

Synthetische (Glyco)peptide aus der homophilen Erkennungsregion von E-Cadherin zur Induktion von Zelldifferenzierung in transformierten Keratinocyten**

Jörg Habermann, Kerstin Stüber, Tanja Skripko, Tanja Reipen, Raimund Wieser und Horst Kunz*

Professor Peter Welzel zum 65. Geburtstag gewidmet

Das epitheliale Zellmembran-Glycoprotein E-Cadherin spielt eine entscheidende Rolle bei der Adhäsion von Epithelzellen.^[1] Es ist auch an wichtigen Vorgängen der zellulären Entwicklung und Organisation beteiligt, so bei der Zelldifferenzierung,^[2] der Regulierung des Zellwachstums und der Morphogenese.^[3,4] In Krebszellen ist die von E-Cadherin vermittelte Zelladhäsion herunterreguliert, während die über CD44 ablaufende erhöht ist.^[5] Die geringere Expression von E-Cadherin ist offenbar auf der molekularen Ebene ein bedeutendes Anzeichen für eine Tumorigenese.^[5–8] Über die Catenine ist E-Cadherin mit dem Actinfilament verknüpft und so in Schlüsselvorgänge der adhäsionsabhängigen morphogenetischen Prozesse eingebunden.^[7] Die Wechselwirkung von E-Cadherin auf den Epithelzellen erfolgt homotypisch (d.h. zwischen dem gleichen Zelltyp) und homophil (d.h. zwischen den gleichen Molekülen).^[9,10] Die homophile Erkennung zwischen den E-Cadherin-Molekülen geschieht über Dimere. Sie wird über eine Erkennungsregion in der äußeren (E-CAD1) von fünf extrazellulären Domänen (Abbildung 1) eingeleitet, wobei nach NOE-NMR-Experimenten^[9] eine aus den drei Faltblättern β C, β F und β G aufgebaute Fläche entscheidend ist. Sie schließt ein Turn-Motiv Ser83–Gly85 ein und präsentiert das in β F lokalisierte Erkennungsmotiv His79–Ala80–Val81 in einer definierten räumlichen Anordnung (Abbildung 1).

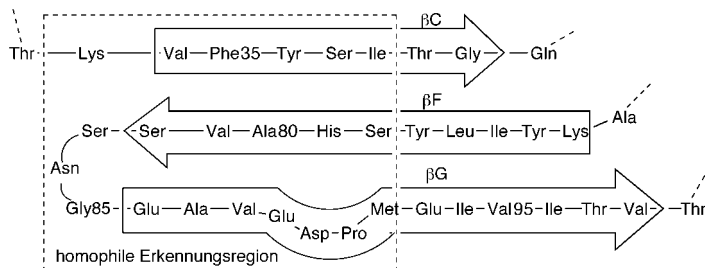


Abbildung 1. Homophile Erkennungsregion von E-Cadherin (schematisch) nach Lit. [9].

[*] Prof. Dr. H. Kunz, Dr. J. Habermann, Dr. T. Skripko, Dipl.-Chem. T. Reipen
Institut für Organische Chemie der Universität Mainz
Duesbergweg 10–14, 55128 Mainz (Deutschland)
Fax: (+49) 6131-392-4786
E-mail: hokunz@mail.uni-mainz.de
K. Stüber, Priv.-Doz. Dr. R. Wieser
Institut für Toxikologie der Universität Mainz

[+] Neue Adresse: Innatides GmbH, its
52499 Baesweiler (Deutschland)

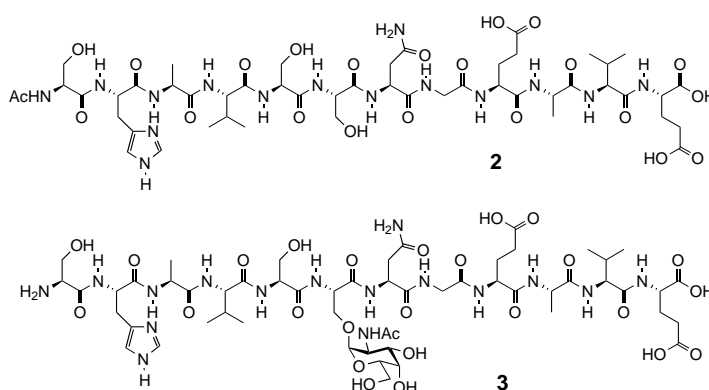
[**] Diese Arbeit wurde von der Volkswagen-Stiftung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. J.H. dankt für ein Stipendium des Fonds der Chemischen Industrie.

