

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 , CH₃CO₂).
[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]

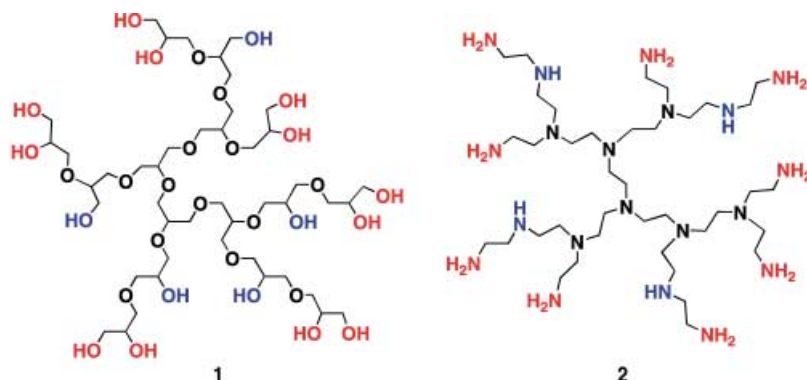
[*] Dr. R. Haag, Dipl.-Chem. M. Krämer, Dr. J.-F. Stumbé, Dipl.-Chem. H. Türk, S. Krause, A. Komp, Dr. L. Delineau, Dr. S. Prokhorova, Dipl.-Chem. H. Kautz
Freiburger Materialforschungszentrum und
Institut für Makromolekulare Chemie
Universität Freiburg
Stefan-Meier-Straße 21, 79104 Freiburg (Deutschland)
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.



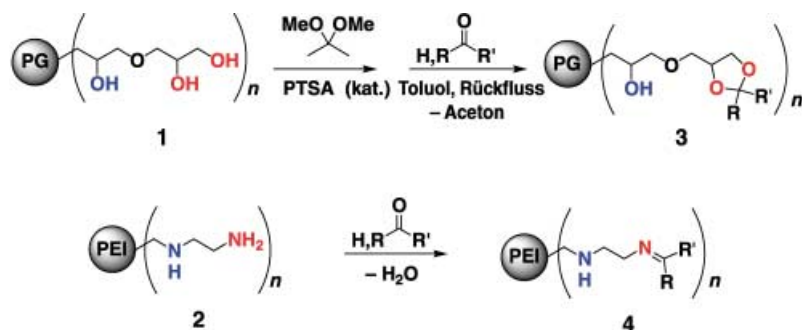
Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Diese Arbeit beschreibt ein einfaches, allgemeines Synthesekonzept zur Herstellung von pH-spaltbaren molekularen Nanotransportern basierend auf selektiver und reversibler Schalen-Funktionalisierung dendritischer Polymere am Beispiel von Polyglycerin (PG) **1** und Polyethylenimin (PEI) **2** (Schema 1). Polyglycerin **1** und Polyethylenimin **2** sind statis-



Schema 1. Polyglycerin (PG) **1** und Polyethylenimin (PEI) **2** wurden als hydrophile dendritische Kernmoleküle zur selektiven Herstellung pH-spaltbarer molekularer Nanotransporter verwendet. Die dargestellten Strukturen, welche 30–40 % lineare (blau) und 60–70 % terminale (rot) funktionelle Gruppen enthalten, sind nur idealisierte Fragmente der großen Polymerkerne.

tisch verzweigte, aber hochdefinierte dendritische Strukturen mit einem Verzweigungsgrad von 60 bis 75 %. Sie werden in einem Einstufenprozess hergestellt und sind in größeren Mengen mit niedrigen Polydispersitäten (< 2) leicht zugänglich.^[21] Die chemische Differenzierung und selektive Modifikation der linearen (blau) und der terminalen Gruppen (rot) von Polyglycerin **1** führt zu Kern-Schale-artigen Architekturen.^[22] Um unimolekulare micellartige Strukturen mit guten Transporteigenschaften zu generieren, ist es jedoch notwendig, einen Polaritätsgradienten zwischen Kern und Schale zu erzeugen,^[8] was mit den vorhergehenden Kern-Schale-Strukturen noch nicht möglich war.^[22] Für potenzielle Anwendungen dieser Nanotransporter im pH-abhängigen Transport verkapselter Gastmoleküle haben wir jetzt ein flexibles Synthesekonzept entwickelt, mit dem amphiphile dendritische Architekturen mit zwei säurelabilen Anbindungsarten der Schale erzeugt werden können: PG-Acetale/Ketale **3** und PEI-Imine **4** (Schema 2).



Schema 2. Allgemeines Synthesekonzept zur Herstellung amphiphiler Kern-Schale-Architekturen (siehe Tabelle 1). Terminale Gruppen (rot: 1,2-Diole bzw. NH_2) wurden entweder in einer zweifachen Transketalisierung oder einer Iminkondensation selektiv mit Aldehyden und Ketonen funktionalisiert. Lineare Einheiten (blau) bleiben unfunktionalisiert. PTSA = *p*-Toluolsulfonsäure.

