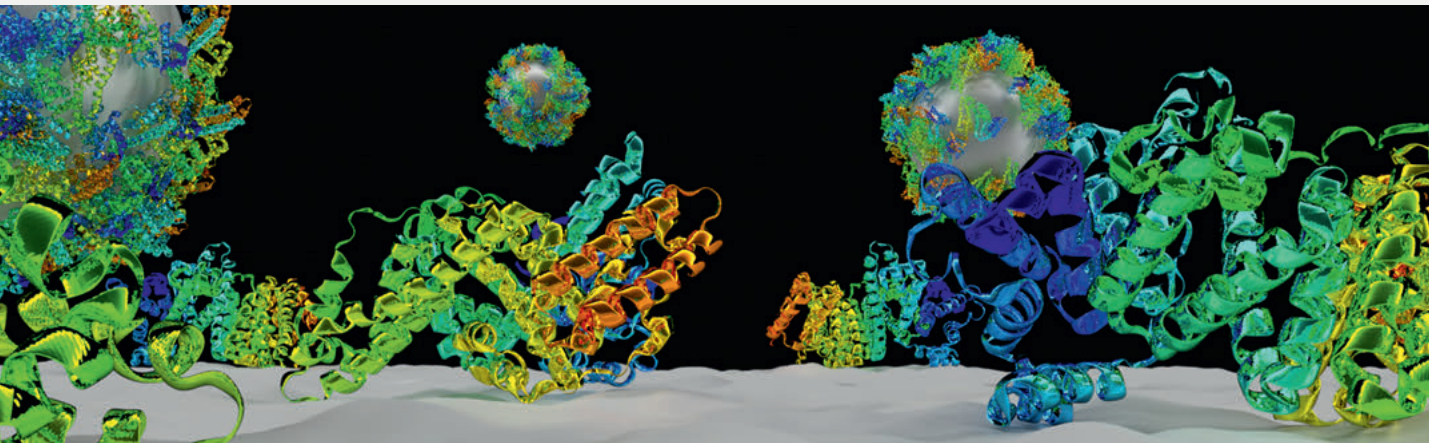


VOLKER MAILÄNDER UND KATHARINA LANDFESTER
MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR POLYMERFORSCHUNG, MAINZ

Wirkstofftransporter für die Nanomedizin



Nanomaterialien für diagnostische und therapeutische Zwecke in der Medizin einzusetzen, ist eins der zukunftsreichsten Felder der Nanotechnologie. Besonders interessant ist es dabei, Medikamente gezielt zu Krankheitsherden zu bringen, statt, wie heute üblich, den ganzen Körper eines Patienten damit zu fluten. So schädigen etwa Krebsmedikamente, die Tumorzellen abtöten sollen, heute immer noch viele andere Zellen. Gelänge es die damit verbundenen gravierenden Nebenwirkungen zu vermeiden, wäre dies ein großer Erfolg. Wir entwickeln daher künstliche Nanotransporter, die Wirkstoffe zu gewünschten Zielzellen im Körper bringen.

Die meist kugelförmigen Nanoträger, die im Durchmesser nur etwa 100 Nanometer messen, sollen Wirkstoffe dabei in hoher Konzentration geschützt durch den Körper transportieren, biologische Barrieren wie etwa die Wände von Blutgefäßen oder bei Bedarf auch die Blut-Hirn-Schranke durchdringen und die Wirkstoffe zielgenau in Organen und anderen Geweben freisetzen. Indem solche Nanotransporter Zellen dazu bringen, sie mit Zellmembran einzuschließen, können sie sogar ins Zellinnere gelangen. Wenn sie innerhalb der Zelle ihren Wirkstoff abgeben, kann dieser gezielt mit Zellorganellen, Proteinen oder DNA interagieren und damit eine Krankheit besonders wirkungsvoll bekämpfen.

Die Effizienz einer Therapie lässt sich zusätzlich erhöhen, indem ein Wirkstoff in einem Nanoträger, der ihn zu einem Krankheitsherd bringt, verkapselt wird. Denn in Nanokapseln verpackt lassen sich wasserunlösliche Wirkstoffe im Körper deutlich besser verfügbar machen. Zudem bleiben verkapselte Wirkstoffe beim Transport durch den Körper vor dem biologischen Abbau geschützt. Und Nanokapseln kön-

nen auch Substanzen mit hoher Molekülmasse aufnehmen, die sich in der Medizin bislang nur begrenzt einsetzen lassen. So könnten als innovative Biopharmazeutika in verkapselter Form auch Nukleinsäuren oder Proteine Verwendung finden. Nukleinsäuren wirken äußerst spezifisch und potent, sie sind wegen ihrer hohen Molekülmasse und Instabilität im Blutstrom bislang allerdings nur eingeschränkt medizinisch verwendbar.

