



© Felice Frankel

Mikrochips mit von unten zu füllenden Reservoirs zum Speichern von Chemikalien (Ausschnitt unten links) und Elektroden auf der Oberseite zum Öffnen des Reservoirs.

ANGEWANDTE
CHEMIE — © WILEY-VCH

Mikrochips als Systeme zur kontrollierten Freisetzung von Medikamenten

**John T. Santini, Jr.,* Amy C. Richards, Rebecca Scheidt, Michael J. Cima*
und Robert Langer***

Kontrollierte Freisetzung spielt bei einer Reihe von Produkten eine Rolle, darunter Nahrungsmittel, Kosmetika, Pestizide und Papier. So werden Mikrokapseln zur Abgabe von Geschmackstoffen und Vitaminen in Nahrungsmitteln, Duftstoffen in Parfümen und Tinten in Durchschreibepapieren ohne Kohlepapiereinlagen verwendet. Die ersten Systeme zur kontrollierten Freisetzung von medizinischen Wirkstoffen wurden in den sechziger und siebziger Jahren beschrieben. In den letzten dreißig Jahren hat die Zahl und Vielfalt derartiger Systeme drastisch zugenommen. Häufig werden Polymere verwendet, die besondere physikalische und chemische Eigenschaften

haben, wie Bioabbaubarkeit, Biokompatibilität oder die Fähigkeit, auf Änderungen des pH-Werts oder der Temperatur zu reagieren. Jüngste Fortschritte in den Mikrofabrikationstechniken haben jedoch die Möglichkeit eröffnet, eine neue Klasse von Verabreichungssystemen zu entwickeln, und zwar kleine, programmierbare. Ihre geringe Größe, die Möglichkeit, sie mit der Mikroelektronik zu kombinieren, sowie ihre Fähigkeit, Chemikalien zu speichern und bei Bedarf freizusetzen, eröffnen Mikrochips zur kontrollierten Freisetzung ein breites Anwendungsspektrum. Dazu gehören die medizinische Diagnostik, die Analytische Chemie, die Identifizie-

rung funktioneller Gruppen, die Überwachung und Steuerung industrieller Prozesse, die Kombinatorische Chemie, die Mikrobiologie und die Freisetzung von Duftstoffen. Darüber hinaus können diese Mikrochips, die erst durch das Zusammenführen von kontrollierter Wirkstoffabgabe und Mikrofabrikationstechniken möglich wurden, neue Wege zur Bekämpfung von Krankheiten eröffnen.

Stichwörter: Kontrollierte Freisetzung • Mikrochips • Mikroreaktoren • Wirkstoffabgabe • Wirkstoff-Forschung

1. Einleitung

Die Mikroelektronik hat sich zu einem integralen Teil unseres Lebens entwickelt. Man findet sie in unseren Autos, Mobiltelefonen und Computern. Diese Übersicht stellt ein neues Feld vor, den Einsatz von Mikrofabrikationstechniken in der Entwicklung von Systemen zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien und – darin eingeschlossen – medizini-

nischen Wirkstoffen. Um dem Leser die Möglichkeit zu geben, dieses neue Feld umfassend zu verstehen, beginnen wir mit einem Überblick über die kontrollierte Freisetzung von Chemikalien und berichten dann kurz über die relevanten Arbeiten zu Mikrofabrikationstechniken. Anschließend beschreiben wir unsere jüngsten Arbeiten zur Entwicklung von Mikrochips für die kontrollierte Freisetzung von Chemikalien und medizinischen Wirkstoffen.

[*] Dr. J. T. Santini, Jr.,^[+] Prof. R. Langer

Department of Chemical Engineering, Room E25-342

Massachusetts Institute of Technology

Cambridge, MA 02139 (USA)

Fax: (+1) 617-258-8827

E-mail: jsantini@mchips.com, rlanger@mit.edu

Prof. M. J. Cima, A. C. Richards, R. Scheidt

Department of Materials Science and Engineering, Room 12-011

Massachusetts Institute of Technology

Cambridge, MA 02139 (USA)

Fax: (+1) 617-258-6936

E-mail: mjcima@mit.edu

[+] Derzeitige Anschrift:

MicroCHIPS, Inc.

45 Spinelli Place

Cambridge, MA 02138 (USA)

Fax: (+1) 617-492-2435

2. Kontrollierte Freisetzung

Der Begriff kontrollierte Freisetzung, wie er hier verwendet wird, bezieht sich auf Materialien oder Bauteile, mit denen entweder der Zeitpunkt oder die Geschwindigkeit der Freisetzung einer Chemikalie – oder auch beides – gesteuert werden kann. Diese Technik hat sich in einer Reihe von Bereichen, darunter Nahrungsmittel, Kosmetika und Pestizide^[1] als vorteilhaft erwiesen. Ihre größte Bedeutung hat sie jedoch in der Medizin erlangt (drug delivery).^[2]

Wie ein Wirkstoff verabreicht wird, kann einen signifikanten Einfluss auf seine therapeutische Wirksamkeit haben.^[3] Für einige Wirkstoffe existiert ein optimaler Konzentrations-

bereich, in dem der maximale therapeutische Erfolg zu beobachten ist. Wirkstoffkonzentrationen ober- oder unterhalb dieses Bereichs können toxisch sein bzw. überhaupt nicht therapeutisch wirken. Konventionelle Verabreichungssysteme wie Tabletten oder Injektionen bewirken ein Abgabeprofil mit einem steilen Anstieg der Konzentration zu einem oberhalb des therapeutischen Bereichs liegenden Maximum und einem anschließenden verhältnismäßig schnellen Abfall der Konzentration bis unter den therapeutischen Bereich. Die Zeitspanne, während der sich die Konzentration innerhalb des therapeutischen Bereichs befindet, kann somit kurz sein (Abbildung 1a). Schlaftabletten sind ein gutes Beispiel, um die Wichtigkeit der Wirkstoffkonzentration zu verdeutlichen.

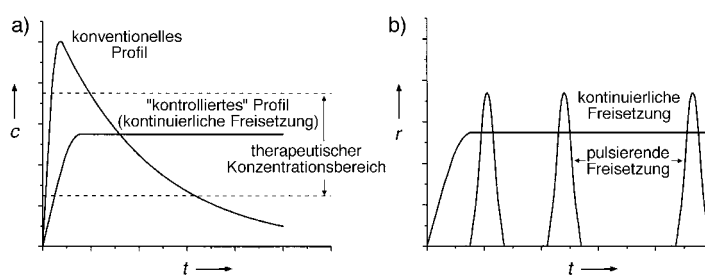


Abbildung 1. a) Konzentrations(c)-Zeit(t)-Profile für konventionelle und kontrollierte Medikamentenverabreichung. Das Profil für die kontrollierte Freisetzung beschreibt eine kontinuierliche Abgabe. b) Freisetzungsgeschwindigkeits(r)-Zeit(t)-Profile, die den Unterschied zwischen einer kontinuierlichen und einer pulsierenden Abgabe demonstrieren.



R. Langer



M. J. Cima



J. T. Santini, Jr.



A. C. Richards



R. Scheidt

Robert Langer ist Kenneth J. Germeshausen Professor of Chemical and Biomedical Engineering am MIT. 1970 schloss er an der Cornell University das Chemieingenieurstudium mit dem BSc ab, und 1974 erhielt er den ScD am MIT im gleichen Fach. Ihm wurden die Ehrendoktorwürden der ETH Zürich (Schweiz) und vom Technion (Israel) sowie über 80 bedeutende Auszeichnungen, darunter der Gairdner Foundation International Award, verliehen. Er veröffentlichte 620 wissenschaftliche Artikel, 400 Tagungsbeiträge und 365 Patente, ist Herausgeber von 12 Büchern und das einzige aktive Mitglied aller drei nationalen Akademien der USA (Wissenschaft, Medizin und Ingenieurwissenschaften). Seine Forschungsinteressen umfassen die Verabreichung von Medikamenten, Gewebesubstitute und Polymere.

Michael J. Cima ist Sumitomo Electric Industries Professor im Materials Science and Engineering Department des MIT. An der University of California at Berkeley erhielt er 1982 seinen BSc in Chemie und 1986 seinen PhD in den Chemieingenieurwissenschaften. Er hat 130 wissenschaftliche Veröffentlichungen und 9 Patente geschrieben und wurde vielfach ausgezeichnet, darunter mit dem International Award of Materials Engineering for Resources, dem R&D 100 Award, dem ALCOA Foundation Science Award und der Berufung als Fellow der American Ceramics Society. Zu seinen Forschungsinteressen zählen die Keramikverarbeitung, Tintenstrahl- und anderer Drucktechniken sowie die Verabreichung von Medikamenten.

John T. Santini, Jr. erhielt 1994 seinen BSc von der University of Michigan und 1999 seinen PhD vom MIT – beide Abschlüsse in den Chemieingenieurwissenschaften. Seine Doktorarbeit wurde durch ein Stipendium der National Science Foundation unterstützt und beschäftigte sich mit dem Design, der Herstellung und der Charakterisierung von Mikrochips, die für die Freisetzung von Medikamenten und Chemikalien genutzt werden sollen. Derzeit führt er seine Forschung zur Wirkstofffreisetzung bei der Firma MicroCHIPS, Inc. und am MIT als wissenschaftlicher Mitarbeiter der Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology fort.

Amy C. Richards erwarb 1997 am MIT ihren BSc in den Material- und Ingenieurwissenschaften. Sie ist zurzeit ein Stipendiat der National Science Foundation und führt ihre Doktorarbeit im gleichen Fachgebiet unter der Anleitung von Professor Langer und Professor Cima durch. Dabei versucht sie, die Polymerwissenschaften, die Polymerverarbeitung und die Wirkstoffverabreichung bei der Entwicklung und Charakterisierung neuer Systeme für die kontrollierte Wirkstoffabgabe zusammenzuführen.

Rebecca Scheidt erhielt 1998 ihren BSc in den Keramikwissenschaften mit summa cum laude von der University of Missouri-Rolla. Als Stipendiat der National Science Foundation arbeitet sie derzeit im Rahmen ihrer Doktorarbeit am MIT im Bereich der Material- und Ingenieurwissenschaften an den elektrochemischen und mikroprozessstechnischen Aspekten der Mikrochips zur kontrollierten Wirkstoffabgabe.

