola, N. Sanson, Z. Lenkei, B. Dubertret, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4556.