

Wirkstofftransport mit weicher Materie: Matrix- und Vesikelvektoren

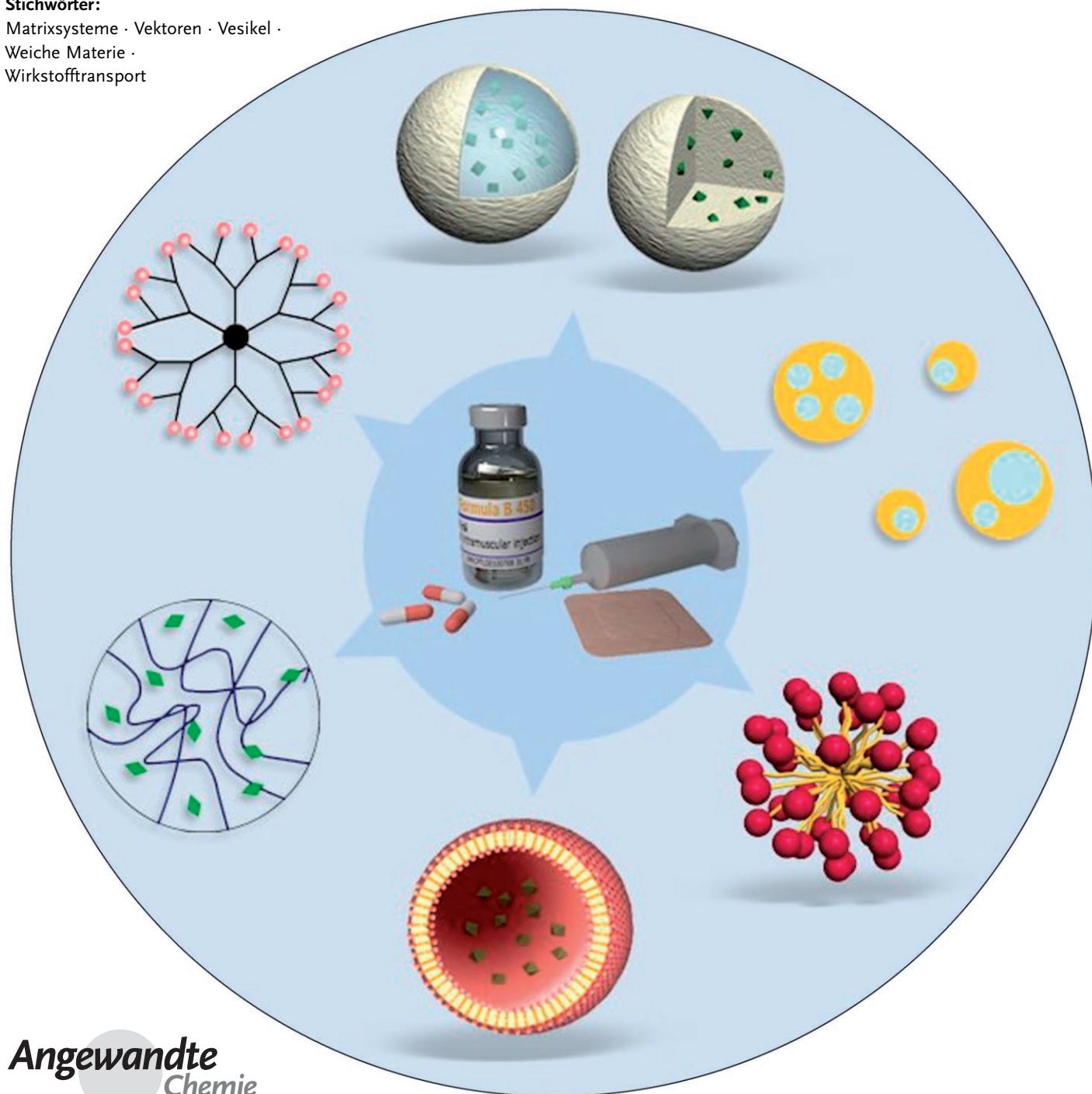
Elodie Soussan, Stéphanie Cassel, Muriel Blanzat* und Isabelle Rico-Lattes*

Stichwörter:

Matrixsysteme · Vektoren · Vesikel ·

Weiche Materie ·

Wirkstofftransport



Der zunehmende Bedarf an Transportsystemen, mit denen die Aktivität und Spezifität von Wirkstoffen verbessert, die Toxizität reduziert und so die Behandlungssicherheit maximiert werden kann, hat zur Entwicklung zahlreicher Wirkstoffvektoren geführt. Insbesondere Systeme auf der Basis von weicher Materie verfügen über interessante Merkmale. Hier beschreiben wir den aktuellen Kenntnisstand in diesem Gebiet, wobei wir uns hauptsächlich auf die beiden Gruppen der Matrixsysteme und Vesikel konzentrieren. Wir geben eine Übersicht über die Strukturen, Eigenschaften und Einsatzmöglichkeiten dieser Vektoren und diskutieren die wichtigsten Vor- und Nachteile bei ihrer Synthese.

1. Einführung

Die Entwicklung von Vektoren, d.h. von Systemen für den spezifischen Transport von Wirkstoffen zu einem Organ, einem Gewebe oder zu erkrankten Zellen, ist eine der großen Herausforderungen der therapeutischen Forschung.^[1] Viele Wirkstoffe haben physikochemische Eigenschaften, die den Transport vom Verabreichungsort über biologische Barrieren zum eigentlichen Wirkort erschweren. Einige Wirkstoffe werden schnell von Enzymen abgebaut und metabolisiert. Aus diesen Gründen kann einerseits der Transport der Wirkstoffe zu den erkrankten Zonen unzulänglich sein, und andererseits kann es zu einer Anreicherung der Wirkstoffe in gesundem Gewebe und damit zu toxischen Effekten kommen, die den Abbruch einer Erfolg versprechenden Therapie erzwingen.

Therapeutische Effizienz und Behandlungssicherheit sind zwei der wichtigsten Aspekte bei der Entwicklung von Vektoren. Sie werden durch die Kontrolle der Konzentration des freigesetzten Wirkstoffs und seinen gezielten Transport an den gewünschten Ort realisiert. Die Entwicklung von Wirkstofftransportsystemen hat in den letzten 20 Jahren zu neuen Medikamenten mit Matrix- oder Vesikelverabreichung geführt; Beispiele sind das Tumortherapeutikum Doxil – hier wird der Wirkstoff mit Liposomen transportiert – oder das Transfektionsreagens Superfect, in dem ein Dendrimervektor eingesetzt wird.

Hier beschreiben wir den aktuellen Kenntnisstand in diesem Bereich. Wir werden zwei große Gruppen von Vektoren behandeln, die Gegenstand zahlreicher früherer und aktueller Untersuchungen waren und sind: Matrixsysteme und Vesikel. Auf die Wechselwirkungen zwischen Vektoren und Zellen werden wir nicht eingehen, denn die entsprechenden Mechanismen sind in vielen Fällen noch nicht geklärt. Schließlich werden wir den Wirkstofftransport mit Vesikeln diskutieren, die aus kationischen Tensiden gebildet werden; hier werden wir auch Entwicklungen aus unserer Arbeitsgruppe beschreiben.

Aus dem Inhalt

1. Einführung	281
2. Matrixsysteme	281
3. Vesikel ^[2]	287
4. Schlussfolgerungen	292

2. Matrixsysteme

Matrixsysteme bestehen aus dreidimensionalen Netzwerken aus Polymeren, Tensiden oder Dendrimeren, in denen die Wirkstoffe eingeschlossen sind. In diesem Abschnitt werden wir uns auf Untersuchungen von Micellen, Emulsionen, Hydrogelen, Dendrimeren, Nanokügelchen und festen Lipidpartikeln konzentrieren.

2.1. Micellen

2.1.1. Struktur und Eigenschaften

Micellen sind Aggregate aus amphiphilen Molekülen, in denen die polaren Kopfgruppen in Kontakt mit der wässrigen Phase sind, während sich die hydrophoben Einheiten im Kernbereich befinden und so den Kontakt mit Wasser vermeiden (Abbildung 1).

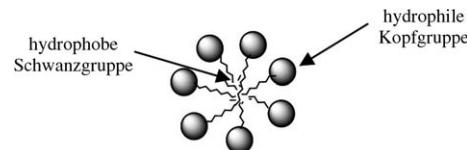


Abbildung 1. Darstellung einer Tensidmicelle.

Die Triebkraft der Selbstorganisation von Tensiden sind hydrophobe Wechselwirkungen, die zur Bildung von Micellen führen, wenn die Tensidkonzentration einen bestimmten Wert, die kritische Micellenkonzentration (CMC), übersteigt. Die durchschnittliche Größe von Micellen beträgt im Allgemeinen 1 bis 100 nm. Micellen sind dynamische Objekte, denn die Tensidmoleküle können schnell zwischen der mikellaren Struktur und der wässrigen Phase wechseln.

[*] Dr. E. Soussan, Dr. S. Cassel, Dr. M. Blanzat, Dr. I. Rico-Lattes
Laboratoire des Interactions Moléculaires et Réactivité Chimique et Photochimique, UMR CNRS 5623, Université Paul Sabatier, 31062 Toulouse Cedex 4 (Frankreich)
Fax: (+33) 5-61-55-81-55
E-Mail: blanzat@chimie.ups-tlse.fr
rico@chimie.ups-tlse.fr
Homepage: <http://imrcp.ups-tlse.fr/>

Neben Tensiden können auch Blockcopolymere (die einen hydrophilen und einen hydrophoben Teil aufweisen) und Triblockcopolymere (die entweder aus einem hydrophoben und zwei hydrophilen oder aus einem hydrophilen und zwei hydrophoben Teilen bestehen) Micellen bilden (Abbildung 2). Derartige Polymermicellen haben mittlere Durchmesser zwischen 20 und 50 nm und sind praktisch monodispers.^[2] Sie sind meist stabiler als Tensidmicellen und

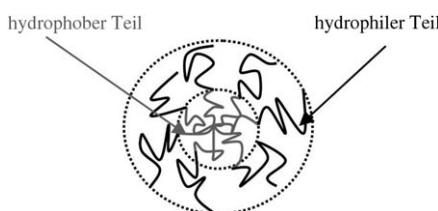


Abbildung 2. Darstellung einer Blockcopolymermicelle.

bilden sich bei deutlich kleineren CMC-Werten; auch ist ihre Dynamik weniger ausgeprägt als bei Tensidmicellen. Polymermicellen bleiben auch stabil, wenn die Konzentration der freien Polymermoleküle in der wässrigen Phase unter den CMC-Wert sinkt. Dieses überraschende Ergebnis wurde durch Größenausschlusschromatographie erhalten, mit deren Hilfe sich freie Polymermoleküle und Polymermicellen trennen lassen.^[3] Aus diesen Gründen haben Polymermicellen zahlreiche Vorteile gegenüber Tensidmicellen.

2.1.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Die leicht einstellbaren Eigenschaften von Micellen und ihre pharmazeutischen Merkmale haben Ende der 1960er Jahre zu einem wachsenden Interesse an Anwendungen beim Wirkstofftransport geführt.^[4,5]

Wegen der anisotropen Verteilung der Wassermoleküle in den Micellen (die Wasserkonzentration nimmt von der Oberfläche zum Kern hin ab) können hydrophobe Wirkstoffe in Micellen solubilisiert^[6] und damit ihre Bioverfügbarkeit verbessert werden. Außerdem sind die Wirkstoffmoleküle vor Enzymen geschützt, die sie in biologischen Medien abbauen und metabolisieren könnten.^[7-9]

Wenn der ursprünglichen Tensidmischung weitere Co-tenside zugesetzt werden, lassen sich Größe, Ladung und Oberflächeneigenschaften der Micellen an die zu transportierenden Wirkstoffmoleküle anpassen. Außerdem sind große Mengen von Micellen einfach und reproduzierbar mit üblichen Methoden erhältlich.^[10]

Polymermicellen werden häufiger als Tensidmicellen für die Entwicklung von Vektorsystemen eingesetzt. Ihr langsamer Abbau hat zu ihrem Erfolg bei Wirkstofftransportanwendungen beigetragen, besonders für hydrophobe Tumorthapeutika wie Paclitaxel.