Bekannte Chemotherapeutika für die Krebstherapie wie Doxorubicin und Paclitaxel gehörten zu den ersten Wirkstoffen, die in Form von Nanoträgern dargereicht werden, sodass sie sich im Körper anders verteilen als in herkömmlicher Form. Diese beiden Wirkstoffe gehören aber auch zu den ganz wenigen, die als Nanoträger-basierte Arzneimittel überhaupt auf dem Markt verfügbar sind. Von den vielen verschiedenen Nanoträgern, die Chemiker inzwischen entwickelt haben, haben es mithin bislang nur wenige aus dem Labor in ein Arzneimittel geschafft. Das liegt zum einen an den Hürden, die bei der Übertragung von Ergebnissen der Grundlagenforschung in eine medizinische Anwendung zu nehmen sind. Zum anderen müssen wir auf Seiten der Grundlagenforschung zunächst genau verstehen, wie Nanotransporter mit der biologischen Umgebung im Körper interagieren. So ergeben sich letztlich drei große Herausforderungen, die es zu bewältigen gilt: 1. Verschiedene Wirkstoffe in Nanokapseln zu verpacken; 2. diese an Zielzellen zu bringen und 3. die Wirkstoffe dort gezielt freizusetzen.

Verschiedene Verfahren erlauben es, Nanotransporter je nach den Anforderungen spezieller Anwendungen so herzustellen, dass die Nanoträger die erforderlichen physikali-

schen, chemischen und biologischen Eigenschaften aufweisen und als multifunktionale Nanopartikel-Plattformen zur Verfügung stehen.

Die Nanotransporter können aus verschiedenen Materialien hergestellt werden, zum Beispiel aus anorganischen Materialien wie etwa Gold, Eisenoxid oder Silicium, oder aus organischen Polymeren wie dem biologisch nicht abbaubaren Polystyrol oder der im Körper abbaubaren Polymilchsäure. Nanoträger lassen sich aber auch aus Biopolymeren, also Proteinen, Kohlenhydraten oder Lipiden produzieren. Die Nanotransporter jedoch so zu erzeugen, dass sie einen oder mehrere Wirkstoffe einkapseln, ist schwierig. Dabei ist genau diese Verkapselung besonders erfolgversprechend, um Nanotransporter verstärkt in die medizinische Anwendung zu bringen.

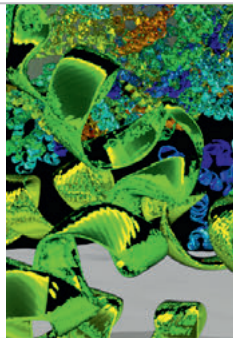
Mit der speziellen Emulsionsform der Miniemulsionen ist es uns am Max-Planck-Institut für Polymerforschung (MPIP) gelungen, verschiedene Wirkstoffe zu verkapseln und die Nanotransporter mit einer breiten Palette an Funktionen auszustatten. Bei einer Emulsion wie etwa einer gut durchmischten Vinaigrette-Sauce oder bei Milch handelt es sich um ein Gemisch zweier Flüssigkeiten, die wie Öl und Wasser nicht ineinander löslich sind. Die ölige Flüssigkeit lässt sich allerdings in Form feiner Tropfen im Wasser verteilen. Bei einer Miniemulsion, die wir mit Hilfe von Ultraschall erzeugen, sind diese Tröpfchen wie bei der Milch besonders klein, und alle Tröpfchen weisen ziemlich genau die gleiche Größe und Struktur auf. Dabei können wir die Größe gezielt einstellen.