Wegen der Bedeutung von E-Cadherin für Zellmorphogenese und Tumorentwicklung und wegen seiner Selbsterkennung^[9,10] schien es interessant zu untersuchen, wie diese Selbsterkennung durch synthetische Teilstrukturen aus der homophilen Erkennungsregion von E-Cadherin beeinflusst werden kann.

Durch Festphasensynthese an Tentagel-Harz^[11] unter Verwendung des allylischen HYCRON-Ankers^[12] wurden Peptid-, Glycopeptid- und Cycloglycopeptid-Teilstrukturen der Sequenz **1** aus der homophilen Erkennungsregion von E-Cadherin aufgebaut, die C-terminal mit Glu89 (Abbildung 1) beginnen und einen Teil des Faltblatts β G, die Turn-Triade Ser83–Gly85 (z. T. glycosyliert am Serin) und einen Teil des Faltblatts β F einschließlich des Erkennungsmotivs His79–Ala80–Val81^[1,9] enthalten.

–Ser78–His–Ala80–Val–Ser–Ser–Asn–Gly85–Glu–Ala–Val–Glu– **1**

Bei einer ersten Synthese des Dodecapeptids Ser78–Glu89 **2** mit Tetramethyl-*O*-(1-benzotriazolyl)uroniumtetrafluoroborat (TBTU)^[13] waren offenbar wegen Rückfaltungstendenzen der harzgebundenen Peptidkette die Kupplungsausbeuten ab der Kupplung der achten Aminosäure (Val81) niedrig.



Daher wurde in den weiteren Festphasensynthesen *N,N,N',N'*-Bis(tetramethylen)-*O*-pentafluorphenyluroniumhexafluorophosphat (PfpYU)^[14] als Kondensationsreagens eingesetzt.

Während für die Synthesen des linearen Peptids **2** und des an Ser83 glycosylierten Peptids **3** durchweg säurelabile Seitenkettenschutzgruppen (*tert*-Butyl für Serin und Glutaminsäure sowie Trityl für Asparagin und Histidin) verwendet werden können,^[14] ist für die Synthese des cyclisierten Glycopeptids eine differenzierte Blockierung der γ -Carboxyfunktion der Glutaminsäure erforderlich. Durch Bildung des Cyclopeptids sollte eine Turn-artige, der Sekundärstruktur in E-CAD1 entsprechende Konformation der Peptidsequenz aus der homophilen Bindungsstelle begünstigt werden.