Liegt diese unterhalb des therapeutischen Bereichs, wird die Schlafneigung nicht verstärkt, liegt sie dagegen oberhalb des therapeutischen Bereichs, kann eine möglicherweise tödliche Arzneimittelvergiftung auftreten. In manchen Fällen sollte daher das ideale Konzentrationsprofil nahezu zeitunabhängig innerhalb des therapeutischen Bereichs verlaufen (Abbildung 1 a).

2.1. Kontinuierliche Freisetzung

Die Arbeiten zur kontrollierten Wirkstoffabgabe konzentrierten sich zunächst darauf, eine nahezu konstante (d. h. kontinuierliche) Freisetzung über lange Zeit (Abbildung 1 b) zu erreichen, die möglichst wenig von externen Faktoren wie dem pH-Wert beeinflusst wird.^[4] Dabei wurden meist Polymere verwendet, aus denen der Wirkstoff entweder durch Nutzen der Diffusion oder durch den Abbau des Polymers mit der Zeit mit nahezu konstanter Geschwindigkeit freigesetzt wird. Diese Verabreichungssysteme können sowohl mikroskopisch als auch makroskopisch dimensioniert sein und existieren in einer Reihe von Formen wie Tabletten, Polymerimplantaten (Stifte, Scheiben oder Pellets) und Polymermikrokügelchen. Kommerziell erhältliche Polymersysteme sind z. B. Gliadel^[5] (implantierbare Polyanhydridscheiben für die Behandlung maligner Gehirntumoren, die unter Abbau des Polymers BCNU (Carmustin) mit nahezu konstanter Geschwindigkeit freisetzen) und Lupron Depot^[6] (injizierbare Polymermikrokügelchen zur Behandlung von Endometriosis und vorzeitiger Pubertät (Pubertas praecox) sowie zur nahezu konstanten Freisetzung von LHRH-Analoga für die Prostatakrebsbehandlung).

Die transdermale Verabreichung ist eine weitere Methode, um eine kontrollierte, kontinuierliche Abgabe zu erreichen. Diese Art der Verabreichung erwies sich insbesondere bei kleinen, lipophilen Wirkstoffen als günstig, wie Scopolamin (Seerkrankheit), Fentanyl (Schmerzen), Clonidin (Bluthochdruck), Östradiol (Hormonersatz), Testosteron (Impotenz), Nikotin (Raucherentwöhnung) und Nitroglycerin (Angina pectoris).^[2, 7] Ein wesentlicher Vorteil der transdermalen Verabreichung ist, dass der Metabolismus des verabreichten Wirkstoffs in der Leber direkt nach der Aufnahme reduziert ist.^[7b] Normalerweise verstreicht jedoch zwischen dem Auftragen des Medikaments auf die Haut und der Einstellung einer stabilen Konzentration im Blutstrom eine gewisse Zeit. Zudem können nur wenige Wirkstoffe ohne chemische Verstärker oder externe Stimuli wie Ultraschall die Haut mit einer Geschwindigkeit passieren, die hoch genug ist, um eine konstante, therapeutisch sinnvolle Konzentration im Blutstrom zu gewährleisten.^[8]

2.2. Pulsierende Freisetzung

Die in Abschnitt 2.1 vorgestellten Systeme wurden entwickelt, um einen Wirkstoff mit über die Zeit nahezu konstanter Geschwindigkeit freizusetzen. Es gibt jedoch auch zahlreiche Fälle, in denen die kontinuierliche Freisetzung nicht die optimale Wirkstoffabgabe ist. Vielmehr ist eine stoßweise

Freisetzung in frei wählbaren Zeitintervallen wünschenswert (siehe Abbildung 1 b) – allgemein als pulsierende Freisetzung bezeichnet. Da diese Freisetzungsform die Art nachahmt, wie der menschliche Körper selbst manche Stoffe produziert, ist sie bei bestimmten Anwendungen überlegen. Insulin ist ein Beispiel für einen Naturstoff, der vom Körper stoßweise freigesetzt wird.^[9] Ebenfalls Naturstoffe, die vom Körper stoßweise oder periodisch gebildet werden, sind die Hormone des Hypophysenvorderlappens (der Adenohypophyse), darunter Gonadotropin und das Wachstumshormon, die für die Regulierung der Fortpflanzung bzw. des Wachstums wichtig sind. Viele Substanzen und Umwelteinflüsse können die Produktion dieser Hormone stimulieren oder inhibieren. Doch Stoffe, die vom Hypothalamus freigesetzt werden, Releasing-Faktoren oder -Hormone genannt, spielen die entscheidende Rolle bei der Regulierung dieser Hormone: Frauen, die unter einem Mangel an Gonadotropin-freisetzendem Hormon (GnRH) leiden, haben keinen normalen Eisprung, was ihre Fruchtbarkeit beeinträchtigt; ein Mangel an Wachstumshormon-freisetzendem Hormon (GHRH) bei Kindern bewirkt Zwergwuchs. Die pulsierende Freisetzung von GnRH bzw. GHRH kann dazu beitragen, die Schwere dieser Erkrankungen zu mildern.^[10] Dagegen führt die kontinuierliche Gabe von GnRH zu einer Desensibilisierung der GnRH-Rezeptoren in der Hirnanhangdrüse und kann damit die Freisetzung von Gonadotropin sogar unterdrücken.^[11]

Der Großteil der Forschung zur pulsierenden Freisetzung beschäftigte sich mit der Entwicklung von Polymermaterialien, die auf spezifische Stimuli reagieren:^[12] Änderung eines elektrischen^[13] oder magnetischen Feldes,^[14] Ultraschall,^[14b, 15] Licht,^[16] Enzyme,^[17] Änderung des pH-Werts^[18] oder der Temperatur^[19] sowie die Gegenwart von körpereigenen Stoffen, zu denen auch die Antigene zählen.^[20] Die transdermale Verabreichung, üblicherweise eine Technik mit konstanter Wirkstoffabgabe, kann dahingehend modifiziert werden, dass sie pulsierenden Abgabemustern folgt: unter Einwirkung von Ultraschall^[8] oder Spannungsstößen (bei Hochspannung: Elektroporation, bei Niederspannung: Iontophorese).^[21] Die pulsierende Freisetzung kann entweder extern gesteuert werden (offener Kreislauf) oder selbstregulierend verlaufen (geschlossener Kreislauf).^[22] Ein Polymerimplantat, das unter dem Einfluss eines oszillierenden magnetischen Feldes einen Wirkstoff freisetzt, ist ein Beispiel für ein extern gesteuertes System,^[23] während ein System, das den Wirkstoff als Reaktion auf Antigene im Körper freisetzt, als Beispiel für ein selbstregulierendes System dienen kann.^[20] Durch dreidimensionales Prägen sind oral anwendbare und implantierbare Polymersysteme zugänglich, die Wirkstoffe auch ohne externen Stimulus portionsweise freisetzen können. Sie basieren auf kontrollierten Polymermatrix-Mikrostrukturen und geben den Wirkstoff zu spezifischen Zeitpunkten ab. Das Freisetzungsprofil wird durch die Durchlässigkeit des Polymers und die Position des Wirkstoffs in der Matrix determiniert.^[24]

Eine alternative Methode zur pulsierenden Wirkstoffabgabe basiert auf der Verwendung von Pumpen und Kathetern. Pumpen sind sowohl für die kontinuierliche als auch für die pulsierende Freisetzung geeignet. Sie können so programmiert werden, dass sie in festgelegten Intervallen durch einen

Katheter definierte Mengen einer Wirkstofflösung an den Patienten abgeben. So wird bei einer derzeit angewendeten Methode zur Behandlung des GnGH-Mangels bei Frauen eine Pumpe (ungefähr von der Größe einer Erwachsenenfaust) an einem Gürtel getragen, die mit einem subkutan oder intravenös in den Körper eingelassenen Katheter verbunden ist.^[25] Über mehrere Wochen oder Monate verabreicht diese Pumpe alle 90 min eine Lösung, die 5 µg GnRH enthält. Solche externen Pumpen und Katheter können jedoch unangenehm und unbequem sein und die Beweglichkeit des Patienten einschränken. Darüber hinaus sind sie teuer und können zu Entzündungen und Infektionen am Eintrittsort des Katheters führen. Vollständig implantierbare Pumpen, wie sie für Diabetes, in der Onkologie oder für die Analgesie^[26] entwickelt wurden, erhöhen zwar die Bewegungsfreiheit des Patienten und vermindern durch die Vermeidung von transkutanen Kathetern die Infektionsgefahr, doch ihre breite Anwendung ist weiterhin durch ihre Größe, die Kosten, die Beschränkung auf gelöste Wirkstoffe und die begrenzte Stabilität einiger Wirkstoffe bei 37 °C eingeschränkt.

3. Mikrofabrikationstechniken

Als Mikrofabrikation werden im Allgemeinen Verfahren bezeichnet, bei denen im Mikrometerbereich Änderungen in oder an einem Material durchgeführt werden, und zwar durch Abscheiden, Ätzen oder Mikroschmelzverfahren^[27] in Verbindung mit strukturbildenden Verfahren wie der Photolithographie^[27a-c] oder dem Mikrokontaktdruck.^[28] Die Mikrofabrikationstechniken werden traditionell zur Herstellung von integrierten Schaltkreisen für mikroelektronische Bauteile wie Computermikroprozessoren eingesetzt. Inzwischen werden sie jedoch auch in zunehmenden Maße zur Herstellung von mikrometergroßen Bauteilen verwendet, deren Hauptfunktionen medizinischer, chemischer oder optischer Natur sind. Dazu zählen Mikroreaktoren, Mikropumpen, Beschleunigungsmesser und Mikrospiegel. Derartige Systeme werden häufig als mikroelektromechanische Systeme (MEMS) bezeichnet. MEMS werden gewöhnlich mit mikroelektronischen Verfahren aus Silicium erhalten. Sie können aber auch aus Kunststoffen, Metallen oder Keramiken unter Verwendung von Verfahren wie Stanzen, Gießen, Schmelzen oder Laserablation hergestellt werden.

MEMS werden in einer Reihe von Bereichen eingesetzt. Zwei erwähnenswerte Beispiele sind Düsen für Tintenstrahldrucker^[29] und Beschleunigungsmesser für die Automobilindustrie.^[30] Neuere MEMS-Anwendungen schließen Mikroreaktoren zur Herstellung von Chemikalien^[31] und Mikroturbinen für die Raumfahrt ein.^[32] Für die im Folgenden behandelten Themen ist es sinnvoll, mikrofabrizierte Bauteile für biologische Anwendungen in zwei Kategorien einzuteilen – Mikro- und Nichtmikrofließsysteme.

