

Lokale Anreicherung von Wirkstoffen durch Hydrogelierung**

Joerg C. Tiller*

Stichwörter:

Antibiotika · Gele · Vancomycin · Wirkstoff-Design

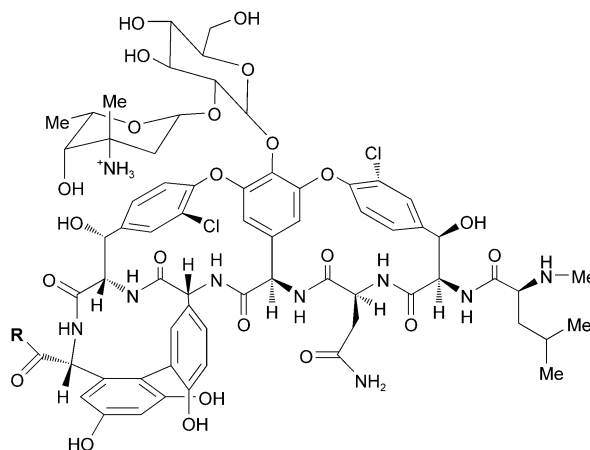
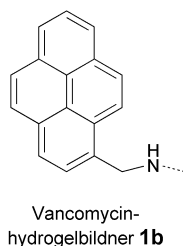
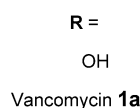
Im Laufe der letzten Jahre hat die Wirkstoffentwicklung in den Bereichen Medizin, Landwirtschaft, Infektionskontrolle und Biotechnologie besonders durch die Einführung von kombinatorischen Ansätzen sowie dem Computer-Modeling einen starken Aufschwung erlebt.^[1] Wirkstoffe mit deutlich erhöhter Spezifität und Aktivität wurden erhalten, die meisten zeigen jedoch erhebliche Nebenwirkungen. Aus diesem Grund müssen die Wirkstoffe möglichst gezielt an ihrem Wirkort in hinreichender, aber nicht toxischer Konzentration eingesetzt werden. Ein Lösungsansatz ist die lokale Konzentrierung der bioaktiven Substanzen an Zelloberflächen und in Organen oder anderem Zellgewebe. Auch die Konzentrierung von Wirkstoffen auf Oberflächen von künstlichen Materialien wie Kathetern, Implantaten und sogar in Wasserrohren ist von größtem Interesse. Die Immobilisierung von nieder- oder hochmolekularen Wirkstoffen, die Beschichtung mit wirkstoffbeladenen Gelen und die Verwendung von bioadhäsiven Polymer-Wirkstoff-Konjugaten sind übliche Ansätze zum Erreichen lokal erhöhter Wirkstoffkonzentrationen.^[2] Eine sehr aktuelle Strategie ist die lokale Konzentrierung von bioaktiven Substanzen durch Hydrogelierung.

Ein erstes Beispiel für die Umwandlung eines Wirkstoffes in seinen analogen Hydrogelbildner durch chemische Modifizierung wurde kürzlich von Xing et al. beschrieben,^[3] die das Antibiotikum Vancomycin (**1a**) mit einer Pyren-Gruppe zu **1b** derivatisierten. Schon 0.36 Gew.-% von **1b** in Wasser führte ohne Erwärmung zur Bildung eines Hydrogels. Das Gel besteht aus miteinander verbundenen Fasern, wie mithilfe von Circular dichroismus- und Fluoreszenzspektroskopie sowie Transmissions-elektronenmikroskopie gezeigt werden konnte. Bemerkenswert ist dabei, dass das hydrogelierende **1b** bis zu elfmal aktiver gegen verschiedene Bakterien ist als das nichtmodifizierte **1a**.

