

## **3 Untersuchung kationisch geladener Partikel mit unterschiedlicher Oberflächenladungsdichte**

### **3.1 Einführung**

Wie bereits erwähnt, ist der Einsatz partikulärer Trägersysteme ein viel versprechender Ansatz, um eine kontrollierte Wirkstofffreigabe von Arzneistoffen zu erreichen. Eine große Herausforderung ist es hier, die Interaktion mit den Zellen des MPS zu unterbinden oder wenigstens zu minimieren. Dies kann über eine gezielte Zusammensetzung des Proteinmusters auf den Partikeln erfolgen, indem beispielsweise versucht wird, die Adsorption von Plasmaproteinen so gering wie möglich zu halten. Die Plasmaproteine, die adsorbieren, sollten dann idealerweise dysopsonierende Eigenschaften besitzen. Frühere Studien zeigten, dass mit steigender Partikelgröße, Oberflächenladung und Hydrophobie das Ausmaß der Phagozytoseaktivität zunahm (Zilversmit, Boyd et al. 1952; Wilkins and Myers 1966; van Oss 1978; Schwendener, Lagocki et al. 1984; Senior, Crawley et al. 1985; Tabata and Ikada 1988; Allen, Hansen et al. 1989; Ayhan, Tuncel et al. 1995).

Um die Auswirkungen der Oberflächeneigenschaften auf die Plasmaproteinadsorption zu analysieren wurden in den letzten Jahren eine Reihe von Nanopartikeln mit unterschiedlichen physikochemischen Parametern synthetisiert. Als ideal hat sich hier das Arbeiten mit oberflächenmodifizierten Polystyrenkugeln herausgestellt. Diese Latexpartikel sind nicht geeignet für die Applikation *in vivo*, da sie nicht biologisch abbaubar sind. Als Modellpartikel für die Untersuchung der Proteinadsorption *in vitro* eignen sie sich allerdings hervorragend, da sie einfach und kostengünstig herzustellen sind. Außerdem ist es möglich, relativ problemlos eine Vielzahl an funktionellen Gruppen auf ihrer Oberfläche zu platzieren. Somit ist es möglich, Latexpartikel mit unterschiedlichsten physikochemischen Eigenschaften zu produzieren. In zahlreichen Studien wurden die Plasmaproteinmuster auf den Partikeln bestimmt und versucht, eine Korrelation zwischen der Adsorption der

Proteine und einer möglichen *in vivo*-Verteilung herzustellen (Blunk, Hochstrasser et al. 1993; Blunk 1993; Lück 1997; Lück 1997). Es zeigte sich allerdings, dass es nicht ausreichend ist, lediglich die Parameter Oberflächenladungsdichte, Größe und Hydrophobie zu verändern, ohne dabei die Art der funktionellen Gruppen zu berücksichtigen, die sich auf der Partikeloberfläche befinden. Das Phänomen der Proteinadsorption ist vielschichtig und beruht nicht nur auf hydrophoben Wechselwirkungen. Die Ausbildung kovalenter Bindungen oder ionischer Wechselwirkungen kann das Proteinmuster erheblich prägen. Lück konnte zeigen, dass ein Styrenpartikel, der kationische Gruppen auf der Oberfläche trug und extrem hydrophil war, gegenüber Partikeln, die deutlich hydrophobere Eigenschaften aufwiesen, größere Mengen an Protein adsorbierte (Lück 1997). Es ist also schwierig, Partikel miteinander zu vergleichen, die sich nicht nur aufgrund der Hydrophilie unterscheiden sondern auch durch die Art der funktionellen Gruppen auf der Oberfläche. Gessner unternahm einen ersten Schritt dahingehend, das Plasmaproteinmuster von Partikeln zu untersuchen, die alle chemisch identische Gruppen auf der Oberfläche besaßen und sich lediglich in der Dichte der Oberflächenbesetzung unterschieden (Gessner, Waicz et al. 2000).

Der oben erwähnte, von Lück untersuchte, kationische Partikeltyp wurde in der folgenden Studie wieder aufgegriffen und eingehend untersucht. Allerdings wurde funktionelle Gruppe auf der Partikeloberfläche geringfügig modifiziert. Untersuchte Lück Styrenpartikel, die auf ihrer Oberfläche Dimethylaminoethylmethacrylat gebunden hatten, wurden in dieser Studie fünf Partikel untersucht, die auf der Oberfläche Dimethylamino-benzylmethacrylat mit einem Bedeckungsgrad von ca. 15% bis ca. 50% gebunden hatten (MAD1-MAD5). Durch den Austausch der Ethylgruppe gegen eine Phenylgruppe wird der Charakter der Partikel nur wenig verändert, sodass problemlos einen Vergleich zwischen der von Lück untersuchten Latexdispersion und den hier untersuchten Partikeldispersionen vorgenommen werden kann.