3.1. Mikrofließsysteme

Die Mikrofluidik als Teil der Mikrofabrikationstechniken beschäftigt sich mit der Miniaturisierung von Geräten zur

Handhabung von Flüssigkeiten, z. B. Pumpen, Ventile oder Fließkanäle. Das Konzept, ganze Laboratorien auf einem Chip (lab-on-a-chip) oder miniaturisierte Gesamtanalyse-systeme (μ TAS) herzustellen, die Pumpen, Ventile, Mixer, Reaktoren und Separatoren enthalten, hat während der letzten Jahre enormes Interesse gefunden.^[33] Der Bedarf an solchen Systemen hat die Entwicklung von zahlreichen Komponenten wie Mikropumpen und Mikroventilen angestoßen.^[34] Diese Mikropumpen können bewegliche Teile wie Diaphragmen oder piezoelektrische Komponenten enthalten, die Flüssigkeiten mechanisch pumpen,^[35] oder sie können ionische Flüssigkeiten mit Hilfe elektrischer Felder bewegen (elektroosmotisches Pumpen).^[36] Mikrofabrizierte Ventile mit pneumatischen^[37] oder thermoelektrischen Auslösern^[38] können reversibel arbeiten. Irreversible Ventile, die elektrochemisch ausgelöst werden, wurden ebenfalls vorgeschlagen.^[39]

Das Interesse an der Mikrofluidik konzentriert sich bei biologischen Anwendungen auf die Entwicklung von Mikrosystemen für die chemische^[33c, 40] und die DNA-Analyse.^[33b,d, 41] Daneben werden Mikrofließsysteme in der Kombinatorischen Chemie,^[33b] in Bioassays^[42] und in der Kapillarelektrophorese eingesetzt. So wurden mit aus Polydimethylsiloxan und amorphem Kieselgel gefertigten Mikrosystemen DNA-Fragmente,^[43] Oligonucleotide,^[44] Produkte von Polymerasekettenreaktionen (PCR),^[45, 46] einzelne DNA-Moleküle^[43a, 47] sowie Einzel-^[41e] und Doppelstrang-DNAs^[48] getrennt. Des Weiteren wurden mit kapillarelektrophoretischen Mikrosystemen DNA-Genotypaufklärungen^[49] sowie Trennungen von Neurotransmittern,^[45] Aminosäuren,^[50] Peptiden,^[43a] Insulin und Lysozym^[43b] durchgeführt.

3.2. Nichtfließsysteme

In Nichtfließsystemen für biologische Anwendungen werden Flüssigkeiten weder gepumpt noch kontrolliert bewegt. Zu ihnen zählen viele Biosensoren und einige „DNA-Chips“. Biosensoren können aus Silicium mit Verfahren aus der Halbleitertechnik hergestellt werden. Ihre Fertigung enthält aber häufig zumindest einen unkonventionellen Schritt, um Oberflächenstrukturen zu erzeugen oder um den Sensor mit einer biologisch oder chemisch aktiven Verbindung zu beschichten.^[51] Ähnlich dient bei DNA-Chips immobilisiertes Material auf der Oberfläche zur Identifizierung von genetischem Material oder anderen Chemikalien.^[52] In den letzten Jahren stießen DNA-Chips auf zunehmendes Interesse bei pharmazeutischen Unternehmen, die sie für das Hochdurchsatz-Screening neuer Medikamente und für die Kombinatorische Chemie verwenden.

Mikrofabrikationstechniken wurden in den letzten Jahren für biologische Zwecke immer mehr eingesetzt. Dagegen haben sie nur begrenzt Eingang in das Gebiet der kontrollierten Wirkstoffabgabe gefunden. Man könnte sich sicherlich die Verwendung von Mikrofließsystemen zur Wirkstofffreisetzung vorstellen. Aber die Einschränkung, dass nur Medikamente in Lösung verabreicht werden können, die fehlende Stabilität gewisser flüssiger Wirkstoffformulierungen, die Komplexität einiger Verfahren und die Anwesenheit bewe-

glicher Teile – Anlass für mögliche Fehlfunktionen des Systems – könnten Hürden für eine klinische und kommerzielle Nutzung sein. Daher muss der Bereich der kontrollierten Wirkstoffabgabe noch immer die Vorteile der Mikrofabrikationstechniken für sich erschließen.

4. Mikrochips zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien

Das Ziel unserer Arbeit war es, ein mikrofabriziertes System zu entwickeln, das zahlreiche chemische Substanzen zu lagern und bei Bedarf freizusetzen vermag und das auf bewegliche Teile verzichtet.

4.1. Funktionsprinzip

Abbildung 2 zeigt das Modell eines Mikrochips zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien; in ihm sind Reservoirs rasterförmig in ein elektrolytundurchlässiges Grundmaterial eingebettet. Jedes Reservoir ist an einer Seite durch eine dünne Membran aus einem Material versiegelt, das als Anode in einer elektrochemischen Reaktion dienen kann und

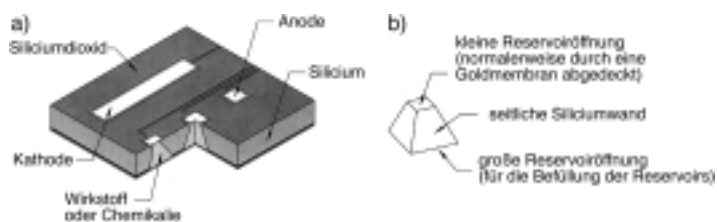


Abbildung 2. Schematische Darstellung eines Mikrochips zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien. a) Schnitt, der Anoden, Kathoden und Reservoirs enthält, b) ein einzelnes Reservoir (siehe Abschnitt 4.2 für typische Maße).

aufgelöst wird, sobald in einem Elektrolyten ein elektrisches Potential angelegt wird. Auf der Oberfläche des Systems muss zumindest eine weitere Elektrode vorhanden sein, die als Kathode in der elektrochemischen Reaktion dient. Diese Kathode kann aus einem beliebigen leitenden Material hergestellt sein, wird jedoch aus fertigungstechnischen Gründen üblicherweise aus dem gleichen Material wie die Anoden hergestellt. Weiterhin können auf einem Mikrochip beliebig viele Kathoden angelegt werden, die in Größe und Form an das für eine gegebene Anwendung erforderliche Elektroden-design angepasst werden können. Die Reservoirs werden mit der freizusetzenden Substanz von der offenen Seite befüllt. Nach der Befüllung werden die offenen Enden der Reservoirs mit einem wasserundurchlässigen Material versiegelt.

Das System wird dann in eine Elektrolytlösung mit Ionen getaucht, die einen löslichen Komplex mit dem Anodenmaterial in seiner ionisierten Form bilden. Will man die Freisetzung aus einem bestimmten Reservoir initiieren, wird ein elektrisches Potential an der zugehörigen Anodenmembran angelegt. Dadurch wird das Anodenmaterial oxidiert und bildet einen löslichen Komplex mit den Ionen des Elektrolyten. Dieser löst sich im Elektrolyten auf, so dass die

Membran verschwindet. Abbildung 3 gibt das Funktionsprinzip schematisch wieder. Die Chemikalie in dem frisch geöffneten Reservoir steht nun in Kontakt mit dem umgebenden Elektrolyten, kann sich in diesem lösen und aus dem Reservoir herausdiffundieren.

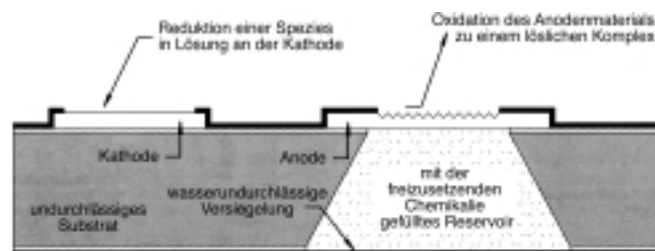


Abbildung 3. Schnitt durch einen typischen Mikrochip zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien, der das Prinzip der elektrochemischen Reservoiröffnung verdeutlicht. Die in den Mikrochip-Prototypen verwendeten Materialien sind in Abschnitt 4.2 beschrieben.

4.2. Experimentelle Spezifizierung der Prototypen

Für die Mikrochip-Prototypen wurden zunächst Siliciumwafer mit einem Durchmesser von vier Zoll als Modellgrundmaterial verwendet. Die Prototypen bestanden aus quadratischen Siliciumscheiben mit einer Kantenlänge von 17 mm, deren 34 Reservoirs vollständig die Scheibe durchdrangen. Das Kaliumhydroxid-Ätzverfahren, das zur Herstellung der Reservoirs verwendet wurde, lieferte diese mit quadratisch-pyramidalen Gestalt (siehe Abbildung 2b). Die kleine Reservoiröffnung hatte eine Kantenlänge von 50 μm , die große eine von 480 μm . Die Dicke der Siliciumscheibe lag zwischen 295 und 315 μm , was bedeutet, dass jedes Reservoir ein ungefähres Volumen von 25 nL hatte. Die kleine Öffnung eines jeden Reservoirs war durch eine 0,2–0,3 μm dicke Goldmembran verschlossen, die als Anode in der elektrochemischen Reaktion diente. Des weiteren befanden sich auf der Oberfläche des Systems drei Dünnschichtkathoden aus Gold, die in unterschiedlichen Abständen angeordnet waren. Die Goldanoden und -kathoden war teilweise mit einem 0,4–0,6 μm dicken Siliciumdioxidfilm beschichtet, um in diesen Bereichen die Korrosion als Folge des angelegten elektrischen Potentials zu verhindern. Der in Abbildung 4 gezeigte Pro-

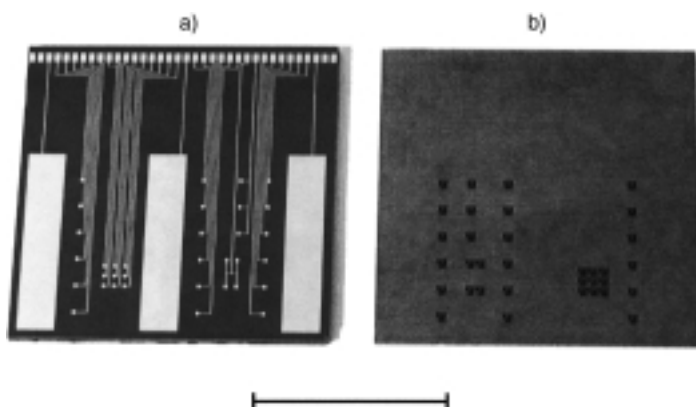


Abbildung 4. Fotos eines Mikrochip-Prototyps. a) Vorderseite mit den Elektroden, b) Rückseite mit den Öffnungen zum Befüllen der Reservoirs (Balkenlänge: 10 mm; Aufnahmen: Paul Horwitz).

totyp hatte nur 3 Kathoden bei 34 Anoden. Auf einem einzigen Vier-Zoll-Siliciumwafer können 21 solche Prototypen hergestellt werden.

