

Thermoresponsive Polymervesikel

Yotaro Morishima*

Stichwörter:

Blockcopolymere · RAFT-Polymerisationen · Selbstorganisation · Vesikel

Seit Lipidvesikel oder „Liposomen“ vor vier Jahrzehnten erstmals beschrieben wurden,^[1] werden Vesikel, die aus kleinen Tensiden und Lipiden bestehen, wegen ihrer bedeutenden Rolle bei diversen biologischen Funktionen, z.B. bei der Speicherung und dem Transport kleiner Moleküle, umfassend erforscht.^[2] Kationische Liposom-DNA-Komplexe gehören zu den am besten untersuchten nichtviralen Transportsystemen für menschliche Gene. Trotz der enormen Fülle an Informationen ist das volle Potenzial von Liposomen beim Wirkstoff- und Gentransport noch nicht erreicht. Dies liegt teilweise an ihrer geringen chemischen, thermischen und mechanischen Stabilität.

Es ist bekannt, dass amphiphile Blockcopolymere in Lösung unterschiedliche Morphologien annehmen können. Dies können Kugeln, Stäbchen, Lamellen oder Vesikel sein. Steuern lässt sich die Form über Einflussfaktoren wie die Art der hydrophilen Gruppe, die Zahl und Länge der hydrophoben Bereiche, die Art und Konzentration des zugesetzten Salzes und die Lösungstemperatur. Vor allem die kritische Packungsdichte entscheidet dabei über die Struktur des Aggregats.^[3] Amphiphile Blockcopolymere können vesikuläre Strukturen bilden. Eine Reihe von Polymervesikeln sowie ihre Eigenschaften wurden von Discher und Eisenberg zusammenfassend besprochen.^[4] Zu den Vorteilen von Polymer-vesikeln im Vergleich zu Vesikeln aus kleinen amphiphilen Molekülen gehört,

dass sie gezielt so entworfen werden können, dass bestimmte physikalische, chemische und biologische Funktionen des resultierenden Vesikels sichergestellt sind. Außerdem eröffnet die Robustheit, die vor allem in den um Größenordnungen höheren Molekulargewichten von Polymeren im Vergleich zu Lipiden begründet ist, zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten.

Unter anderem wurden Polymer-vesikel aus Polystyrol-*block*-polyethylenoxid und Polystyrol-*block*-polyacrylsäure intensiv von Eisenberg und Mitarbeitern untersucht;^[5] außerdem erschienen einige Übersichten dazu.^[4,6–8] Eine typische Methode zur Bildung von Vesikeln aus amphiphilen Blockcopolymeren ist, diese in organischen Lösungsmitteln, z.B. THF, *N,N*-Dimethylformamid (DMF) oder 1,4-Dioxan, zu lösen und die Lösung anschließend mit Wasser zu mischen.^[6,7,9–11] Bei diesem Verfahren ist die Selbstorganisation stark von der Mischgeschwindigkeit abhängig, die schwer zu beeinflussen ist. Zudem sind weitere Reinigungsschritte notwendig, die zeitaufwändig und problematisch sein können. Schließlich können weitere Faktoren, z.B. die Zusammensetzung des Copolymers, Eigenschaften des Lösungsmittels, die Temperatur und andere Hilfsstoffe, die Morphologie der Vesikel beeinflussen.^[3]

Als mögliche Abhilfe wurden auf Stimuli reagierende Blockcopolymere beschrieben, die auch ohne ein organisches Lösungsmittel Vesikel bilden. So berichteten Lecommandoux und Mitarbeiter,^[12] dass beim Lösen von Polybutadien-*block*-poly(L-glutaminsäure) direkt in wässriger basischer Lösung Vesikel mit definierter Morphologie gebildet werden. Die Größe des Aggregats kann reversibel durch Veränderung des pH-Werts und der Ionenstärke

geregelt werden. Die Morphologie des Systems kann kovalent „eingefangen“ und so das unbeständige supramolekulare Aggregat in ein beständiges, formstabiles Nanopartikel umgewandelt werden, das auf Stimuli reagiert. Dazu werden die im Polybutadienblock vorhandenen 1,2-Vinylbindungen genutzt. Über die Bildung von Polymervesikeln aus Polybutadien-*block*-poly(L-glutamat) wurde auch von Kukulka et al. berichtet.^[13] Sie wiesen nach, dass die Vesikelgröße vom pH-Wert unabhängig ist und dass ein Helix-Knäuel-Übergang der solvatisierenden Peptideinheiten ohne nennenswerte Änderungen in der Vesikelmorphologie möglich ist.