### 3.2 Synthese der Partikel

Die Partikel wurden am Fraunhofer Institut für angewandte Polymerforschung (FIAP) von Herrn Dr. Bernd Reiner Paulke synthetisiert. Sie wurden durch Emulsionspolymerisation im sog. Zulaufverfahren hergestellt. Hierzu wurde eine Emulsion bestehend aus Wasser, Styrol, Borax und Hexadecyltrimethylammoniumbromid hergestellt. Diese wurde unter Stickstoffatmosphäre auf 60°C erwärmt. Die Emulsionspolymerisation wurde gestartet durch den Zusatz von (2,2'-Azobis(2-amidino-propan)dihydrochlorid). Nahezu zur gleichen Zeit wurde das in Wasser gelöste Co-Monomer Methacryloyl-oxyethyl-dimethyl-benzyl-ammoniumchlorid (MADAMBQ) mittels Spritzenpumpe kontinuierlich in den Reaktor gedrückt. Das Polystyrol formte die Kugeln, während das Co-Monomer die Grenzfläche modifizierte. Das Co-Monomer wurde hergestellt, indem der Methacrylsäureester von Dimethylamin mit Benzylchlorid quarternisiert wurde. Nach 6 Stunden wurde die Polymerisation gestoppt, indem die Latexdispersion abgekühlt wurde. Die Partikel wurden danach durch ein engmaschiges Netz aus Edelstahl filtriert. Zur Entfernung der Restmonomeren erfolgte die Aufreinigung durch Dialyse gegen entionisiertes Wasser und Ultrafiltration (Paulke, Härtig et al. 1992). Die Abbildung 2 zeigt die chemische Struktur auf der Oberfläche der synthetisierten Partikel.

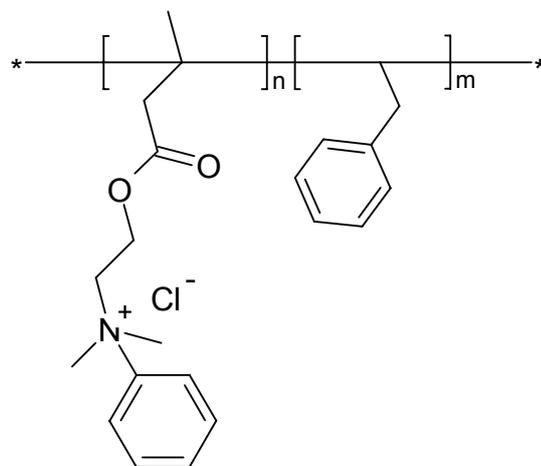


Abbildung 2: Chemische Struktur der Partikeloberfläche

Die Anwesenheit der kationischen Ketten auf der Oberfläche verleiht den, ursprünglich extrem hydrophoben, Polystyrenkugeln einen sehr hydrophilen Charakter. Die hydrophilen Eigenschaften dieser kationischen Partikel sollten den Partikeln, die mit Polyethylenglykolketten besetzt sind ähnlich sein.

### 3.3 Physikochemische Charakterisierung

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der physikochemischen Charakterisierung der kationischen Partikel. Die Ergebnisse der PCS ergaben, dass es sich um Partikelsuspensionen mit monodisperser Verteilung handelt. Die Größen liegen zwischen 115 nm bis 142 nm. Um eine exakte Vergleichsmöglichkeit aller fünf Latextypen zu haben, wäre es von Vorteil gewesen, fünf Latexdispersionen mit annähernd gleicher Partikelgröße zu erhalten, da die Krümmung eines Partikels für die Proteinadsorption relevant ist (Blunk 1994). Die Synthese lässt allerdings eine exakte Reproduzierbarkeit der Partikelgrößen nicht zu. Die Messung der Oberflächenladungsdichte wurde von Herrn Dr. Paulke am Fraunhofer Institut, Golm durchgeführt.

Tabelle 1: Physikochemische Charakterisierungsdaten der kationischen Polystyrenkugeln mit steigendem Beladungsgrad

Partikel	Partikeldurchmesser [nm]	PI	Zetapotential [mV] pH 6,5; 50 µS	Oberflächenladungsdichte [µC/cm <sup>2</sup> ]	Maß für Hydrophobie [ml/m <sup>2</sup> ] (Bengalrosa)
MAD1	142 ± 2,6	0,053	35,3 ± 6,9	8,0	140,4
MAD2	119 ± 2,3	0,075	37,6 ± 1,4	10,7	107,6
MAD3	112 ± 2,6	0,050	38,0 ± 2,6	17,0	92,7
MAD4	140 ± 1,9	0,076	41,2 ± 2,1	15,1	63,3
MAD5	115 ± 1,3	0,095	40,5 ± 1,2	21,6	52,7

Der zunehmende Besetzungsgrad der Partikeloberfläche spiegelt sich in den Zetapotentialwerten wider. Eine Erhöhung der Oberflächenladungsdichte, also des Oberflächenpotentials (Nernstpotential) bedingt eine Steigerung des Zetapotentials. Die Erhöhung des Zetapotentials schreitet allerdings nicht in gleicher Weise voran wie es bei der Erhöhung des Oberflächenpotentials der Fall ist. Die liegt daran, dass adsorbierte Ionen in innerer und äußerer Helmholtzschicht das Zetapotential stark beeinflussen können (Müller 1996).

Die zunehmende Dichte der kationischen Ketten zeigt sich auch in den Ergebnissen der Bengalrosaadsorption. Die Abbildung 3 zeigt exemplarisch die ermittelten Geraden, die für die fünf kationische Styrolpartikel ermittelt wurden. Die hydrophilen Ketten schirmen den hydrophoben Styrenkern immer mehr ab, sodass das hydrophobe BR nicht mehr an freie Styrolflächen adsorbieren kann.