Die Größe der Prototypen war einzig im Hinblick auf die einfache Handhabung bei den Freisetzungsexperimenten und die Kompatibilität mit kommerziell erhältlichen Bauteilen gewählt worden. Doch die Mikrochips sind nicht auf diese Größe beschränkt, sondern können in Abhängigkeit vom Einsatzzweck auch viel größer oder kleiner (<2 mm) gemacht werden. Ein System mit der Größe, wie sie von uns verwendet wurde (17 × 17 mm), kann über 1000 Reservoirs aufnehmen.

4.3. Wahl des Membranmaterials

Die Wahl des Membranmaterials ist wichtig für das zuverlässige Funktionieren eines Mikrochips zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien. Eine wesentliche Anforderung an das Membranmaterial ist, dass es in Lösung bei Abwesenheit eines elektrischen Potentials stabil bleibt, um das vorzeitige Freisetzen der Chemikalie aus dem Mikrochip zu verhindern. Zugleich muss sich die Membranelektrode jedoch umgehend und selektiv auflösen, sobald ein spezifisches elektrisches Potential angelegt wird. Ein Material auszuwählen, das beide Eigenschaften hat, ist jedoch schwierig, da biologische Flüssigkeiten kleine Mengen an gelöstem Sauerstoff und Chloridionen enthalten, die viele Metalle spontan korrodieren lassen.

Wir entschieden uns primär wegen der einzigartigen elektrochemischen Eigenschaften von Gold für dieses Metall als Modellmembran- und -elektrodenmaterial. Gold ist seit langem als Edelmetall bekannt. Es kann einfach abgeschieden und strukturiert werden, reagiert kaum mit anderen Substanzen und widersteht spontaner Korrosion in den meisten wässrigen Lösungen über den gesamten pH-Bereich. Die Tatsache, dass die Goldoberfläche sauber bleibt (d. h., die native Oxidschicht auf einer Goldoberfläche ist, falls vorhanden, sehr dünn) und in den meisten Umgebungen nicht korrodiert, führte zum weit verbreiteten Einsatz von Gold für Schmuck, Münzen, medizinische Implantate und mikroelektronische Bauteile. Pourbaix-Diagramme weisen die thermodynamisch stabilen Spezies in einer Lösung bei einer beliebigen Kombination aus angelegter Spannung und pH-Wert der Lösung aus. Abbildung 5 zeigt ein berechnetes Pourbaix-Diagramm^[53] für Gold in wässriger Lösung bei Abwesenheit von komplexierenden Substanzen. Das Diagramm verdeutlicht, dass ohne angelegte elektrische Spannung Gold über den gesamten Bereich der Wasserstabilität (die Fläche zwischen den gestrichelten Linien) inert gegen Korrosion ist. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen die Grenzbereiche für die angegebenen thermodynamisch stabilen, festen Spezies für die jeweilige Kombination aus angelegtem Potential und pH-Wert der Lösung.

Die Gegenwart einer geringen Menge an Chloridionen in Lösung lässt einen Potential/pH-Bereich entstehen, in dem die Bildung von wasserlöslichen Chlorogoldkomplexen begünstigt ist.^[54] Das Vorliegen von Komplexbildnern wie Chloridionen kann für Gold in wässriger Lösung das Pour-

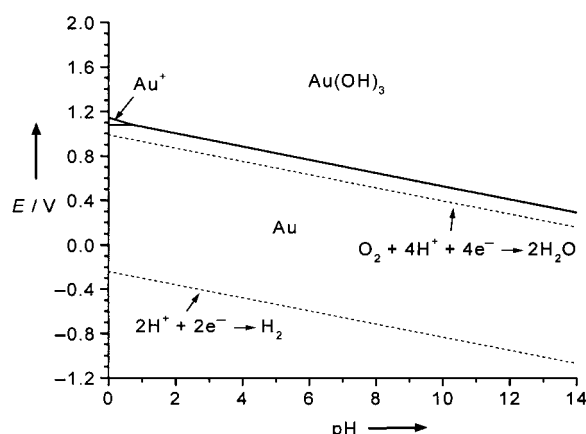


Abbildung 5. Pourbaix-Diagramm für das Gold/Wasser-System ohne komplexierende Substanzen wie Chloridionen (angelegtes Potential E relativ zu einer gesättigten Kalomelektrode (SCE)).

baix-Diagramm verändern (Abbildung 6a). Die Thermodynamik ist jedoch nicht allein entscheidend. Es ist daneben auch wichtig, die Kinetik der Bildung von Chlorogoldkomplexen zu berücksichtigen. Evans-Diagramme beschreiben die Korrosionskinetik und zeigen, wie sich die Korrosionsgeschwindigkeit (dargestellt als Stromdichte) mit dem angelegten Potential ändert. Im potentiodynamischen Evans-Diagramm für Gold in einer 0.145 M Natriumchloridlösung steigt die Stromdichte, die mit der Bildung von Tetrachloraurat(III) korrespondiert, bei einem angelegten Potential an,

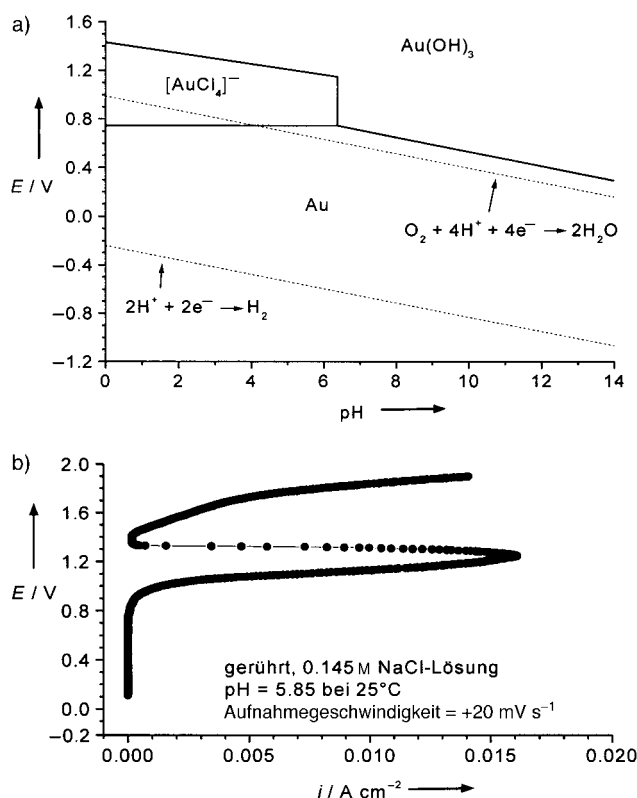


Abbildung 6. a) Pourbaix-Diagramm eines Gold/Chlorid/Wasser-Systems mit einer Chloridionenkonzentration von 0.145 M. b) Potentiodynamisch erhaltenes Evans-Diagramm desselben Gold/Chlorid/Wasser-System. Dieses Diagramm beschreibt die Kinetik der Goldkorrosionsreaktion in einer Chloridionen enthaltenden Lösung.

das etwas über dessen thermodynamischem Grenzpotential von etwa +0.75 V (gegen SCE) liegt (Abbildung 6b). Die Korrosion von Gold unter Bildung von Chlorogold(III)-Komplexen ist thermodynamisch und kinetisch begünstigt und hat eine merkliche Geschwindigkeit bei Potentialen oberhalb von +1.0 V (gegen SCE). Sie verläuft rasch (typischerweise 10–20 s für eine 0.1–0.3 µm dicke Membran bei +1.04 V gegen SCE) und ist eindeutig in der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme von Abbildung 7 zu erkennen.

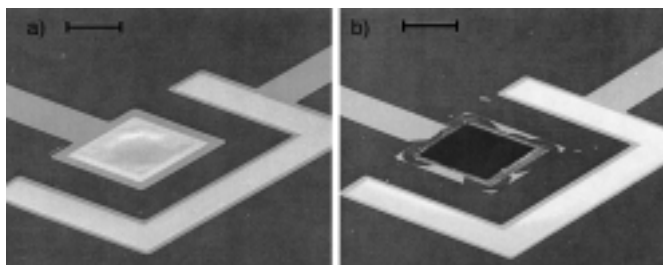


Abbildung 7. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Goldanodenmembran, die ein Reservoir abdeckt, in einer phosphatgepufferten gesättigten Kochsalzlösung (PBS) a) vor und b) nach dem mehrere Sekunden dauernden Anlegen einer Spannung von +1.04 V (relativ zur SCE). Balkenlänge: 50 µm.

Neben den günstigen elektrochemischen Eigenschaften war die Biokompatibilität von Gold ein Grund, dieses Metall als Modellmembranmaterial für die Experimente auszuwählen, die das Funktionieren unseres Ansatzes grundsätzlich beweisen sollten. Seit vielen Jahren wurden Gold und seine ionischen Verbindungen wegen ihres extensiven Einsatzes in der Zahnheilkunde, für den transdermalen Gentransport und in Medikamenten gegen rheumatische Arthritis untersucht.^[55] Typische kumulierte Dosen an Gold(I)-Salzen bei der Behandlung von rheumatischer Arthritis liegen im Milligramm- bis Grammbereich. Dabei treten die häufigsten Nebenwirkungen (verschiedene Formen der Dermatitis) nur selten bei Patienten auf, deren kumulierte Dosis weniger als 250 mg beträgt.^[55] Die lokalen Wirkungen von Gold(III)-Verbindungen wurden weniger intensiv untersucht. Einige In-vitro-Daten sind bekannt,^[56] aber nur wenige Studien haben sich mit den lokalen Wirkungen von Gold(III) in vivo befasst. Die Menge an Gold(III), die als Folge der Öffnung eines Reservoirs lokal freigesetzt wird, ist gering (ungefähr 2–6 ng), und die Diffusion sowie die Ausscheidungskinetik von Gold(III), die die lokale Konzentration beeinflussen, werden durch den Ort der Implantation mitbestimmt.

