

1 Einleitung und Zielsetzung

Das zentrale Nervensystem (ZNS), bestehend aus Gehirn und Rückenmark, ist die übergeordnete Steuerzentrale des Menschen. Dementsprechend führen Erkrankungen des ZNS zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Funktionsfähigkeit des gesamten Organismus (Schechter, 2004). Dazu gehören z. B. entzündliche Erkrankungen, ausgelöst durch Infektionen mit Bakterien oder Viren. Damit diese Pathogene und auch andere, zum Teil irreversibel schädigende Toxine und Xenobiotika nicht ungehindert in das ZNS eindringen können, stellt die Barrierefunktion der Blut-Hirnschranke (BHS) einen lebensnotwendigen Schutz des ZNS dar (Forth et al., 2001). Gleichzeitig verhindert die Beschaffenheit der BHS aber auch die Verwendung zahlreicher potenter Arzneistoffe zur Therapie von Erkrankungen des ZNS (Kreuter, 2001, Miller, 2002, Pardridge, 2003). Dazu gehören nicht nur die erwähnten entzündlichen Erkrankungen (z. B. Infektionen oder Multiple Sklerose), sondern z. B. auch zunehmend degenerative Erkrankungen des ZNS (z. B. Parkinsonsche Krankheit oder Alzheimer Erkrankung) oder Gehirntumore (z. B. Glioblastome).

Eine adäquate Therapie erfordert deshalb entweder Arzneistoffe bzw. Prodrugs, die in ausreichendem Maße ZNS-gängig sind oder spezielle „Drug Delivery-Systeme“, die den Arzneistoff über die BHS transportieren können (z. B. Konjugate von Arzneistoffen mit Transportvektoren oder partikuläre Arzneistoffträger) (Pardridge, 2003). Dabei gewinnen Drug Delivery-Systeme, nicht zuletzt auch durch die rasante Entwicklung biotechnologischer Methoden, zunehmend an Bedeutung, denn viele moderne, effektive Pharmaka sind hochmolekular (z. B. Peptide, Proteine, Oligonukleotide) und damit alleine nicht in der Lage die BHS zu passieren (Miller, 2002). Die partikulären Arzneistoffträger („Carrier“) haben dabei gegenüber den Ligandenkonjugaten den Vorteil, dass sie durch Auswahl der verwendeten Trägermatrix den Eigenschaften des Arzneistoffs angepasst werden können, was zu einer signifikanten Erhöhung der Transportkapazität führt (Speiser, 1998). Bei entsprechend hoher Beladung erreicht man so leichter den erforderlichen therapeutischen Wirkspiegel im Gehirngewebe. Wird der Arzneistoff (drug) darüber hinaus gezielt zum gewünschten Wirkort (target) dirigiert, spricht man von einem „Drug Targeting“, was seit Paul Ehrlichs „Magic Bullets“ in der Arzneistofftherapie angestrebt wird (Ehrlich, 1906), um Nebenwirkungen zu verhindern oder zumindest zu verringern und die Therapieeffizienz zu erhöhen (Bauer et al., 2002).

Für einen zielgerichteten Arzneistofftransport bietet sich in erster Linie die intravenöse (i. v.) Injektion an (Kreuter, 1983, Speiser, 1998). Allerdings werden die Partikel dabei normalerweise vom Immunsystem innerhalb kurzer Zeit als körperfremd erkannt und von Zellen des mononukleären phagozytären Systems (MPS, v. a. Leber und Milz) aufgenommen (Müller, 1991). Um dies zu verhindern, ist es ein gängiges Prinzip, die Oberfläche der partikulären Träger zu modifizieren (v. a. mit Polyethylenglykol (PEG)), um diese so dem Immunsystem „unsichtbar“ zu machen (Müller und Heinemann, 1989, Tan et al., 1993, Moghimi, 1995a, Zhang et al., 2001), was erklärt, warum entsprechend modifizierte Liposomen den Namen „Stealth[®]“ tragen (Allen et al., 1992, Cattel et al., 2003).