Der Partikel MAD1 zeigte die größte Oberflächenhydrophobie mit einem Hydrophobiemaß von  $140,4 \text{ ml/m}^2$ , Partikel MAD5 erwartungsgemäß die niedrigste mit einem Hydrophobiemaß von  $52,7 \text{ ml/m}^2$ . Die ermittelten Hydrophobiewerte für MAD4 und MAD5 stehen in guter Korrelation zu dem Wert für die Oberflächenhydrophobie, der von Lück ermittelt wurde. Lück fand seinerzeit für den von ihm untersuchten Partikel einen Hydrophobiewert von  $51 \text{ ml/m}^2$  (Lück 1997).

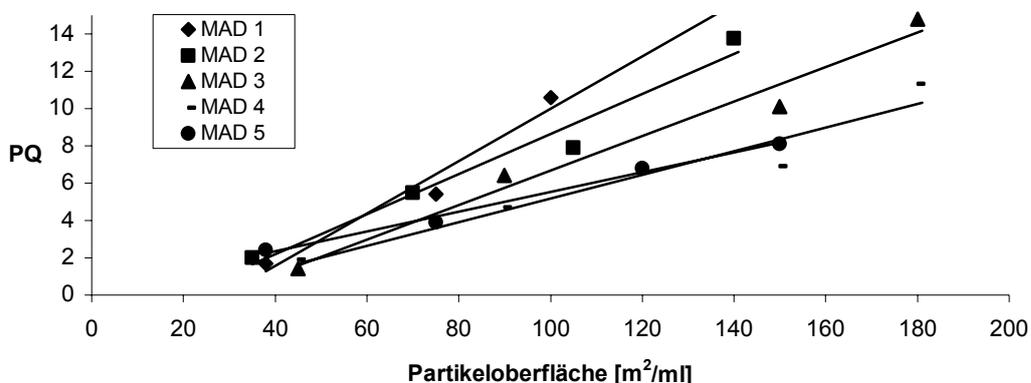


Abbildung 3: Bengalrosa-Adsorptionskoeffizient (PQ) als Funktion der Partikeloberfläche vom MAD1-MAD5

### 3.4 Proteinadsorption

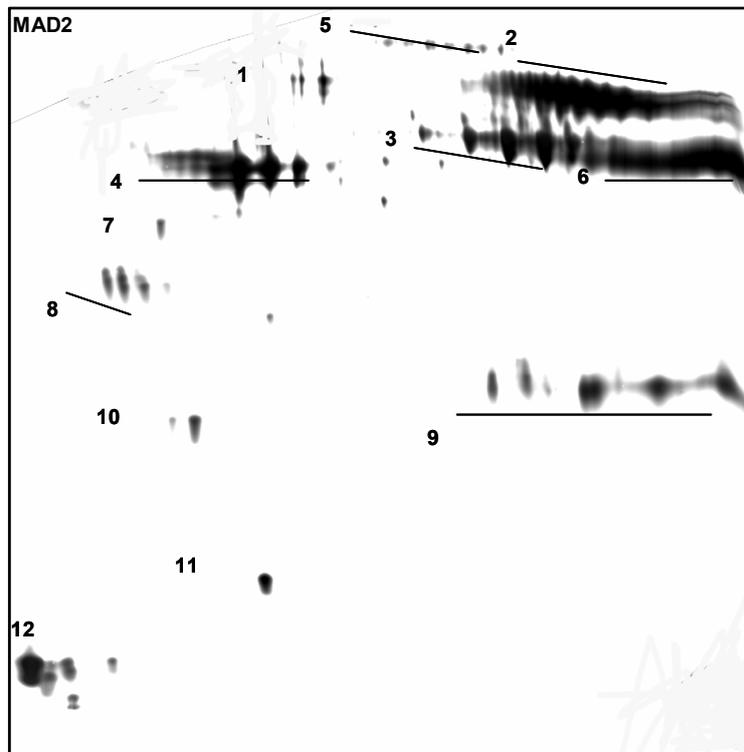
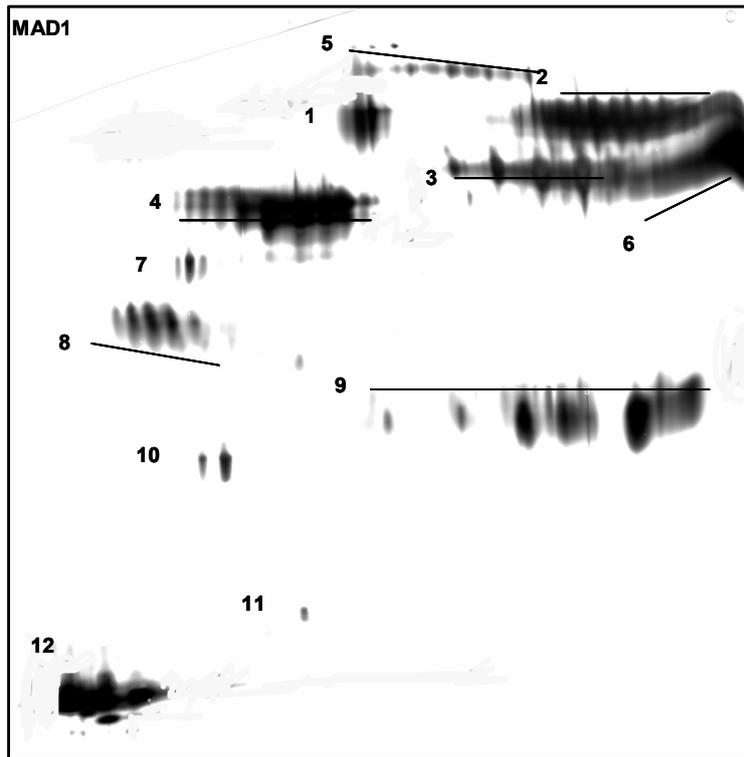
Zur Ermittlung der Plasmaproteinadsorption wurde jeweils eine konstante Partikeloberfläche von  $0,15 \text{ m}^2$  in  $2,2 \text{ ml}$  citratstabilisiertem Humanplasma inkubiert. Die Abtrennung vom Inkubations- bzw. Waschmedium wurde durch jeweils zehnmünütige Zentrifugation bei  $23.000 \times g$  vorgenommen.