Formal ist die selektive Schalen-Funktionalisierung der beiden dendritischen Polymere (PG **1** und PEI **2**) eine einfache Kondensationsreaktion zwischen den terminalen Einheiten (1,2-Diol bzw. NH_2) und der Carbonylverbindung. Im Falle des Polyglycerins **1** war die direkte Umsetzung mit unreaktiven oder lipophilen Carbonylverbindungen jedoch nicht möglich.^[23] Um pH-spaltbare molekulare Nanotransporter zu erzeugen, wurde eine zweistufige Eintopf-Methode basierend auf zwei aufeinanderfolgenden Transketalisierungen (siehe Hintergrundinformation) entwickelt. In der ersten Stufe wurde PG **1** mit einem Überschuss Acetondimethylacetal zur Reaktion gebracht, um das entsprechende PG-Acetonid herzustellen.^[22] Anschließend kann dieses mit äquimolaren Mengen einer Vielzahl von Carbonylverbindungen, z. B. langkettigen Alkylketonen, umgesetzt werden, um dendritische Kern-Schale-Architekturen wie **3** zu erhalten. Im Falle von PEI **2** ist die Synthese wesentlich einfacher, da einfache nichtpolare Carbonylverbindungen wie 6-Undecanon und Hexadecanal direkt mit PEI **2** reagieren können, und so die entsprechenden Kern-Schale-Strukturen **4** erhalten werden.^[24] Im Falle von Hexadecanal

tritt die Reaktion sogar spontan bei Raumtemperatur ein. Beide Kern-Schale-Strukturtypen **3** und **4** sind jetzt in hohen Ausbeuten (70–90 %) und im Multigrammaßstab einfach zugänglich. Wir haben mehrere dendritische Kern-Schale-Strukturen untersucht, welche sich in 1) der Art des Kernpolymers, 2) dem Molekulargewicht des Kernpolymers, 3) der Struktur der angekoppelten Schale und 4) der Dichte der angekoppelten Schale (Alkylierungsgrad) unterscheiden.

Die Transportkapazitäten (Anzahl der verkapselten Gastmoleküle pro Polymermolekül) dieser molekularen Nanotransporter wurden zunächst mit Kongorot als einfach detektierbare Modellschubstanz bestimmt (Tabelle 1). Zu diesem Zweck wurden die dendritischen Kern-Schale-Architekturen in Chloroform gelöst und mit wässrigen Kongorotlösungen verschiedener Konzentrationen versetzt. Alternativ kann der Gast auch direkt an der Phasengrenzfläche (Festphase/organische Lösung) verkapselt werden. In allen Fällen wurde die Zahl der verkapselten Farbstoffmoleküle durch UV-Absorption der organischen Phase bestimmt (siehe Hintergrundinformation). Entsprechend anderen dendritischen Kern-Schale-Architekturen^[8] ist eine Mindestkerngröße (ca. 3000 g mol^{-1}) und eine hochverzweigte Architektur erforderlich, um erfolgreich Gastmoleküle zu verkapseln.^[14b] Für den effizienten Transport sollte der Alkylierungsgrad 45–50 % betragen, und die Alkylketten sollten eine Mindestlänge ($> C_{10}$) aufweisen. Beispielsweise führt die Umsetzung der terminalen Gruppen im Polyglycerin **1** (21000 g mol^{-1}) mit einem C_{16} -Aldehyd, welcher eine Alkylkette pro Dioleinheit beinhaltet, zu **3a** mit einem effektiven Alkylierungsgrad von 25 % (Tabelle 1) und einer niedrigen Transportkapazität (0.15 Kongorotmole-

Tabelle 1. Größe und Transportkapazitäten dendritischer Nanotransporter **3**, **4**.

Struktur	Polymerkern	M_n Kern [g mol ⁻¹]	Schale	Alkylierungsgrad	Durchmesser ^[a] [nm]	Höhe ^[a] [nm]	Transportkapazität ^[b]
1	PG	21 000	–	–	8 ± 2	2.7 ± 0.6	– ^[c]
3a	PG	21 000		25 %	10 ± 2	2.5 ± 0.5	0.15 ± 0.05
3b	PG	21 000		45 %	10 ± 2	2.7 ± 0.6	13 ± 4
3c	PG	21 000		55 %	10 ± 2	2.5 ± 0.5	2 ± 0.5
2	PEI	25 000	–	–	18 ± 4	3.2 ± 0.5	0.02 ± 0.005 ^[d]
4a	PEI	25 000		33 %	20 ± 4	3.5 ± 0.5	0.6 ± 0.1 ^[d]
4b	PEI	25 000		53 %	84 ± 16	9 ± 2 ^[e]	0.2 ± 0.05 ^[d,e]