Zahlreiche Untersuchungen in diesem Bereich beschäftigen sich mit Micellen, in denen die hydrophilen Polymereinheiten aus Polyethylenoxid(PEO)-Ketten bestehen. PEO-Ketten sind stark hydratisiert und stoßen sich untereinander ab, wodurch stabile Micellen mit einem großen Volumen gebildet werden.^[10] PEO-Polymerketten verhindern außer-



Muriel Blanzat wurde in Paris geboren und studierte Chemie an der Ingenieurhochschule in Lyon. Sie promovierte 2000 in Toulouse mit einer Arbeit über organisierte molekulare Systeme. Es folgte eine Tätigkeit als Postdoc im Bereich der supramolekularen Chemie an der ETH Zürich bei Prof. F. Diederich. Im Jahr 2001 kehrte sie nach Frankreich zurück an die Universität Paul Sabatier in Toulouse, wo sie seitdem auf einer Forschungsposition des CNRS tätig ist. Ihre Forschungsinteressen umfassen die Synthese und physikochemische Untersuchungen von kationionischen Amphiphilen für biologische Anwendungen.



Elodie Soussan studierte Chemie an der Ecole Supérieure de Chimie Organique et Minérale (Cergy, Frankreich; Diplom 2003). Ihren MSc (2004) und Doktortitel (2007) erhielt sie an der Universität Paul Sabatier unter der Anleitung von Dr. I. Rico-Lattes für Arbeiten über kationionische Vektoren. Zurzeit ist sie als Postdoc am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung (Potsdam) in der Arbeitsgruppe von G. Brezesinski tätig.



Isabelle Rico-Lattes war in Paris auf einer Forschungsposition des CNRS tätig und promovierte dort in Zusammenarbeit mit der Industrie über Fluorchemie. Sie gründete dann ihre eigene Arbeitsgruppe für organisierte molekulare Systeme am IMRCP in Toulouse. Zu ihren Verdiensten zählen wichtige Entwicklungen wie Oxane HD, ein fluoriertes organisiertes System für die Behandlung schwerer Fälle von Netzhautablösung, oder Selectiose, ein amphiphiles Rhamnose-derivat, das als Wirkstoff gegen Ekzeme eingesetzt werden kann. Im Jahr 2006 erhielt sie die Silbermedaille des CNRS.



Stéphanie Cassel studierte Chemie an der Universität Orléans. Im Jahr 2000 promovierte sie mit Arbeiten im Bereich der Kohlenhydratchemie und der Verwertung von Glycerin. Es folgte eine Forschungstätigkeit über supramolekulare Aggregate in der Arbeitsgruppe von Prof. D. A. Leigh an den Universitäten von Warwick und Edinburgh. Nach einer kurzen Tätigkeit als Dozentin an der Universität Versailles hat sie seit 2004 eine Position als Dozentin an der Universität Toulouse inne. Ihr Forschungsinteresse gilt der Selbstorganisation von Tensiden in nicht-wässrigen Medien.

dem die Erkennung der Micellen durch das Retikuloendothelialsystem, sodass der Abbau dieser Vektoren im Blut reduziert wird und Wirkstoffe über lange Zeiträume freigesetzt werden können.^[11]

In den letzten Jahren wurden neue hydrophile Polymer-systeme entwickelt, die eine sehr gute Biokompatibilität aufweisen; Beispiele sind Polymere aus Zuckerderivaten^[12] und Polyglycerine.^[13,14]

Hinsichtlich der hydrophoben Einheiten der Copolymer-Vektorsysteme haben sich die Untersuchungen auf die Entwicklung von biologisch abbaubaren Polymeren, z.B. Polylactat-Derivaten,^[15] konzentriert. Polymermicellen mit biologisch abbaubaren hydrophoben Einheiten ermöglichen neuartige Vektorsysteme, mit denen die Geschwindigkeit der Wirkstoffabgabe gesteuert werden kann und deren Polymerbestandteile einfacher *in vivo* abgebaut werden.

Ein weiterer Vorteil von Polymermicellen ist die Möglichkeit, die Polymerstruktur so zu gestalten, dass sie auf Parameter des umgebenden Mediums reagiert und so die Wirkstoffe gezielt an spezifischen Orten freigesetzt werden. Ein Beispiel ist die Synthese von pH-empfindlichen Copolymeren: Durch den Einbau von Amin-^[16] oder Säuregruppen^[17] wird die Löslichkeit des Polymers und damit die Stabilität des Vektors abhängig vom pH-Wert. Die Wirkstoffe können durch Destabilisierung der Micellen gezielt an Orten freigesetzt werden, die einen bestimmten pH-Wert aufweisen.

Im Allgemeinen werden Micellen dazu eingesetzt, hydrophobe Wirkstoffe zu solubilisieren, sie bioverfügbar zu machen und die Dauer ihrer Verfügbarkeit im biologischen Medium zu erhöhen. Ebenso können mit inversen Micellen hydrophile Wirkstoffe solubilisiert werden.

Der größte Nachteil micellarer Vektorsysteme, insbesondere der Tensidmicellen, besteht darin, dass sie sich bei Verdünnung leicht auflösen. Dies trifft zwar nicht auf Polymermicellen zu, aber deren Herstellung kann sich als schwierig herausstellen, denn sie müssen im Hinblick auf biologische Anwendungen beispielsweise nichttoxisch, biokompatibel und abbaubar sein und ein genau definiertes Molekulargewicht aufweisen.

Auch die Entwicklung von pH-sensitiven Micellen für therapeutische Anwendungen ist häufig problematisch, da in biologischen Umgebungen nur geringe Variationen des pH-Werts auftreten: So liegt der pH-Wert in Tumorgewebe bei 5 bis 7 und in normalem Gewebe bei 7.4.

2.2. Emulsionen

2.2.1. Struktur und Eigenschaften

Emulsionen sind heterogene Dispersionen aus zwei nichtmischbaren Flüssigkeiten, z. B. Öl in Wasser oder Wasser in Öl. Durch Prozesse wie Aggregation, Koaleszenz oder Ausflockung, die zu einer Phasentrennung führen, können sie rasch destabilisiert werden. Allerdings lässt sich die Stabilität von Emulsionen durch die Zugabe von Tensiden verbessern: Die amphiphilen Moleküle bilden eine Mono- oder Multischicht um die Tröpfchen der dispergierten Flüssigkeit, wodurch die Grenzflächenspannung zwischen den beiden Flüs-

sigkeiten verringert und die Abstoßung zwischen den Tröpfchen erhöht wird.

Je nach der Konzentration der drei Komponenten (Wasser, Öl und Tensid) und der Herstellungsmethode (die die Tröpfchengröße bestimmt) erhält man eine Standardemulsion (Tröpfchengröße zwischen 100 nm und 10 µm), eine Mikro- oder Nanoemulsion (Tröpfchengröße zwischen 10 nm und 100 nm) oder auch eine Mehrfachemulsion^[18] (Abbildung 3).

Im Unterschied zu Standard- und Mehrfachemulsionen sind Mikroemulsionen transparente und thermodynamisch stabile Systeme.^[3]

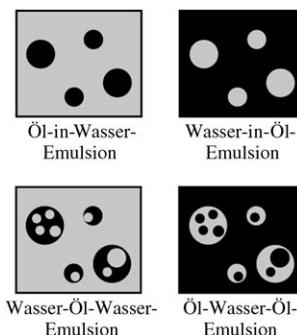


Abbildung 3. Verschiedene Emulsionsarten (grau: wässrige Phase; schwarz: Ölphase).

2.2.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Emulsionen bieten vielseitige Möglichkeiten für die Entwicklung von Wirkstoffsystemen. Für hydrophile Wirkstoffe werden Wasser-in-Öl-Emulsionen und für hydrophobe Wirkstoffe Öl-in-Wasser-Emulsionen eingesetzt. Die charakteristischen Eigenschaften der Emulsion lassen sich leicht verändern, indem man Parameter wie den Volumenanteil der dispergierten Phase, die Tröpfchengröße oder den osmotischen Gradienten anpasst.^[19] Mit geeigneten Verfahren lassen sich Emulsionen in sehr großen Mengen herstellen.^[20]

Schon 1960 entwickelten Wretlind et al. die erste intravenös injizierbare Öl-in-Wasser-Emulsion, die als Nahrungsmittel für Patienten diente, die nicht in der Lage waren, Nahrung oral aufzunehmen oder zu metabolisieren. Seitdem wurden zahlreiche hydrophobe Wirkstoffe (z. B. das Barbiturat Diazepam) als Öl-in-Wasser-Emulsionen zubereitet, um ihre Bioverfügbarkeit zu verbessern.^[21]

Wegen ihrer hohen Stabilität werden Mikroemulsionen^[22] häufig für die Entwicklung von Vektorsystemen eingesetzt. Zahlreiche Untersuchungen betrafen den Transport von Antitumorwirkstoffen; ein Beispiel ist die Solubilisierung von Vincristin in einer Ölphase aus Vitamin E und Ölsäure. Die Öl-in-Wasser-Emulsion, die aus dieser Ölphase und den Komponenten Wasser, Polyethylenglycol und Cholesterin erhalten wurde, zeigte eine sehr hohe Stabilität: Nach einjähriger Lagerung hatten sich nur 7.5 % der Vincristin-Menge zersetzt. Außerdem beobachtete man eine erhöhte Konzentration des Wirkstoffs in der Umgebung von Tumoren und eine erheblich geringere Toxizität.^[23]

Mehrfachemulsionen, insbesondere vom Wasser-Öl-Wasser-Typ, sind erfolgversprechende Vektoren für hydrophile Wirkstoffe, denn die Ölphase kann als Membran fungieren, die eine kontrollierte Freisetzung der Wirkstoffe ermöglicht. Die Effektivität von Verkapselung und Transport mithilfe von Doppellemulsionen wurde für Antibiotika,^[24] Proteine^[25] und Antitumorwirkstoffe^[26] demonstriert.

Emulsionen bieten zahlreiche Möglichkeiten für den Wirkstofftransport, allerdings schränken einige Nachteile ihre Verwendung ein. Insbesondere birgt die hohe Tensidkonzentration (vor allem in den Mikroemulsionen) das Risiko toxischer Effekte. Außerdem ist Vorsicht geboten bei Medikamenten, die intravenös verabreicht werden, denn eine Verdünnung kann zu einer Phasentrennung in der Emulsion führen, die beim Patienten eine Embolie hervorrufen kann.

2.3. Dendrimere

2.3.1. Struktur und Eigenschaften

Die Bezeichnung Dendrimer setzt sich aus den beiden Wörtern Dendrit und Polymer zusammen. Das erste bezieht sich auf die verzweigte Struktur der Moleküle („dendron“ ist das griechische Wort für Baum) und das zweite auf den Aufbau aus sich wiederholenden Motiven („meros“ ist das griechische Wort für Einheit).

Ein Dendrimermolekül besteht aus Monomereinheiten, die sich, ausgehend von einem Kern, in einem baumartigen Muster verbinden. Die Struktur dieser regelmäßig verzweigten sphärischen Makromoleküle lässt sich in drei Regionen einteilen: den Kern (C), die vom Kern ausgehenden wiederholten Schichten oder Verzweigungen (B) und schließlich die Endgruppen (T) auf der äußeren Schicht (Schema 1). Dendrimere werden entsprechend ihrer Generation, d. h. nach der Anzahl ihrer Wiederholungsschichten klassifiziert.

Eine mögliche Synthese von Dendrimeren folgt der divergenten Methode.^[27] In diesem Fall wird das Dendrimer

vom Kern her mit einer iterativen Reaktionsequenz aufgebaut, was zu einer schnellen Zunahme der Dendrimergröße und der Zahl an Endgruppen führt. Eine andere Möglichkeit ist der konvergente Dendrimeraufbau,^[28] bei dem der Kern im letzten Schritt eingefügt wird. Diese Methode wird meist eingesetzt, wenn der Kern funktionelle Gruppen enthält, die nicht den Bedingungen in der Wachstumsphase der Dendrimerhülle ausgesetzt werden können.

Unabhängig von der Synthesemethode erhält man am Ende ein Makromolekül mit einer genau definierten Anzahl von funktionellen Gruppen an der Oberfläche.