Nach einem Vorschlag der Autoren könnte dieser Effekt auf eine lokale Konzentrierung von **1b** auf den Bakterienoberflächen zurückzuführen sein. Zwei Mechanismen sind vorstellbar, nach denen **1b** auf der Oberfläche der Bakterien auch dann gelieren kann, wenn die eingesetzte Konzentration bis zu 30-fach geringer ist als die minimale Gelierungskonzentration (MGC). Der

Prozess beginnt vermutlich mit der spezifischen Adsorption von **1b** durch Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen dem Lys-D-Ala-D-Ala-Peptidrückgrat und kompatiblen Bereichen auf der bakteriellen Oberfläche.^[4] (Vancomycin bindet spezifisch an Bakterienoberflächen und inhibiert dadurch den Aufbau einer neuen Zellwand.) Der Wirkstoff wird dabei auf der Oberfläche hinreichend hoch konzentriert, sodass er den MGC-Wert überschreitet und einen Selbstorganisationsprozess beginnt. Die Gel-artige Struktur zieht weitere Moleküle aus der umgebenden Lösung an, wodurch es zu einer Amplifizierung der Oberflächenkonzentration kommt (Abbildung 1).

Eine andere Möglichkeit ist die Adsorption von bereits in der umgebenden Lösung gebildeten faserartigen Überstrukturen. In beiden Fällen wäre die Oberflächenkonzentration des gelierenden Wirkstoffs deutlich höher als die des nichtgelierenden Analogons. Eine Bestätigung dieses Konzepts könnte einen neuartigen Zugang zu einer Vielzahl von verbesserten Wirkstoffen



[*] Dr. J. C. Tiller
Freiburger Materialforschungszentrum
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Stefan-Meier-Straße 21
79104 Freiburg (Deutschland)
Fax: (+49) 761-203-4700
E-mail: joerg.tiller@mfz.uni-freiburg.de

[**] J.C.T. dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Emmy-Noether-Programm) und dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung.

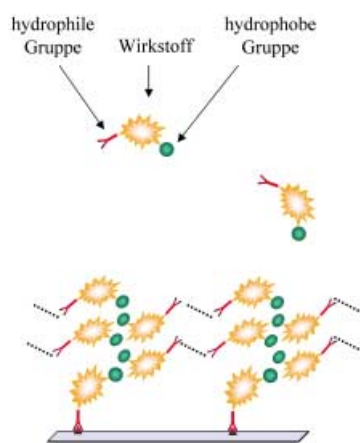


Abbildung 1. Idealisierte Struktur eines auf einer Oberfläche gelierten bioaktiven Hydrogelbildners.

eröffnen und neue Ansätze für die Beschichtung von Oberflächen, z.B. von Kathetern oder Wundoberflächen, mit einer bioaktiven Substanz ermöglichen.

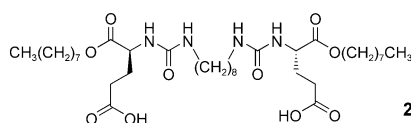
Für mechanistische Untersuchungen wäre ein Modellsystem sinnvoll, das darüber hinaus Informationen über Möglichkeiten liefert, andere Wirkstoffe zu modifizieren. Im Folgenden sollen kurz die beschriebenen Strukturen diskutiert werden, die sich als Modellsysteme des niedermolekularen Hydrogelbildners **1b** eignen könnten. Entscheidend für eine erhöhte Aktivität von hydrogelierenden bioaktiven Substanzen scheinen folgende Punkte zu sein:

- keine signifikante Abnahme der biologischen Aktivität durch Modifizierung;
- niedrige MGC und Bildung einer stabilen Lösung unterhalb der MGC;
- spezifische Affinität für den Wirkort oder die zu beschichtende Oberfläche.

Im Unterschied zu Organogelbildnern ist die Zahl der niedermolekularen Hydrogelbildner sehr begrenzt. Die 3D-Netzwerke dieser Gelbildner bestehen aus helicalen Fasern, Stäbchen- oder Micell-förmigen Gebilden, die z.B. durch Wasserstoffbrücken verknüpft sind. Die meisten der beschriebenen Hydrogelbildner gelieren Wasser ausschließlich in Gegenwart von 1 bis 10 % eines organischen Lösungsmittels, z.B. Dimethylsulfoxid oder Methanol.^[5] Diese Verbindungen eignen sich jedoch

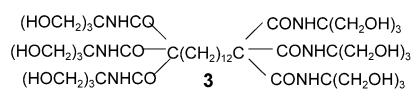
nicht als Modelle für ein biologisches System. Im Folgenden sind die wenigen Strukturen aufgeführt, die in reinem Wasser oder wässriger Pufferlösung Gele bilden.