Während sich eine Salat-Sauce aus reinem Essig und Öl schnell entmischt, bleibt eine Miniemulsion sehr lange stabil, auch wenn sie einen hohen Anteil an Ölen enthält. Die Tröpfchen und somit die Nanokapseln, die durch eine chemische Reaktion aus den Tröpfchen an deren Grenzfläche entstehen, lassen sich zudem in hohen Konzentrationen mit Wirkstoffen beladen. Und über das Material und die Struktur der Kapselwand können wir steuern, wie der Container mit synthetischen und biologischen Materialien wechselwirkt. Nicht zuletzt lassen sich die Nanokapseln in Miniemulsionen auch im Tonnenmaßstab produzieren. Dank dieser Vorzüge bietet uns die Miniemulsion ein ausgezeichnetes Werkzeug, um Nanotransporter zu konstruieren, die medizinische Wirkstoffe gezielt zu Krankheitsherden befördern. Doch auch in der Technik könnten die Nanokapseln, die wir erzeugen, Anwendung finden. Etwa um Kratzer in Korrosionsschutzschichten von Stählen autonom zu heilen, die Effizienz von

Solarzellen zu verbessern oder die Kapazität von Speicherchips zu erhöhen.

Sowohl für medizinische als auch technische Anwendungen ist es natürlich wichtig, dass die Nanokapseln ihren Inhalt dicht verpacken und erst dort freisetzen, wo es gewünscht ist. Zudem soll die Hülle verhindern, dass Substanzen in die Kapseln eindringen und den Inhalt verändern. Die Wände von Nanokapseln jedoch so abzudichten, dass sie auch für Substanzen, die aus kleinen Molekülen bestehen oder leicht flüchtig sind, undurchdringlich sind, erwies sich dabei als besonders anspruchsvoll. Denn diese Substanzen diffundieren durch jede noch so kleine Öffnung aus der Kapsel. In *Mikro*-kapseln werden die Kapselwände einfach entsprechend dick gemacht, im *Nano*bereich geht das aber nicht. Daher haben wir für das Schalenmaterial ein Polymer gewählt, das aufgrund seiner chemischen Eigenschaften viele Verknüpfungen zwischen einzelnen Polymerketten und somit ein dünnes Netz mit kleiner Maschenweite bildet. So ist es uns gelungen, dichte Nanokapseln für leicht flüchtige Substanzen wie Medikamente oder Duftstoffe herzustellen.

**DURCH MINIEMULSIONEN IST ES UNS GELUNGEN,
VERSCHIEDENE WIRKSTOFFE ZU VERKAPSELN
UND DIE NANOTRANSPORTER MIT EINER BREITEN
PALETTE AN FUNKTIONEN AUSZUSTATTEN.**



Damit selbst Sauerstoffmoleküle nicht durch die Kapselwand dringen und die eingekapselten Substanzen schädigen können, bedarf es einer besonders dichten Nanohülle: Inspiriert von Baumblättern benutzt unsere Gruppe Cellulose als undurchlässiges Nanopapier für die Wände von Nanokapseln, die diese Anforderung erfüllen müssen. Solche Nanokapseln könnten weniger in der Medizin als vielmehr in der Nahrungsmittelindustrie Verwendung finden, und zwar als eine neuartige Konservierungsmethode. So könnten sie etwa sauerstoffempfindliche Lebensmittel wie zum Beispiel Fischöl schützen.

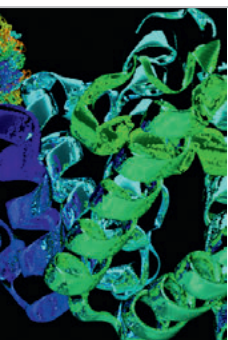
Wie sich Nanotransporter in der Medizin einsetzen lassen, wurde in den vergangenen Jahren umfangreich erforscht, bislang jedoch vor allem in Zellkultur-Modellen. Aufgrund der Erkenntnisse, die in diesen Studien gewonnen wurden, lässt sich jedoch kaum vorhersagen, welche Wege die Nanotransporter im Körper nehmen und wie sie mit dem biologischen Umfeld eines Organismus interagieren werden. Unsere Gruppe am MPIP untersucht diese Fragen für Nanocontainer, die gezielt eine bestimmte Zellart im Körper eines Patienten adressieren sollen. Damit dies gelingt, muss eine ‚nackte‘ Kapsel mit den meisten Zellen möglichst wenig interagieren. Sie muss sich daher, einmal ins Blut gespritzt, zunächst tarnen. Diese Tarnung wird dadurch erschwert, dass die Nanoträger mit den Proteinen aus dem Blut wechselwirken. Wie wir und andere Forscher weltweit herausgefunden haben, bedeckt nämlich schnell eine Vielzahl von Proteinen die Oberfläche der Nanotransporter, sobald diese ins Blut gelangen. Sie werden von einer so genannten Proteinkorona eingehüllt. Und hier liegt genau das Problem, wenn es darum geht, Nanotransporter in der Medizin einzusetzen: Alles was sich Chemiker ausgedacht haben, um die Transporteroberfläche zu modifizieren, wird im Blut hinfällig. Denn hier verändert sich die Oberfläche der Nanoträger dramatisch.