[a] Korrigierter Partikeldurchmesser und Höhe ohne verkapseltes Gastmolekül aus AFM-Daten (siehe Hintergrundinformationen). [b] Zahl verkapselter Farbstoffmoleküle (Kongorot) pro polymerem Nanotransporter und Transport in die Chloroformphase. [c] Nicht löslich in Chloroform. [d] Beladungskapazitäten wurden in Chloroform ohne wässrige Phase mithilfe einer UV-Kalibrierkurve bestimmt. [e] Partielle Hydrolyse und Aggregatbildung mit Wasser möglich.

küle). Unter Verwendung des gleichen PG-Kerns (21 000 g mol⁻¹) kann der zum Ketal funktionalisierte Nanotransporter **3b** mit zwei Alkylketten pro Dioleinheit und 45 % effektiver Alkylierung (Tabelle 1) bis zu 13 Kongorotmoleküle transportieren. Ein höherer Ketalfunktalisierungsgrad (**3c**: 55 %, Tabelle 1) weist jedoch auf ein Optimum des Alkylierungsgrads von 45–50 % hin. Im Fall von **3c** werden nur zwei Farbstoffmoleküle verkapselt und der Verkapselungsprozess war sehr langsam. Kleinere Kernpolymere, kürzere Alkylketten und niedrigere Funktalisierungsgrade resultieren allgemein in niedrigeren Transportkapazitäten. Weiterhin ist bemerkenswert, dass die selektive Kern-Schale-Architektur **3b** (Tabelle 1) bis zu achtmal effizienter ist als ein zufällig mit Palmitinsäure funktionalisierter Polyglycerinester der gleichen Kerngröße.^[14a,25] Dieser Vergleich zeigt, dass die polare Kernumgebung dieser Nanotransporter aufgrund der selektiven Kern-Schale-Funktalisierung maximiert wird. Die exakte Bestimmung der Transportkapazitäten der Nanotransporter **4** auf Aminbasis (Tabelle 1) war in einigen Fällen aufgrund der Hydrolyseempfindlichkeit der als Imin angeordneten Schale kompliziert, z. B. bei **4b** (siehe unten). Um eine Hydrolyse zu vermeiden, wurde der Farbstoff direkt und ohne wässrige Phase (Festphase/organische Lösung) verkapselt. Trotzdem kann eine gewisse Unterschätzung aufgrund einer partiellen Spaltung der Schale in diesem Fall nicht ausgeschlossen werden.^[26] Ein chemisch stabiles PEI-Amid, z. B. $M_n(\text{PEI}) = 6000$ g mol⁻¹ mit einer Palmitinamid-Schale (50 %), kann im Vergleich bis zu 15 Kongorot-Moleküle verkapseln.^[27]

Die Struktur und die Partikelgrößen dieser Nanotransporter in unbeladenem und voll beladenem Zustand wurden durch Rasterkraftmikroskopie (AFM) im „tapping mode“ mit molekularer Auflösung bestimmt (Tabelle 1, siehe auch Hintergrundinformation). Ein Beispiel für das C₃₃-Ketal funktionalisierte Polyglycerin **3b** ist in Abbildung 1a gezeigt. Aus den Profilen (z. B. aufgenommen entlang der Spur, die in Abbildung 1a durch die gestrichelte Linie gekennzeichnet

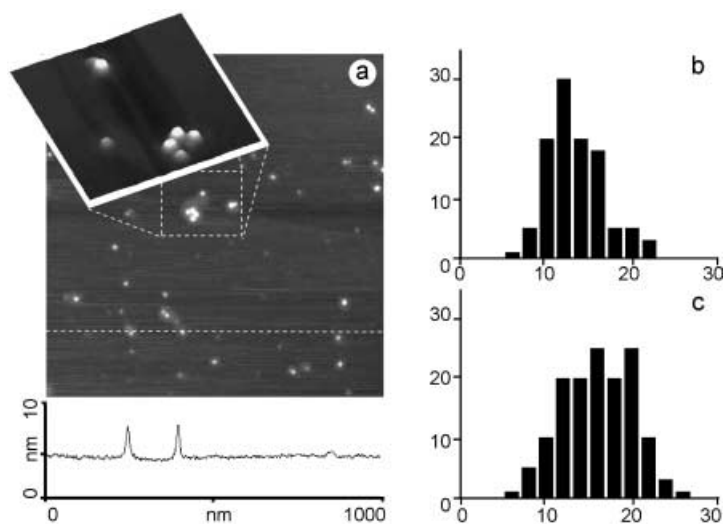


Abbildung 1. a) AFM-Aufnahme und Höhenprofil einzelner Nanokapseln **3b** hergestellt durch Aufschleudern einer 10⁻⁵ M Lösung in Chloroform auf ein Glimmer-Plättchen. Die Skala der z-Achse beträgt 10 nm. Die Längenskala der 3D-Fläche beträgt 200 nm. Histogramme der Durchmesser- und Höhenverteilung der unbeladenen (b) und beladenen (c) Nanotransporter. Die Histogramme wurden basierend auf der Auswertung von mehr als 120 Partikeln in den jeweiligen AFM-Aufnahmen erstellt.