2.3.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

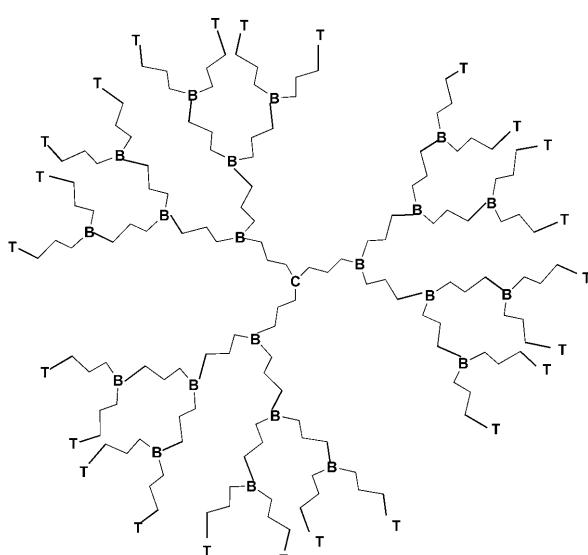
Wegen ihrer hohen Zahl an Oberflächenfunktionalitäten können Dendrimere multivalente Wechselwirkungen eingehen, die stärker und genauer sein können als eine gleiche Zahl an monovalenten Wechselwirkungen.^[29] Durch diesen „dendritischen Effekt“^[30] sind Dendrimere besser für die Entwicklung von Vektoren geeignet als entsprechende Monomere.

Viele Arbeitsgruppen haben sich mit möglichen Anwendungen von Dendrimeren bei der Entwicklung von Vektoren beschäftigt.^[31] Bei einem Ansatz werden die funktionellen Gruppen an der Oberfläche der Dendrimere so angepasst, dass elektrostatische Wechselwirkungen zu den Wirkstoffmolekülen aufgebaut werden. Zum Beispiel können DNA-Ketten, die negativ geladen sind, durch positiv geladene Dendrimere komplexiert werden. Mehrere Arbeitsgruppen haben gezeigt, dass die sehr kompakten Dendrimer-DNA-Komplexe durch Endozytose leicht von Zellen aufgenommen werden, sodass die Transfektion verbessert wird.^[32–36] Vektorsysteme auf Dendrimerbasis, z.B. Superfect, werden von Qiagen für diese Anwendung angeboten.

Dendrimere können auch eine Struktur aufweisen, die eine Verkapselung von Wirkstoffen in Hohlräumen in ihrem Inneren ermöglicht. Auf diese Weise lässt sich die Stabilität und damit die Bioverfügbarkeit einiger Wirkstoffe verbessern. Man kann die Dendrimerstruktur (unpolarer Kern und polare Oberfläche) auch als eine Art „molekulare Micelle“ ansehen; der große Vorteil besteht darin, dass die Struktur nicht von der Dendrimerkonzentration abhängt. Ein Beispiel ist der entzündungshemmende Wirkstoff Indometacin, der in einem Dendrimer aus hydrophoben 4,4'-Bis(4'-hydroxyphenyl)pentanol-Einheiten verkapselt wurde, an dessen Oberfläche Polyethylenglycol-Ketten kovalent gebunden waren, um die Wasserlöslichkeit und Biokompatibilität zu erhöhen.^[37,38]

Wirkstoffe können auch in dendritischen Schachteln verkapselt werden. Dendrimere mit dieser Struktur wurden von Meijer et al. aus Polypropylenimin-Einheiten synthetisiert. Dabei werden Wirkstoffe in den Hohlräumen der dendritischen Schachteln verkapselt, bevor die Dendrimere am Ende der Synthese mit einer dichten äußeren Schicht abgeschlossen werden. Diese Schicht verhindert eine Abgabe des Wirkstoffs, bis sie sich im biologischen Medium gezielt durch Hydrolyse zersetzt.^[39–42]

Wegen ihrer Kugelform und der hohen Zahl an funktionellen Gruppen an der Oberfläche bieten Dendrimere viele



Schema 1. Ein Dendrimer der 3. Generation.

Möglichkeiten für die Entwicklung von Vektoren für hydrophile und hydrophobe Wirkstoffe.^[43] Allerdings ist ihre Synthese nicht einfach und unter Umständen sehr kostspielig. Ein weiterer Nachteil dieses Vektortyps kann in einer schwierigen Abgabe des Wirkstoffs im biologischen Medium liegen. In manchen Fällen erschwert die dichte Dendrimerstruktur die Spaltung von hydrolysierbaren oder biologisch abbaubaren Bindungen in der äußeren Schicht erheblich, sodass die Abgabe der Wirkstoffe zum Problem wird.^[41] In anderen Fällen wiederum sind die verkapselten Moleküle nur schwach gebunden und werden zu früh freigesetzt.^[38] Die Möglichkeit, die funktionellen Gruppen einfach anzupassen, macht Dendrimere dennoch zu vielseitigen Wirkstoffvektoren.

Als Alternative zu der schwierigen und kostspieligen Synthese der Dendrimere schlug Haag^[44] den Einsatz von hoch verzweigten Polymeren vor. Biokompatible hoch verzweigte Polyglycerine und Polyethylenimine können für die Verkapselung von Cytostatika genutzt werden, die dann, dank des Ansprechverhaltens des Polymers auf den pH-Wert, gezielt ins Tumorgewebe transportiert werden könnten.

2.4. Hydrogele

2.4.1. Struktur und Eigenschaften

Hydrogele sind dreidimensionale Netzwerke aus hydrophilen Polymerketten. Diese können in Wasser aufquellen, ohne in Lösung zu gehen.^[45] Es gibt viele verschiedene Arten von Hydrogelen, die man nach ihren physikochemischen Eigenschaften oder ihren Herstellungsmethoden unterteilt.^[46]

Hydrogele können aus natürlichen oder aus synthetischen Polymeren hergestellt werden. Beispiele für natürliche Polymere sind Proteine, Polysaccharide und DNA. Hydrogele aus synthetischen Polymeren werden durch Polymerisation von synthetischen Monomeren hergestellt. Auch hybride Hydrogele, die sowohl synthetische Polymere (wegen ihrer Funktionalität) als auch natürliche Polymere (wegen ihrer Biokompatibilität) enthalten, wurden hergestellt.^[47,48]

Die dreidimensionale Netzwerkstruktur erhält man durch chemische oder physikalische Vernetzung der Polymerketten. In chemischen Gelen werden die Ketten durch kovalente Bindungen vernetzt. Physikalische Gele bilden sich durch spontane Selbstorganisation der Ketten zu einem ungeordneten dreidimensionalen Netzwerk,^[49] wofür schwache Wechselwirkungen, z.B. Wasserstoffbrücken oder hydrophobe Wechselwirkungen, maßgeblich sind. Physikalische Hydrogele werden also durch reversible Prozesse gebildet, die solvens-, pH- oder temperaturabhängig sein können.

Die dreidimensionalen Netzwerke haben eine große Affinität zu Wasser. Wassermoleküle können in die Zwischenräume zwischen den Polymerketten eindringen, wodurch das Material aufquillt und sich das Hydrogel bildet.

2.4.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Hydrogele spielen im Bereich des Wirkstofftransports eine wichtige Rolle. Wegen ihres hohen Wassergehalts sind sie ausgezeichnet biokompatibel.^[50] Über die Art des eingesetzten Polymers und die verwendete Herstellungsmethode

lassen sich ihre physikochemischen, mechanischen und biologischen Eigenschaften einstellen.

Seit der ersten Untersuchung durch Wichterle und Lim^[51] aus dem Jahr 1960, die die biomedizinische Anwendung eines Poly(2-hydroxyethylmethacrylat)-Hydrogels betraf, wurde eine große Zahl an Hydrogelen für therapeutische Zwecke entwickelt.

Hydrophile Wirkstoffmoleküle können leicht verkapselt werden: Entweder wird der Wirkstoff vor der Polymerisation mit den Monomereinheiten vermischt, oder man lässt das Gel in einem wässrigen Medium quellen, das den Wirkstoff enthält. Die Abgabe des Wirkstoffs im biologischen Medium kann dann durch Diffusion (entsprechend dem Fick'schen Gesetz), durch Auflösen des Hydrogels, durch Osmose oder durch Ionen austausch erfolgen.^[46]

Hydrogele können ähnlich wie Polymermicellen Eigenschaften aufweisen, die von Parametern des Mediums abhängig sind (z.B. pH-Wert, Temperatur oder Licht). Eine Änderung dieser Parameter kann zur Kompression oder zum Aufquellen des Hydrogels und zur Abgabe der verkapselten Moleküle führen (Abbildung 4).

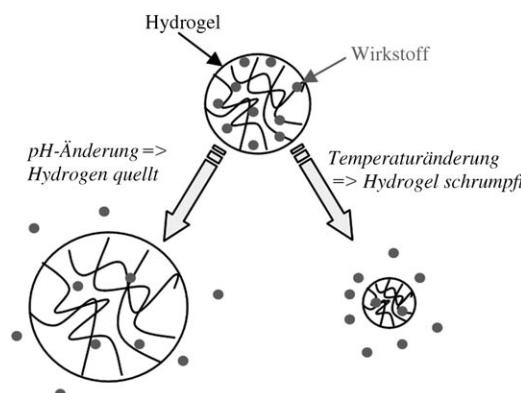


Abbildung 4. Wirkstoffabgabe durch Hydrogele, die auf Parameter des Mediums ansprechen.

Ein Beispiel sind Poly(*N*-isopropylacrylamid)-Netzwerke, die häufig für die Herstellung von temperatursensitiven Hydrogelen eingesetzt werden. Die Wasserlöslichkeit dieser Verbindungen ändert sich erheblich mit der Temperatur,^[52] weil Wasserstoffbrücken mit hydrophoben Wechselwirkungen konkurrieren. Bei niedrigen Temperaturen werden bevorzugt Wasserstoffbrücken zwischen den polaren Teilen der Polymere gebildet, sodass das Hydrogel aufquillt kann. Bei steigender Temperatur gewinnen hydrophobe Wechselwirkungen an Einfluss, und das Hydrogel schrumpft. Dieses Verhalten wurde zur Herstellung von schaltbaren Vektoren genutzt.^[53,54]

Für Diabetes-Patienten wurden Hydrogele entwickelt, die Insulin abgeben, wenn die Glucosekonzentration im Blut zu hoch wird (Abbildung 5). Dafür wurden pH-sensitive Hydrogele mit Glucoseoxidase versehen. Wenn dieses Enzym im Hydrogel die Glucose aus der Umgebung zu Gluconsäure metabolisiert, sinkt der pH-Wert, wodurch das Gel aufquillt und eine große Insulinmenge abgibt.^[55]

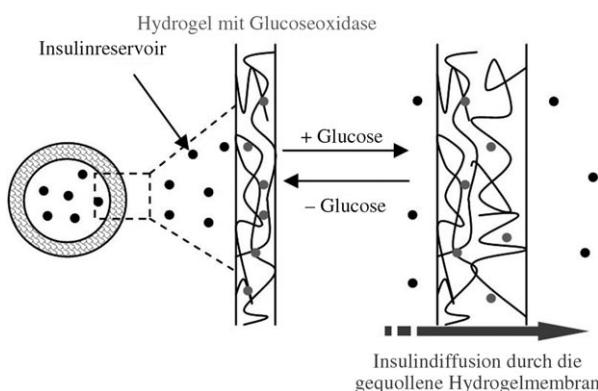


Abbildung 5. Insulinabgabe durch ein Hydrogel in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration.

Die Synthese neuer Polymere hat Hydrogele mit verschiedenen weiteren Eigenschaften hervorgebracht, z. B. bioadhäse Gele^[56] oder Systeme für die Erkennung durch molekulares Prägen.^[57] Diese Vektoren werden voraussichtlich eine wichtige Rolle beim Wirkstofftransport spielen. Einer der wichtigsten Parameter, der für die Anwendung als Vektor berücksichtigt werden muss, ist das Hydratisierungsverhältnis des Hydrogels. Für einen bestimmten Polymertyp hängt das Hydratisierungsverhältnis von der Kettenlänge, vom Molekulargewicht und vom Vernetzungsgrad ab.^[58]

Bei allen Vorteilen, die Hydrogele hauptsächlich aufgrund ihres Ansprechverhaltens auf äußere Parameter aufweisen, müssen sie für Anwendungen noch weiter verbessert werden. Beispielsweise erfolgt die durch erhöhte Blutzuckerwerte induzierte Insulinabgabe von Hydrogelvektoren noch nicht schnell genug.^[46]

2.5. Nanokügelchen

2.5.1. Struktur und Eigenschaften

Nanokügelchen sind feste Kolloidpartikel mit typischen Durchmessern von 100 bis 200 nm. Sie bestehen aus einer Polymermatrix, wobei verschiedene Arten von Polymeren für ihre Herstellung eingesetzt werden können: natürliche Polymere (Biopolymere) sowie abbaubare und nichtabbaubare synthetische Polymere. Nanokügelchen werden nach zwei verschiedenen Methoden hergestellt.^[59]

Wenn die Herstellung über die Polymerisation von Monomeren verläuft, beispielsweise im Fall von Poly(methylmethacrylat) oder Poly(ethylcyanacrylat), ist meist vor der eigentlichen Polymerisation ein Emulgierungs- oder Dispergierungsschritt notwendig.