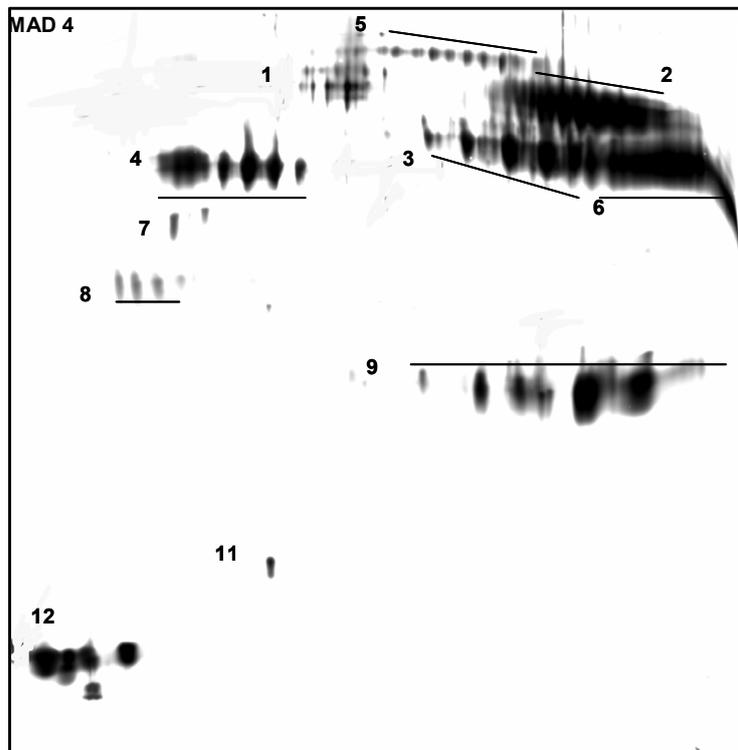
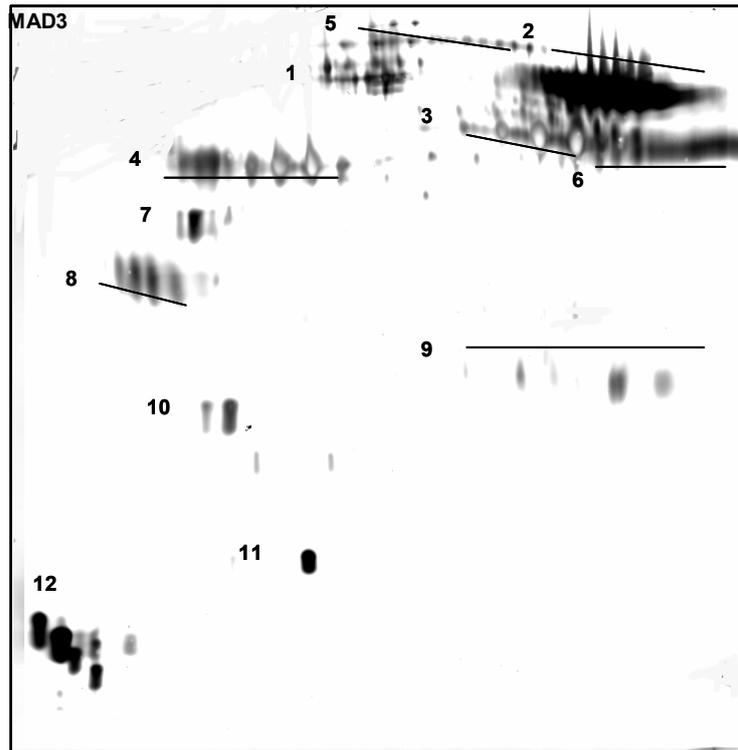
Nach Waschen und Desorbieren wurden von der entstandenen Prüflösung jeweils  $60 \mu\text{l}$ , entsprechend einer Partikeloberfläche von  $0,045 \text{ m}^2$ , durch 2-D PAGE analysiert.