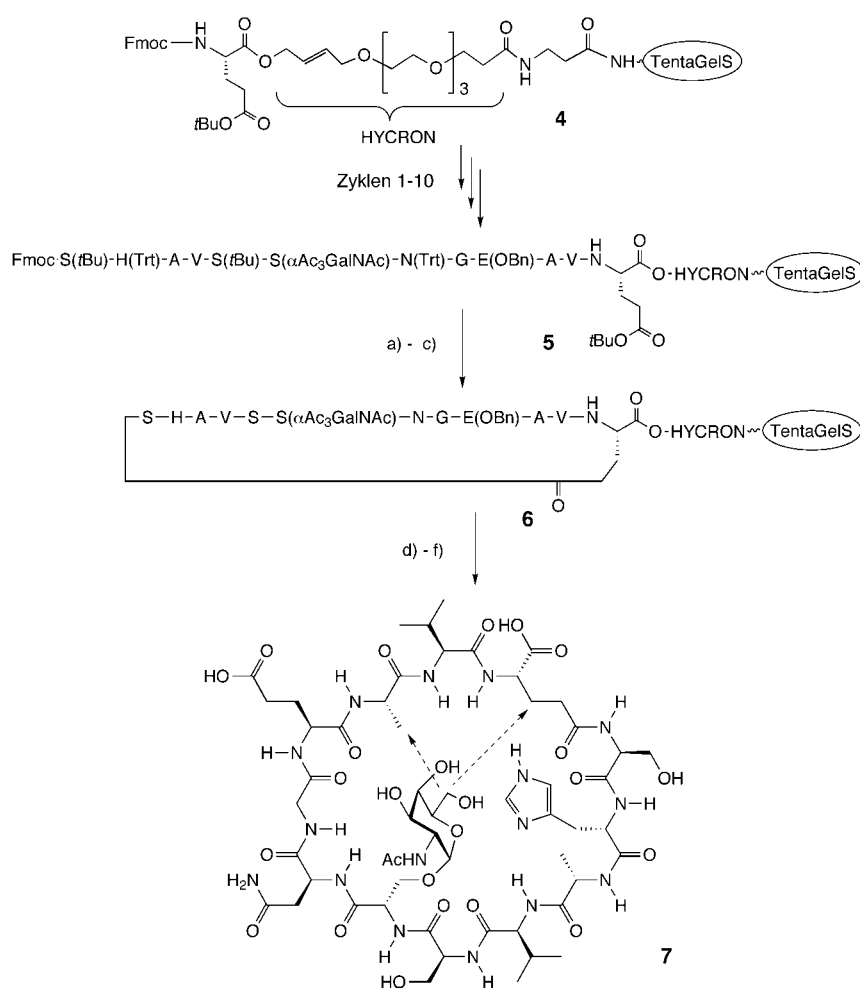
Mit Blick auf die Sequenz schien es vorteilhaft zu sein, die Cyclisierung nicht über die C-terminale Carboxyfunktion in Lösung^[15,16] oder an fester Phase,^[17,18] sondern über die γ -Carboxygruppe der C-terminalen Glutaminsäure vorzunehmen. Da kein Lysin am N-Terminus positioniert ist,^[19] wurde die Cyclisierung über die terminale Aminogruppe von Ser78 vollzogen. Ausgehend von mit Fluorenylmethoxycarbonyl-(Fmoc)-glutaminsäure- γ -*tert*-butylester beladenem Harz **4**^[14]

wurde das Glycopeptid **5** aufgebaut. Dessen Cyclisierung an der festen Phase zu **6** und die Ablösung und Deblockierung zum Cycloglycopeptid **7** sind in Schema 1 beschrieben.

Nach Abspaltung der Fmoc-Gruppe von **4** wurde das Dipeptid Fmoc-Ala-Val-OH mithilfe von PfPyU^[14] in Gegenwart von 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAT)^[20] gekuppelt. Die Verlängerung um ein Dipeptid erfordert wegen der Epimerisierungsgefahr eine milde, aber effiziente Carboxyaktivierung, hat aber den Vorteil, dass bei der nachfolgenden Fmoc-Abspaltung keine intramolekulare Aminolyse unter Spaltung des Ankeresters erfolgt. Der zweite Glutaminsäure-Baustein wurde als γ -Benzylester (Fmoc-Glu(OBzl)-OH) und wie alle Carboxykomponenten in fünf- bis sechsfachem Überschuss eingesetzt. Eine Ausnahme bildet das α -O-Galactosamin-Serin-Konjugat, von welchem nur zwei Äquivalente verwendet wurden.

Zur Vorbereitung der Cyclisierung wurden vom harzgebundenen Glycododecapeptid **5** mit TFA/Wasser/Triisopropylsilan (95:5:5) die säurelabilen Schutzgruppen und anschließend mit Morpholin/DMF die Fmoc-Gruppe entfernt. Unter beiden Bedingungen bleibt der allylische Anker intakt. Durch Aktivierung der γ -Carboxygruppe von Glu89 mit PfPyU in Gegenwart der Hünig-Basis und von *sym*-Collidin wurde die cyclisierende Kondensation zu **6** erreicht. Das Cycloglycopeptid wurde vom Harz durch Palladium(0)-katalysierte Allyltransferreaktion mit Morpholin als Abfangnucleophil abgespalten.^[12] Hydrogenolyse des verbliebenen Benzylesters und Entfernung der *O*-Acetylgruppen aus dem Galactosaminrest durch Zemplén-Umesterung in Methanol (bei pH 9) ergaben nach Reinigung durch präparative HPLC in Wasser/Acetonitril (Zusatz von 0.1 % TFA) das reine Cycloglycopeptid **7**^[21] der Sequenz **1** aus E-CAD1. Die analytische HPLC offenbarte, dass **7** mehrere Konformationen annehmen kann,^[16] die durch Tempern bei 40 °C ineinander überführt werden können.