Die Proteinkorona verändert die Eigenschaften der Nanoträger, einschließlich ihrer Größe, Oberflächenladung und ihres Aggregationsverhaltens. Die ursprünglich chemische Identität der Oberfläche der unbedeckten Nanopartikel wird dadurch in eine biologische Identität umgewandelt. Nanoträger, die zum Beispiel in Wasser stabil waren, klumpen in Blut aus und stellen damit eine Gefahr für den Organismus dar.

Das Phänomen der Proteinanlagerung ist zwar schon seit einiger Zeit bekannt, aber erst seit kurzem lässt sich dank der hochauflösenden Massenspektrometrie analysieren, welche Proteine in den komplexen Gemischen enthalten sind. Darüber hinaus haben wir und andere Forschergruppen weltweit aufgeklärt, wie die Nanotransporter mit Zellmembranen wechselwirken und wie die auf der Transporteroberfläche adsorbierten Proteine die Aufnahme der Nanoträger in die Zelle beeinflussen. Wir wissen nun, dass die Proteinkorona die biologische Identität der Nanopartikel definiert und die toxische Wirkung auf Zellen, die Verteilung im Körper und die Aufnahme in spezifische Zellen beeinflusst. Wenn also Nanotransporter in die Blutbahn gespritzt werden, so ist es deren Proteinkorona, die von den Zellen eigentlich wahrgenommen wird. Wir müssen also unbedingt die Proteinkorona berücksichtigen, um vorhersagen zu können, wie Nanoträger mit Zellen interagieren.

Angesichts der Bedeutung der Proteinkorona für medizinische Anwendungen von Nanomaterialien ist die Entwicklung von Nanokapseln als Wirkstofftransporter nicht nur eine synthetische Herausforderung. Nötig sind auch Methoden, um die Nanoträger und vor allem die Proteinkorona im Blut charakterisieren zu können. Dafür kommen verschiedene Techniken in Frage. Neben massenspektrometrischen Untersuchungen, um die Zusammensetzung der Korona zu analysieren, setzen wir am MPIP zum Beispiel die isotherme Titrationskalorimetrie ein, mit der wir untersuchen, wie stark die Proteine an die Trägeroberfläche gebunden sind. Darüber hinaus verrät uns die dynamische Lichtstreuung, ob die Nanotransporter im Blut verklumpen. Schließlich können wir die Proteinschicht auf den Nanoträgern mit Hilfe der Elektronenmikroskopie sogar bildlich darstellen.

Wie alle fremden Substanzen werden Nanoträger im Blutkreislauf von Fresszellen wie zum Beispiel Makrophagen eliminiert. Zu diesem Zweck werden die Nanopartikel zunächst durch spezielle Proteine wie die Immunglobuline als Fremdkörper markiert. Wenn die Nanotransporter rasch aus dem Blutkreislauf entfernt werden, haben sie jedoch keine Chance, ihren Zielort im Körper zu erreichen. Aus diesem Grund wurden Nanotransporter mit proteinabweisenden Oberflächen ausgestattet. Die Idee dahinter: Wenn sich keine oder weniger Proteine wie etwa die Immunglobuline auf der Trägeroberfläche anlagern können, sollten die Nanotransporter länger durch den Blutkreislauf zirkulieren. Derart getarnte Nanotransporter („Stealth“-Nanoträger) sollten also das Immunsystem nicht aktivieren und Arzneimittel so zuverlässig zu Krankheitsherden bringen.