ist) wurde die Höhe der Nanokapseln mit 2–3 nm bestimmt. Die Durchmesser- und Höhenverteilung der Partikel wurde durch Auswertung von mehr als 120 Partikeln jeder Sorte und unter Berücksichtigung des Durchmessers der AFM-Spitze berechnet (Tabelle 1). Für den mittleren Durchmesser der Nanotransporter **3b** ergab sich 10 ± 2 nm für den unbeladenen und 13 ± 2 nm für den beladenen Zustand (Abbildung 1b,c). Dieses Verhalten kann durch das Anschwellen des Polymerkerns nach Verkapselung der Gastmoleküle erklärt werden. Alle mit AFM ermittelten Partikelgrößen für die PG-basierten Systeme **3** sind in guter Übereinstimmung mit den für diese Nanopartikel durch Extrapolierung, ausgehend von

einem Kern mit einem Molekulargewicht von 4000 g mol^{-1} , berechneten.^[28] Diese Beobachtung weist darauf hin, dass diese dendritischen Nanotransporter sich wie inverse unimolekulare Micellen in verdünnten Lösungen ($< 10^{-3} \text{ M}$) verhalten. Größere Aggregate können jedoch bei höheren Konzentrationen ($> 10^{-3} \text{ M}$) beobachtet werden.^[29] Die Partikelgrößen der auf PEI basierenden Nanotransporter **4** deuten in einigen Fällen auf partielle Aggregatbildung, insbesondere bei **4b**, aufgrund partieller Hydrolyse auf der Glimmer-Oberfläche hin (siehe Hintergrundinformation).^[26] Die zum Vergleich herangezogenen hydrolysestabilen PEI-Amide zeigen den erwarteten Partikeldurchmesser, z.B. $M_n(\text{PEI}) = 6000 \text{ g mol}^{-1}$ mit einer Palmitinsäureamid-Schale ($d = 6 \text{ nm}$).^[27]

Die Transporteigenschaften dieser Nanotransporter wurden mit verschiedenen Gaststrukturen unter Verwendung der PG- und PEI-basierten Nanotransporter **3** und **4** getestet. Verschiedene Arten von Farbstoffmolekülen mit polaren oder ionischen Gruppen wurden als Modellsysteme genutzt. Viele organische Farbstoffe wie Bromphenolblau, Kongorot, Methylorange, Methylrot und Fluorescein,^[30] welche alle polare anionische Sulfonate oder Carboxylate mit Natriumgegenionen enthalten, wurden spontan von beiden Transportsystemen **3** und **4** verkapselt und transportiert (siehe auch Hintergrundinformation). Im Unterschied dazu wurden kationische Farbstoffe wie das auf Triphenylmethan basierende Malachitgrün mit einem Oxalatgegenion überhaupt nicht transportiert.

Für potenzielle Anwendungen dieser Nanotransporter für den Wirkstofftransport und die Gentransfektion wurden die Komplexierung eines Antitumorwirkstoffes (Mercaptopurin), verschiedene Oligonucleotide sowie bakterizide Silberverbindungen (z.B. Ag^+ -Salze und Ag^0 -Nanopartikel)^[27] untersucht. Erfolgreiche Verkapselung und Transport wurden in allen Fällen für die PEI-basierten Nanotransporter **4** beobachtet. Keine Komplexierung mit diesen Gastmolekülen konnte dagegen für die PG-basierten Nanotransporter **3** gefunden werden.

Das ursprüngliche Ziel, pH-sensitive Transporter zu entwickeln, wurde jetzt unter Verwendung mehrerer Pufferlösungen sowohl für die Acetal- als auch für die Iminschalen getestet. Bei neutralem pH-Wert und basischem pH-Wert ($\text{pH} > 7$) war das im Nanotransporter **3b** verkapselte Kongorot über mehrere Monate stabil. In saurem Medium ($\text{pH} < 3$) resultierte jedoch eine unmittelbare Freisetzung des Gastmoleküles (Abbildung 2). Da Kongorot ein pH-Indiktorfarbstoff (für $\text{pH} 4\text{--}5$) ist, wurde eine Farbänderung (rot \rightarrow blau) zusätzlich zur Spaltung der Schale beobachtet (Abbildung 2). Die Spaltung der PG-Ketale ist auch vom Funktionalisierungsgrad der Schale abhängig: 45 % (**3b**: 2 h, $\text{pH} 2\text{--}3$, 37°C) versus 55 % (**3c**: 2 d, $\text{pH} 0\text{--}1$, 37°C). Die auf Iminen basierenden Nanotransporter reagieren sogar noch empfindlicher auf ein externes Absinken des pH-Wertes. Im Falle des Nanotransporters **4a** erfolgt die Hydrolyse der Schale und die