4.4. Herstellung

Mikrochips zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien werden mit Standardverfahren der Mikroelektronik wie Gasphasenabscheidung (CVD), Photolithographie und Plasmaätzen erhalten. Die Einzelheiten der Herstellung der Mikrochip-Prototypen können der Literatur entnommen werden.^[57]

4.5. Grundsätzlicher Funktionsnachweis anhand von Freisetzungsstudien

Die Freisetzungsstudien zum grundsätzlichen Funktionsnachweis sollten zeigen, ob Chemikalien in Mikrochips gelagert und bei Bedarf aus ihnen freigesetzt werden können. Die eingesetzten Modellchemikalien wurden im Wesentlichen anhand zweier Kriterien ausgewählt. Das erste Kriterium war die minimale Konzentration dieser Chemikalie, die verlässlich nachgewiesen werden kann (d.h. die Nachweisgrenze). Wir wollten Konzentrationen im Bereich von 1 nM nachweisen können. Das zweite Kriterium war die einfache Anwendung einer bestimmten Nachweismethode. Wir bevorzugten eine Methode, die es uns ermöglichte, mit minimaler Probenvorbereitung auszukommen. Dies erleichterte die Durchführung der Studien und verringerte die Gefahr von Fehlern als Folge einer komplizierten Probenvorbereitung. Die beiden Chemikalien, für die wir uns entschieden, waren der Fluoreszenzfarbstoff Fluorescein-Natrium und radioaktives ⁴⁵CaCl₂.

Die Befüllung der Reservoirs (von der Rückseite des Mikrochips) erfolgte durch Tintenstrahldrucken oder Mikroinjizieren einer Flüssigkeit oder eines Gels, die die freizusetzenden Chemikalien enthielten. Dabei wurde normalerweise jedes Reservoir eines Mikrochips mit demselben Flüssigkeits- oder Gelvolumen gefüllt. Für die In-vitro-Untersuchungen wurden die offenen Enden der befüllten Reservoirs mit einer dünnen Kunststoff-Folie bedeckt und dann mit einem wasser- und lösungsmitteldurchlässigen Epoxidharz versiegelt. Für Einzelheiten der Herstellung und Vorbereitung der Mikrochips sei auf die Literatur verwiesen.^[57]

Die Mikrochips, die mit einer der Modellsubstanzen – oder auch mit beiden – gefüllt waren, wurden versiegelt, gepackt und mit oder ohne Zusatz von Phosphatpuffer in 100 mL einer gesättigten Kochsalzlösung gegeben. Eine gesättigte Kalomelbezugselektrode (SCE) wurde in der Lösung nahe dem Mikrochip platziert, um die Anode auf ein bestimmtes Potential einstellen zu können. Um die Freisetzung aus einem Reservoir auszulösen, wurde ein Potential von +1.04 V (gegen SCE) bis zu 30 s an der zugehörigen Anode angelegt. Wenige Minuten, nachdem das Potential an der Anode angelegt worden war, konnte die Freisetzung der Chemikalien nachgewiesen werden, und innerhalb von 30 min waren normalerweise 70 % der Chemikalien abgegeben. Die vollständige Freisetzung konnte unter diesen Versuchsbedingungen jedoch einige Stunden in Anspruch nehmen. Die Freisetzungsgeschwindigkeit kann durch Faktoren wie die Geschwindigkeit, mit der sich die Chemikalie im Reservoir löst, und die, mit der sie aus dem Reservoir diffundiert, beeinflusst werden. Abbildung 8 belegt, dass eine einzelne Chemikalie in einem Mikrochip gelagert und bei Bedarf aus ihm freigesetzt werden kann.

In ähnlicher Weise sollten mehrere Chemikalien aus einem einzigen System freigesetzt werden. Abbildung 9 zeigt das Ergebnis für einen Mikrochip-Prototyp, der mit beiden Modellchemikalien befüllt worden war. Damit wurde zum ersten Mal bewiesen, dass mehrere Chemikalien in einem Mikrochip gelagert und aus ihm bei Bedarf unabhängig von

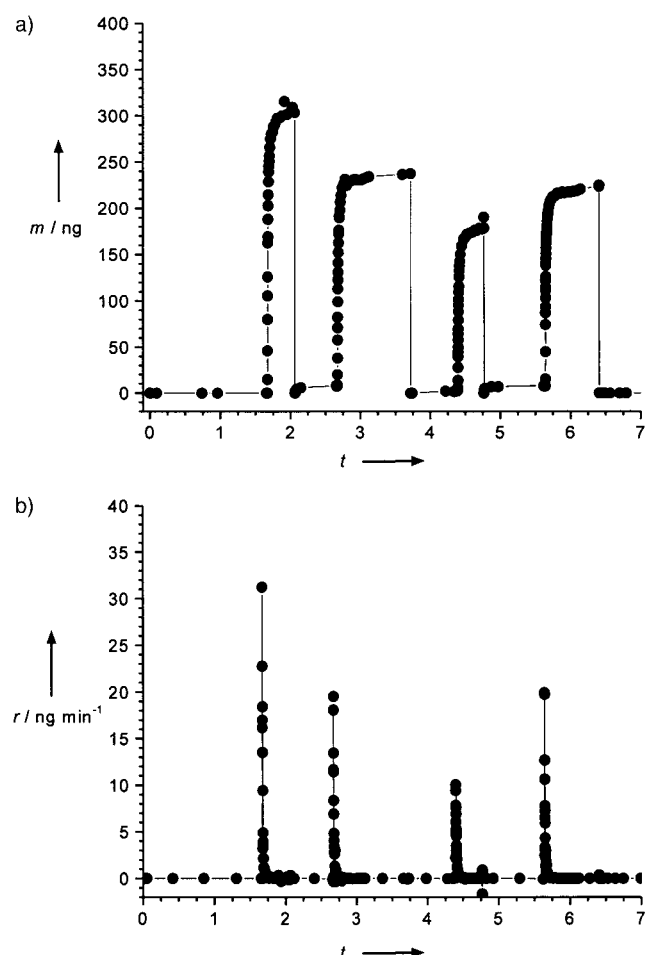


Abbildung 8. Pulsierende Abgabe einer einzelnen Substanz (Fluorescein-Natrium) aus vier identisch beladenen Reservoirs eines Mikrochips in PBS. a) Freigesetzte Masse m , b) Freisetzungsgeschwindigkeit r als Funktion der Zeit t (in Tagen). Der Wert von m in (a) wurde nach jedem Freisetzungsvorgang durch Austausch des Freisetzungsmediums gegen eine frische Lösung auf Null zurückgeführt.

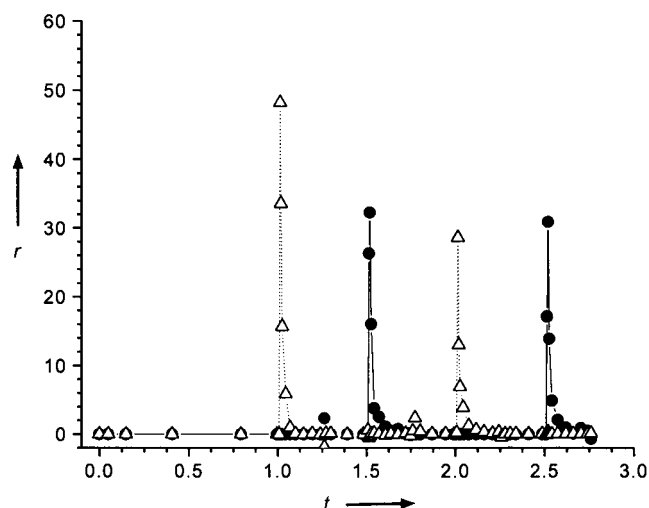


Abbildung 9. Pulsierende Abgabe mehrerer Substanzen (Fluorescein-Natrium und ⁴⁵Ca²⁺) aus einem Mikrochip-Prototypen in einer 0.145M Natriumchloridlösung. Die Freisetzungsgeschwindigkeit r von Fluorescein-Natrium (●) ist in ng min⁻¹ und die von ⁴⁵Ca²⁺ (Δ) in 5 nC min⁻¹ angegeben.

einander freigesetzt werden können. Diese Befunde belegen die grundsätzliche Eignung von Mikrochips als chemische Verabreichungssysteme.

4.6. Mögliche Vorteile

Der Mikrochip zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien hat eine Reihe von potentiellen Vorteilen, von denen einige seinem einzigartigen Design entspringen und andere mit Merkmalen in Verbindung stehen, die für die meisten Mikrosysteme gelten (die geringe Größe). Sie werden im Folgenden beschrieben.

4.6.1. Freizusetzende Chemikalien

Mehrere Chemikalien können in einem Mikrochip gelagert und aus ihm freigesetzt werden. Jedes Reservoir kann mit einer anderen Chemikalie oder Chemikalienkombination gefüllt werden. Chemikalien in jeglicher Form (fest, flüssig oder gelförmig) können verabreicht werden. Mikrofließsysteme wie Pumpen eignen sich dagegen nur für die Freisetzung von Flüssigkeiten. Die Reservoirs werden durch eine dünne Membran abgedeckt, die bei Bedarf aufgelöst wird. Die Form der Chemikalie oder des Wirkstoffs im Reservoir und die An- oder Abwesenheit von anderen Materialien wie Polymermatrices oder Füllstoffen haben wenig oder überhaupt keinen Einfluss auf das elektrochemische Verhalten der Membran. Daher haben derartige Mikrochips das Potential einer hohen Flexibilität hinsichtlich der Chemikaliertypen, die gelagert und freigesetzt werden können.

4.6.2. Einfachheit des Freisetzungsmechanismus

Der Mikrochip hat keine beweglichen Teile. Eine dünne Membran deckt jedes der Reservoirs ab, die mit einer oder mehreren Chemikalien gefüllt sind. Deren Freisetzung wird durch das Auflösen der Membran initiiert. Dazu wird ein elektrisches Potential angelegt, das bewirkt, dass sich die Membran als Folge einer einfachen elektrochemischen Reaktion auflöst. Das Fehlen von beweglichen Teilen erhöht potentiell die Zuverlässigkeit des Systems, da die Wahrscheinlichkeit eines mechanischen Defekts vermindert wird.