Das von **7** in D₂O aufgenommene ROESY-NMR-Spektrum belegt die Struktur sowie Kontakte (in Schema 1 gestrichelt angedeutet) zwischen den Protonen H6 des *N*-Acetylgalactosaminrests und der Methylgruppe eines Alaninrests (vermutlich in Position 3, d.h. Ala87) sowie der β -Methylengruppe eines Glutaminsäurerests (vermutlich des zum Ringschluss verwendeten in Position 1). Diese Orientierung war zunächst überraschend, denn das nichtglycosylierte Peptid **2** scheint in D₂O keine Vorzugskonformation einzunehmen und das Glycododecapeptid **3** liegt in Wasser offenbar in einer anderen Vorzugskonformation vor. In dessen ROESY-NMR-Spektrum treten Kreuzpeaks durch dipolare Kopplung zwischen den γ -Methylprotonen von Valin und H2 des Histidin-Imidazolrings einerseits sowie den H6-Protonen von GalNAc andererseits auf. Außerdem ist ein Kreuzpeak zwischen Val-



Schema 1. Festphasensynthese des Cycloglycododecapeptids **7** am allylischen HYCRON-Harz (experimentelle Beschreibung in Lit. [11]). Zyklus 1: 1) Morpholin/DMF; 2) Fmoc-Ala-Val-OH, PfPyU, HOAT, *s*-Collidin, *N*-Methylpyrrolidon (NMP); 3) Ac₂O, Pyridin; Zyklen 2–10: 1) Morpholin/DMF; 2) Fmoc-Xaa-OH, PfPyU, HOAT, *s*-Collidin, NMP; a) Trifluoressigsäure (TFA), Triisopropylsilan, H₂O; b) Morpholin/DMF; c) PfPyU, Et₃Pr₂N, *s*-Collidin, NMP; d) [Pd(PPh₃)₄], Morpholin, DMF, DMSO; e) H₂/Pd in MeOH; f) NaOMe in MeOH, pH 9. Im Schema sind die Aminosäuren mit ihren Einbuchstabenkürzeln beschrieben.

H α und His-Im-H2 und ein schwächerer zwischen Val-H γ und His-Im-H4 zu beobachten (Abbildung 2).

Diese dipolaren Kopplungen zwischen den Seitenketten der Komponenten des His-Ala-Val-Motivs sowie von diesen

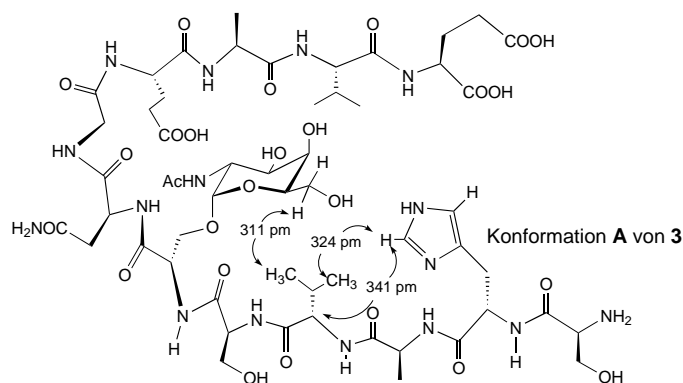


Abbildung 2. NOE-Effekte (Pfeile) aus dem ROESY-¹H-NMR-Spektrum des E-CAD-Glycododecapeptids **3** in D₂O und daraus abgeleitete Konformation A.

zu GalNAc deuten auf eine Turn-Konformation **A** von **3** hin, die verschieden von der des Cycloglycopeptids **7** ist. Mit einer Turn-Konformation **A** in Einklang ist auch die Tieffeldverschiebung der Signale von GalNAc-H6, vermutlich verursacht durch die Nähe des aromatischen Imidazolrings.

Es ist nun bemerkenswert, dass das unterschiedliche konformative Verhalten der (Glyco)peptide **2**, **3** und **7** aus der homophilen Erkennungsoberfläche von E-Cadherin sich in ihren deutlich verschiedenen Wirkungen auf transformierte Hautzellen der HaCat-Zelllinie widerspiegelt.