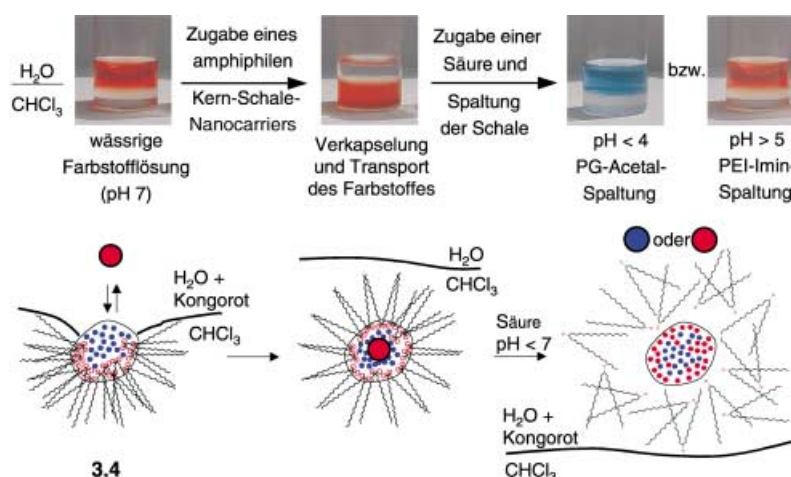


Abbildung 2. Verkapselung und Transport polarer Gastmoleküle mit dendritischen Nanotransportern **3,4** in die organische Phase (blaue und rote Punkte zeigen lineare bzw. terminale Gruppen). Spaltung der Schale führt zur Freisetzung des verkapselten Gastes zurück in die Wasserphase. Zur Demonstration der pH-abhängigen Schalenabspaltung wurde Kongorot (pH-Indikator: $\text{pH} 4\text{--}5$) als Modellverbindung verwendet.

Freisetzung des verkapselten Gastes (d.h. Kongorot) über einen Zeitraum von 4 Tagen bereits bei $\text{pH} 6$. Die beladenen Nanotransporter sind jedoch über mehrere Wochen bei neutralem pH-Wert stabil. Im Unterschied dazu erfolgt die Hydrolyse des Nanotransporters **4b** und die Freisetzung des verkapselten Gastes bei $\text{pH} < 7$ spontan. Im Falle von **4b** kann eine langsame Freisetzung sogar ohne Ansäuern nach mehreren Stunden ($\text{pH} 8$, ca. 3 h, 25°C) oder Tagen ($\text{pH} 12$, 2 d, 25°C) beobachtet werden. Die PEI-basierten Nanotransporter **4a** und **4b** zeigen aufgrund der höheren Säurelabilität keinen Farbumschlag des Farbstoffindikators nach der Freisetzung (Abbildung 2).

In den Freisetzungsexperimenten wurde durch Dialyse (siehe Hintergrundinformation) für beide Nanotransporter **3** und **4** gezeigt, dass keine Komplexierung des verkapselten Gastes (z.B. mit Natriumpikrat) in der wässrigen Phase bei $\text{pH} < 7$ erfolgt.^[31] Für die Nanotransporter **4b** auf PEI-Basis wurde das Ausmaß der Farbstofffreisetzung/Schale-Spaltung mit IR-Spektroskopie durch das Verschwinden des Iminsignals (Abbildung 3) verfolgt. Die Kinetik der Iminhydrolyse auf einer KBr-Oberfläche zeigt einen rapiden Zerfall über einen Zeitraum von etwa 3 h. Diese Beobachtung könnte auch die Aggregatbildung von **4b** aufgrund partieller Schalen-spaltung auf der Glimmer-Oberfläche erklären. Die Analyse verschiedener Spaltungsstadien zeigte, dass etwa 30 % Schalen-spaltung ausreichend ist, um das Verhalten der dendritischen Makromoleküle als molekularer Nanotransporter zu zerstören. Diese Beobachtung wird auch durch die niedrige Transportkapazität der zu 25 % alkylierten Kern-Schale-Struktur **3a** unterstützt (Tabelle 1).

Während der genaue Mechanismus der Verkapselung gegenwärtig untersucht wird, kann die höhere Selektivität für große anionische Gastmoleküle durch die starken Wechselwirkungen dieser Spezies mit den polaren Gruppen im Kern dieser dendritischen Makromoleküle erklärt werden. Die Hydroxy- und Amingruppen im dendritischen Kern (blau, Schema 1) können die Hydrathülle des polaren Gastes