Wenn das Polymer bereits vorher gebildet wurde, kommt die Nanofällung zum Einsatz. Dazu wird das Polymer in einem mit Wasser mischbaren organischen Solvens (Aceton, Ethanol, DMSO) gelöst; diese Lösung wird tropfenweise in eine wässrige Phase gegeben (die Tenside enthalten kann). Das organische Solvens verteilt sich in der gesamten wässrigen Phase, wobei das Polymer ausfällt und Nanokügelchen gebildet werden. Diese Methode, mit der man Nanokügelchen ohne die Präparation einer Emulsion herstellen kann,

wird sehr häufig genutzt, wenn es darum geht, Objekte aus zuvor gebildeten Polymeren zu erhalten. Andere bekannte Methoden sind die Emulsionsverdampfung und -diffusion sowie die Ausnutzung von Salzeffekten.

Je nach der vorgesehenen Anwendung wird die Oberfläche der Nanokügelchen anschließend funktionalisiert.

2.5.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Der wichtigste Aspekt bei der Anwendung von Nanokügelchen als Vektoren liegt in der festkörperähnlichen Polymermatrix, die eine große Stabilität verleiht.^[60] Wirkstoffe können entweder im Kern der Nanokügelchen dispergiert oder an ihrer Oberfläche adsorbiert werden. Sie werden meist über Diffusion durch die Matrix oder durch direkte Zersetzung der Matrix abgegeben. Nanokügelchen können Wirkstoffe daher kontinuierlich abgeben, wobei die Geschwindigkeit vom Polymer, von der Herstellungsmethode (die die Porosität der Matrix beeinflusst) und vom Wirkstoff abhängt.

Der Einsatz von festen Nanokügelchen wird allerdings dadurch beschränkt, dass sie *in vivo* in erheblichem Umfang durch Makrophagen eingefangen werden. Um dieses Problem zu lösen und die Verweildauer im Blutkreislauf zu erhöhen, wurden vor kurzem Nanopartikel entwickelt, die für Makrophagen „unsichtbar“ sind.^[61] Man konnte zeigen, dass Partikel nicht von Makrophagen eingefangen wurden, wenn man ihre Größe verringerte (< 100 nm) und/oder ihre Oberfläche (die normalerweise sehr hydrophob ist) hydrophiler machte.

Derartige Nanokügelchen wurden insbesondere bei der Entwicklung von Vektoren für Antitumorwirkstoffe eingesetzt.^[62–64] Taxol zeigt beispielsweise im Vergleich zur freien Form eine größere Effizienz (eine längere Verweildauer im Blutkreislauf) und eine geringere Toxizität, wenn es in Polyvinylpyrrolidon-Nanokügelchen mit einem Durchmesser von 50 bis 60 nm eingeschlossen wird.^[65] Ein ähnliches Verhalten kennzeichnet einen Komplex aus Dextran (hydrophiles Polymer) und Doxorubicin (hydrophiler Wirkstoff), wenn Chitosan-Nanokügelchen (Durchmesser 100 nm) damit beladen werden.^[66]

Die hydrophile Oberfläche solcher Nanokügelchen kann mit spezifischen Liganden versehen werden, um den Transport gezielt an einen bestimmten Ort zu lenken. Jain et al. entwickelten 2007 entsprechende Dextran-Nanokügelchen, deren Oberflächen mit Vitamin B₁₂ funktionalisiert waren. Mithilfe dieser Vektoren konnte oral verabreichtes Insulin in den Körperkreislauf aufgenommen werden, denn die Zersetzung im Magen-Darm-Trakt war deutlich eingeschränkt. Selbst bei geringeren Insulingaben wurde eine längere Wirkung beobachtet.^[67]

Polymernanokügelchen haben ein großes Potenzial für Anwendungen als Wirkstoffvektoren. Ihr größter Nachteil liegt in ihrer Herstellung, die im industriellen Maßstab schwierig ist. Außerdem erfordert ihre Synthese unter Umständen Solventien und Monomere, die toxisch und schwer abbaubar sind.

2.6. Feste Lipidnanopartikel

2.6.1. Struktur und Eigenschaften

Feste Lipidnanopartikel (solid lipid nanoparticles, SLNs) bestehen hauptsächlich aus Glyceriden und weisen Durchmesser zwischen 50 und 1000 nm auf. Es gibt verschiedene Methoden zur Herstellung dieser Nanopartikel:

- Hochdruckhomogenisierung:^[68] Die Lipide werden auf Temperaturen ca. 5 bis 10°C über ihren Schmelzpunkt erhitzt und dann in einer wässrigen Tensidlösung mit der gleichen Temperatur dispergiert. Die Emulsion wird bei hohem Druck homogenisiert und dann abgekühlt, wobei die Lipide als feste Nanopartikel auskristallisieren. Das Verfahren lässt sich auch so modifizieren, dass die Homogenisierung bei tiefer Temperatur stattfindet.
- Mikroemulsionstechnik:^[69] Das Lipid wird oberhalb des Schmelzpunkts als Mikroemulsion in einer wässrigen Tensidlösung dispergiert. Die transparente, thermodynamisch stabile Mikroemulsion wird dann mechanisch mit einer 2–3°C kalten wässrigen Phase gemischt, wobei das dispergierte Lipid in Form fester Nanopartikel ausfällt.
- Nanofällung: Diese Methode, bei der ein organisches Solvens verwendet werden muss, ist die gleiche, die auch bei der Herstellung von Polymernanokügelchen eingesetzt wird.

Die Kristallinität des Lipids in SLNs kann über die verwendete Herstellungsmethode modifiziert werden. Kristallpolymorphien, die direkt mit der Dichte und der kolloidalen Stabilität dieser Systeme zusammenhängen, sind ein wichtiger Parameter hinsichtlich der Anwendung von SLNs.

2.6.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Mehrere Arbeitsgruppen haben seit 1990 die SLNs als Alternative zu Polymernanokügelchen bei der Anwendung als Vektoren untersucht.^[70,71] Im Allgemeinen werden Tri-glycerid-Lipide vom Organismus gut vertragen. Die Herstellung solcher Nanopartikel ist erheblich einfacher als bei Nanokügelchen und gelingt kostengünstig im industriellen Maßstab.

Der Wirkstoff für die gewünschte Anwendung wird in der geschmolzenen Lipidphase gelöst oder dispergiert, und danach werden die wirkstoffbeladenen SLNs nach einer der beschriebenen Herstellungsmethoden erhalten. Beim schnellen Abkühlen der Glyceride wird eine α -kristalline, instabile und schlecht geordnete Struktur erhalten.^[72] Die Wirkstoffmoleküle sammeln sich bevorzugt in den amorphen Bereichen der Matrix. Allerdings wandelt sich die α -kristalline Struktur der Lipide während der Lagerung in eine stabilere und besser geordnete β -kristalline Struktur um.^[73] Diese Umwandlung der Lipidphase führt zu einer Anreicherung der Wirkstoffe in den amorphen Bereichen.^[74] Ein gesteuerter Übergang von der α - in die β -Form (z. B. durch Temperaturänderung) könnte demnach eine Wirkstoffabgabe „auf Kommando“ ermöglichen.^[68] Allerdings konnten derartige SLNs mit vollständig kontrollierter Matrixtransformation bisher nicht realisiert werden.

Die Kapazität für die Wirkstoffbeladung wird im Wesentlichen durch die Struktur und Polymorphie der Lipide bestimmt, aus denen die Nanopartikel bestehen. Daher wurden verschiedenartige Lipidpartikel mit amorphen Bereichen entwickelt.^[75–77] Diese nur teilweise kristallinen Partikel können z. B. aus einer Mischung von Glyceriden mit verschiedenen Fettsäuren (unterschiedliche Kettenlänge und Sättigungsgrade) bestehen, was zu einem schlecht geordneten Material mit einer besseren Wirkstoffbeladung führt. Eine zweite Gruppe sind die Mehrfachlipidpartikel, die man erhält, wenn man während der Herstellung der Nanopartikel feste und flüssige Lipide mischt. Die Wirkstoffe sind dann in den flüssigen Kompartimenten der festen Lipidpartikel enthalten. Schließlich lässt sich ein amorphes System auch durch eine bestimmte Mischung von Lipiden erhalten. Diese festen Nanopartikel können eine besonders effektive Wirkstoffbeladung aufweisen.

Die Anwendung von festen Lipidnanopartikeln als Wirkstoffvektoren wird intensiv untersucht. In-vitro- und In-vivo-Studien haben ergeben, dass diese Partikel gut vertragen werden. Allerdings können als Folge der Polymorphie der Lipidmatrizen oder möglicher Kristalltransformationen Stabilitätsprobleme auftreten (Gelbildung^[78]). In manchen Fällen kann auch die Wirkstoffabgabe dieser Nanopartikel nicht gut gesteuert werden, was die Anwendung als Vektoren einschränkt.

3. Vesikel^[79]

Vesikel sind kolloidale Systeme, die kleiner als ein Mikrometer sind. Sie können von Polymeren, Tensiden oder Lipiden gebildet werden. In diesen Systemen befinden sich die Wirkstoffe in einer Ölphase oder einer wässrigen Phase, die von einer Membran umgeben ist. Vesikel können daher mit einer größeren Wirkstoffmenge als Matrixsysteme beladen werden, sodass deutlich kleinere Mengen verabreicht werden müssen. Viele Vesikelsysteme zeichnen sich durch flexible Transporteigenschaften aus und können als Vektoren für hydrophile und lipophile Substanzen eingesetzt werden.

3.1. Nanokapseln und Polymersome

3.1.1. Strukturen und Eigenschaften

Nanokapseln^[80] und Polymersome^[81,82] bestehen aus einem flüssigen Kern, der von einer wenige Nanometer dicken Polymerwand umschlossen ist.^[59] Die beiden Gruppen unterscheiden sich hauptsächlich durch die Struktur der Polymermembran und die Hydrophilie ihres inneren Hohlraums (Abbildung 6).

Die Membran der Nanokapseln ist eine dünne Monoschicht und besteht entweder aus einem Homopolymer oder einem Blockcopolymer, wobei die hydrophile Einheit nach außen gerichtet ist. Der Kern dieser Nanokapseln besteht in den meisten Fällen aus einer Ölphase. (Nanokapseln mit einem wässrigen Kern wurden ebenfalls hergestellt.^[62])

Ähnlich wie Nanokügelchen können Nanokapseln aus zuvor gebildeten Polymeren oder durch die Polymerisation

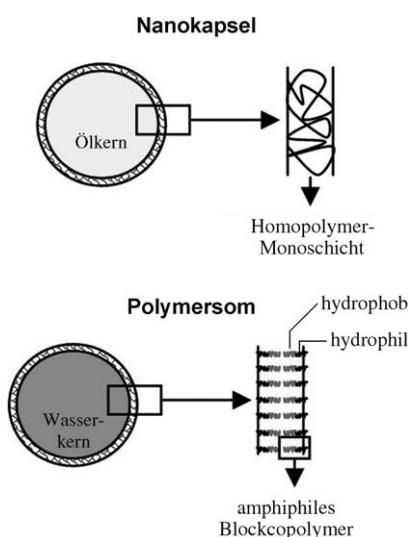


Abbildung 6. Struktur von Nanokapseln und Polymersomen.

von Monomeren hergestellt werden. In beiden Fällen kann die Grenzflächenabscheidungstechnik angewendet werden. Bei dieser Methode wird ein mit Wasser mischbares organisches Solvens, in dem das Polymer oder die Monomereinheiten gelöst sind, mit einer Ölphase gemischt, die dann in einer wässrigen Tensidlösung dispergiert wird. Dabei diffundiert das organische Solvens in die wässrige Phase, und das Polymer oder die Monomere aggregieren an der Oberfläche der Öltröpfchen und bilden auf diese Weise die Nanokapseln (im Fall der Monomere nach einem Polymerisationsschritt^[83]).