HaCat-Zellen^[22] sind transformierte, immortalisierte Basalkeratinocyten, die E-Cadherin zwar exprimieren, aber binnen einer Woche keine Differenzierung zu normalen Keratinocyten eingehen. Zu diesen HaCat-Zellen, konfluent ausgesät in einem Zellkulturmedium (CG-Medium, Vitromex), das 0.5 % fötales Kälberserum (FCS) enthielt, wurden unter 10 % CO₂ in der Atmosphäre bei einer relativen Feuchtigkeit von 85 % und 37 °C 25 µg mL⁻¹ (18–20 µM) der E-CAD-(Glyco)peptide **2**, **3** oder **7** gegeben. Die Inkubationszeit betrug 24 h. Zur Untersuchung des Zellstatus wurden die Zellen dreimal mit Pufferlösung (PBS, pH 7.4, 37 °C) gewaschen, fixiert, mit Aceton (5 min) permeabilisiert und schließlich mit folgenden Antikörperlösungen in PBS-Puffer, die 5 % Rinderserumalbumin (BSA) enthielten, behandelt: Maus-Anti-Involucrin (1:50), Maus-Anti-CD44 (1:20) und Kaninchen-Anti-Contactinhibin-Rezeptor^[23] (1:20). Zum Nachweis der Antikörperbindung wurden mit dem Indocarbocyaninfarbstoff CY3 markierte, gegen die ersten Antikörper gerichtete zweite Antikörper eingesetzt: Anti-Maus-CY3 (1:300) und Anti-Kaninchen-CY3 (1:300) in PBS-Puffer. Abbildung 3 zeigt typische Ergebnisse der immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchung an den fixierten und permeabilisierten HaCat-Zellen.

Involucrin (hINV)^[24] ist ein bedeutendes Marker-Glycoprotein in der Differenzierung von Keratinocyten. Im Vergleich zur Kontrolle (Abbildung 3a) ist es nach Behandlung der HaCat-Zellen mit dem Glycododecapeptid **3** deutlich hochreguliert (Abbildung 3b), nicht aber nach Behandlung mit dem Peptid **2** (Abbildung 3c) oder mit den Cycloglycopeptid **7**. Die Expression des Contactinhibin-Rezeptors,^[23] dessen Wechselwirkung mit dem Zelloberflächenglycoprotein Contactinhibin entscheidend in die kontaktabhängige Regulierung und Inhibierung des Zellwachstums involviert ist, wird durch das E-CAD1-Glycopeptid **3** (Abbildung 3e) stark induziert, nicht dagegen durch das Peptid **2** (Abbildung 3d, Kontrolle ist ganz ähnlich) oder das Cycloglycopeptid **7** (Abbildung 3f). Die Expression von CD44,^[25] das als Rezeptor in der Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen eine Rolle spielt, ist im Vergleich zur Kontrolle (Abbildung 3g) nach Behandlung der HaCat-Zellen mit dem synthetischen E-CAD1-Glycopeptid **3** stark herunterreguliert (Abbildung 3h). Diese immunhistochemischen Ergebnisse gehen einher mit einer eindrucksvollen Änderung der Zellmorphologie und der dreidimensionalen Architektur der HaCat-Zellkultur nach Zugabe des biologisch aktiven Glycopeptids **3**: Die Keratinocyten wachsen in die suprabasale Schicht, bilden suprazelluläre Strukturen und ein differenziertes Cytoskelett aus und regulieren Differenzierungsmarker wie Involucrin und den Contactinhibin-Rezeptor hoch (Abbil-