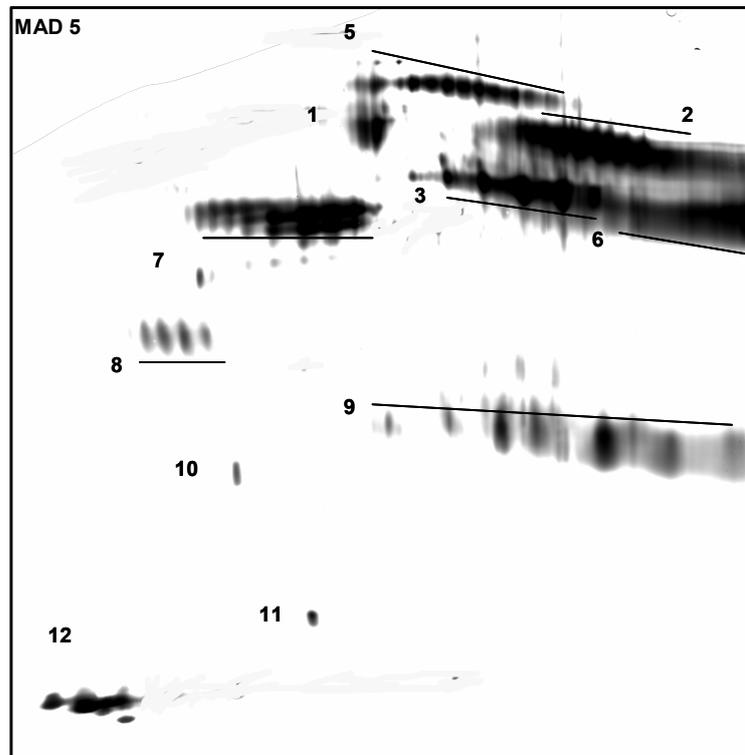
Die Abbildung 4 erstreckt sich über die nächsten drei Seiten und zeigt je ein Pherogramm eines jeden Partikels. Alle Gele zeigen zwölf Hauptspots, die bei der Auswertung mit MELANIE 3 berücksichtigt wurden. Die Spots mit den Kennzahlen 2, 3, 4, zeigen die Proteinfragmente des Fibrinogens. (2: Fibrinogen  $\alpha$ , 3: Fibrinogen  $\beta$ , 4: Fibrinogen  $\gamma$ ), die in der Tabelle 2 nicht einzeln aufgeführt werden. Es wird lediglich der Gesamtwert für Fibrinogen angegeben. Die Auftrennung der Proteine erfolgte über einen pH-Bereich von 3-10 in der ersten Dimension. In der Zweiten Dimension wurden die Proteine über einen Größenausschlußgradienten von 6 - 250 kDa aufgetrennt.

Abbildung 4 (Seite 25-Seite 27, oben):  
Pherogramme, die durch 2-D PAGE-  
Analytik erhalten wurden. Die Spots  
zeigen die adsorbierten Proteine.

1: Albumin, 2: Fibrinogen  $\alpha$ ,  
3: Fibrinogen  $\beta$ , 4: Fibrinogen  $\gamma$   
5: IgM. 6: IgG $\gamma$ , 7: ApoA-IV,  
8: ApoJ, 9: Ig leichte Ketten,  
ApoA-I, 11: Transthyretin,  
12. ApoC-III







### 3.4.1 Vergleich der Gesamtmengen an adsorbiertem Protein

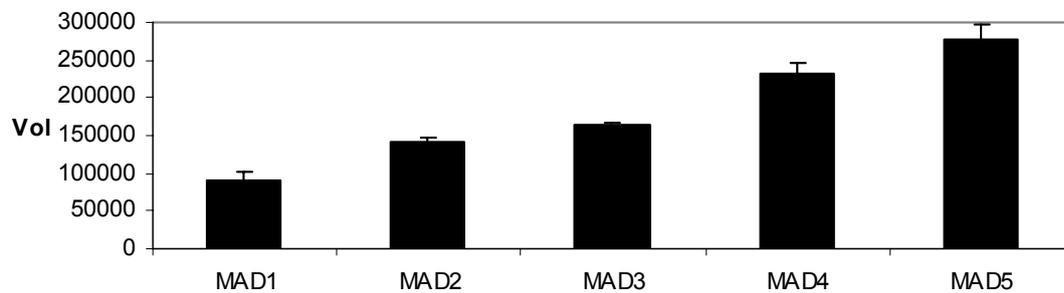


Abbildung 5: Ergebnisse der semiquantitativen Auswertung der Latexdispersionen von MAD1 – MAD5. Mittlere adsorbierte Proteinmenge [Vol], n=4

Die Abbildung 5 zeigt die Ergebnisse der Analyse der Gesamtproteinmenge auf den Partikeln. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Menge an Plasmaproteinen mit steigender Oberflächenladungsdichte zunimmt, obwohl die steigende Beladungsdichte ein sinkendes Hydrophobiemaß bedingt.

Der adsorbierte Proteinmenge auf MAD5 ist mehr als zweieinhalb mal so hoch wie bei MAD1. Die Proteinbeladung ist auf diesem Partikeltyp offensichtlich sehr hoch.