Die Membran der Polymersome besteht aus Blockcopolymeren, die (ähnlich wie im Fall von Liposomen) eine Doppelschicht bilden. Polymersome haben einen hydrophilen Hohlraum.

Polymersome werden mit der Filmhydratisierungsme thode hergestellt. Das Copolymer wird in einem flüchtigen organischen Solvens gelöst. Anschließend lässt man das Solvens verdampfen, wobei sich ein Polymerfilm bildet. Dieser Film wird in einer wässrigen Phase wieder hydratisiert und durch Rühren, Ultraschallbehandlung oder Extrusion dispergiert, wobei sich die Polymersomen bilden.

3.1.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Bei der Anwendung als Vektor enthalten Nanokapseln meist lipophile und Polymersomen hydrophile Wirkstoffe. Die Wirkstoffe werden während der Herstellung der Vektoren verkapselt: Bevor die Nanokapseln durch Grenzflächenabscheidung erzeugt werden, wird der hydrophobe Wirkstoff in der Ölphase gelöst. Im Fall der Polymersomen erfolgt eine passive Verkapselung, bei der die Hydratisierung des Polymerfilms in Gegenwart des hydrophilen Wirkstoffs stattfindet.

Mit diesen beiden Arten von polymerbasierten Vesikeln können Wirkstoffe geschützt und ihre Toxizität verringert werden. Die Wirkstoffabgabe erfolgt durch Diffusion oder durch den Abbau der Polymermembran im biologischen Medium.

Mosqueira et al. beschrieben kürzlich die Nanoverkapselung von Halofantrin.^[84] Dieses wirkungsvolle Antimalariamedikament wird dann eingesetzt, wenn Chloroquin und Chinin versagen. Allerdings ist Halofantrin toxisch (es kann zum Herzstillstand führen) und wegen seiner Hydrophobie nur wenig bioverfügbar. Durch Einschluss in Poly- ϵ -caprolacton-Nanokapseln konnten die Herzrisiken erheblich verringert und die letale Dosis von 200 auf 300 mg kg⁻¹ erhöht werden. Die Ergebnisse zeigen, dass die Nanoverkapselung in Poly- ϵ -caprolacton die Anwendung des Wirkstoffs verbessert, vor allem dank der größeren In-vivo-Stabilität des Polymers (verglichen mit Polymeren wie Polymilchsäure-Polyethylen-glycol (PLA-PEG), die normalerweise für Nanokapseln verwendet werden).

Ähnlich wie bei den Nanokugelchen kann man die Oberfläche der Nanokapseln funktionalisieren, z.B. mit PEG-Ketten, die die Verweildauer im biologischen Medium erhöhen, oder mit spezifischen Liganden, die den Transport gezielt zu einem bestimmten Ort lenken.

Polymersomen lassen sich vielseitiger einsetzen als Nanokapseln, denn man kann, zusätzlich zu den hydrophilen Wirkstoffen, die sich in den wässrigen Hohlräumen befinden, auch hydrophobe Wirkstoffe in ihren Membranen transportieren. Diese Strategie wurde für den Transport der Antitumorwirkstoffe Paclitaxel (hydrophob) und Doxorubicin (hydrophil) angewendet.^[85] Doxorubicin wurde in den inneren Hohlräumen der Polymersome verkapselt, während Paclitaxel bei der Herstellung des Polymerfilms in die Polymerdoppelschicht integriert wurde. Durch den Einsatz dieser Wirkstoffkombination konnte die Effizienz des Antitumor-makaments erhöht werden. Die Polymersome wurden mit einer Mischung aus zwei Blockcopolymeren hergestellt: biologisch abbaubares PLA-PEG und inertes Polyethylenglycol-Polybutadien (PEG-PBD). Die Hydrolyse von PLA-PEG führte zur Bildung von Poren in der Membran, wodurch die Abgabe der beiden Wirkstoffe gesteuert werden konnte. Verglichen mit der getrennten Anwendung der beiden Wirkstoffe, konnte mit der Polymersom-Wirkstoffkombination die Apoptoserate in den Tumoren innerhalb von zwei Tagen verdoppelt werden.

Polymersome sind zwar effizient, aber ihre Unbeständigkeit, die zur ungewollten Abgabe von Wirkstoffen führt, ist ein schwerwiegender Nachteil. Außerdem wird für die passive Verkapselung eine große Wirkstoffmenge benötigt, da die Wirkstoffkonzentration in den Polymersomen nur so hoch ist wie in der wässrigen Lösung, die zur Hydratisierung des Polymerfilms verwendet wird.

Die Herstellung von Nanokapseln und Polymersomen im industriellen Maßstab ist beschränkt möglich und führt zu toxischen Nebenprodukten, die nur schwer entfernt werden können.

3.2. Liposome^[86]

3.2.1. Struktur und Eigenschaften

Liposome sind Vesikel, die durch Selbstorganisation einer oder mehrerer Phospholipid-Doppelschichten gebildet werden, die einen Hohlraum mit einer wässrigen Phase um-

schließen. Da ihre Struktur derjenigen von Phospholipidmembranen lebender Zellen ähnelt, haben sie das Interesse von zahlreichen Arbeitsgruppen in unterschiedlichen Bereichen wie physikalischer Chemie, Biophysik und Pharmazie geweckt.

Die Struktur von Liposomen hängt von der Zusammensetzung und der Herstellungsmethode ab. Ihre Herstellung umfasst meist die folgenden Schritte:^[87]

- Lösen der Lipide in einem organischen Solvens;
- Verdampfen des Solvens;
- Dispergieren der getrockneten Lipide in einer wässrigen Phase.

Die Synthesen unterscheiden sich durch die Methode, mit der die getrockneten Lipide dispergiert werden: Hydratierung des Phospholipidfilms, Ultraschallbehandlung, Mikrofluidisierung, Extrusion, Umkehrphasenverdampfung, Etherinfusion, Injektion einer Ethanollösung, Gefriertrocknung/Rehydratisierung, Einfrieren/Auftauen, Tensidentfernung oder Elektroformation.

Die Eigenschaften von Liposomen hängen mit der Herstellungsmethode zusammen. Insbesondere die mittlere Größe kann zwischen einigen Dutzend Nanometern und einhundert Mikrometern variieren. Sie können außerdem aus einer oder mehreren Lipid-Doppelschichten bestehen. Nach diesen beiden Parametern richten sich ihre Bezeichnungen^[3] (Abbildung 7).

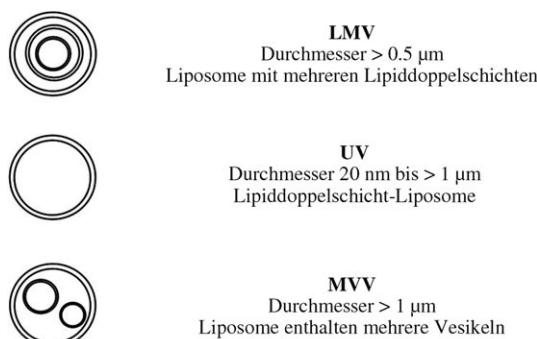


Abbildung 7. Verschiedenartige Liposomstrukturen.

Unilamellare Vesikel werden in drei Gruppen unterteilt:

- SUV (kleine unilamellare Vesikel) mit Durchmessern zwischen 20 und 100 nm;
- LUV (große unilamellare Vesikel) mit Durchmessern über 100 nm;
- GUV (riesige unilamellare Vesikel) mit Durchmessern über 1 µm.

GUV werden häufig eingesetzt, da ihre Größe und Struktur derjenigen von Zellen ähnelt.

3.2.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Liposome haben sich wegen der Unbedenklichkeit ihrer Phospholipidkomponenten schnell zu idealen Kandidaten für

Wirkstoffvektoren in biologischen Medien entwickelt. Ähnlich wie Polymersome können Liposome sowohl hydrophobe Wirkstoffe (in ihrer Doppelschicht) als auch hydrophile Wirkstoffe (im Hohlraum) transportieren.

Für hydrophile Wirkstoffe sind zahlreiche Verkapselungsmethoden beschrieben worden, die sich nach den Eigenschaften der Wirkstoffmoleküle und dem Aufbau der Liposome richten. Die einfachste Methode ist die passive Verkapselung (wie bei Polymersomen), bei der der Lipidfilm in Gegenwart des Wirkstoffs hydratisiert wird.^[88] Aktive Verkapselungsmethoden^[89,90] beruhen auf Konzentrations- und pH-Gradienten und werden nach der Bildung der Liposome angewendet. Hydrophobe Wirkstoffe werden mit den Phospholipiden gemischt, bevor der Lipidfilm gebildet wird.

Man kann die Membran der Liposomen so konstruieren, dass sie auf verschiedene Umgebungsparameter anspricht, und auf diese Weise mehrere Mechanismen für die Wirkstoffabgabe realisieren. Beispielsweise wurden Liposome entwickelt, die beim physiologischen pH-Wert von 7.4 stabil sind und unter sauren Bedingungen (z.B. in Tumoren oder Endosomen) ihren Wirkstoff abgeben.^[91] Diese Liposomen werden entweder aus geladenen Phospholipiden oder aus neutralen Phospholipiden, die in einem bestimmten pH-Bereich hydrolysierten, aufgebaut.

Phospholipidliposomen, die Disulfidbrücken enthalten, reagieren auf das Redoxpotential des Mediums. Eine Reduktion dieser Bindungsmotive zerstört die Liposome und führt zur Abgabe der verkapselften Wirkstoffe.^[92]

Mit Lipiden wie 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholin, das zwischen 41 und 43°C einen Phasenübergang aufweist, wurden temperaturempfindliche Liposome entwickelt, die in Verbindung mit Hyperthermiebehandlungen eingesetzt werden könnten, z.B. um Wirkstoffe in feste Tumore zu transportieren.^[93]

Auf der Oberfläche von Liposomen können Liganden gebunden werden, mit deren Hilfe die verkapselften Wirkstoffe gezielt zu bestimmten Orten transportiert werden können.^[94] Entsprechende Liganden könnten Antikörper sein, die an bestimmte Zellrezeptoren binden, oder auch weniger spezifische Gruppen wie Folat oder Selectin.

Virosome sind ein weiteres Beispiel für oberflächenfunktionalisierte Liposome, die bestimmte Ziele ansteuern können. Sie bestehen im Allgemeinen aus Phosphatidylcholin und Virusproteinen wie Hämaggglutinin (HA) und Neuraminidase in seiner biologisch aktiven Konformation. Wenn HA anwesend ist, werden Virosome von Immunzellen erkannt, sodass sie häufig bei Impfungen für den Transport von Antigenen eingesetzt werden.^[95]

Durch die Anbindung von PEG-Ketten^[96] können Liposome vor der Erkennung durch Monocyten und Makrophagen in der Leber und der Milz geschützt werden und länger im Blutkreislauf verweilen. Das Medikament Doxil, das zur Chemotherapie von Tumorpatienten eingesetzt wird, beruht auf Liposomen mit oberflächengebundenen Methoxypolyethylenglycol(MPEG)-Einheiten.

Liposome sind mittlerweile zu ausgeklügelten und vielseitigen Vektorsystemen entwickelt worden, die einen vollständig steuerbaren, ortsspezifischen Wirkstofftransport ermöglichen. Allerdings müssen diese komplexen Systeme

genau an den zu transportierenden Wirkstoff und die gewünschte Anwendung angepasst werden.

Die physikalische und chemische Stabilität setzt der Anwendung von Liposomen als Vektoren ebenfalls Grenzen. Die geringe Stabilität beruht in chemischer Hinsicht auf der Hydrolyse der Lipidesterbindungen und in physikalischer Hinsicht auf der Aggregation oder Vereinigung von mehreren Liposomen. Dabei können große Objekte entstehen, die nicht mehr als Vektoren geeignet sind und undicht werden, sodass die eingeschlossenen Wirkstoffe vor dem Erreichen der Zielorte abgegeben werden.

