

## 5 Zusammenfassung

Die zentrale Fragestellung dieser Arbeit war, inwiefern liposomale Konjugate mit ApoE-abgeleiteten Peptiden als potentiell *Drug Delivery*-System einen LDL-Rezeptor-vermittelten Transport an der Blut-Hirn-Schranke induzieren und damit zur Verbesserung des Arzneistofftransportes ins ZNS genutzt werden können. Schwerpunkte lagen zum einen auf der Herstellung und Charakterisierung von Liposomen mit sowohl adsorptiv als auch kovalent gebundenen ApoE-Peptiden und zum anderen auf der Untersuchung der Interaktion dieser Konjugate mit Endothelzellen von Hirnkapillaren.

Neben der kovalenten Kopplung des Tandemdimers der Aminosäuresequenz 141 - 150 aus der LDL-Rezeptor-Bindungsdomäne von ApoE (A2) an sterisch stabilisierte Liposomen gelang es, ApoE-Peptid-Liposomen durch adsorptive Bindung herzustellen. Durch Modifizierung des A2-Peptides mit lipidbindenden Peptidsequenzen und Acylketten konnte das Tandemdimer stabil in der Liposomenbilayer verankert werden. Hierbei erwies sich das dipalmytylierte ApoE-Peptid als am geeignetsten, da es eine effiziente Verankerung ohne Störung der Integrität der Liposomen gewährleistete. Strukturuntersuchungen bestätigten die Induktion einer  $\alpha$ -helikalen Konformation der ApoE-Peptide bei Bindung an Liposomen als Voraussetzung für die LDL-Rezeptor-Erkennung. Mit der Charakterisierung der LDL-Rezeptor-Expression von verschiedenen primären und immortalisierten Gehirnkapillarendothelzellen und dem Nachweis einer insgesamt moderaten Zytotoxizität der ApoE-Peptid-Liposomen wurden die Voraussetzung für Aufnahmeuntersuchungen und mechanistische Studien geschaffen.

Es wurde bestätigt, dass die A2-Sequenz an den LDL-Rezeptor bindet. Die Affinität war jedoch ca. um den Faktor 1000 geringer verglichen mit dem natürlichen Liganden LDL. Dennoch vermittelten die ApoE-Peptide eine effektive Aufnahme der Liposomen in Gehirnkapillarendothelzellen. Untersuchungen zum Internalisierungsmechanismus an Fibroblasten mit hoch- und runterregulierter LDL-Rezeptor-Expression und in Gegenwart eines LDL-Rezeptor-Antikörpers zeigten, dass unspezifische Aufnahmeprozesse überwogen. Das Heparansulfat-Proteoglykan-Gerüst (HSPG) der Zellmembran wurde dabei als eine wichtige Komponente für die Internalisierung der ApoE-Peptid-Liposomen identifiziert. Strukturelle Ähnlichkeiten der kationischen ApoE-Peptide mit der Klasse der zellpenetrierenden Peptide lassen darüber hinaus erwarten, dass neben dem HSPG-

vermittelten Aufnahmeprozess noch weitere, bisher wenig charakterisierte Translokationsmechanismen von Bedeutung sein könnten.

Obwohl keine LDL-Rezeptor-vermittelte Anreicherung der Liposomen in Gehirnkapillarendothelzellen nachgewiesen werden konnte, zeigen diese Untersuchungen, dass auch HSPG-vermittelte Prozesse für eine Verbesserung des Wirkstofftransportes über die BHS nutzbar gemacht werden können. Die Bedeutung der kationischen ApoE-Peptide liegt dabei insbesondere in ihrer großen Translokationseffizienz und der Fähigkeit, den Transport von makromolekularen Strukturen, z.B. Liposomen, in Gehirnkapillarendothelzellen zu vermitteln. Die erfolgreiche Umsetzung des Konzeptes der adsorptiven Peptidbindung an Liposomen ermöglicht darüber hinaus eine schnelle und effektive Herstellung derartiger Komplexe. Die gefundenen Parameter zur Herstellung adsorptiver Komplexe mit Liposomen sind auf andere Vektoren übertragbar und können somit für weitere Targets nutzbar gemacht werden.