Die mit den kationischen Styrolpartikeln erhaltenen Ergebnisse zeigen, wiederum, dass eine allgemein gültige Regel für das Adsorption der im Blut befindlichen Proteine auf Oberflächen nicht aufgestellt werden kann. In der Literatur wird häufig beschrieben, dass mit steigender Hydrophilie die Proteinaffinität zu Oberflächen abnimmt (MacRitchie 1972; Kleijn and Norde 1995). Bei den kationischen Latexpartikeln ist das gegenteilige Ergebnis zu beobachten. Das legt wiederum den Schluss nahe, dass die Bindungen der Proteine an Oberflächen auf vielfältige Arten stattfinden können. Die Zunahme der Proteinadsorption lässt vermuten, dass es sich hier um Ladungswechselwirkungen handelt.

Eine allgemein gültige Regel, bzw. exakte Korrelation zwischen Hydrophobiemaß und Ausmaß der Proteinadsorption ist daher nicht möglich, da der Bengalrosakoeffizient nicht die Topochemie der Partikeloberflächen berücksichtigt.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die auf den Partikeloberflächen detektierten Proteinmengen. Es wird deutlich, dass Fibrinogen mit Abstand das am meisten adsorbierte Protein auf den Partikeln darstellt. Mit steigender Oberflächenladung steigt die Menge an Fibrinogen um mehr als das 3,5-fache an.

Tabelle 2: Adsorbierte Plasmaproteine auf den fünf untersuchten Latexdispersionen. Es sind die absoluten Mengen in Volume angegeben. SD: Standardabweichung, n=4

	MAD1	SD	MAD2	SD	MAD3	SD	MAD4	SD	MAD5	SD
<b>Albumin</b>	6386	1189	5066	2259	9844	2020	7933	1731	7161	3733
<b>ApoA-I</b>	2870	494	2001	801	3564	1070	630	443	6361	908
<b>ApoA-IV</b>	1049	417	3781	1695	5316	2396	3493	667	4756	576
<b>ApoC-III</b>	6300	3615	13952	5954	12936	2440	12076	1815	19751	6883
<b>ApoE</b>	953	513	617	147	592	78	365	186	2003	612
<b>ApoJ</b>	6742	2897	12718	6534	17168	10910	11759	5074	36895	5453
<b>Fibrinogen</b>	<b>39224</b>	<b>8103</b>	<b>65099</b>	<b>18722</b>	<b>83524</b>	<b>12572</b>	<b>115699</b>	<b>15024</b>	<b>142486</b>	<b>14674</b>
<b>IgG <math>\gamma</math> Kette</b>	14447	2480	21864	11289	15488	3534	36601	4892	22167	3808
<b>Ig leichte Ketten</b>	10701	3954	17285	4481	4658	522	31771	5012	16038	2642
<b>IgM</b>	1011	290	3956	1745	5474	796	10994	879	17150	1732
<b>Transthyretin</b>	1259	290	1763	198	4198	1600	1618	154	2786	361

Das in der Leber synthetisierte Fibrinogen ist ein sehr großes Protein mit einer Molekülgröße von 340 kDa (Haeberli 1992-1995). Es ist entscheidend an der Blutgerinnungskaskade beteiligt, indem es durch Thrombin in Polypeptide aufgespalten wird. Diese Fibrinmonomere aggregieren dann zu Fibrinsträngen (Thews, Mutschler et al. 1991).

Die massive Präsenz der Fibrinogenmoleküle zeigte sich bereits bei der Probenaufbereitung. Die Redispergierung der Proteinpellets während der Waschprozesse bedurfte einer mindestens 5-minütigen Behandlung im Ultraschallbad, da die Pellets sehr stark aneinanderhafteten. Besonders schwierig waren MAD4 und MAD5 zu redispergieren.

Die Menge an IgM steigt um das 17-fache an. Die Affinität anderer Proteine, wie Albumin, der Apolipoproteine und Transthyretin blieb auf allen fünf Partikeln weitestgehend konstant. Eine Ausnahme bildet hier das an MAD5 adsorbierte ApoJ, dessen Wert deutlich über denen von MAD1 bis MAD4 liegt. Größere Schwankungen existieren bei der Adsorption von IgG  $\gamma$ . Hier lässt sich kein kontinuierlicher Trend erkennen. Die Tabelle 3 gibt einen Überblick über die relative Zusammensetzung der Proteine auf den Latices. Die Abbildung 6 unterlegt dies zusätzlich graphisch.

Alle Latexdispersionen zeigen ein qualitativ übereinstimmendes Proteinadsorptionsmuster. Der hydrophobe Styrenkern spielt also bei keinem der Partikel für die Proteinadsorption eine Rolle. Demnach reicht bereits ein Beladungsgrad von 15% MADAMBQ aus, um den hydrophoben Kern so abzuschirmen, dass er auf die Proteinadsorption keinen Einfluss nehmen kann. Andernfalls würden sich die Muster von MAD1 und MAD5 grundlegend unterscheiden.

