

1 Einleitung und Zielstellung der Arbeit

Mit der Entwicklung von *High-Throughput*-Verfahren sowie der kontinuierlichen Verbesserung von biologischen Analysemethoden konnten in den letzten Jahrzehnten eine Vielzahl hoch wirksamer Arzneistoffkandidaten identifiziert werden. Die Entschlüsselung des menschlichen Genoms und Erkenntnisse über die molekularen Ursachen diverser Erkrankungen werden die Produktion potentieller therapeutischer Wirkstoffe um ein Weiteres vorantreiben. Gegenwärtig wird davon ausgegangen, dass ca. 95 % dieser Substanzen unzureichende pharmakokinetische und biopharmazeutische Eigenschaften aufzeigen [1]. Es besteht demzufolge weniger ein Mangel an effektiven Wirkstoffen, sondern das Problem liegt in der stark eingeschränkten Nutzbarkeit solcher Substanzen [2]. Die Ursachen der Einschränkungen basieren auf Faktoren wie: (i) extrem geringe Löslichkeit in biologischen Medien, (ii) Wirkverlust durch vorzeitigen enzymatischen Abbau, (iii) schwere toxische Nebenwirkungen bei Kontakt mit gesundem Gewebe, (iv) fehlende Mechanismen zur Überwindung physiologischer Barrieren (Blut-Hirn-Schranke, Gastrointestinal-Trakt, Zellkompartimente), (v) ungenügende Pharmakokinetik und (vi) Arzneistoff-Resistenz-Mechanismen. Aus Gründen wie diesen ergibt sich die Notwendigkeit, neue Arzneistoff-Transport-Systeme, so genannte *Drug Delivery Systeme* (DDS), zu entwickeln. Durch die Steuerung und Kontrolle von Bioverfügbarkeit, Verteilung und Pharmakokinetik können therapeutische Effekte mit Wirkstoffen erzielt werden, welche bei Verwendung konventioneller Darreichungsformen nicht einsetzbar oder auch wirkungslos wären [3][4].

Im Rahmen der Entwicklung neuer Drug Delivery Systeme haben kolloidale Arzneistoffträger in den letzten Jahren enorm an Bedeutung gewonnen. Bessere technische Analysemethoden und wachsende Möglichkeiten auf dem Gebiet der Polymersynthese haben diesen Prozess mit beschleunigt [5]. Marktzulassungen wie für die Formulierungen AmBisone[®], Doxil[®] oder Abraxane[®] belegen klinische Erfolge solcher Arzneistoffträger [6][7]. Die besonderen Eigenschaften der nanopartikulären Systeme beruhen in erster Linie auf ihrer geringen Größe. Für pharmazeutische Formulierungen sind Partikelgrößen zwischen 1 nm und 500 nm von bevorzugtem Interesse.

Die Vielfalt der nanopartikulären Trägersysteme macht aber deutlich, dass es nicht ein grundlegendes Mastersystem für alle Formulierungsfragen gibt. Neben der Größe ist der gesamte Aufbau der Partikel, das Material und vor allem ihre Oberfläche von entscheidender Bedeutung für das Verhalten *in vivo* [8]. Bei der Entwicklung optimierter kolloidaler Arzneistoffträger besteht deshalb eine Herausforderung darin, durch die Verwendung geeigneter Oberflächen einerseits eine ausreichende Stabilität der Systeme zu gewährleisten, sowie andererseits eine gezielte Anreicherung *in vivo* zu ermöglichen. Häufig führen jedoch solche spezifischen Oberflächenstrukturen, wie beispielsweise Antikörper, zu einer nachteiligen Aktivierung des Immunsystems. Eine mögliche Abwehrreaktion des Körpers bei nachfolgenden Anwendungen würde den erneuten Einsatz verhindern. Es besteht daher der Bedarf, neue Substanzen oder Zielstrukturen als Oberflächen auf Nanopartikeln zu testen, wodurch besser Einfluss auf die Verteilung dieser kolloidalen Arzneistoffträger im Organismus genommen werden kann und eine optimierte Anreicherung im Zielgewebe ermöglicht wird. Langfristiges Ziel ist es, mit Hilfe genauer Kenntnisse zu Verteilungs-, Anreicherungs- und Abbaumechanismen das ideale nanopartikuläre Drug Delivery System für spezielle Anwendungen maßgeschneidert zu entwickeln und für den Patienten zur Verfügung stellen zu können. Damit knüpft die heutige Forschung an die bereits 1906 von Paul Ehrlich formulierte Idee der *magic bullets* an [9].