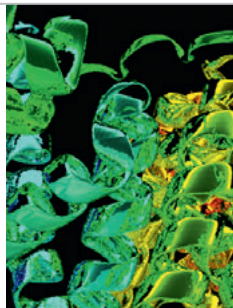
**WIR BENUTZEN CELLULOSE ALS UN DURCHLÄSSIGES
NANOPAPIER, DAMIT SELBST SAUERSTOFFMOLEKÜLE
NICHT DURCH DIE KAPSELWAND DRINGEN KÖNNEN.**

Weltweit beschichten Forscher Nanopartikel wie Polypeptide, polymere Nanoteilchen und Liposomen daher mit wasseranziehenden Molekülen, um sie vor Fresszellen zu schützen. Die Nanotransporter mit Polyethylenglykol (PEG) zu beschichten, ist dafür der Standardansatz, der auch PEGylierung genannt wird. Dies vermindert die unspezifische Anlagerung von Proteinen und erhöht die Verweildauer der Nanovehikel im Blut. Doch die PEGylierung verhindert die Bildung der Proteinkorona nicht vollständig. Und das ist auch gut so, wie wir am MPIP mit einer wichtigen Entdeckung herausgefunden haben. Es kommt nämlich anders, als man bislang dachte, nicht darauf an, dass sich möglichst wenige oder gar keine Proteine an die Oberfläche eines Nanotransporters heften, sondern darauf, dass sich dort die richtigen Proteine ablagern. Damit die Nanopartikel vor dem Immunsystem getarnt werden, müssen sie auf ihrer Hülle das Protein Clusterin tragen. Genau dieses Protein lagert sich auf einer PEG-Hülle bevorzugt ab und macht das Polymer so zu einer guten Tarnkappe. Eine Beschichtung, auf der sich andere oder gar keine Proteine absetzen, können die Nanopartikel dagegen nicht tarnen. Diese Erkenntnis vermittelt uns eine ganz neue Sicht auf den Mechanismus des Tarneffekts.

Da wir den Effekt nun besser verstehen, ist es uns am MPIP besonders gut gelungen, Nanocontainer herzustellen, die im Körper zunächst von keiner Zelle erkannt werden. Da Polyethylenglykol nicht biologisch abgebaut wird, könnte es sich im Körper anreichern. Daher haben wir nach alternativen Tarnkappen für unsere Nanotransporter gesucht und diese zum Beispiel in einer Hülle aus modifizierten Stärkemolekülen gefunden. Nanokapseln aus diesem Polymer können relativ lange durch den Körper zirkulieren, ohne zunächst vom Immunsystem erkannt zu werden, werden aber abgebaut, sobald sie ihre Fracht bei den Zielzellen abgeliefert haben. Ein Nachteil sowohl von PEG als auch von Stärke als Hüllmaterial der Nanokapseln ist jedoch, dass sie im Körper die Bildung spezifischer Antikörper und Hypersensitivitätsreaktionen bewirken können. Antikörper bewirken bei einer wiederholten Gabe, dass die Nanotransporter rascher aus dem Blut entfernt werden. Das vermeiden wir, indem wir als Hüllmaterial Polyphosphorsäureester verwenden, die abbaubar sind und den Nukleinsäuren, einem wichtigen Grundbaustein des Organismus, sehr ähneln. Daher lösen Nanopartikel mit einer Hülle aus Phosphorsäure keine Bildung von Antikörpern aus und bleiben auch bei einer wiederholten Anwendung lange genug im Blut, um ihre Zielzellen zu finden.

Damit Wirkstofftransporter genau dorthin gelangen, wo sie gebraucht werden, benötigen sie jedoch eine Art Adresslabel. Daher bringen wir auf den Oberflächen der Nanopartikel Moleküle an, für die nur die Zielzellen, also etwa Tumorzellen und sogenannte dendritische Zellen des Immunsystems, die richtigen Rezeptoren aufweisen. Nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip binden die Adressmoleküle der Nanotransporter an die Rezeptoren und werden dann von den Zielzellen aufgenommen. Für eine aktuelle Studie haben wir am MPIP PEGylierte Nanokapseln mit verschiedenen Adress-Molekülen ausgestattet, damit die Container von dendritischen Zellen aufgenommen werden. Dann haben wir analysiert, welche und wie viele Proteine sich an den Nanotransportern anlagern. Dabei haben wir insgesamt wenige Proteine auf ihrer Oberfläche gefunden und wie bei Nanopartikeln ohne Adress-Moleküle vor allem Clusterin. Die Adress-Moleküle beeinflussen die Proteinkorona also kaum.