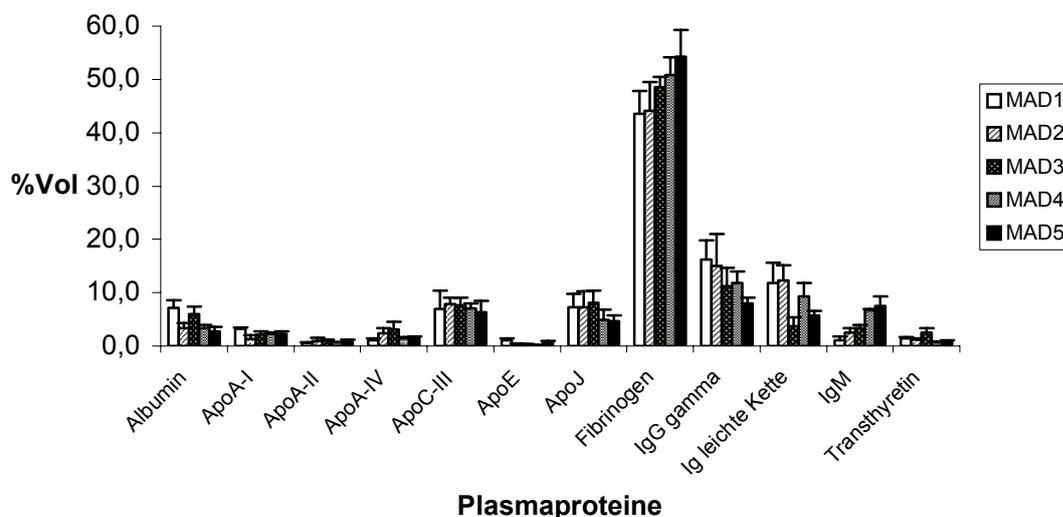


Abbildung 6: Graphischer Überblick der qualitativen Zusammensetzung der Proteine auf den kationischen Latices (Mittelwert aus vier Versuchen)

Die relative Menge an Fibrinogen auf den Gelen nimmt von 43,6 %Vol auf MAD1 mit steigender Oberflächenladungsdichte stetig zu. Auf MAD5 ist es in einer Menge von 53,6 %Vol vertreten.

Immunglobulin M zeigte, wie auch Fibrinogen, mit steigender Hydrophilie eine höhere Affinität zu den Partikeloberflächen. Die Adsorption auf MAD1 war mit 1,1%Vol relativ gering, stieg aber kontinuierlich auf schließlich 7,5%Vol bei MAD5 an, was einen relativen Anstieg um mehr als das sechsfache bedeutet. Die übrigen Proteine adsorbierten mit steigender Oberflächenladungsdichte in Relation zur Gesamtproteinmenge schwächer.

Tabelle 3: Adsorbierte Plasmaproteine auf den einzelnen kationischen Partikeln. Die Mengen sind angegeben in %Vol. Es wurden alle Proteine berücksichtigt, deren Anteil am Gesamtproteinvolumen mehr als 1% betrug. SD: Standardabweichung

	MAD1	SD	MAD2	SD	MAD3	SD	MAD4	SD	MAD5	SD
<b>Albumin</b>	7,1	1,4	3,3	1,0	6,0	1,4	3,4	0,6	2,8	0,9
<b>ApoA-I</b>	3,2	0,3	1,4	0,7	2,2	0,5	2,3	0,2	2,3	0,5
<b>ApoA-IV</b>	1,1	0,3	2,4	1,0	3,1	1,4	1,5	0,2	1,6	0,1
<b>ApoC-III</b>	7,0	3,4	7,8	1,3	7,6	1,5	7,1	0,9	6,3	2,2
<b>ApoE</b>	1,0	0,4	0,4	0,1	0,3	0,0	0,2	0,1	0,8	0,2
<b>ApoJ</b>	7,3	2,5	7,3	2,9	8,1	2,2	4,9	2,0	4,6	1,1
<b>Fibrinogen</b>	<b>43,6</b>	<b>4,2</b>	<b>44,1</b>	<b>5,4</b>	<b>48,6</b>	<b>1,8</b>	<b>50,8</b>	<b>3,3</b>	<b>54,3</b>	<b>5,0</b>
<b>IgG <math>\gamma</math> Kette</b>	16,2	3,6	15,0	6,0	11,2	3,5	11,8	2,1	8,0	1,0
<b>Ig leichte Ketten</b>	11,8	3,9	12,3	2,9	3,7	1,6	9,4	2,5	5,8	0,8
<b>IgM</b>	1,1	0,7	2,5	0,8	3,3	0,6	6,0	0,2	6,2	1,8
<b>Transthyretin</b>	1,4	0,3	1,2	0,3	2,5	0,9	0,7	0,1	1,0	0,1

Die mengenmäßig wichtigsten Proteine auf den Partikeln waren eindeutig Fibrinogen und Immunglobulin G  $\gamma$ , deren Anteil an der gesamten adsorbierten Proteinmenge auf allen untersuchten Gelen über 60% beträgt. Die Ergebnisse für Albumin und Fibrinogen befinden sich in guter Übereinstimmung zu den von Lück

1997 ermittelten Daten zum Partikeltyp 5 (Lück 1997). Auch hier betrug die relative Menge an Fibrinogen in etwa 60%Vol. Die Menge an IgG  $\gamma$  war auf den Dimethylaminoethylmethacrylat-Partikeln gegenüber den MADAMBQ-Partikeln allerdings deutlich reduziert. Dasselbe gilt für ApoJ, ApoC-III, ApoA-I+IV.