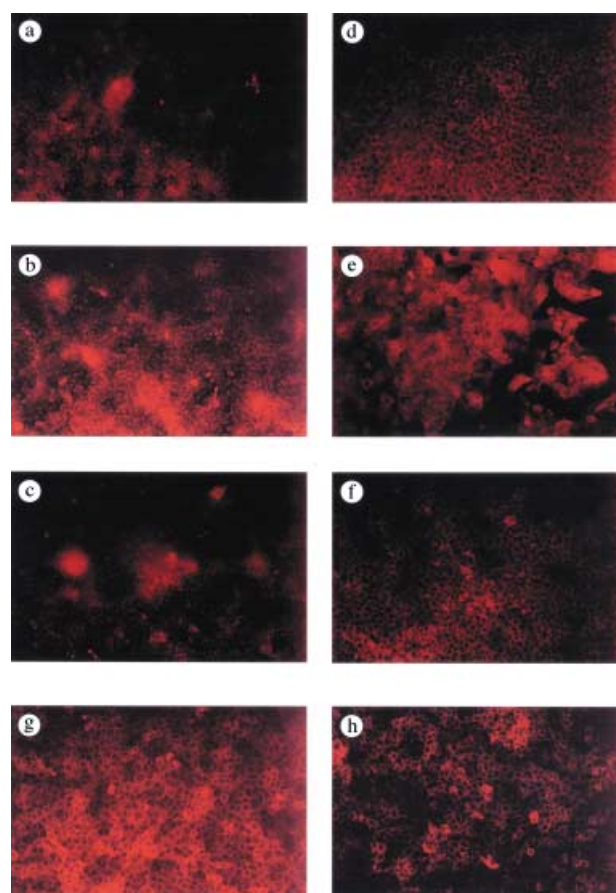


Abbildung 3. Biologische Wirkung der synthetischen (Glyco)peptide **2**, **3** und **7** auf transformierte Basalkeratinocyten der HaCat-Zelllinie.^[22] Immunfluoreszenzmikroskopie-Assays. a) Kontrolle, 1. Maus-Anti-Involucrin (Sigma, 1:50 in der Blockierungslösung), 2. Anti-Maus-CY3 (Jackson, 1:1 in Glycerin, 1:300 in PBS); b) E-CAD-Glycododecapeptid **3**, 24 h, danach Immunmarkierung identisch zu (a); c) E-CAD-Dodecapeptid **2**, 24 h, danach Immunoassay, für Involucrin wie in (a); d) E-CAD-Dodecapeptid **7**, 24 h, Kaninchen-Anti-Contactinhibin-Rezeptor (Lit. [15], 1:2 der Blockierungslösung), 2. Anti-Kaninchen-CY3 (Jackson, 1:1 mit Glycerin, 1:300 in PBS); e) E-CAD-Glycododecapeptid **3**, 24 h, danach Immunoassay für Contactinhibin-Rezeptor wie in (d); f) E-CAD-Cycloglycododecapeptid **7**, 24 h, danach Immunoassay für Contactinhibin-Rezeptor wie in (d); g) Kontrolle, 1. Maus-Anti-CD44, PE-konjugiert (NatuTec, 1:20 in der Blockierungslösung), 2. Anti-Maus-CY3 (Jackson, 1:1 mit Glycerin, 1:300 in PBS); h) E-CAD-Glycododecapeptid **3**, danach Immunoassay identisch wie in (g).

dung 3b und e). Der Contactinhibin-Rezeptor wird außerdem aus dem Cytosol in die Zellmembran translokalisiert. Zellen, die mit dem Peptid **2** oder dem Cyclopeptid **7** behandelt wurden, zeigen keinen Unterschied zur Kontrolle und gehen in Kultur binnen zehn Tagen keine erkennbare Differenzierung ein, obwohl sowohl das Peptid als auch das Cycloglycopeptid die gleiche Aminosäuresequenz wie **3** haben.

Daraus ist zu schließen, dass die markante Induktion von Zelldifferenzierung durch das E-CAD-Glycopeptid **3** an dessen in Wasser vorliegende Vorzugskonformation geknüpft ist, in der das Erkennungsmotiv His-Ala-Val in einer räumlich definierten Form präsentiert wird. Der Mechanismus dieser Induktion von Differenzierung in den HaCat-Zellen^[22] muss in weiteren Untersuchungen geklärt werden, insbesondere die Frage, ob das E-CAD-Glycopeptid **3** an E-Cadherin selbst bindet, wie nach dessen homophilen Erkennungsmechanis-

mus^[9,10] angenommen werden könnte. Die Expression und Aktivierung von E-Cadherin wird als entscheidend für eine Unterdrückung der Tumorphprogression angesehen.^[6,7,25] Daher ist die konformationsabhängige Wirkung des synthetischen E-CAD-Glycododecapeptids **3**, das in den transformierten HaCat-Keratinocyten binnen 24 h Differenzierung und Adhäsions- und Integrationsfähigkeit in ein Gewebe induziert, für die Entwicklung von Tumorsuppressoren von Interesse.