Des Weiteren beschrieben Lecommandoux und Rodriguez-Hernandez^[14] auf den pH-Wert ansprechende „schizophrene“ Vesikel, die auf Poly(L-glutaminsäure)-*block*-poly(L-lysin) basieren. Die schizophrenen Vesikel können in mäßig saurer oder basischer wässriger Lösung aus Polypeptid-Diblockcopolymeren hergestellt werden. Diese pH-empfindlichen Nanopartikel gelten als vielversprechend in der makromolekularen Nanobiotechnologie. Armes und Du^[15] wiederum berichteten von auf den pH-Wert ansprechenden Vesikeln aus Polyethylenoxid-*block*-poly[[2-(diethylamino)ethyl]methacrylat-*stat*-[3-(trimethoxysilyl)propyl]methacrylat] (PEO-*b*-P(DEA-*stat*-TMSPMA)). Dieses Blockcopolymer kann in wässriger THF-Lösung spontan zu Vesikeln aggregieren, wobei die hydrophilen PEO-Ketten die Korona bilden und die pH-empfindlichen P(DEA-*stat*-TMSPMA)-Blöcke sich in den Membranwänden befinden. Ihre Studien ergaben, dass die Permeabilität der Vesikelwände pH-abhängig ist. Mit einem ausgezeichnet biokompatiblen Monomer, 2-(Methacryloyloxy)ethylphosphorylcholin

[*] Prof. Y. Morishima
Faculty of Engineering
Fukui University of Technology
6-3-1 Gakuen, Fukui 910-8505 (Japan)
Fax: (+81) 776-297-891
E-Mail: morishima@fukui-ut.ac.jp

(MPC), und einem pH-empfindlichen Monomer, [2-(Diisopropylamino)ethyl]-methacrylat (DPA), gelang Armes und Mitarbeitern^[16] der Nachweis, dass bei Ändern des pH-Werts der Lösung von pH 2 nach pH > 6 die PMPC-*b*-PDPA-Diblockcopolymere spontan zu biokompatiblen Vesikeln aggregieren. Die hydrophoben PDPA-Ketten bilden dabei die Vesikelmände. Diese Vesikel sind echte Polymeranaloge von herkömmlichen tensidbasierten Liposomen, und es ist zu erwarten, dass sie Anwendung als nanometergroße Transportmittel in der Biomedizin finden werden.

Über eine durch molekulare Erkennung induzierte Vesikelbildung berichteten Rotello und Mitarbeiter.^[17] Mit Diamidopyridin (DAP; Erkennungseinheit) funktionalisiertes Polystyrol bildet in unpolaren Medien Mikrokugeln. Durch Zugabe eines mit Thymin funktionalisierten Polymers können die Mikrokugeln in Vesikel überführt werden. Diese können durch Zugabe des DAP-funktionalisierten Polymers wieder in Mikrokugeln zurück verwandelt werden. Deming und Mitarbeiter beschrieben Polypeptidvesikel, die auf Stimuli reagieren und die durch konformationsspezifische Selbstorganisation erhalten wurden.^[18]

Aufgrund der geringen pH-Toleranz von Säugetieren sind thermoresponsive Materialien solchen, die auf den pH-Wert reagieren, für biologische Anwendungen vorzuziehen. Die erste temperaturinduzierte Bildung eines Vesikels durch Selbstorganisation eines amphiphilen Blockcopolymers unmittelbar in Wasser wurde von McCormick und Mitarbeitern kürzlich vorgestellt.^[19] Sie berichteten, dass Poly[*N*-(3-amino-propyl)methacrylamid-hydrochlorid]-*block*-(*N*-isopropylacrylamid) (PAMPA-*b*-PNIPAM) mit einer exakt eingestellten Struktur, das durch reversible Additions-Fragmentierungs-Ketten-transfer(RAFT)-Polymerisation synthetisiert wurde, in wässriger Lösung als Unimer vorliegt. Bei Temperaturerhöhung über die untere kritische Lösungstemperatur der PNIPAM-Kette bildet das Polymer Vesikel. Der Übergang vom Unimer zum Vesikel erfolgt in einem engen Temperaturbereich (2–3 K). Die Übergangstemperatur ist abhängig von der Zusammensetzung des