Bei ihrer Herstellung werden organische Solventien benötigt, sodass sie Spuren toxischer Verbindungen enthalten können.

3.3. Niosome

3.3.1. Struktur und Eigenschaften

Niosome^[80] bestehen aus nichtionischen Tensiden, die eine sphärische Doppelschicht bilden und einen Hohlraum mit einer wässrigen Phase umschließen (die Struktur entspricht genau der von Liposomen und Polymersomen). In der Literatur wurden verschiedene Herstellungsmethoden für Niosome beschrieben.^[97]

Wie im Fall der Liposome kann die Rehydratisierung eines Tensidfilms angewendet werden. Man kann auch Niosome erhalten, indem man die Tenside in einem organischen Solvens löst, mit Wasser eine Öl-in-Wasser-Emulsion herstellt und dann das organische Solvens verdampfen lässt. Daneben wurden auch Methoden entwickelt, die keine organischen Solventien (die schwierig zu entfernen und in manchen Fällen toxisch sind) erfordern. Ein Beispiel ist die Injektion von geschmolzenen Tensiden in eine erwärme, intensiv gerührte wässrige Phase.

Niosome, die mit diesen Methoden hergestellt werden, weisen Durchmesser im Mikrometerbereich auf. Mit verschiedenen Techniken lässt sich ihre Größe auf ca. 300 nm reduzieren. Beispiele sind die Anwendung von Ultraschall, Mikrofluidisierung, Extrusion, Hochdruckhomogenisierung oder eine Kombination von Ultraschallbehandlung und Filtration.

Bei der Herstellung von Niosomen müssen meist Verbindungen wie Cholesterin zugesetzt werden, die die Doppelschicht stabilisieren, sowie Substanzen, die mithilfe von sterischen oder elektrostatischen Wechselwirkungen eine Aggregation der Niosome verhindern.

3.3.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Niosome können genau wie Liposome hydrophobe Wirkstoffe in ihrer Doppelschicht und hydrophile Substanzen in ihrem wässrigen Hohlraum transportieren. Im Unterschied zu Phospholipidliposomen sind Niosome, die aus Tensiden bestehen, nicht empfindlich gegenüber Hydrolyse oder Oxidation. Diese Eigenschaft ist von Vorteil für Anwendungen in biologischen Medien. Tenside sind außerdem billiger als Phospholipide und können leichter gelagert werden. Ein weiterer Vorteil von Niosomen gegenüber Liposomen besteht

darin, dass sie aus vielen verschiedenen Tensiden hergestellt werden können, sodass man die hydrophilen Kopfgruppen der Tenside entsprechend den gewünschten Anwendungen und Zielorten auswählen kann.^[97] Insbesondere wurden Niosome aus Tensiden hergestellt, die Glycerin-,^[98] Ethylenoxid-,^[99] Kronenether-,^[100] polyhydroxylierte^[101] oder von Zuckern abgeleitete^[102] polare Kopfgruppen trugen.

Hydrophile Wirkstoffe werden während der Herstellung der Niosome mit der passiven Methode (bei der der Wirkstoff in der wässrigen Phase gelöst wird) verkapselt. Hydrophobe Wirkstoffe werden vor der Herstellung der Niosome einfach mit den Tensiden gemischt.

Die Verkapselung der Wirkstoffe in Niosomen kann ihre Toxizität reduzieren, ihre Absorption durch Zellmembranen erhöhen und den gezielten Transport zu bestimmten Organen oder Geweben ermöglichen. In Analogie zu Virosomen wurden vor kurzem Niosome entwickelt, deren Oberfläche mit Antikörpern funktionalisiert war.^[103] Diese neuen „Immunträger“ zeigten bei ersten Tests mit Modellzellen einen sehr zielgerichteten Transport.

Niosomsysteme sind für den Wirkstofftransport inzwischen ebenso leistungsfähig wie Liposome, wobei die Nachteile der Phospholipide vermieden werden. Allerdings weisen die Membranen der Niosome eine gewisse Durchlässigkeit für niedermolekulare Substanzen auf, sodass die verkapselten Wirkstoffe mit der Zeit aus dem wässrigen Hohlraum abgegeben werden. Obwohl die toxikologischen Eigenschaften ein wesentlicher Aspekt für die pharmazeutische Anwendung von Vektoren sind, gibt es bisher kaum Untersuchungen zur Toxizität von Niosomen.

3.4. Katanionische Vesikel

3.4.1. Struktur und Eigenschaften

Katanionische Amphiphile sind im Allgemeinen zweikettige Systeme, die sich bei der Mischung von entgegengesetzten geladenen Tensiden in Wasser bilden (Abbildung 8).

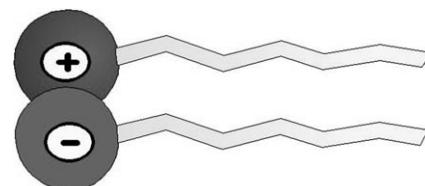


Abbildung 8. Ein zweikettiges katanionisches Amphiphil.

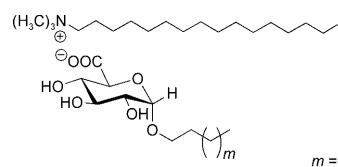
Hinsichtlich der Herstellung dieser Systeme muss man zwischen katanionischen Mischungen und katanionischen Tensiden (reinen Ionenpaarsystemen)^[104] unterscheiden. Mit der zweiten Kategorie sind Systeme gemeint, in denen die anorganischen Gegenionen, die ursprünglich mit den amphiphilen Ionen assoziiert waren, entfernt wurden. In katanionischen Mischungen dagegen verbleiben die Gegenionen in der Lösung. Da manche Salze toxisch sind, müssen für Vektoranwendungen diese Rückstandssalze entfernt werden.

Für katanionische Tenside (ohne Rückstandssalze) wurden vier Herstellungsmethoden beschrieben:^[105–107]

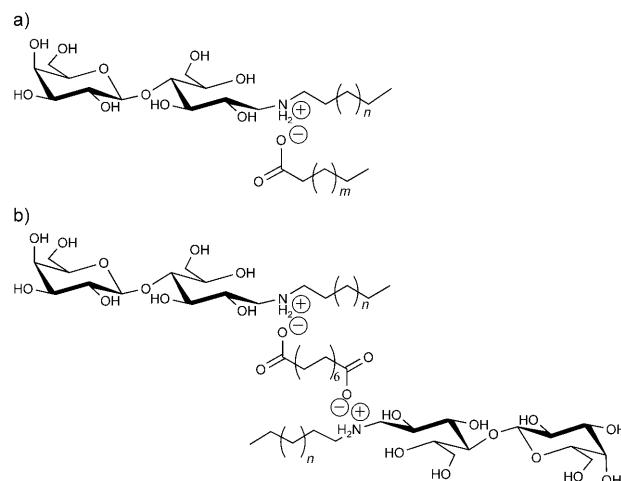
- Bei der Extraktionsmethode^[105] werden äquimolare Mengen der entgegengesetzt geladenen, zuvor in Wasser gelösten Tenside gemischt. Mit einem geeigneten organischen Solvens wird dann das katanionische Tensid extrahiert, während das Salz in der wässrigen Phase verbleibt.
- Die Fällungsmethode kann auf zwei Arten angewendet werden:^[105] Bei der ersten Variante wird zunächst aus der wässrigen Lösung eines Kalium-, Natrium- oder Lithiumsalzes des anionischen Tensids das Silbersalz des Tensids ausgefällt. Der Niederschlag wird gereinigt und in einer Mischung aus Wasser und einem organischen Solvens gelöst. Dann wird ein Äquivalent eines Halogenidsalzes (Bromid oder Chlorid) des kationischen Tensids zu der Lösung gegeben. Das ausgefallene Silberhalogenid wird durch Filtrieren abgetrennt, und man erhält das reine katanionische Tensid. Bei der zweiten Variante stellt man eine übersättigte wässrige Lösung äquimolarer Mengen der beiden entgegengesetzt geladenen Tenside her. Dabei fällt das katanionische Tensid aus, das durch Filtration gesammelt werden kann, während das Rückstandssalz in der Lösung verbleibt.
- Häufig angewendet wird die Ionenaustauschmethode,^[105] bei der mithilfe geeigneter Ionenaustauscher das Hydroxid des kationischen Tensids sowie die protonierte Form des anionischen Tensids erhalten werden. Die beiden Tensidlösungen werden dann gemischt, wobei in einer Säure-Base-Reaktion das reine katanionische Tensid entsteht. Beispielsweise stellten Zemb et al. katanionische Tenside her, indem sie Myristinsäure mit Cetyltrimethylammoniumhydroxid (CTAOH) mischten, nachdem zuvor das Chloridion in Cetyltrimethylammoniumchlorid gegen ein Hydroxidion ausgetauscht worden war.^[106–108]
- Eine originäre Protonenaustauschmethode wurde von unserer Arbeitsgruppe beschrieben.^[109,110] Dabei wird ein Tensid, das von einem Aminozucker abgeleitet wurde, mit einem Äquivalent eines Tensids, das eine Säuregruppe enthält, in Wasser gemischt. Eine einfache Säure-Base-Reaktion ergibt dann das katanionische Tensid ohne Rückstandssalz.

Katanionische Tenside können in Wasser spontan Vesikel bilden.^[111,112] Allerdings kommt es in den meisten Fällen zur Bildung eines Niederschlags, wenn man äquimolare Mengen entgegengesetzt geladener Amphiphile mischt.^[111] Die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Ladungen führen zum Schrumpfen der polaren Kopfgruppen. Die Hydrophilie des Systems verringert sich, und die schwache Solvatation erschwert die Solubilisierung. Katanionische Vesikel werden daher im Allgemeinen mit einem positiven oder negativen Ladungsüberschuss hergestellt.

Menger et al.^[113] beschrieben 1997 das erste wasserlösliche katanionische Tensid, das auf einem glycosidischen Amphiphil beruht (Schema 2). In unserer Arbeitsgruppe wurden ebenfalls verschiedenartige wasserlösliche katanionische Tenside hergestellt,^[109,110,114–116] die sich von Zuckern ableiten und hinreichend hydrophil sind (Schema 3).



Schema 2. Struktur des ersten katanionischen Tensids mit einem Zuckerderivat.



Schema 3. Zweikettige (a) und Zwillingsstrukturen (b) von katanionischen Tensiden.

In einigen Arbeitsgruppen wurde auch untersucht, ob Vesikel, die durch Mischen äquimolarer Mengen entgegengesetzt geladener Tenside (ohne Rückstandssalze) erhalten wurden, hydrophile Testsubstanzen verkapseln. Für die Solubilisierung der äquimolaren katanionischen Tenside war allerdings eine zusätzliche Energiezufuhr durch Ultraschallbehandlung notwendig.

Fukuda et al. stellten ein katanionisches Tensid her, indem sie Trimethyl-*n*-hexadecylammoniumhydroxid mit einem Äquivalent Palmitinsäure mischten. Die Ultraschallbehandlung einer Dispersion dieses Tensids in Wasser führte zur Bildung von Vesikeln, in denen 0.9% Riboflavin verkapselt werden konnte.^[117]

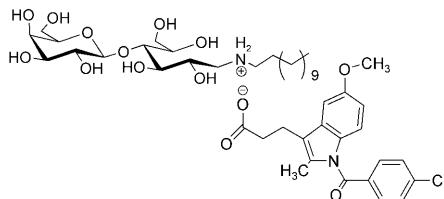
Bhattacharya et al. untersuchten katanionische Tenside, die aus verschiedenen Mischungen von Bolaamphiphil-Tensiden, die zwei Säuregruppen enthielten, und zwei Äquivalenten CTAOH erhalten wurden. Diese katanionischen Tenside bildeten bei Ultraschallbehandlung in Wasser ebenfalls Vesikel, in denen bis zu 2.28% Riboflavin verkapselt werden konnte.^[118]

Tondre et al. untersuchten das Verkapselungsvermögen von katanionischen Vesikeln, die aus einer äquimolaren Mischung von Dodecylbenzolsulfonsäure und CTAOH erhalten wurden. In diesen Vesikeln konnte ca. 2.5% Glucose verkapselt werden.^[119] Diese katanionischen Vesikel waren allerdings merklich permeabel: Nach 24 h war nur noch 8% der ursprünglichen Glucosemenge in den wässrigen Hohlräumen der Vesikel enthalten.