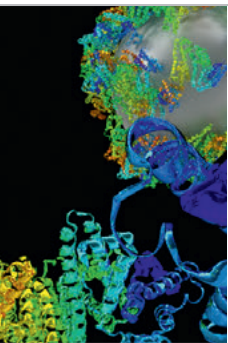
**WIR VERFOLGEN DIE VISION, „INTELLIGENTE“
PARTIKEL AUS MEHREREN INEINANDER GESCHACH-
TELTEN KAPSELN ZU ENTWICKELN.**



In einer weiteren Studie mit Nanokapseln aus Stärke haben wir zudem festgestellt, dass umgekehrt zumindest eine Korona aus manchen Proteinen nicht verhindert, dass die Adress-Moleküle auf der Kapseloberfläche an ihre Zielrezeptoren binden und die Nanokapseln von dendritischen Zellen aufgenommen werden. Bislang haben wir allerdings nur den Einfluss einiger weniger Koronaproteine darauf untersucht, wie die Adress-Moleküle an die Ziel-Rezeptoren binden. Genau zu verstehen, wie verschiedene Koronaproteine den Weg eines Nanotransportes durch den Körper und in die Zielzelle beeinflussen, ist allerdings entscheidend für den Erfolg von künstlichen Nanotransportern in der Medizin. Daher liegt ein Schwerpunkt unserer künftigen Forschungsaktivitäten am MPIP darauf, die Bildung der Proteinkorona durch die Eigenschaften der Nanopartikel noch besser zu kontrollieren und die Proteinkorona so für spezifische biomedizinische Anwendungen nutzbar zu machen.

Zudem verfolgen wir die Vision, ‚intelligente‘ Partikel aus mehreren ineinander geschachtelten Kapseln zu entwickeln. Mit ihnen ließen sich etwa Impfstoffe und zusätzlich erforderliche Adjuvantien, die das Immunsystem stimulieren, separat zu Zielzellen transportieren, wenn sie erst dort in Kontakt miteinander kommen sollten. Ähnliches gilt für Kombinationen mancher Wirkstoffe, die erst in den Zielzellen vermischt werden sollen, oder gar an unterschiedlichen Orten wirken sollen. Ineinander geschachtelte Kapseln könnten zudem mehrere biologische Barrieren durchdringen. Ein Nanovehikel etwa, das RNA oder DNA in den Zellkern bringen soll, müsste mit seiner äußeren Kapsel zunächst in die Zelle eindringen und die äußere Hülle dann abwerfen, um mit einer entsprechend präparierten inneren Kapsel in den Zellkern zu gelangen.

Dank der Erkenntnisse, die wir in den vergangenen Jahren gewonnen haben, sind wir am MPIP bei der Entwicklung von Nanocontainern vor allem, aber nicht nur für die Medizin um wichtige Schritte vorangekommen. Nun gehen wir dazu über, diese grundlegenden Erkenntnisse in engen Kooperationen mit der Universitätsmedizin in Mainz sowie Partnern der pharmazeutischen Industrie in die klinische Praxis zu überführen. Wir sind daher zuversichtlich, dass Therapien in naher Zukunft noch effektiver und werden und weniger Nebenwirkungen mit sich bringen.



**WIR WOLLEN UNSERE ERKENNTNISSE IN ZUKUNFT
MIT PARTNERN AUS DER MEDIZIN UND DER
PHARMAZEUTISCHEN INDUSTRIE IN DIE KLINISCHE
PRAXIS ÜBERFÜHREN.**

Bei ineinander geschachtelten Kapseln ebenso wie bei einfachen Containern müssen wir natürlich auch dem Öffnungsmechanismus großes Augenmerk schenken. Wir nutzen dabei zum einen Stimuli, die sich berührungsfrei sowie zeitlich und räumlich sehr präzise anwenden lassen. Unter anderem kommen etwa Licht und Temperatur in Frage, um eine Fracht über einen molekularen Öffner in der Kapselwand sozusagen per Knopfdruck freizusetzen. Wir setzen aber auch auf äußere Reize, die entstehen, wenn sich die chemische Umgebung der Nanopartikel ändert. Von besonderem Interesse sind hierbei spezielle chemische Bedingungen in den Zielzellen. So können wir die Kapseln möglicherweise mit Enzymen öffnen, die es nur in den Zielzellen gibt. Für einen Öffnungsmechanismus können wir zudem ausnutzen, dass in Tumorzellen ein saures Milieu herrscht. Die entsprechenden molekularen Öffner eignen sich dabei nicht nur hervorragend für die Medizin, sondern auch für ganz andere Anwendungen, wie zum Beispiel für den Korrosionsschutz von Stahl. Denn auch hier geht die einsetzende Korrosion damit einher, dass sich das chemische Milieu ändert.