Estroff und Hamilton berichteten über Bisharnstoffdicarbonsäuren als niedermolekulare Hydrogelbildner.^[6] Eine Reihe dieser Komponenten geliert Wasser stark pH-abhängig bei sehr niedrigen Konzentrationen (0.3 Gew.-%). So liegt beispielsweise eine Mischung von **2** und Phosphatpuffer bei pH 7.9 als homogene Lösung vor, während sich bei pH 6.7 ein steifes Gel bildet. Raster-elektronenmikroskopische Aufnahmen

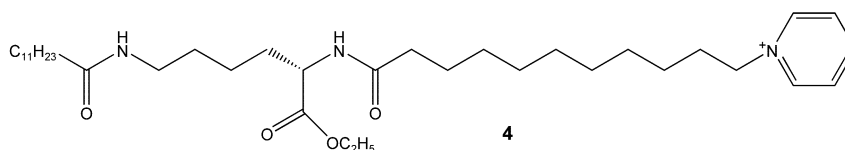


des Hydrogels zeigen fasrige Strukturen ähnlich denen des Vancomycinderivates **1b**. Zur Gelierung muss allerdings erwärmt werden.

Wasserlösliche und gelbildende niedermolekulare dendritische Bolaamphiphile, so genannte [9]-*n*-[9]-Arborole, wurden von Newkome et al. beschrieben.^[7] Die Gele bilden sich durch Erwärmen der 2- bis 8-proz. wässrigen Lösung dieser Substanz auf 80 °C, die Phasenumwandlungstemperatur dieser Systeme, und nachfolgende Abkühlung auf Raumtemperatur. Das Dendrimer **3** geliert in einem weiten pH-Bereich (2–11) in Puffern variierender Ionenstärke.

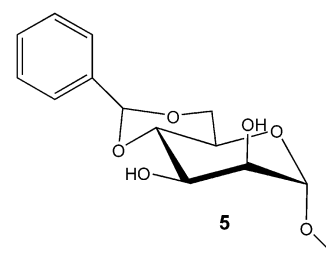


Kürzlich beschriebene wasserlösliche Hydrogelbildner basieren auf Lysin, das mit unterschiedlichen Fettsäuren (mit neutralen oder positiv geladenen Endgruppe) derivatisiert wurde.^[8] Die



Verbindungen haben einen niedrigen MGC-Wert von weniger als 0.3 Gew.-%. Im Unterschied zu den meisten anderen Hydrogelbildnern ist **4** in Wasser löslich und muss nicht stark erhitzt oder mit Ultraschall behandelt werden, sondern geliert bereits bei mildem Erwärmen auf 40 °C und anschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur zu einem Gel mit Faserstruktur.

Glycolipide bilden eine große Gruppe von Gelbildnern für organische Lösungsmittel und in wenigen Fällen auch für Wasser. Fuhrhop et al. sowie Pfannenmüller und Welte untersuchten Hydrogele aus *n*-Octylgluconamiden, die beim Abkühlen der siedenden Lösung auf Raumtemperatur (typisch für Glycolipide) entstehen.^[9] Es konnte gezeigt werden, dass ausschließlich reine Stereoisomere Hydrogele bilden (MGC ca. 0.5 Gew.-%), die racemischen Gemische dagegen nicht. Verdünnen der Lösungen bis unterhalb von 0.5 Gew.-% führte in allen Fällen zu einem Niederschlag. Wie Shinkai et al. anhand wasserlöslicher Benzylidenderivate von Monosacchariden zeigen konnten, hat die Konfiguration der Verbindungen einen starken Einfluss auf ihre Gelbildungseigenschaften in Wasser.^[10] Während das D-Mannose-Derivat **5** ein steifes Hydrogel bildet, lassen sich die analogen D-Glucose- und D-Galactose-



Derivate nicht in Wasser gelieren. Ebenfalls Shinkai et al. wiesen einen ähnlichen Effekt bei D-Glucose- und D-Galactose-derivatisierten Azofarbstoffen nach.^[11] In diesem Fall bildete aus-

schließlich das Glucosederivat ein Hydrogel.