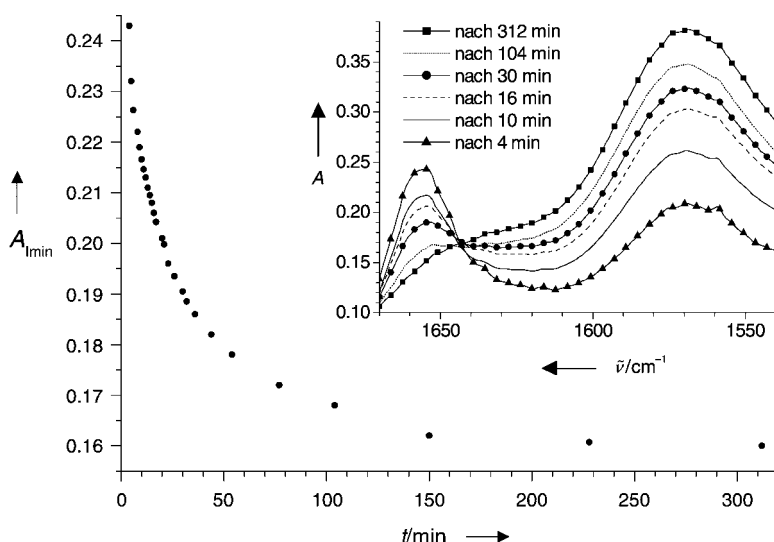


Abbildung 3. Zeitabhängigkeit der Schalenspaltung des PEI-Imins **4b** auf einer KBr-Oberfläche. IR-Bande des Iminpeaks bei 1655 cm^{-1} nimmt aufgrund der Iminspaltung ab, die N–H-, out-of-plane-Schwingung bei 1565 cm^{-1} wird dagegen größer.

ersetzen, was zu einer bedeutenden Entropiezunahme durch die Freisetzung der Wassermoleküle führt. Die Verkapselung der Gastmoleküle (z.B. Methylrot) im Innern der dendritischen Architektur **3b** wird auch durch eine deutliche Hochfeld-Verschiebung um 0.2 ppm (abschirmender Effekt der Kern-Schale-Architektur) des Signals der Methylgruppen unterstützt, wie im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Methylrotkomplexes mit **3b** beobachtet wurde (siehe Hintergrundinformation). Außerdem war es nach der Verkapselung von Methylrot in **3b** nicht möglich, das verkapselte Farbstoffmolekül mit Ultraschall oder durch Erhitzen unter Rückfluss bei neutralem pH-Wert freizusetzen. Dies zeigt deutlich die hohe mechanische Stabilität dieser unimolekularen Nanotransporter, die dagegen nicht bei physikalischen Aggregaten wie Liposomen oder micellaren Systemen beobachtet wird. Trotzdem kann die Freisetzung der verkapselten Gastmoleküle durch Austausch mit einem Molekül mit höherer Bindungsaffinität erreicht werden, wie bei der Titration des mit Bromphenolblau beladenen Nanotransporters **3b** mit Kongorotlösung gezeigt wurde (siehe Hintergrundinformation). Folglich ist der Verkapselungsprozess ein Gleichgewichtsphänomen, der es erlaubt, die Gastmoleküle durch konkurrierende Bindungen auszutauschen. Dieses Experiment deutet darauf hin, dass der Bindungsmechanismus nicht nur eine entropische Triebkraft (Freisetzung der Hydrathülle) beinhaltet, sondern auch eine enthalpische Komponente enthält.

Wir haben somit ein einfaches, allgemeines Synthesekonzept für die selektive Schalen-Funktionalisierung dendritischer Polymere (d.h. PG **1** und PEI **2**) entwickelt, um molekulare Nanotransporter **3** und **4** für die Verkapselung und den Transport von polaren Gastmolekülen herzustellen. Dieses Konzept ist sehr flexibel in Bezug auf die im Kern und der Schale verwendeten Bausteine. Zum ersten Mal wurden dendritische Polymere mit pH-spaltbarer Schale hergestellt,

die selektiv das verkapselte Gastmolekül in physiologisch wichtigen pH-Bereichen freisetzen können. AFM-Aufnahmen mit molekularer Auflösung deuten darauf hin, dass sich diese Nanotransporter in Konzentrationen unterhalb 10^{-3} M wie inverse unimolekulare Micellen verhalten. Zusätzlich wurden verschiedene Farbstoffe und Wirkstoffe, z.B. bakteriizide, cytotoxische Verbindungen sowie Oligonucleotide, erfolgreich von den aminbasierten Nanotransportern **4** verkapselt und transportiert. Das Konzept pH-spaltbarer molekularer Nanotransporter könnte für den selektiven Wirkstofftransport im Zellgewebe mit niedrigerem pH-Wert (z.B. infiziertes Gewebe oder Tumorgewebe) eingesetzt werden. Die Optimierung der pH-Sensitivität, Biokompatibilität und Wasserlöslichkeit dieser „controlled-release“-Systeme ist Gegenstand der derzeitigen Forschungsaktivitäten.