Katanionische Vesikel, die aus äquimolaren Mengen beider Tensidarten und ohne Rückstandssalze hergestellt wurden, wurden bisher nur in wenigen Studien hinsichtlich ihres Verkapselungsvermögens von hydrophilen Substanzen untersucht. Aber bereits diese ersten Arbeiten haben gezeigt, dass katanionische Tenside in Lösung Vesikel bilden, in denen ein bestimmter Anteil einer Testsubstanz, die sich in der Lösung befindet, verkapselt wird.

3.4.2. Anwendungen in der Entwicklung von Vektorsystemen

Die Anwendung von katanionischen Vesikeln als Vektoren wurde noch nicht umfassend untersucht.^[112] Ein neues Konzept beruht auf der direkten Assoziation von Tensiden mit potentiell ionisierbaren Wirkstoffen, die zusammen katanionische Einheiten bilden.^[120,121] Unseres Wissens hat bislang nur ein Ansatz aus unserer Arbeitsgruppe zu einer Weiterentwicklung in der Industrie geführt. Dieser Ansatz nutzt die direkte Assoziation eines entzündungshemmenden Wirkstoffs mit einem amphiphilen Zuckerderivat; das gebil-



Schema 4. Struktur eines katanionischen Tensids aus einem entzündungshemmenden Wirkstoff und einem zuckerbasierten Tensid.

dete katanionische Tensid (Schema 4) soll für den Wirkstofftransport durch die Haut eingesetzt werden.

Die spontane Bildung von Vesikel aus dem katanionischen Tensid erhöht die entzündungshemmende Aktivität des Wirkstoffs und führt zu einer kontrollierten Aufnahme durch die Haut über einen längeren Zeitraum. Außerdem wird der Wirkstoff vor schädlicher Strahlung geschützt.^[122,123]

Kürzlich beschäftigten sich Lindman et al. mit Anwendungen von katanionischen Tensiden zur Transfektion.^[124] Dazu wurde ein dreikettiges katanionisches Tensid synthetisiert, das ein Zuckerderivat enthält (Schema 5) und stabile Vesikel bildet, die sich als Wirkstoffvektoren eignen könnten. Die Aggregationseigenschaften und das Verkapselungsvermögen dieses katanionischen Tensids wurden in Wasser und Phosphatpuffer untersucht.^[125,126] In beiden Medien bildeten

sich spontan Vesikel, in denen 8 % der hydrophilen Testsubstanz Arbutin verkapselt werden konnten. Dies ist eine der besten Verkapselungseffizienzen, die bisher für katanionische Vesikel mit äquimolaren Tensidanteilen erzielt wurden.^[118,119,127] In den wässrigen Hohlräumen der Vesikel, die von dem dreikettigen katanionischen Tensid gebildet werden, bleiben Wirkstoffe mindestens 30 h eingeschlossen. Auch dieser Wert für das Retentionsvermögen zählt zu den besten, die bei katanionischen äquimolaren Systemen bisher beobachtet wurden. Das dreikettige katanionische Tensid könnte daher die Basis für ein vielversprechendes Wirkstofftransportsystem bilden, mit dem sich Wirkstoffe einfach während der spontanen Selbstorganisation der Tenside in Wasser verkapseln lassen.

Bisher haben sich nur wenige Studien mit der Anwendung von katanionischen Vesikeln als Wirkstoffvektoren beschäftigt. Dennoch könnten diese Vektoren die Vorteile mehrerer bestehender Systeme vereinigen:

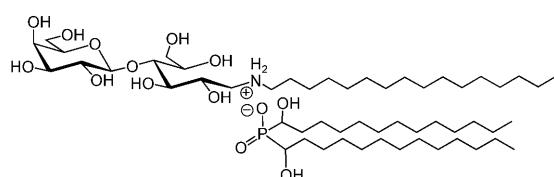
- Ähnlich wie Liposome, Polymersome, Nanokapseln und Niosome sind katanionische Vesikel Reservoirsysteme, in denen Wirkstoffe verkapselt werden können, sodass sie vor der biologischen Umgebung geschützt, weniger toxisch und in höherem Maß bioverfügbar sind.
- Katanionische Vesikel verfügen über flexible Transporteigenschaften, denn sie können (wie Liposome, Polymersome und Niosome) hydrophobe Wirkstoffe in ihrer Membran und hydrophile Wirkstoffe in ihrem inneren Hohlraum transportieren. Ähnlich wie bei Niosomen stehen viele verschiedene Tenside für ihre Herstellung zur Verfügung, sodass man die Struktur der polaren Kopfgruppe an die Anwendung und den gewünschten Zielort anpassen kann.
- Ein großer Vorteil für die industrielle Herstellung von katanionischen Vesikeln besteht darin, dass sie sich wie Micellen in Wasser spontan bilden. Auch werden für ihre Herstellung weder organische Solventien noch andere potenziell toxische Substanzen benötigt.
- Da die Systeme mehrere Ladungen tragen und wahrscheinlich positiv und negativ geladene Mikrodomänen bilden, sind starke elektrostatische Wechselwirkungen zu erwarten; diese Wechselwirkungen könnten ausgeprägte Membranfusionsprozesse mit Zellen induzieren und so die Effizienz von Vektoranwendungen erhöhen.

Durch die beschriebenen Eigenschaften haben katanionische Vesikel ein großes Potential für Vektoranwendungen, das bisher kaum untersucht wurde.

4. Schlussfolgerungen

Seit Paul Ehrlich 1906 über „Zauberkugeln“ nachdachte, die Medikamente gezielt zu bestimmten Zielorten transportieren könnten, hat die Entwicklung von Wirkstofftransportsystemen große Fortschritte gemacht.

Alle bisher entwickelten Vektorsysteme – gleich ob Matrixsysteme oder Vesikel – haben bemerkenswerte Eigenschaften, die in vielen Fällen zur Verbesserung der therapeutischen Effizienz von Wirkstoffen beitragen. Ein Beispiel



Scheme 5. Das dreikettige katanionische Tensid 1-N-Hexadecylammonium-1-desoxylactit-bis(α-hydroxydodecyl)phosphinat.

sind Antitumorwirkstoffe, deren physikochemische Eigenschaften für den Durchtritt durch biologische Membranen hinderlich sind. Der Wirkstofftransport zu bestimmten Zielorten wurde durch die Anbindung von spezifischen Liganden an die Vektoren optimiert. Durch diese Maßnahmen konnte schließlich auch die Toxizität mancher Wirkstoffe, z.B. von Halofantrin, erheblich reduziert werden.

Allerdings schränken auch einige Nachteile die Anwendung dieser Vektorsysteme ein. Insbesondere müssen komplexere Systeme häufig genau an den zu transportierenden Wirkstoff angepasst werden, was eine Herstellung im industriellen Maßstab erschwert. Außerdem kann die Verwendung von organischen Solventien oder toxischen Reagentien, die kaum vollständig entfernt werden können, zu Risiken führen.

Katianionische Vesikel bilden sich spontan in wässriger Phase. Sie vereinigen mehrere Vorteile der bisher entwickelten Vektorsysteme und könnten möglicherweise einige der Probleme lösen, denen man bei der Herstellung von Vektorsystemen im industriellen Maßstab begegnet. Katianionische Vesikel zeichnen sich durch vielseitige Transporteigenschaften aus, und für ihre Herstellung stehen viele verschiedene Tenside zur Verfügung. Durch die Auswahl geeigneter Tenside kann man die Eigenschaften der Vesikel auf den gewünschten Zielort des Wirkstofftransports abstimmen.

Ein gutes Wirkstoffsystem hat die Eigenschaft, dass der Wirkstoff an der richtigen Stelle und in der richtigen Konzentration sein Ziel erreicht. Dank der Fortschritte in der Vektorentwicklung lassen sich die entsprechenden Parameter nun besser einstellen, wodurch die therapeutische Effizienz von Wirkstoffen verbessert und ihre Toxizität verringert werden können. Dennoch ist es wünschenswert, weniger komplexe Vektorsysteme zu entwickeln, die sich einfacher an verschiedene Anwendungen anpassen lassen und leichter im industriellen Maßstab hergestellt werden können. Auf diese Weise ließen sich die Anwendungsmöglichkeiten im Bereich des Wirkstofftransports erheblich erweitern.

Wir danken Dr. Emile Perez für seine wertvolle Hilfe bei der Erstellung der Vortitelbilds.

Eingegangen am 26. Mai 2008

Online veröffentlicht am 12. Dezember 2008

Übersetzt von Dr. Christian Bahr, Schildow

- [1] G. E. Hildebrand, S. Harnisch, *Mod. Biopharm.* **2005**, *4*, 1361.
- [2] K. Kataoka, A. Harada, Y. Nagasaki, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *47*, 113.
- [3] M. Malmsten, *Surfactants and Polymers in Drug Delivery*, Marcel Dekker, New York, **2002**.
- [4] M. Yokoyama, G. S. Kwon, T. Okano, Y. Sakurai, T. Seto, K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.* **1992**, *3*, 295.
- [5] T. S. Wiedmann, L. Kamel, *J. Controlled Release* **2002**, *24*, 119.
- [6] S. Mall, G. Buckton, D. A. Rawlins, *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 75.
- [7] M. Yokoyama, M. Miyauchi, N. Yamada, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, S. Inoue, *Cancer Res.* **1990**, *50*, 1693.
- [8] V. H. L. Lee, A. Yamamoto, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1990**, *4*, 171.
- [9] V. P. Torchilin, *J. Controlled Release* **2001**, *73*, 137.
- [10] K. Kataoka, *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.* **1994**, *31*, 1759.
- [11] G. S. Kwon, K. Kataoka, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1995**, *16*, 295.
- [12] M. F. Francis, M. Cristea, F. M. Winnik, *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76*, 1321.
- [13] H. Frey, R. Haag, *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 257.
- [14] R. K. Kainthan, J. Janzen, E. Levin, D. V. Devine, D. E. Brooks, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 703.
- [15] Y. Zeng, W. G. Pitt, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2006**, *17*, 591.
- [16] T. J. Martin, K. Prochazka, P. Munk, S. E. Webber, *Macromolecules* **1996**, *29*, 6071.
- [17] Y. Mitsukami, M. S. Donovan, A. B. Lowe, C. L. McCormick, *Macromolecules* **2001**, *34*, 2248.
- [18] S. Tamilvanan, *Prog. Lipid Res.* **2004**, *43*, 489.
- [19] S. Bjerregaard, I. Soderberg, C. Vermehren, S. Frokjaer, *Int. J. Pharm.* **1999**, *193*, 1.
- [20] S. Fukushima, S. Kishimoto, Y. Takeuchi, M. Fukushima, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2000**, *45*, 65.
- [21] R. Jeppsson, S. Ljungberg, *Acta Pharmacol. Toxicol.* **1975**, *36*, 312.
- [22] M. J. Lawrence, W. Warisnoicharoen, *Nanopart. Drug Carriers* **2006**, *8*, 125.
- [23] W. Junping, K. Takayama, T. Nagai, Y. Maitani, *Int. J. Pharm.* **2003**, *251*, 13.
- [24] G. M. Tejado, S. Bouttier, J. Fourniat, J. L. Grossiord, J. P. Marty, M. Seiller, *Int. J. Pharm.* **2005**, *288*, 63.
- [25] F. Cournaire, M. P. Savelli, W. Rosilio, F. Bretez, C. Vauthier, J. L. Grossiord, M. Seiller, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *58*, 477.
- [26] S. Higashi, T. Setoguchi, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2000**, *45*, 57.
- [27] D. A. Tomalia, H. Baker, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, *Polym. J.* **1985**, *17*, 117.
- [28] C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7638.
- [29] M. Mammen, S. K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754.
- [30] U. Boa, P. M. H. Heegaard, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 43.
- [31] L. Tian, K. Stokes, P. Nguyen, P. T. Hammond, *PMSE Prepr.* **2006**, *95*, 166.
- [32] M. X. Tang, F. C. Szoka, *Gene Ther.* **1997**, *4*, 823.
- [33] B. H. Zinselmeyer, S. P. Mackay, A. G. Schatzlein, I. F. Uchegbu, *Pharm. Res.* **2002**, *19*, 960.
- [34] C. Loup, M.-A. Zanta, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, B. Meunier, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 3644.
- [35] A.-M. Caminade, C.-O. Turrin, J.-P. Majoral, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 7422.
- [36] M. X. Tang, C. T. Redemann, F. C. J. Szoka, *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 703.
- [37] M. Liu, J. M. J. Fréchet, *Polym. Mater. Sci. Eng.* **1999**, *80*, 167.
- [38] M. Liu, K. Kono, J. M. J. Fréchet, *J. Controlled Release* **2000**, *65*, 121.
- [39] J. F. G. A. Jansen, E. M. M. De Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *Science* **1994**, *266*, 1226.
- [40] J. F. G. A. Jansen, E. M. M. De Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *Polym. Mater. Sci. Eng.* **1995**, *73*, 123.
- [41] J. F. G. A. Jansen, E. W. Meijer, E. M. M. De Brabander-van den Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4417.
- [42] J. F. G. A. Jansen, E. W. Meijer, E. M. M. De Brabander-van den Berg, *Macromol. Symp.* **1996**, *102*, 27.
- [43] M. R. Radowski, A. Shukla, H. von Berlepsch, C. Bottcher, G. Pickaert, H. Rehage, R. Haag, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1287; *Angew. Chem. int. Ed.* **2007**, *46*, 1265.
- [44] R. Haag, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 280; *Angew. Chem. int. Ed.* **2004**, *43*, 278.
- [45] A. S. Hoffman, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 3.
- [46] S. H. Jeong, K. M. Huh, K. Park, *Polymers in Drug Delivery*, Taylor & Francis, Boca Raton, **2005**, S. 49.
- [47] P. M. De La Torre, S. Torrado, S. Torrado, *Biomaterials* **2003**, *24*, 1459.
- [48] Y. Kumashiro, *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 874.