Kiyonaka et al. beschrieben erstmals eine kombinatorische Synthese von Hydrogelbildnern durch Derivatisierung von *N*-Acetylgalactosaminen mit unterschiedlichen Aminosäuren an der festen Phase.^[12] Die hergestellten Verbindungen sind meist wasserlöslich, und einige bilden Hydrogele bei Konzentrationen von 4 mM, die erstaunlicherweise beim Erwärmen schrumpfen.

Hamada et al. synthetisierten eine Anzahl von Azofarbstoffen, die ohne weiteres Erhitzen in Wasser Gele bilden.^[13] Die Verbindungen sind intensiv gefärbt und zeigen einen sehr hohen MGC-Wert von etwa 5 Gew.-%.

Pang und Zhu berichteten kürzlich, dass die partiell fluoridierte Fettsäure $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5\text{CH}_2\text{COOH}$ bei einer Konzentration von etwa 8 Gew.-% in Wasser geliert.^[14] Das Hydrogel kann durch Ultraschallbehandlung der Suspension der unlöslichen Verbindung in Wasser erzeugt werden. Wegen des hohen MGC-Wertes und der Unlöslichkeit ist die Verbindung allerdings als Modellsystem für hydrogelierende Wirkstoffe ungeeignet.

Neben den synthetischen Verbindungen gibt es auch einige relativ kleine Peptide (11 bis 20 Aminosäurereste), die als Hydrogelbildner fungieren können.^[15] Dazu müssen sie in der Lage sein, in Wasser β -Faltblattstrukturen einzunehmen. Obwohl sie wasserlöslich sind und niedrige MGC-Werte von 1 Gew.-% und darunter aufweisen, können sie schwerlich zum Modifizieren von Wirkstoffen eingesetzt werden, da ihre komplexen Überstrukturen die biologische Aktivität der modifizierten Verbindungen höchstwahrscheinlich drastisch verringern würden.

Ein wichtiger Aspekt in der Medizin ist die lokale Konzentrierung von Wirkstoffen im Körper, was insbesondere in der Krebstherapie von Bedeutung ist, da die meisten Cytostatika leider immer noch starke Nebenwirkungen haben. Eine solche Konzentrierung kann durch spontane lokale Gelierung unter Einschluss des Wirkstoffs erreicht werden. Um sicherzustellen, dass die Gelierung an der richtigen Stelle zur richtigen Zeit auftritt, sollte sie durch die Änderung eines spezifischen Parameters, z.B. der Temperatur, ausgelöst werden.