Eingegangen am 24. Juni 2002 [Z19603]

- [1] K. Kataoka, A. Harada, Y. Nagasaki, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, 47, 113–131.
- [2] D. E. Hallanan, *Semin. Radiat. Oncol.* **1996**, 6, 243–244.
- [3] P. Vaupel, F. Kallinowski, P. Okunieff, *Cancer Res.* **1989**, 49, 6449–6465.
- [4] H. Maeda, Y. Matsumura, *CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **1989**, 6, 193–210.
- [5] Y. Takakura, M. Hashida, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **1994**, 18, 207–231.
- [6] F. Yuan, M. Deilian, D. Fukumura, M. Leuning, D. A. Berk, V. P. Torchilin, R. K. Jain, *Cancer Res.* **1995**, 55, 3752–3756.
- [7] Der Ausdruck „dendritische“ (baumförmige) Struktur wird sowohl für hyperververzweigte als auch für perfekte Dendrimere aufgrund ihrer ähnlichen Eigenschaften in Bezug auf die Bildung von supramolekularen Komplexen verwendet; siehe auch: G. R. Newkome, C. N. Moorefield, F. Vögtle, *Dendritic Molecules: Concepts, Syntheses, Perspectives*, 2. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.
- [8] M. W. P. L. Baars, E. W. Meijer, *Top. Curr. Chem.* **2000**, 210, 131–182, zit. Lit.
- [9] G. R. Newkome, C. N. Moorefield, G. R. Baker, M. J. Saunders, S. H. Grossman, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 1207–1209; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1178–1180.
- [10] J. F. G. A. Jansen, E. M. M. de Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *Science* **1994**, 266, 1226–1229.
- [11] S. Stevelmans, J. C. M. v. Hest, J. F. G. A. Jansen, D. A. F. J. v. Bostel, E. M. M. de Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7398–7399.
- [12] A. P. H. J. Schenning, C. Elissen-Román, J.-W. Weener, M. W. P. L. Baars, S. J. v. d. Gaast, E. W. Meijer, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 8199–8208.
- [13] V. Chechik, M. Zhao, R. M. Crooks, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 4910–4911.
- [14] a) A. Sunder, M. Krämer, R. Hanselmann, R. Mülhaupt, H. Frey, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 3758–3761; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 3552–3556; b) S.-E. Stiriba, H. Kautz, H. Frey, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 9698–9699.
- [15] M. Liu, K. Kono, J. M. J. Fréchet, *J. Controlled Release* **2000**, 65, 121–131.
- [16] C. Kojima, K. Kono, K. Maruyama, T. Takagishi, *Bioconjugate Chem.* **2000**, 11, 910–917.
- [17] J. F. G. A. Jansen, E. W. Meijer, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 4417–4418.

- [18] G. Pistolis, A. Malliaris, D. Tsiourvas, C. M. Paleos, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 1440–1444.
- [19] H. Stephan, H. Spies, B. Johannsen, C. Kauffmann, F. Vögtle, *Org. Lett.* **2000**, 2, 2343–2346.
- [20] Z. Sideratou, D. Tsiourvas, C. M. Paleos, *Langmuir* **2000**, 16, 1766–1769.
- [21] Aktuelle Übersichten: a) H. Frey, R. Haag in *Encyclopedia of Materials, Science and Technology* (Hrsg.: K. H. J. Buschow, R. H. Cahn, M. C. Flemings, B. Ilshner, E. J. Kramer, S. Majahan), Elsevier, Oxford, **2001**, S. 3997–4000; b) H. Frey, R. Haag, *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, 90, 257–267; c) A. Sunder, R. Mülhaupt, R. Haag, H. Frey, *Adv. Mater.* **2000**, 12, 235–239.
- [22] R. Haag, J.-F. Stumbé, A. Sunder, H. Frey, A. Hebel, *Macromolecules* **2000**, 33, 8158–8166.
- [23] R. Haag, A. Sunder, A. Hebel, S. Roller, *J. Comb. Chem.* **2002**, 4, 112–119.
- [24] Die Reaktion des symmetrischen C₃₃-Ketons mit PEI **2** war mit dieser Methode bis jetzt nicht erfolgreich.
- [25] Für den direkten Vergleich der Transportkapazitäten wurde ein Polyglycerinpalmitinester (50 % Funktionalisierung) mit der gleichen PG-Kerngröße (21000 g mol⁻¹) analog der Vorschrift in Lit. [14a] synthetisiert: M. Krämer, Diplomarbeit, Universität Freiburg, **2001**.
- [26] Ein niedrigerer Alkylierungsgrad oder kürzere Alkylketten in **4a,b** kann zur Aggregatbildung und deshalb zu niedrigeren Transportkapazitäten führen.
- [27] R. Haag, M. Krämer, J.-F. Stumbé, S. Krause, A. Komp, S. Prokhorova, *Polym. Prepr. Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.* **2002**, 43, 328.
- [28] Der Durchmesser (*d*) eines PG-Kerns mit *M_n* = 4000 g mol⁻¹ beträgt etwa 4 nm laut Kraftfeldrechnungen. Über eine Masse-Volumen-Korrelation: $M = \rho 4/3\pi(d/2)^3$, wird der erwartete Durchmesser eines PG-Kerns mit *M_n* = 21000 g mol⁻¹ mit etwa 8 nm berechnet. Der Durchmesser der flexiblen Alkylschale kann mit 1–3 nm abgeschätzt werden.
- [29] Erste Lichtstreuexperimente in Chloroform zeigten ähnliche Durchmesser, bei höheren Konzentrationen wurden jedoch größere Aggregate beobachtet: M. Soddemann, W. Richtering, M. Krämer, R. Haag, unveröffentlichte Ergebnisse, **2002**.
- [30] Im Falle von Fluorescein ist eine Fluoreszenzlöschung nach der Verkapselung zu beobachten, was auf einen Abstand der verkapselten Gastmoleküle unterhalb der Förster-Distanz hindeutet.
- [31] Über eine Salz- und pH-abhängige Größenänderung bei Amindendrimern wurde berichtet.^[8] Im Falle des Nanotransporters **4** ist dieser Effekt jedoch von untergeordneter Bedeutung, da die terminalen Amingruppen gleichzeitig mit den Gastmolekülen freigesetzt werden.