4.6.3. Exaktheit

Eine Vielfalt an hoch aktiven Wirkstoffen kann wahrscheinlich mit Hilfe eines Mikrochips sicher verabreicht werden. Es ist wichtig, dass die Menge einer Substanz, die einem Patienten verabreicht wird, mit der vorgeschriebenen Menge übereinstimmt. Dies gilt insbesondere für hoch aktive Substanzen. Es ist aber schwierig, kleine Mengen eines Wirkstoffs für den Einbau in herkömmliche Verabreichungsformen wie gepresste Tabletten exakt abzumessen. Dies kann zu großen Unsicherheiten hinsichtlich der Gesamtmenge an Wirkstoff in einer Tablette führen. Dagegen kann jedes Reservoir eines Mikrochips durch Mikroinjektion oder Tintenstrahldrucken exakt mit einer kleinen Menge eines Wirk-

stoffs befüllt werden. Dieser Dosierungsansatz wurde bei der Herstellung von Verabreichungssystemen durch dreidimensionales Prägen bereits gezeigt.^[58] Die Menge an Wirkstoff, die durch einen mit Hilfe dieser Drucktechniken befüllten Mikrochip verabreicht wird, kann sehr eng eingestellt werden. Eine ungewollte Überdosierung ist unwahrscheinlich, da die Abgabe aus dem aktiven System nur dann erfolgen kann, wenn ein elektrisches Potential am Reservoir angelegt wurde. Größere Dosen können dadurch verabreicht werden, dass einfach mehrere Reservoirs gleichzeitig geöffnet werden.

4.6.4. Komplexe Freisetzungsmuster

Mit einem Mikrochip können auch komplexe Freisetzungsmuster verwirklicht werden (z. B. gleichzeitige konstante und pulsierende Freisetzung). Jedes komplizierte Freisetzungsmuster kann in eine Kombination aus zwei Parametern zerlegt werden: Freisetzeitpunkt und Freisetzungsgeschwindigkeit. Ein einzigartiges Merkmal des von uns entwickelten Mikrochips ist die Fähigkeit, diese beiden Parameter zu kontrollieren.

Der Zeitpunkt, an dem die Freisetzung aus einem Reservoir beginnt, wird durch den Zeitpunkt bestimmt, an dem die das Reservoir abdeckende Anodenmembran beseitigt wird. Die spontane Freisetzung aus einem Reservoir kann nicht geschehen, solange die Anodenmembranmaterial stabil gegen die Elektrolytlösung ist. Aus diesem Grund wird ein Anodenmaterial ausgewählt, das erst aufgelöst wird, wenn das korrekte elektrische Potential angelegt worden ist. Durch Verwendung von Demultiplexern kann jeder Anodenmembran eine eigene Leiterbahn zur Energiequelle zur Verfügung gestellt werden. Damit ist jedes Reservoir (oder eine Gruppe von Reservoirs) „unabhängig adressierbar“, so dass an jede Kombination von Reservoirs zu jedem beliebigen Zeitpunkt ein elektrisches Potential angelegt werden kann. Die Einbeziehung von vorprogrammierten Mikroprozessoren, Fernsteuerungen oder Biosensoren sollte eine sehr genaue Einstellung des Zeitpunkts ermöglichen, zu dem eine Membran entfernt wird und die Freisetzung der Chemikalie beginnt.

Die Geschwindigkeit der Freisetzung aus einem Reservoir ist eine Funktion entweder der Geschwindigkeit, mit der sich das Material im Reservoir auflöst, oder der Geschwindigkeit, mit der das Material aus dem Reservoir herausdiffundiert, – oder auch beider Geschwindigkeiten. Die Geschwindigkeit der Freisetzung aus einem individuellen Reservoir kann daher über das Material, das in das Reservoir gegeben wird (z. B. reiner Wirkstoff, Wirkstoff(e) mit Polymer), an eine bestimmte Anwendung angepasst werden. So lässt sich eine pulsierende Freisetzung dadurch erreichen, dass ein Material in das Reservoir gegeben wird, das sich rasch auflöst, sobald sich das Reservoir öffnet. Eine kontinuierliche Freisetzung wiederum resultiert, wenn ein Material in das Reservoir gegeben wird, das sich nach der Reservoiröffnung entweder nur langsam oder überhaupt nicht auflöst; im zweiten Fall muss aber der Wirkstoff mit bekannter Geschwindigkeit aus diesem Material diffundieren.

4.6.5. Möglichkeiten im Hinblick auf eine lokale Freisetzung

Der Mikrochip kann so klein gemacht werden, dass eine lokale Freisetzung von Chemikalien möglich wird. Ein Vorteil der lokalen Verabreichung eines Wirkstoffs ist, dass an dem Ort, an dem er gebraucht wird, hohe Konzentrationen erreicht werden können, während die systemische Konzentration niedrig bleibt. Das ist vor allem bei Wirkstoffen hilfreich, die schwerwiegende Nebenwirkungen haben, sofern sie systemisch in hohen Dosen verabreicht werden. BCNU (Carmustin) wird beispielsweise bei der Behandlung maligner Gehirntumore extensiv eingesetzt.^[59] Um am Ort des Tumors im Gehirn die minimale wirksame Konzentration an BCNU zu erreichen, müssen systemisch große Mengen verabreicht werden. Das ist vor allem eine Folge der Undurchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke für die meisten Wirkstoffe. Diese hohen systemischen Konzentrationen an BCNU verursachen viele schwerwiegende Nebenwirkungen in der Leber, den Nieren und der Milz. Die Implantation von mit BCNU beladenen Polymerscheiben am Ort des Tumors (nach dessen Entfernung) bewirkt lokale BCNU-Konzentrationen, die tausend Mal höher sind, als bei einer systemischen Verabreichung möglich wäre. Dabei bleibt die systemische BCNU-Konzentration verhältnismäßig niedrig, was eine erhebliche Verminderung der normalerweise mit BCNU verbundenen Nebenwirkungen zur Folge hat. Diese Therapie verlängert das Leben der Patienten signifikant und verbessert deren Lebensqualität während der Behandlung bedeutend. Sie ist daher ein gutes Beispiel für die Vorteile der lokalen Verabreichung von Wirkstoffen.

4.6.6. Erhöhung der Stabilität

Einige neue, auf Proteinen basierende Wirkstoffe sind nur begrenzt stabil (d. h. lagerfähig). Eine der häufigsten Ursachen der Instabilität ist, dass Wasser in die Formulierung eindringt.^[60] Die das befüllte Reservoir eines Mikrochips abdeckende Membran verhindert das Eindringen von Wasser. Die Stabilität von Proteinmedikamenten wird daher bei dieser Verabreichungsform theoretisch aus zwei Gründen erhöht: Die Wirkstoffe werden von der äußeren Umgebung isoliert (hermetisch versiegelt), und sie können im Mikrochip in ihrer stabilsten Form (d. h. fest, flüssig oder gelförmig) gelagert werden.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Zwischen den Mikrochips in Computern und chemischen Mikrochips besteht eine unmittelbare Analogie. Computermikrochips zerlegen jede komplexe Operation in eine Reihe einfacher binärer Symbole – Nullen und Einsen. Chemische Mikrochips sind in dem Sinn analog, dass sie jedes komplexe Freisetzungsmuster in eine Reihe kleiner, einfacher Untereinheiten zerlegen. Die kleine Untereinheit ist hier ein Reservoir, das entweder geschlossen (0) oder geöffnet (1) ist. Jedes komplexe Freisetzungsprofil (kontinuierlich, pulsierend oder beides) kann durch das präzise gesteuerte Leeren

einer Reihe einzelner Reservoirs angenähert werden. Abbildung 10a zeigt ein Freisetzungsprofil, wie es mit einem herkömmlichen Polymerimplantat als Wirkstofflieferant erhalten wird, das eine kontinuierliche, nahezu konstante Freisetzung ermöglichen soll. Typisch sind eine anfänglich

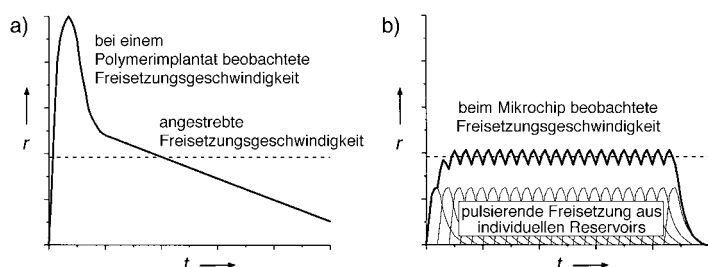


Abbildung 10. a) Freisetzungsprofil eines typischen kontinuierlich freisetzenen Polymers. b) Ein Beispiel dafür, wie ein kontinuierliches Freisetzungsprofil durch die präzise gesteuerte Abgabe von Chemikalienportionen von einem Mikrochip angenähert werden kann.

„explosionsartige“ Abgabe des Wirkstoffs und eine Abnahme der Freisetzungsgeschwindigkeit in dem Maße, in dem das System an Wirkstoff verarmt. Mikrochips können nicht nur für die pulsierende Freisetzung genutzt werden, die in den Abbildungen 8 und 9 dargestellt ist; Abbildung 10b gibt ein Beispiel dafür, wie man mit ihrer Hilfe das Profil einer kontinuierlichen Freisetzung simulieren kann, indem präzise bestimmte Portionen einer Chemikalie nacheinander freigesetzt werden. Wir haben dafür den Begriff „Digitalisierung“ der Freisetzung von Chemikalien (digitization of chemical release) geprägt.

Die erste Demonstration der Lagerung mehrerer chemischer Substanzen in einem Mikrochip und ihrer Freisetzung daraus,^[57] die hier nochmals präsentiert wurde, bestätigt die Möglichkeit, die Freisetzung von Chemikalien zu digitalisieren. Wendet man dieses neue Konzept auf die kontrollierte Freisetzung von Wirkstoffen an, so könnte dies – gemeinsam mit weiteren Untersuchungen – ein wichtiger Schritt hin zur Entwicklung einer „Apotheke-auf-dem-Chip“ und anderer „intelligenter“ Systeme zur Medikamentenverabreichung sein. Zu den Gebieten außerhalb der Wirkstofffreisetzung, auf denen diese Technik ebenfalls verwendet werden könnte, zählen die medizinische Diagnostik, die Analytische Chemie, die chemische Detektion, die Überwachung und Steuerung industrieller Prozesse, die Kombinatorische Chemie, die Mikrobiologie und die Freisetzung von Duftstoffen.