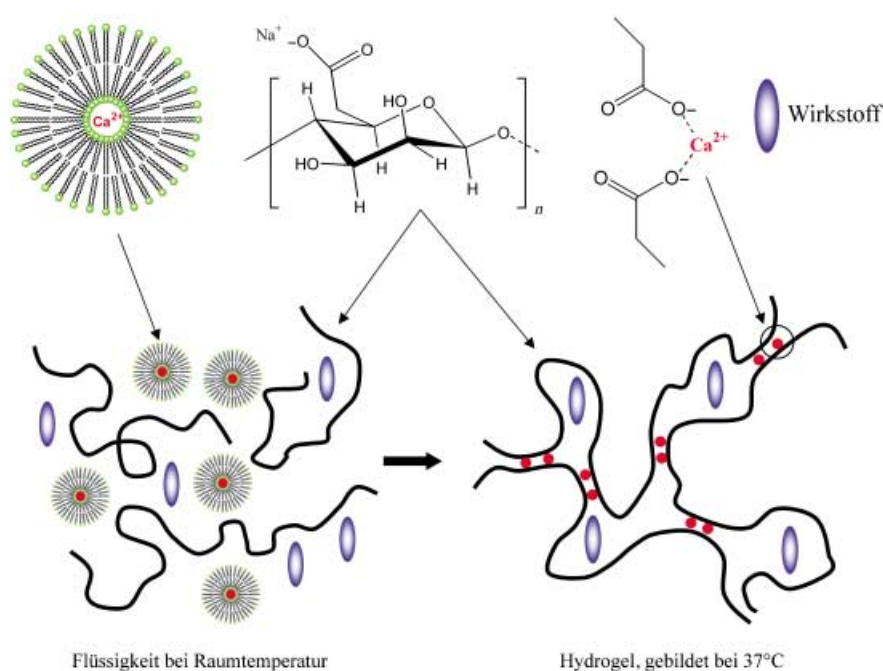


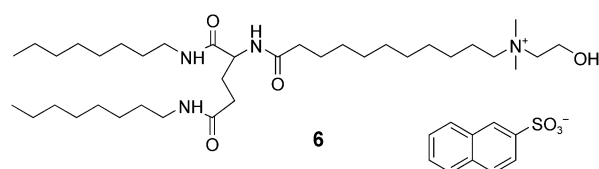
Abbildung 2. Thermisch ausgelöste Bildung eines Alginsäure-Wirkstoff-Hydrogels.

Westhaus und Messersmith berichteten unlängst über ein thermisch gesteuertes Gelbildnersystem, das bei einer Temperaturänderung von Raum- auf Körpertemperatur ein Hydrogel unter Einschluss eines Wirkstoffes bildet.^[16] Dieses Hydrogelbildnersystem beruht auf zwei Komponenten, nämlich Calciumionen und Alginsäure (Abbildung 2). Um Alginsäure und Calciumionen zu trennen, wurden die Metallionen in Form von CaCl_2 in temperaturempfindliche Lipidvesikel (90 % Dipalmitoylphosphatidylcholin und 10 % Dimyristoylphosphatidylcholin) eingeschlossen. Eine wässrige Lösung aus diesen Vesikeln,

Alginsäure und einem Wirkstoff ist bei Raumtemperatur stabil. Beim Injizieren in den Körper werden die Lipidvesikel durch den Temperaturanstieg aufgelöst und dadurch Calciumionen freigesetzt, die ihrerseits eine spontane Gelierung der Alginsäure unter Einschluss der bioaktiven Substanz bewirken.

Da die Injektion eines nichtabbaubaren Polymers in das Körpergewebe problematisch ist, wäre die Verwendung abbaubarer Polymere wünschenswert.^[17] Davon sind allerdings nur wenige bekannt, die für die Gelierung

zudem nicht geeignet sind. Eine gute Alternative wären niedermolekulare Hydrogelbildner anstelle von Polymeren. Kürzlich beschriebene niedermolekulare Zweikomponenten-Hydrogelbildner könnten ähnliche gelierende Eigenschaften haben wie Ca-Alginat. Kimizuka und Nakashima beschrieben die Gelierung von kationischen Amphiphilen **6** auf Glutaminsäurebasis in Gegenwart von Anionen, z.B. von Naph-



thylsulfonat.^[18] Nach Zugabe der Anionen zur stabilen Lösung der kationischen Komponente bildete sich innerhalb weniger Minuten ein klares Hydrogel. Huc et al. nutzten so genannte Zwillingsenseide für ein Wasser-gelierendes System.^[19] Die gelierende Mischung besteht aus *N,N'*-Dicetyl-, *N,N',N',N'*-tetramethylethylendiamindichlorid und Tartraten. Eine wässrige Lösung dieser Komponenten geliert Wasser bei Raumtemperatur schon bei sehr niedrigen Konzentrationen von ca. 1 mM.