Ln₁₃Br₁₈B₃ (Ln = Gd, Tb) – eine Verbindung mit einer Kombination von diskreten und kondensierten Clustern**

Oliver Oeckler, Lorenz Kienle,
Hansjürgen Mattausch und Arndt Simon*

Professor Dieter Fenske zum 60. Geburtstag gewidmet

Seit langem kennt man eine große Zahl metallreicher ternärer Seltenerdmetallhalogenide,^[1] deren reichhaltige Strukturchemie auf der Grundlage des Konzeptes kondensierter Cluster beschrieben und verstanden werden kann.^[2a] Die Clustereinheiten der valenzelektronenarmen Seltenerdmetalle bedürfen in der Regel einer Stabilisierung durch interstitielle (endohedrale) Atome.^[2b] Man kennt Cluster verschiedener Geometrie, am häufigsten sind jedoch solche mit Metallatomoktaedern. Diese Struktursystematik, die von Verbindungen mit diskreten Clustern über solche mit Ketten und Schichten bis zu solchen mit dreidimensional ausgedehnten Raumnetzen reicht, soll im Folgenden anhand einiger ausgewählter Beispiele aus dem Bereich der Borid- und Carbidhalogenidchemie veranschaulicht werden.^[3]

Die Struktur von Tb₇X₁₂B (X = Halogen) enthält diskrete Tb₆BX₁₂-Cluster.^[1c] Die Verbindung Tb₁₀Br₁₅B₂ mit Tb₁₀B₂X₁₈-Clustern aus zwei kantenverknüpften Oktaedern^[3a] stellt einen ersten Kondensationsschritt auf dem Weg zu unendlichen Ketten wie in Tb₄X₅B dar.^[3b] Tb₁₆Br₂₃B₄ enthält Clustereinheiten mit einem Tb₁₆B₄-Zentrum, das aus vier miteinander verknüpften Tb₆B-Oktaedern besteht.^[3c] Dieser Clustertyp ist gewissermaßen der Baustein von Doppelketten, wie man sie im Carbidhalogenid Gd₆Br₇C₂ findet.^[3d] Die Verknüpfung einer Vielzahl von Ketten führt zu Schichten, ein Beispiel von vielen ist Gd₂X₂C.^[3e] Schließlich liegt in der Struktur von Gd₃X₃B ein dreidimensional ausgedehntes Raumnetz vor.^[3f,g]

Hier berichten wir über die Struktur eines reduzierten Seltenerdmetallhalogenids, das erstmals sowohl diskrete als auch zu Ketten verknüpfte Cluster enthält. Auf diese Kombination trifft man in den Verbindungen Ln₁₃Br₁₈B₃ (Ln = Gd, Tb), die aus Gemengen von LnBr₃, Ln und B bei etwa 1000 °C erhalten werden^[4] und säulenförmige Kristalle mit dunkelgoldener Farbe bilden.

Röntgenbeugungsaufnahmen von Einkristallen dieser Verbindungen sind durch ausgeprägte diffuse Streuung gekennzeichnet, die in Form von Stäben entlang der *c**-Richtung zusätzlich zu scharfen Bragg-Reflexen auftritt (Abbildung 1 a). Daraus kann geschlossen werden, dass eine unregelmäßige Stapelfolge geordneter Schichten vorliegt. Die gemittelte Struktur der Verbindung konnte unter ausschließlicher Verwendung der Intensitäten der Bragg-Reflexe gelöst

[*] Prof. Dr. A. Simon, Dr. O. Oeckler, Dr. L. Kienle, Dr. H. Mattausch
Max-Planck-Institut für Festkörperforschung
Heisenbergstraße 1, 70569 Stuttgart (Deutschland)
Fax: (+49) 711-689-1091
E-mail: a.simon@fkf.mpg.de

[**] Wir danken Frau V. Duppel für die Anfertigung von transmissions-elektronenmikroskopischen Abbildungen und Elektronenbeugungsdiagrammen sowie Herrn R. Eger für die Präparation zahlreicher Proben.