Der nächste Schritt bei der Entwicklung von Mikrochips zur kontrollierten Freisetzung von Chemikalien wird die Integration aktiver Komponenten in den Mikrochip sein. Eine Batterie, eine Uhr und möglicherweise eine Referenzelektrode müssen mit dem Mikrochip zu einer Implantateinheit verbunden werden. Viele der dazu notwendigen Techniken existieren bereits in anderen Bereichen. Herzschrittmacher sind beispielsweise hoch entwickelte Systeme mit Funktionen zur Energieversorgung und Steuerung, die auf den Mikrochip zur kontrollierten Freisetzung von Wirkstoffen übertragen werden könnten. Weitere aktive Komponenten könnten Signalempfänger für die Fernsteuerung der

Wirkstoffabgabe und Biosensoren für eine autonome, selbstregulierende Funktionsweise sein.

Eine logische Weiterführung dieser Arbeiten ist die Entwicklung von passiven Polymermikrochips. Der Begriff „passiver Mikrochip“ steht für ein System, das keine Elektronik, Energieversorgung oder Mikroprozessoren enthält. Der passive Mikrochip hat insofern Gemeinsamkeiten mit dem in dieser Übersicht vorgestellten Mikrochip, als das Grundmaterial ebenfalls zahlreiche Reservoirs enthält, die entweder mit einem oder mehreren Wirkstoffen oder mit Matrixmaterialien, die typischerweise aus einem Polymer und dem Wirkstoff bestehen, gefüllt sind. Ein Reservoir ist durch eine Schicht oder einen „Deckel“ aus einem abbaubaren Material oder durch einen Deckel aus einem nichtabbaubaren Material mit bekannter Durchlässigkeit für den Wirkstoff abgedeckt, oder es ist unverschlossen. Freisetzeitpunkt und -geschwindigkeit werden durch die Geschwindigkeit, mit der der Deckel oder das Matrixmaterial abgebaut wird oder der Wirkstoff durch den Deckel oder aus der Matrix diffundiert, bestimmt. Beide Parameter können durch Variation der Zusammensetzung oder der Dicke der Deckel oder auch durch Variation der Formulierung des Wirkstoffs oder des Matrixmaterials in den Reservoirs beeinflusst werden. Diese Art von Mikrochips könnte den weiteren Vorteil haben, vollständig bioabbaubar zu sein, so dass passive Mikrochipimplantate zur Medikamentenverabreichung nicht entfernt werden müssten.

Wir danken Achim Göpferich, Mateos Llabres und Lenny Rignore für ihre Beiträge in der frühen Phase des Projektes, Nishla Keiser und Allie Lin für ihre Hilfe bei den Korrosions- und Freisetzungsstudien, William Rowe, Wendy Katstra und Patrick Teung für ihre Mitarbeit bei der Literaturrecherche und Jörg Lahann für die Übersetzung ins Deutsche. Wir möchten weiterhin den National Institutes of Health für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Projekts Nr. 1 R24 AI47739-01 und der National Science Foundation für Doktorandenstipendien für John, Amy und Rebecca danken. Alle Mikrofabrikationsarbeiten wurden im Microsystems Technology Laboratory des MIT durchgeführt. Die Genehmigung zur Übernahme der Abbildungen 2, 7, 8 und 9 aus Nature 1999, 397, 335–338, liegt vor.

Eingegangen am 3. Dezember 1999 [A 372]
Übersetzt von Dr. Jörg Lahann, Cambridge

- [1] a) L. Brannon-Peppas, *ACS Symp. Ser.* **1993**, 520, 42–52; b) R. Levy, M. A. Nichols, T. W. Miller, Jr., *ACS Symp. Ser.* **1993**, 520, 202–212.
- [2] R. Langer, *Nature* **1998**, 392 (suppl.), 5–10.
- [3] E. E. Bakken, K. Heruth, *Ann. NY Acad. Sci.* **1991**, 618, 422–427.
- [4] R. Langer, *Science* **1990**, 249, 1527–1533; K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, K. M. Shakesheff, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 3181–3198.
- [5] *Physicians' Desk Reference* (Hrsg.: R. Arky), Medical Economics Company, Montvale, NJ, USA, **1998**, S. 2587–2589.
- [6] *Physicians' Desk Reference* (Hrsg.: R. Arky), Medical Economics Company, Montvale, NJ, USA, **1998**, S. 3139–3150.
- [7] a) L. R. Brown, R. Langer, *Annu. Rev. Med.* **1988**, 39, 221–229; b) P. Sinko, J. Kohn, *ACS Symp. Ser.* **1993**, 520, 18–41.
- [8] a) D. Levy, J. Kost, Y. Meshulam, R. Langer, *J. Clin. Invest.* **1989**, 83, 2074–2078; b) S. Mitragotri, D. Blankshtein, R. Langer, *Science* **1995**, 269, 850–853.