Wie in 3.2 erwähnt, haben die kationischen Partikel ähnlich hydrophile Eigenschaften wie PEGylierte Styrenkugeln. Ein Vergleich des Proteinadsorptionsmusters zwischen den kationischen Partikeln und Partikeln, die PEG-Ketten auf ihrer Oberfläche gebunden haben, bietet sich also an. Gessner hat bereits PEGylierte Partikel mit steigender Besetzungsdichte analysiert (Gessner, Waicz et al. 2000). Weitere Daten zur Proteinadsorption auf PEG-Oberflächen finden sich auch in Kapitel 4.

Grundsätzlich kann festgestellt werden, dass die Adsorption von Proteinen an PEG-Oberflächen sehr gering ist (Gombotz, Wang et al. 1991). Mit zunehmender Besetzungsdichte nimmt die Proteinadsorption weiter ab. Insbesondere fällt auf, dass große Proteine mit steigender Hydrophilie schwächer adsorbieren. Kleine Proteine hingegen zeigen im Vergleich zu den großen eine erhöhte Adsorptionstendenz. Blunk lieferte dazu auch viele Erkenntnisse, indem er Polystyrenkugeln mit unterschiedlichen Blockcopolymeren inkubierte und die resultierende Proteinadsorption detektierte (Blunk 1994). Eine weiterführende Untersuchung gelang Lück 1997.

Die Tatsache, dass große Proteine auf PEG-Oberflächen weniger stark adsorbieren als kleine, führte zu der Theorie, dass als Substrat für die Proteinbindung nicht die PEG-Ketten, sondern die hydrophoben freien Styrenflächen angesehen werden. Können Proteine mit einer Molekülmasse, kleiner als 50 kDa noch zwischen den PEG-Ketten hindurch zum Styrenkern gelangen, so ist dies den größeren Molekülen wie Fibrinogen unmöglich.

Betrachtet man nun das Adsorptionsverhalten der kationischen Partikel, so muss man feststellen, dass die Adsorptionstendenz der großen Proteine wie Fibrinogen und IgM zunimmt, während die Affinität der kleinen Proteine eher abnimmt oder unverändert bleibt. Es muss daher für die kationischen Partikel geschlussfolgert

werden, dass nicht nur die Polystyrenoberfläche als Substrat in Frage kommt. Vielmehr scheint es, dass Fibrinogen und IgM eine hohe Affinität zu den kationischen Ketten besitzen und daran binden. Der Austausch der Ethylgruppe gegen eine Phenylgruppe führt zu keinem deutlichen Unterschied in dem Adsorptionsverhalten von Fibrinogen. Es kann also angenommen werden, dass das quartäre, positiv geladene Stickstoffatom für die Adsorption eine große Rolle spielt.

### 3.5 Zusammenfassung und Fazit

Fünf Polymerkolloide mit gleichen chemischen und unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften wurden synthetisiert und charakterisiert. Die Partikel zeigten deutliche Unterschiede in der Oberflächenladung, die sich jedoch in den Zetapotentialwerten nicht nennenswert ausgeprägt widerspiegelten. Die Proteinadsorptionsmuster auf den Partikeln zeigten alle qualitativ das gleiche Proteinadsorptionsmuster. Es genügt offenbar schon eine relativ geringe Oberflächenbeladung von ca. 15% um die Partikel so zu modifizieren, dass der hydrophobe Styrenkern für die Proteinadsorption unbedeutend ist.

Erhebliche Unterschiede gab es im Hinblick auf die Mengen der adsorbierten Proteine. Im Gegensatz zu PEGylierten Partikeln zeigten Kugeln mit sehr hydrophilen Eigenschaften gegenüber den hydrophoberen eine deutlich stärkere Proteinadsorption. Dominierendes Protein auf allen fünf Latices war das Fibrinogen. Die Anwesenheit von Fibrinogen und IgG  $\gamma$  auf der Partikeloberfläche kann für eine Anwendung in vivo nicht als Vorteil angesehen werden. Fibrinogen auf der Oberfläche hat zur Folge, dass Partikel miteinander verstärkt aggregieren. Außerdem gilt das Fibrinogen als Opsonin (Patel 1992). Die Anwesenheit des opsonisierenden IgG  $\gamma$  zusammen mit Fibrinogen wird vermutlich dazu führen, dass die Partikel sehr schnell phagozytiert werden.

Jedoch dürften die Ergebnisse insofern wertvoll sein, da die massive Präsenz des Fibrinogens eventuell anderweitig zunutze gemacht werden könnte. Eine Anwendung eines Polymers mit kationischen Ketten, beispielsweise als Wundkleber, wäre denkbar.

Die Studie zeigt, dass es nicht ausreichend ist, ausschließlich physikochemische Parameter zur Vorhersage der Plasmaproteinmuster heranzuziehen. Allerdings ist es möglich, innerhalb einer chemisch homogenen Partikelreihe mit unterschiedlichen physikochemischen Parametern Zusammenhänge bezüglich Ladungsdichte und Proteinadsorption zu erstellen.