Eingegangen am 21. Mai 2002 [Z19348]

- [1] O. Huber, C. Bierkamp, R. Kemler, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1996**, *8*, 685–691.
- [2] Y. Saeki, K. Hazeki, M. Matsumoto, K. Toyoshima, H. Akedo, T. Seya, *Oncol. Rep.* **2000**, *7*, 731–735.
- [3] M. Takeichi, *Science* **1991**, *251*, 1451–1455.
- [4] a) M. Takeichi, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1995**, *7*, 619–627; b) S. K. Runswick, M. J. O'Hare, L. Jones, C. H. Streuli, D. R. Garrod, *Nat. Cell Biol.* **2002**, *3*, 823–830.
- [5] a) S. Jothy, S. B. Munro, L. LeDuy, D. McClure, O. W. Blaschuk, *Cancer Metastasis Rev.* **1995**, *14*, 363–376; b) T. Mikami, M. Saegusa, H. Mitomi, N. Yanagisawa, M. Ichinoe, I. Okayasu, *Am. J. Clin. Pathol.* **2001**, *116*, 369–376.
- [6] A.-K. Perl, P. Wilgenbus, U. Dahl, H. Semb, G. Christofori, *Nature* **1998**, *392*, 190–193.
- [7] W. Birchmeier, J. Behrens, *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, *1198*, 11–26.
- [8] I. K. Bukholm, J. M. Nesland, R. Karessen, U. Jacobsen, A. L. Borresen-Dale, *Virchows Arch.* **1997**, *431*, 317–321.
- [9] M. Overduin, T. S. Harvey, S. Bagby, K. I. Tong, P. Yau, M. Takeichi, M. Ikura, *Science* **1995**, *267*, 386–389.
- [10] E. Y. Jones, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1996**, *8*, 602–608.
- [11] W. Rapp, E. Bayer in *Innovations and Perspectives in Solid Phase Synthesis: Peptides, Polypeptides and Oligonucleotides* (Hrsg.: R. Epton), Intercept, Andover, **1992**, S. 259–266.
- [12] O. Seitz, H. Kunz, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 813–826.
- [13] R. Knorr, A. Trzeciak, W. Bannwarth, D. Gillissen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927–1930.
- [14] a) J. Habermann, H. Kunz, *J. Prakt. Chem.* **1998**, *340*, 233–239; b) J. Habermann, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 265–268.
- [15] a) H. Matter, G. Gemmecker, H. Kessler, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1995**, *45*, 430–440; b) R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440–1456; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1374–1389.
- [16] M. Gobbo, L. Biondi, F. Filira, R. Rocchi, T. Piek, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1995**, *45*, 282–289.
- [17] A. Trzeciak, W. Bannwarth, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4557–4560.
- [18] H. F. Brugghe, H. A. M. Timmermans, L. M. A. van Unen, G. J. Ten Hove, G. van de Werken, J. T. Poolman, P. Hoogerhout, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1994**, *43*, 166–172.
- [19] V. Wittmann, S. Seeberger, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4508–4512; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4348–4352.
- [20] L. A. Carpino, A. El-Faham, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 695–698.
- [21] **7**: $[\alpha]_D^{25} = -48.2$ ($c = 1.0$, H_2O); MALDI-TOF (dihb = 2,5-Dihydroxybenzoesäure, Positiv-Ionen-Modus): m/z : 1371.9 $[M+H]^+$, 1393.8 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (D_2O , 600 MHz, 1H , 1H -ROESY): $\delta = 8.60$ (s, 1H; Im-2), 7.29 (s, 1H; Im-4), 4.88 (br. s, 1H; Gal-H2), 3.57–3.54 (m, 2H; Gal-H6), 2.20–1.96 ppm (m, 11H; S β , 2 \times E β , 2 \times V β , CH $_3$ CO $_2$).
- [22] a) P. Boukamp, R. T. Petrussevska, D. Breitkreutz, J. Hornung, A. Markham, N. E. Fusenig, *J. Cell Biol.* **1988**, *106*, 761–771; b) V. M. Schoop, N. Mirancea, N. E. Fusenig, *J. Invest. Dermatol.* **1999**, *112*, 343–353.
- [23] G. Gradl, D. Faust, F. Oesch, R. J. Wieser, *Curr. Biol.* **1995**, *5*, 526–535.
- [24] N. A. Robinson, P. T. LaCelle, R. L. Eckert, *J. Invest. Dermatol.* **1996**, *107*, 101–107.
- [25] a) A. Stöckinger, A. Eger, J. Wolf, H. Beug, R. Foisner, *J. Cell Biol.* **2001**, *154*, 1185–1196; b) I. El-Hariry, M. Pignatelli, N. R. Lemoine, *Int. J. Cancer* **2001**, *94*, 652–661; c) M. A. Perez Moreno, A. Locascio, I. Rodrigo, G. Dhondt, F. Portillo, M. A. Nieto, A. Cano, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 27424–27431.