- [9] D. R. Matthews, D. A. Lang, M. A. Burnett, R. C. Turner, *Diabetologia* **1983**, 24, 231–237.
- [10] a) R. L. Reid, R. Fretts, D. A. Van Vugt, *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1988**, 158, 176–185; b) M. C. Gelato, G. R. Merriam, *Annu. Rev. Physiol.* **1986**, 48, 569–591.
- [11] J. A. Kuret, F. Murad in *Goodman and Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics* (Hrsg.: A. G. Gilman, T. W. Rall, A. S. Nies, P. Taylor), 8. Aufl., Pergamon, New York, **1990**, S. 1334–1360.
- [12] J. Kost, R. Langer, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1991**, 6, 19–50.
- [13] a) I. C. Kwon, Y. H. Bae, S. W. Kim, *Nature* **1991**, 354, 291–293; b) Y. H. Bae, I. C. Kwon, S. W. Kim in *Polymeric Drugs and Drug Administration* (Hrsg.: R. M. Ottenbrite), American Chemical Society, Washington, DC, USA, **1994**, S. 98–110; c) L. L. Miller, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1998**, 160, 297–301; d) M. Hepel, Z. Fijalek in *Polymeric Drugs and Drug Administration* (Hrsg.: R. M. Ottenbrite), American Chemical Society, Washington, DC, USA, **1994**, S. 79–97; e) S. F. Schwendeman, G. L. Amidon, R. J. Levy, *Macromolecules* **1993**, 26, 2264–2272.
- [14] a) E. R. Edelman, J. Kost, H. Bobeck, R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.* **1985**, 19, 67–83; b) J. Kost, R. Langer in *Pulsed and Self-Regulated Drug Delivery* (Hrsg.: J. Kost), CRC Press, Boca Raton, FL, USA, **1990**, S. 3–16.
- [15] J. Kost, K. Leong, R. Langer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, 86, 7663–7666.
- [16] E. Mathiowitz, M. D. Cohen, *J. Membr. Sci.* **1989**, 40, 67–86.
- [17] F. Fischel-Ghodsian, L. Brown, E. Mathiowitz, D. Brandenburg, R. Langer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, 85, 2403–2406.
- [18] a) R. A. Siegel, M. Falamarzian, B. A. Firestone, B. C. Moxley, *J. Controlled Release* **1988**, 8, 179–182; b) J. H. Kim, J. Y. Kim, Y. M. Lee, K. Y. Kim, *J. Appl. Polym. Sci.* **1992**, 44, 1823–1828; c) A. Gutowska, J. S. Bark, I. C. Kwon, Y. H. Bae, Y. Cha, S. W. Kim, *J. Controlled Release* **1997**, 48, 141–148.
- [19] a) Y. H. Bae, T. Okano, R. Hsu, S. W. Kim, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1987**, 8, 481–485; b) A. S. Hoffman, A. Afrassiabi, L. C. Dong, *J. Controlled Release* **1986**, 4, 213–222; c) T. Okano, Y. H. Bae, S. W. Kim in *Pulsed and Self-Regulated Drug Delivery* (Hrsg.: J. Kost), CRC Press, Boca Raton, FL, USA, **1990**, S. 17–45.
- [20] Y. Suzuki, M. Tanihara, Y. Nishimura, K. Suzuki, Y. Kakimaru, Y. Shimizu, *J. Appl. Biomater.* **1998**, 42(1), 112–116.
- [21] a) T. Chen, R. Langer, J. C. Weaver, *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* **1998**, 3, 159–165; b) M. R. Prausnitz, V. G. Bose, R. Langer, J. C. Weaver, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 10504–10508; c) V. Merino, Y. N. Kalia, R. H. Guy, *Trends Biotechnol.* **1997**, 15, 288–290; d) J. M. Hill, L. P. Gangarossa, N. H. Park, *Ann. NY Acad. Sci.* **1977**, 284, 604–612.
- [22] J. Kost, R. Langer, *Trends Biotechnol.* **1992**, 10, 127–131.
- [23] J. Kost, J. Wolfrum, R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.* **1987**, 21, 1367–1373.
- [24] a) W. E. Katstra, R. D. Palazzolo, C. W. Rowe, B. Giritlioglu, P. Teung, M. J. Cima, *J. Control. Rel.*, im Druck; b) C. W. Rowe, W. E. Katstra, R. D. Palazzolo, B. Giritlioglu, P. Teung, M. J. Cima, *J. Control. Rel.*, im Druck.
- [25] a) N. Santoro, *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1990**, 163, 1759–1764; b) G. W. Creasy, M. E. Jaffe, *Ann. NY Acad. Sci.* **1991**, 618, 548–557; c) G. W. Creasy, M. E. Jaffe, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1991**, 6, 51–56.
- [26] a) *Neurological Applications of Implanted Drug Pumps, Vol. 531* (Hrsg.: R. D. Penn), New York Academy of Science, New York, **1988**; b) G. Koning, F. Feith in Lit. [26a], S. 49–56; c) J. Johnston, S. Reich, A. Bailey, J. Sluetz in Lit. [26a], S. 57–65; d) P. Lord, H. Allami, M. Davis, R. Diaz, P. Heck, R. Fischell in Lit. [26a], S. 66–71; e) K. T. Heruth in Lit. [26a], S. 72–75.
- [27] a) M. Madou, *Fundamentals of Microfabrication*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, **1997**, S. 1–323; b) „Process Technology“: S. Wolf, R. N. Tauber, *Silicon Processing for the VLSI Era, Vol. 1*, Lattice Press, Sunset Beach, **1986**, S. 124–585; c) R. C. Jaeger in *Introduction to Microelectronic Fabrication (Modular Series on Solid State Devices, Vol. 5)* (Hrsg.: G. W. Neudeck, R. F. Pierret), Addison-Wesley, Reading, **1993**, S. 1–131; d) R. J. Jackman, S. T. Brittain, A. Adams, M. G. Prentiss, G. M. Whitesides, *Science* **1998**, 280, 2089–2091; e) Y. Xia, E. Kim, X.-M. Zhao, J. A. Rogers, M. Prentiss, G. M. Whitesides, *Science* **1996**, 273, 347–349; f) Y. Xia, J. J. McClelland, R. Gupta, D. Qin, X.-M. Zhao, L. L. Sohn, R. J. Celotta, G. M. Whitesides, *Adv. Mater.* **1997**, 9, 147–149.
- [28] a) L. Yan, X.-M. Zhao, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 6179–6180; b) Y. Xia, D. Qin, G. M. Whitesides, *Adv. Mater.* **1996**, 8, 1015–1017; c) C. Marzolin, A. Terfort, J. Tien, G. M. Whitesides, *Thin Solid Films* **1998**, 315, 9–12; d) Y. Xia, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 568–594; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, 37, 550–575.
- [29] E. Bassous, H. H. Taub, L. Kuhn, *Appl. Phys. Lett.* **1977**, 31, 135–137.
- [30] a) M. Madou, *Fundamentals of Microfabrication*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, **1997**, S. 459–468; b) L. M. Roylance, J. B. Angell, *IEEE Trans. Electron Devices* **1979**, 26, 1911–1917.
- [31] a) K. F. Jensen, *AIChE J.* **1999**, 45, 2051–2054; b) S. H. DeWitt, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, 3, 350–356; c) W. Ehrfeld, V. Hessel, H. Lehr in *Microsystem Technology in Chemistry and Life Science* (Hrsg.: A. Manz, H. Becker), Springer, Berlin, **1998**, S. 233–252.
- [32] a) A. H. Epstein, S. D. Senturia, *Science* **1997**, 276, 1211; b) A. H. Epstein, S. D. Senturia, O. Al-Midani, G. Anathasuresh, A. Ayon, K. Breuer, K. S. Chen, F. F. Ehrlich, E. Esteve, L. Frechette, G. Gauba, R. Ghodssi, C. Groshenry, S. A. Jacobson, J. L. Kerrebrock, J. H. Lang, C. C. Lin, A. London, J. Lopata, A. Mehra, J. O. Mur Miranda, S. Nagle, D. J. Orr, E. Piekos, M. A. Schmidt, G. Shirley, S. M. Spearing, C. S. Tan, Y. S. Tzeng, I. A. Waitz in *28th AIAA Fluid Dynamics Conference, 4th AIAA Shear Flow Control Conference*, American Institute of Aeronautics and Astronautics, Snowmass Village, **1997**.
- [33] a) M. Freemantle, *Chem. Eng. News* **1999**, 77(8), 27–36; b) R. F. Service, *Science* **1998**, 282, 399–401; c) G. Blankenstein, U. D. Larsen, *Biosens. Bioelectron.* **1998**, 13, 427–438; d) S. Borman, *Chem. Eng. News* **1996**, 74(50), 42–43; e) S. Latta, *The Scientist* **1997**, 11(18), 1; f) *Micro Total Analysis Systems '98* (Hrsg.: D. J. Harrison, A. van den Berg), Kluwer, Dordrecht, **1998**.
- [34] a) P. Gravesen, J. Branebjerg, O. S. Jensen, *J. Micromech. Microeng.* **1993**, 3, 168–182; b) S. Shoji, M. Esashi, *J. Micromech. Microeng.* **1994**, 4, 157–171.
- [35] a) J. G. Smits, *Sens. Actuators A* **1990**, 21–23, 203–206; b) W. K. Schomburg, J. Fahrenberg, D. Maas, R. Rapp, *J. Micromech. Microeng.* **1993**, 3, 216–218; c) T. Bourouina, A. Bossebœuf, J. P. Grandchamp, *J. Micromech. Microeng.* **1997**, 7, 186–188.
- [36] a) G. Fuhr, R. Hagedorn, T. Müller, W. Benecke, B. Wagner, *J. Microelectromech. Syst.* **1992**, 1, 141–146; b) D. J. Harrison, K. Fluri, K. Seiler, Z. Fan, C. S. Effenhauser, A. Manz, *Science* **1993**, 261, 895–897; c) A. Manz, C. S. Effenhauser, N. Burggraf, D. J. Harrison, K. Seiler, K. Fluri, *J. Micromech. Microeng.* **1994**, 4, 257–265.
- [37] C. Vieider, O. Ohman, H. Elderstig, *Abstr. Pap. Dig. Int. Conf. Sensors and Actuators „Transducers '95, Eurosensors IX“* (Stockholm) **1995**, S. 284–286.
- [38] J. Franz, H. Baumann, H. P. Trah, *Abstr. Pap. Dig. Int. Conf. Sensors and Actuators „Transducers '95, Eurosensors IX“* (Stockholm) **1995**, S. 313–316.
- [39] M. Madou, *Fundamentals of Microfabrication*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, **1997**, S. 485–486.
- [40] a) S. Nakagawa, S. Shoji, M. Esashi, *Proc. IEEE Microelectromechanical Systems „MEMS '90“*, IEEE (Napa Valley) **1990**, S. 89–94; b) B. H. van der Schoot, S. Jeanneret, A. van den Berg, N. F. de Rooij, *Sens. Actuators B* **1993**, 13–14, 333–335.
- [41] a) M. A. Burns, C. H. Mastrangelo, T. S. Sammarco, F. P. Man, J. R. Webster, B. N. Johnson, B. Foerster, D. Jones, Y. Fields, A. R. Kaiser, D. T. Burke, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 5556–5561; b) M. A. Burns, B. N. Johnson, S. N. Brahmasandra, K. Handique, J. R. Webster, M. Krishnan, T. S. Sammarco, P. M. Man, D. Jones, D. Heldinger, C. H. Mastrangelo, D. T. Burke, *Science* **1998**, 282, 484–487; c) C. H. Mastrangelo, M. A. Burns, D. T. Burke, *Proc. IEEE* **1998**, 86, 1769–1787; d) A. D. Mirzabov, *Trends Biotechnol.* **1994**, 12, 27–32; e) D. Schmalzing, A. Adourian, L. Koutny, L. Ziaugra, P. Matsudaira, D. Ehrlich, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 2303–2310.
- [42] a) E. Delamarche, A. Bernard, H. Schmid, B. Michel, H. Biebuyck, *Science* **1997**, 276, 779–781; b) E. Delamarche, A. Bernard, H. Schmid, A. Bietsch, B. Michel, H. Biebuyck, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 500–508.
- [43] a) C. S. Effenhauser, G. J. M. Bruin, A. Paulus, M. Ehrat, *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3451–3457; b) D. C. Duffy, J. C. McDonald, O. J. A. Scheufler, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4974–4984.

- [44] C. S. Effenhauser, A. Paulus, A. Manz, H. M. Widmer, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 2949–2953.
- [45] A. T. Woolley, K. Lao, A. N. Glazer, R. A. Mathies, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 684–688.
- [46] A. T. Woolley, D. Hadley, P. Landre, A. J. deMello, R. A. Mathies, M. A. Northrup, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 4081–4086.
- [47] D. J. Ehrlich, P. Matsudaira, *Trends Biotechnol.* **1999**, *17*, 315–319.
- [48] R. M. McCormick, R. J. Nelson, M. G. Alonso-Amigo, D. J. Benvegnu, H. H. Hooper, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2626–2630.
- [49] A. T. Woolley, G. F. Sensabaugh, R. A. Mathies, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2181–2186.
- [50] a) D. J. Harrison, K. Fluri, K. Seiler, Z. Fan, C. S. Effenhauser, A. Manz, *Science* **1993**, *261*, 895–897; b) C. S. Effenhauser, Z. Manz, H. M. Widmer, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 2637–2642; c) S. C. Jacobson, R. Hergenroeder, A. W. Moore, Jr., J. M. Ramsey, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 4127–4132.
- [51] a) C. Gonzalez, S. D. Collins, R. L. Smith, *Proc. SPIE* **1997**, *3224*, 207–215; b) C. Gonzalez, R. L. Smith, D. G. Howitt, S. D. Collins, *Sens. Actuators A* **1998**, *66*, 315–332; c) M. Cohn, K. Böhringer, J. M. Noworolski, A. Singh, C. Keller, K. Goldberg, R. Howe, *Proc. SPIE* **1998**, *3514*, 2–16; d) A. Götz, C. Cané, *Proc. SPIE* **1998**, *3514*, 112–123.
- [52] a) R. F. Service, *Science* **1998**, *282*, 396–399; b) M. Eggers, M. Hogan, R. K. Reich, J. Lamture, D. Ehrlich, M. Hollis, B. Kosicki, T. Powdrill, K. Beattie, S. Smith, R. Varma, R. Gangadharan, A. Mallik, B. Burke, D. Wallace, *Biotechniques* **1994**, *17*, 516–524; c) G. Yershov, V. Barsky, A. Belgovskiy, E. Kirillov, E. Kreindlin, I. Ivanov, S. Parinov, D. Guschin, A. Drobishev, S. Dubiley, A. Mirzabekov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 4913–4918; d) R. C. Anderson, G. McGall, R. J. Lipshutz in *Microsystem Technology in Chemistry and Life Science* (Hrsg.: A. Manz, H. Becker), Springer, Berlin, **1998**, S. 117–130.
- [53] HSC Chemistry Computer Program, Version 3.0, Outokumpu Research.
- [54] R. P. Frankenthal, D. J. Siconolfi, *J. Electrochem. Soc.* **1982**, *129*, 1192–1196.
- [55] a) B. Merchant, *Biologicals* **1998**, *26*, 49–59; b) S. L. Best, P. J. Sadler, *Gold Bull.* **1996**, *29*, 87–93.
- [56] a) C. F. Shaw, *Inorg. Perspect. Biol. Med.* **1979**, *2*, 287–355; b) A. A. Isab, P. J. Sadler, *Biochim. Biophys. Acta* **1977**, *492*, 322–330.
- [57] J. T. Santini, Jr., M. J. Cima, R. Langer, *Nature* **1999**, *397*, 335–338.
- [58] J. Yoo, E. Bornancini, D. Yang, G. Shanahan, D. Monkhouse, *Pharm. Res. Suppl.* **1997**, *14*, S-90.
- [59] P. Sampath, H. Brem, *Cancer Control JMMC* **1998**, *5*, 130–137.
- [60] a) J. L. Cleland, R. Langer, *ACS Symp. Ser.* **1994**, *567*, 1–21; b) S. D. Putney, P. A. Burke, *Nat. Biotechnol.* **1998**, *16*, 153–157.