Um darüber hinaus ein „aktives Targeting“ zu dem gewünschten Gewebe zu erreichen, ist es außerdem erforderlich, die Oberfläche der Carrier zu funktionalisieren (Müller et al., 2005). Das zunehmende Wissen über physiologische Transportprozesse an der BHS und die Idee der Ausnutzung dieser für eine Verbesserung des Arzneistofftransportes über die BHS haben die Entwicklung von Transportsystemen mit determinierenden Liganden an der Oberfläche vorangetrieben (Pardridge, 2003). So konnten z. B. Arbeiten mit arzneistoffbeladenen, oberflächenmodifizierten Polybutylcyanoacrylat (PBCA)-Nanopartikeln zeigen, dass Apolipoprotein E (ApoE) eine entscheidende Rolle beim Transport über die BHS spielt (Kreuter, 2001, Müller et al., 2001). ApoE ist ein Ligand des LDL (Low Density Lipoprotein)-Rezeptors, der unter anderem am zerebralen Gefäßendothel expremiert ist und im physiologischen Lipidstoffwechsel einen transzytotischen Aufnahmeprozess von Lipoproteinen vermittelt (Dehouck et al., 1997). Entsprechend können partikuläre Arzneistoffträger, die ApoE an der Oberfläche aufweisen, diese Art von Lipoproteinen nachahmen und so als eine Art „trojanisches Pferd“ den Wirkstoff in das Gehirngewebe einschleusen (PathFinder[®]-Technology) (Kreuter, 2001, Müller et al., 2001, Müller und Schmidt, 2002).

In zahlreichen Arbeiten wurde mit Hilfe der zwei-dimensionalen Polyacrylamid Gelelektrophorese (2-D PAGE) untersucht, inwieweit durch Variation der Oberflächeneigenschaften der Partikel die Adsorption von Proteinen aus dem Blutplasma beeinflusst werden kann (Blunk et al., 1993, Blunk et al., 1995, Lück et al., 1998a, Gessner et al., 2000, Lind et al., 2001a, Gessner et al., 2003) (Konzept der „Differenzierenden Adsorption“ (Müller und Heinemann, 1989)). Um eine mögliche Korrelationskette zwischen den physikochemischen Oberflächeneigenschaften, der

Adsorption von Plasmaproteinen und dem resultierenden *In-vivo*-Verhalten besser etablieren zu können, wurden insbesondere Polymermodellpartikel (v. a. aus Polystyrol) mit genau definierten Oberflächeneigenschaften verwendet. Diese Partikel haben allerdings die Eigenschaft nicht bioabbaubar zu sein und auch andere Arzneistoffträger, auf die das Konzept der „Differenzierenden Adsorption“ angewandt wurde, weisen diverse Nachteile auf (z. B. Toxizitätsprobleme mit PBCA-Nanopartikeln (Lenaerts et al., 1984)).

Im Rahmen dieser Arbeit sollte deshalb die für andere Arzneistoffträger etablierte 2-D PAGE-Analytik auf die *in vivo* sehr gut verträglichen festen Lipidnanopartikel (solid lipid nanoparticles, SLN) (Müller und Lucks, 1996, Müller et al., 2000) übertragen werden. Nach Klärung der wichtigsten methodischen Aspekte sollte untersucht werden, inwieweit sich die Ergebnisse anderer Carriersysteme auf die Plasmaproteinadsorptionsmuster von SLN übertragen lassen. Primäres Ziel war die Anreicherung von ApoE auf SLN, was durch gezielte Veränderung der SLN-Formulierung (Variation der eingesetzten Tenside bzw. Matrixlipide) erreicht werden sollte. Des Weiteren sollte das Proteinmuster auch im Hinblick auf die Adsorption anderer Plasmaproteine, die im Zusammenhang mit dem angestrebten Gehirn-Targeting eine wichtige Rolle spielen, optimiert werden. Weitere Ziele waren die Bestimmung der Adsorptionskinetik von Plasmaproteinen auf SLN und die Untersuchung, ob sich die Proteinmuster auch nach einer Lagerung der Dispersionen über zwei bis drei Jahre nach Kontakt mit Blutplasma reproduzierbar ausbilden, um zu klären, ob neben der physikochemischen Stabilität auch die „physiologische Stabilität“ der SLN gewährleistet ist.

Außerdem sollte die Proteinadsorption auch auf weiteren kolloidalen, parenteral applizierbaren Arzneistoffträgern (Fettemulsionen, Nanopartikel aus Gelatine und „Kern-Schale-Nanopartikel“) untersucht werden. Hier sollten in erster Linie mögliche Korrelationen der Adsorptionsmuster mit den Ergebnissen aus *In-vitro*- und *In-vivo*-Studien, die parallel von den entsprechenden Kooperationspartnern durchgeführt wurden, im Vordergrund stehen.