Eine technologische Schwierigkeit bei der Herstellung nanopartikulärer Systeme besteht darin, geeignete Substanzen oder Zielstrukturen auf der Partikeloberfläche zu integrieren. Häufig wird die Oberfläche der Partikel mit Hilfe von kovalenten Kopplungsreaktionen modifiziert. Voraussetzung dafür sind funktionelle Gruppen am Polymerrückgrat bzw. an der Partikeloberfläche, welche durch entsprechende chemische Kopplungsreaktionen mit dem Zielmolekül irreversibel verknüpft werden können [10]. Da die Stabilität kolloidaler Dispersionen durch die Reagenzien bzw. unter den Reaktionsbedingungen häufig stark verringert wird, ist die chemische Durchführung meist aufwendig und problematisch [6][8]. Neben einer kovalenten Modifikation können ebenfalls eine Reihe nicht-kovalenter Wechselwirkungen genutzt werden, um Partikeloberflächen zu modifizieren. Die dazu zählenden *van der Waals*-Kräfte, Wasserstoffbrückenbindungen oder hydrophoben Wechselwirkungen sind in ihrer Bindungskraft relativ schwach bzw. gerichtet, weshalb sie sich für eine stabile Oberflächenmodifikation nur bedingt eignen. Im Gegensatz dazu können durch Ausnutzung elektrostatischer Wechselwirkungen entsprechende Substanzen flexibel

und relativ stabil auf der Partikeloberfläche aufgebracht werden. Um bei der Modifikation von Partikeloberflächen Flexibilität zu erzielen, sollen daher im Rahmen dieser Arbeit elektrostatische Wechselwirkungen für Modifikationszwecke ausgenutzt werden.

Um kolloidale Arzneistoffträger im Organismus oder in biologischen Systemen hinsichtlich ihrer Verteilung untersuchen zu können, müssen die Partikel detektierbar sein. Für eine Detektion *in vivo* stehen optische Bildgebungsverfahren wie die Sonographie, die Röntgendiagnostik, Schnittbildverfahren (CT, MRT) und die Nuklearmedizin (PET, SPECT) zur Verfügung. Eine weitere und relativ neue Methode ist *Optical Imaging*, dessen Detektionsprinzip auf der Nutzung von Nahinfrarot-Fluoreszenz beruht. Es handelt sich um ein nicht-invasives Verfahren, welches ohne ionisierende Strahlung arbeitet und im Vergleich zu Verfahren wie dem MRT sehr kostengünstig, sicher und wenig aufwendig ist. *In vitro* haben sich fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen bei der Charakterisierung von Nanopartikeln in Bezug auf ihr Zellaufnahmeverhalten und den Verbleib innerhalb der Zellkompartimente bewährt. Zu Detektionszwecken *in vivo* und *in vitro* sollen daher im Rahmen der vorliegenden Arbeit geeignete Fluorophore in die entsprechenden partikulären Systeme eingeschlossen werden.

Ziel dieser Arbeit ist es also, mit der Entwicklung potentieller diagnostischer und therapeutischer Nanopartikel neuartige Drug Delivery Systeme mit vorteilhaften Eigenschaften für optimierte pharmazeutische Anwendungen zur Verfügung zu stellen. Mit dem Fokus einer höheren Modularität der Systeme soll im Rahmen dieser Arbeit eine flexible Oberflächenmodifikation eingesetzt werden. Der Einfluss der Oberflächenmodifikation auf die entsprechenden Systeme sowie die gesamte Charakteristik der Partikel sollen *in vitro* und *in vivo* untersucht werden. Als strategische Entwicklungsschwerpunkte für die nanopartikulären Systeme wurden deshalb festgelegt: (i) Flexibilität der Oberflächenmodifikation, (ii) Möglichkeit der Detektion und somit Nachweisbarkeit der Nanopartikel sowie (iii) Anwendbarkeit als therapeutisches System. In Tab. 1 ist dargestellt, wie sich die nanopartikulären Systeme dieser Arbeit in die aufgestellten Kriterien der Zielstellung einordnen.

Tab. 1 Einordnung der in dieser Arbeit beschriebenen Systeme in die Zielstellung ; x Kriterium wird erfüllt, (x) Kriterium wird zum Teil erfüllt, - Kriterium wird nicht erfüllt; PE: Polyelektrolyt, Vs: Vatalanib succinat (VEGF-Tyrosinkinase-Inhibitor), PBCA: Polybutylcyanoacrylat

		Flexibilität	Nachweisbarkeit	Anwendbarkeit
Selbstaggregierende Systeme	PE-Farbstoff	x	x	(x)
	PE-Vs	x	-	x
Feste Polymernanopartikel	PBCA-PE	x	x	x