pH-spaltbare molekulare Nanotransporter auf der Basis dendritischer Kern-Schale-Architekturen**


Michael Krämer, Jean-François Stumbé, Holger Türk, Simon Krause, Ansgar Komp, Lydie Delineau, Svetlana Prokhorova, Holger Kautz und Rainer Haag*

Physikalische Aggregate von amphiphilen Molekülen, z. B. micellare Strukturen, werden häufig für den Wirkstofftransport vorgeschlagen.^[1] Diese Aggregate können jedoch aufgrund ihrer schwachen Wechselwirkungskräfte bei Scherkräften oder anderen äußeren Einflüssen zerfallen. Auch sind sie weniger für die aktive Freisetzung verkapselter Moleküle geeignet, die durch externe Signale wie pH-Änderungen ausgelöst wird. Besonders für den Wirkstofftransport in biologischen Systemen muss sich die Freisetzung von verkapselten Molekülen auf der Basis schwacher externer Signale ereignen, z. B. einer pH-Erniedrigung in Tumor- oder infiziertem Gewebe bei pH 5–6.^[2,3] Ferner wurde gezeigt, dass Nanopartikel größer als 5 nm, z. B. Liposomen und polymere Träger, biologische Membranen im Vergleich zu kleinen Molekülen über andere Mechanismen passieren und damit die Spezifität von Wirkstoffen für bestimmtes Gewebe^[4–6] (z. B. Tumor) verbessern können.

Im Unterschied zu physikalischen Aggregaten amphiphiler Moleküle können durch die kovalente Modifizierung dendritischer Makromoleküle^[7] mit entsprechender Schale stabile micellartige Strukturen erhalten werden, welche für die nichtkovalente Verkapselung von Gastmolekülen geeignet sind.^[8] Während die Verkapselung und der Transport der Gastmoleküle in solchen dendritischen Architekturen von mehreren Arbeitsgruppen untersucht wird,^[9–16] ist relativ wenig über die aktive Freisetzung der verkapselten Gastmoleküle – ausgelöst durch pH-abhängige Spaltung der Schale – unter physiologischen Bedingungen bekannt. Bisher wurde von einer pH-abhängigen Freisetzung aus dendritischen Architekturen nur unter relativ drastischen Bedingungen^[17] oder durch Protonierung von Polypropylenimin-Dendrimern^[18] und deren Derivaten berichtet.^[19,20]

[*] Dr. R. Haag, Dipl.-Chem. M. Krämer, Dr. J.-F. Stumbé, Dipl.-Chem. H. Türk, S. Krause, A. Komp, Dr. L. Delineau, Dr. S. Prokhorova, Dipl.-Chem. H. Kautz
Freiburger Materialforschungszentrum und
Institut für Makromolekulare Chemie
Universität Freiburg
Stefan-Meier-Straße 21, 79104 Freiburg (Deutschland)
Fax: (+49) 761-203-4709
E-mail: rainer.haag@fmf.uni-freiburg.de

[**] Die Autoren danken Prof. Dr. Rolf Mülhaupt für seine Unterstützung sowie Katrin Armbruster und Bernhard Siegel für die Herstellung einiger Intermediate. Der BASF AG sei für die Bereitstellung von Chemikalien gedankt. R.H. ist der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der chemischen Industrie und der Dr.-Otto-Röhm-Gedächtnisstiftung für finanzielle Unterstützung zu großem Dank verpflichtet.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.