Aus der Synthese der ersten Hydrogel-bildenden bioaktiven Substanz könnten sich völlig neue Ansätze für das Wirkstoff-Design ergeben, die auf der Umwandlung eines Wirkstoffes in seinen analogen Hydrogelbildner beruhen. Die Herausforderung ist dabei, den Wirkstoff zu modifizieren, ohne seine biologische Aktivität zu beeinträchtigen. Voraussetzung dafür wird die Entwicklung einer deutlich größeren Zahl an niedermolekularen Hydrogelbildnern sein, um eine Vielfalt an Strukturmotiven zu erhalten, die sowohl als Modellsysteme als auch als Gruppen für die Wirkstoffmodifizierung dienen können. Dabei kann die kombinatorische Synthese von großem Nutzen sein. Ähnliches gilt für Zweikomponenten-Hydrogelbildner, die besonders hinsichtlich ihrer schnellen Gelierung und guten biologischen Verträglichkeit optimiert werden müssen.

- [1] D. Gorse, A. Rees, M. Kaczorek, R. Lahana, *Drug Discovery Today* **1999**, *4*, 257–264.
- [2] a) V. P. Torchilin, *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *11*, S81–S91; b) A. D. Woolfson, R. K. Malcolm, P. A. McCarron, D. S. Jones in *Polymeric Biomaterials* (Hrsg.: S. Dumitriu), Marcel Dekker, New York, **2002**, S. 1063–1081.
- [3] B. Xing, C.-W. Yu, K.-H. Chow, P.-L. Ho, D. Fu, B. Xu, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14846–14847.
- [4] D. H. Williams, A. J. Maguire, W. Tsuzuki, M. S. Westwell, *Science* **1998**, *280*, 711–714.
- [5] a) J. H. Jung, G. John, M. Masuda, K. Yoshida, S. Shinkai, T. Shimizu, *Langmuir* **2001**, *17*, 7229–7232; b) F. M. Menger, K. L. Caran, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11659–11691; c) S. Bhattacharya, S. N. G. Acharya, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3504–3511; d) U. Maitra, S. Mukhopadhyay, A. Sarkar, P. Rao, S. S. Indi, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2341–2343; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2281–2283.
- [6] L. A. Estroff, A. D. Hamilton, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3589–3592; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3447–3450.
- [7] G. R. Newkome, G. R. Baker, S. Arai, M. J. Saunders, P. S. Rosso, K. J. Theriot, C. N. Moorefield, L. E. Rogers, J. E. Miller, T. R. Lieus, M. E. Murray, B. Phillips, L. Pascal, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8458–8465.
- [8] M. Suzuki, M. Yumoto, M. Kimura, H. Shirai, K. Hanabusa, K. Hanabusa, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 348–354.
- [9] a) J.-H. Fuhrhop, P. Schnieder, J. Rosenberg, E. Boekema, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3387–3390; b) B. Pfannemüller, W. Welte, *Chem. Phys. Lipids* **1985**, *37*, 227–240.
- [10] K. Yoza, Y. Ono, K. Yoshihara, T. Akao, H. Shinmori, M. Takeuchi, S. Shinkai, D. N. Reinhoudt, *Chem. Commun.* **1998**, 907–908.
- [11] M. Amaike, H. Kobayashi, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **2001**, 620–621.
- [12] S. Kiyonaka, K. Sugiyasu, S. Shinkai, I. Hamachi, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10954–10955.
- [13] K. Hamada, K. Yamada, M. Mitsuishi, M. Ohira, K. Miyazaki, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 544–545.
- [14] S. Pang, D. Zhu, *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *358*, 479–483.
- [15] a) J. P. Schneider, D. J. Pochan, B. Ozbas, K. Rajagopal, L. Pakstis, J. Kretsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15030–15037; b) J. H. Collier, B.-H. Hu, J. W. Ruberti, J. Zhang, P. Shum, D. H. Thompson, P. B. Messersmith, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9463–9464; c) A. Aggeli, M. Bell, N. Boden, J. N. Keen, P. F. Knowles, T. C. B. McLeish, M. Pitkeathly, S. E. Radford, *Nature* **1997**, *386*, 259–262.
- [16] E. Westhaus, P. B. Messersmith, *Biomaterials* **2001**, *22*, 453–462.
- [17] K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, K. M. Shakesheff, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 3181–3198.
- [18] T. Nakashima, N. Kimizuka, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 1113–1116.
- [19] R. Oda, I. Huc, S. J. Candau, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2835–2838; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2689–2693.