- [49] S. Zhang, *Biotechnol. Adv.* **2002**, *20*, 321.
- [50] Y. H. Bae, S. W. Kim, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1993**, *11*, 109.
- [51] O. Wichterle, D. Lim, *Nature* **1960**, *185*, 117.
- [52] L. E. Bromberg, E. S. Ron, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1998**, *31*, 197.
- [53] Y. H. Bae, T. Okano, S. W. Kim, *Pharm. Res.* **1991**, *8*, 624.
- [54] Y. H. Bae, T. Okano, S. W. Kim, *Pharm. Res.* **1991**, *8*, 531.
- [55] S. H. Yuk, S. H. Cho, S. H. Lee, *Macromolecules* **1997**, *30*, 6856.
- [56] N. A. Peppas, J. J. Sahlin, *Biomaterials* **1996**, *17*, 1553.
- [57] J. Z. Hilt, M. E. Byrne, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, *56*, 1599.
- [58] N. A. Peppas, J. Z. Hilt, A. Khademhosseini, R. langer, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 1345.
- [59] K. Letchford, H. Burt, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2007**, *65*, 259.
- [60] P. Couvreur, C. Dubernet, F. Puissieux, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1995**, *41*, 2.
- [61] G. Storm, S. O. Belliot, T. Daemen, D. D. Lasic, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1995**, *17*, 31.
- [62] I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 631.
- [63] H. R. Kim, K. Andrieux, P. Couvreur, *Colloids Interface Sci. Ser.* **2007**, *3*, 409.
- [64] C. Vauthier, P. Couvreur, *J. Biomed. Nanotechnol.* **2007**, *3*, 223.
- [65] D. Sharma, T. P. Chelvi, J. Kaur, K. Chakravorty, T. K. De, A. Maitra, R. Ralhan, *Oncol. Res.* **1996**, *8*, 281.
- [66] S. Mitra, U. Gaur, P. C. Gosh, A. Maitra, *J. Controlled Release* **2001**, *74*, 317.
- [67] K. B. Chalasani, G. J. Russel-Jones, S. K. Yandrapu, P. V. Diwan, S. K. Jain, *J. Controlled Release* **2007**, *117*, 421.
- [68] R. H. Müller, K. Mäder, S. Gohla, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2000**, *50*, 161.
- [69] M. R. Gasco, *Pharm. Technol. Eur.* **1997**, *9*, 52.
- [70] B. Siekmann, K. Westesen, *Pharm. Pharmacol. Lett.* **1992**, *1*, 123.
- [71] R. H. Müller, W. Mehnert, J. S. Lucks, C. Schwarz, A. zur Mühlen, H. Weyhers, C. Freitas, D. Rühl, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1995**, *41*, 62.
- [72] H. Bunjes, K. Westesen, M. H. J. Koch, *Int. J. Pharm.* **1996**, *129*, 159.
- [73] K. Westesen, B. Siekmann, M. H. J. Koch, *Int. J. Pharm.* **1993**, *93*, 189.
- [74] J. Pietkiewicz, M. Sznitowska, M. Placzek, *Int. J. Pharm.* **2006**, *310*, 64.
- [75] R. H. Müller, M. Radtke, S. A. Wissing, *Int. J. Pharm.* **2002**, *242*, 121.
- [76] R. H. Müller, M. Radtke, S. A. Wissing, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 5131.
- [77] S. A. Wissing, O. Kayser, R. H. Müller, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, *56*, 1257.
- [78] W. Mehnert, K. Mäder, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *47*, 165.
- [79] S. S. Biju, S. Talegaonkar, P. R. Mishra, R. K. Khar, *Ind. J. Pharm. Sci.* **2006**, *68*, 141.
- [80] I. F. Uchegbu, A. G. Schatzlein, *Nanopart. Drug Carriers* **2006**, *8*, 95.
- [81] C. J. F. Rijcken, O. Soga, W. E. Hennink, C. F. van Nostrum, *J. Controlled Release* **2007**, *120*, 131.
- [82] F. Meng, G. H. M. Engbers, J. Feijen, *J. Controlled Release* **2005**, *101*, 187.
- [83] N. Al Khouri, H. Fessi, J. P. Robot-Treupel, F. Devissaguet, F. Puissieux, *Pharm. Acta Helv.* **1986**, *61*, 274.
- [84] E. A. Leite, A. Grabe-Guimaraes, H. N. Guimaraes, G. L. Machado-Coelho, G. Barrat, V. C. F. Mosqueira, *Life Sci.* **2007**, *80*, 1327.
- [85] F. Ahmed, R. I. Pakunlu, A. Brannan, F. Bates, T. Minko, D. E. Discher, *J. Controlled Release* **2006**, *116*, 150.
- [86] A. Samad, Y. Sultana, M. Aqil, *Curr. Drug Delivery* **2007**, *4*, 297.
- [87] J. Delattre, P. Couvreur, F. Puiseux, J.-R. Philippot, F. Schuber, *Les liposomes, aspects technologiques, biologiques et pharmacologiques*, INSERM, Paris, **1993**.
- [88] J. P. Colletier, B. Chaize, M. Winterhalter, D. Fournier, *BMC Biotechnol.* **2002**, *2*, 9.
- [89] S. A. Abraham, C. McKenzie, D. Masin, R. Ng, T. O. Harasym, L. D. Mayer, M. B. Bally, *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 728.
- [90] P. J. Stevens, R. J. Lee, *Anticancer Res.* **2003**, *23*, 439.
- [91] D. C. Drummond, M. Zignani, J. Leroux, *Prog. Lipid Res.* **2000**, *39*, 409.
- [92] J. X. Zhang, S. Zalipsky, N. Mullah, M. Pechar, T. M. Allen, *Pharmacol. Res.* **2004**, *49*, 185.
- [93] D. Needham, M. W. Dewhirst, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *53*, 285.
- [94] E. Forssen, M. Willis, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1998**, *29*, 249.
- [95] R. Zurbriggen, I. Novak-Hofer, A. Seeling, R. Gluck, *Prog. Lipid Res.* **2000**, *39*, 3.
- [96] A. Gabizon, *Cancer Res.* **1992**, *52*, 891.
- [97] I. F. Uchegbu, S. P. Vyas, *Int. J. Pharm.* **1998**, *172*, 33.
- [98] S. Lesieur, C. Grabielle-Madelmont, M.-T. Paternostre, J.-M. Moreau, R.-M. Handjani-Vila, M. Ollivon, *Chem. Phys. Lipids* **1990**, *56*, 109.
- [99] E. Gianasi, F. Cociancich, I. F. Uchegbu, A. T. Florence, R. Duncan, *Int. J. Pharm.* **1997**, *148*, 139.
- [100] I. A. Darwish, I. F. Uchegbu, *Int. J. Pharm.* **1997**, *159*, 207.
- [101] T. P. Assadullahi, R. C. Hider, A. J. McAuley, *4440 Biochim. Biophys. Acta* **1991**, *1083*, 271.
- [102] A. Polidori, B. Pucci, J. G. Reiss, L. Zarif, A. A. Pavia, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2899.
- [103] E. Hood, M. Gonzalez, A. Plaas, J. Strom, M. VanAuker, *Int. J. Pharm.* **2007**, *339*, 222.
- [104] C. Tondre, C. Caillet, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2001**, *93*, 115.
- [105] A. Khan, E. Marques in *Specialist Surfactants*, Blackie/Chapman & Hall, London, **1997**, S. 37.
- [106] T. Zemb, M. Dubois, B. Deme, T. Gulik-Krzywicki, *Science* **1999**, *283*, 816.
- [107] M. Dubois, B. Deme, T. Gulik-Krzywicki, J. C. Dedieu, C. Vautrin, S. Desert, E. Perez, T. Zemb, *Nature* **2001**, *411*, 672.
- [108] M. Dubois, V. Lizunov, A. Meister, T. Gulik-Krzywicki, J. M. Verbavatz, E. Perez, J. Zimmerberg, T. Zemb, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 15082.
- [109] M. Blanzat, E. Perez, I. Rico-Lattes, A. Lattes, *New J. Chem.* **1999**, *23*, 1063.
- [110] M. Blanzat, E. Perez, I. Rico-Lattes, D. Promé, J. C. Promé, A. Lattes, *Langmuir* **1999**, *15*, 6163.
- [111] E. W. Kaler, A. Kamalakara Murthy, B. E. Rodriguez, J. A. N. Zasadzinski, *Science* **1989**, *245*, 1371.
- [112] T. Bramer, N. Dew, K. Edsman, *J. Pharm. Pharmacol.* **2007**, *59*, 1319.
- [113] F. M. Menger, W. H. Binder, J. S. Keiper, *Langmuir* **1997**, *13*, 3247.
- [114] M. Blanzat, C.-O. Turrin, E. Perez, I. Rico-Lattes, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, *Chem. Commun.* **2002**, 1864.
- [115] M. Blanzat, E. Perez, I. Rico-Lattes, A. Lattes, A. Gulik, *Chem. Commun.* **2003**, *2*, 244.
- [116] I. Rico-Lattes, M. Blanzat, S. Franceschi-Messant, E. Perez, A. Lattes, *C. R. Chim.* **2005**, *8*, 807.
- [117] H. Fuduka, K. Kawata, H. Okuda, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1635.
- [118] S. Bhattacharya, S. De, M. Subramanian, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7640.
- [119] A. Fischer, M. Hebrant, C. Tondre, *J. Colloid Interface Sci.* **2002**, *248*, 163.
- [120] T. Bramer, M. Paulsson, K. Edwards, K. Edsman, *Pharm. Res.* **2003**, *20*, 1661.
- [121] T. Bramer, N. Dew, K. Edsman, *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95*, 769.

- [122] S. Consola, M. Blanzat, E. Perez, J. C. Garrigues, P. Bordat, I. Rico-Lattes, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 3039.
- [123] S. Consola, M. Blanzat, I. Rico-Lattes, E. Perez, P. Bordat, EP2006/064502, **2006**; WO2007039561, **2007**.
- [124] M. Rosa, M. del Carmen Moran, M. Da Graça Miguel, B. Lindman, *Colloids Surf. A* **2007**, *301*, 361.
- [125] E. Soussan, M. Blanzat, I. Rico-Lattes, A. Brun, C. V. Teixeira, G. Brezesinski, F. Al-Ali, A. Banu, M. Tanaka, *Colloids Surf. A* **2007**, *303*, 55.
- [126] E. Soussan, C. Mille, M. Blanzat, P. Bordat, I. Rico-Lattes, *Langmuir* **2008**, *24*, 2326.
- [127] Y. Kondo, H. Uchiyama, N. Yoshino, K. Nishiyama, M. Abe, *Langmuir* **1995**, *11*, 2380.