Blockcopolymers: Längere NIPAM-Blöcke führen zu niedrigeren Übergangstemperaturen zwischen 30 und 40 °C. Es konnte auch gezeigt werden, dass sowohl die Konzentration der Lösung als auch die Geschwindigkeit der Temperaturerhöhung die durchschnittliche Größe und die Größenverteilung der Vesikel beeinflussen. Eine weitere bedeutende Eigenschaft ist, dass die Vesikelstruktur durch ionische Vernetzung des PAMPA-Blocks mit Poly(natrium-2-acrylamido-2-methylpropanesulfonat) (PAMPS) als entgegengesetzt geladenem Polyelektrolyten „arretiert“ werden kann (Abbildung 1). Ionisch

tender Blockcopolymere mit definierten Blocklängen. Sie stellten fest, dass sich diese Blockcopolymere in wässriger Lösung leicht zu thermoresponsiven Micellen anordnen.^[22,24] Wie von den Gruppen von Wooley^[25] und Liu^[26] berichtet wurde, können Polymermicellen durch chemisches Vernetzen der Micellenhülle stabilisiert werden. Diese stabilisierten Micellen werden als „hüllenvernetzte“ (shell-cross-linked – SCL) Micellen bezeichnet.

McCormick und Mitarbeiter zeigten, dass der Einbau einer aktiven Monomereinheit (*N*-Acryloxysuccinimid) in ein NIPAM enthaltendes Blockco-

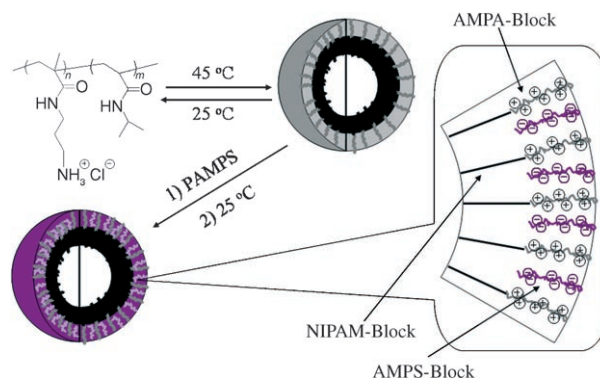


Abbildung 1. Schematische Darstellung der Bildung von Vesikeln aus PAMPA-*b*-PNIPAM-Diblockcopolymern und der folgenden ionischen Vernetzung.^[19]

vernetzte Vesikel haben gegenüber chemisch vernetzten^[20] einige Vorteile: Die ionische Vernetzung ist einfacher (der Vorgang ist innerhalb von Minuten abgeschlossen), und die Vernetzung durch Salzzugabe ist reversibel, was das Entfernen der Vesikel nach biologischen Anwendungen erleichtert.

Die Ergebnisse von McCormick und Mitarbeitern^[19] sind eine Konsequenz ihrer früheren Erfolge bei der Synthese von hydrophil-hydrophoben Blockcopolymern definierter Architektur durch RAFT-Polymerisation. In den letzten Jahren haben sich McCormick et al. auf die RAFT-Polymerisation hydrophiler (Meth)acrylamidmonomere^[21] und die Selbstorganisation dieser Blockcopolymere in wässriger Lösung konzentriert.^[22] Nach der Erkenntnis, dass NIPAM, ein bedeutendes thermoresponsives Monomer, leicht durch RAFT auf kontrollierte Weise polymerisiert werden kann,^[23] gelang ihnen die Synthese einer Serie NIPAM enthal-

polymer die einfache Bildung einheitlicher SCL-Micellen durch Reaktion mit Ethylendiamin in wässrigem Medium ermöglichte.^[22a] Wird Cystamin zur Vernetzung eingesetzt, können die SCL-Micellen reversibel durch Dithiothreitol oder Tris(2-carboxyethyl)phosphan gespalten werden. Die abgebauten Micellen können mit Cystamin als Thiol-austausch-Reagens wieder rückvernetzt werden. Nach dem Thiol/Disulfid-Austausch ist die chemische Struktur der erneut gebildeten SCL-Micellen die gleiche wie vor der Spaltung. SCL-Micellen können also in einem vollständig reversiblen Prozess gespalten und wieder vernetzt werden. Sie könnten sich für den Wirkstofftransport im Nanomaßstab eignen, da die Geschwindigkeit der Wirkstoffabgabe aus den Micellen und ihre Oberflächeneigenschaften (Ladung und Rigidität) gut kontrollierbar sind.^[27]

Der Durchbruch von McCormick und Mitarbeitern bei der Erforschung

von Polymervesikeln, insbesondere hinsichtlich der temperaturinduzierten direkten Bildung von Polymervesikeln in Wasser und der SCL-Micellen aus Polyelektrolytkomplexen,^[19] bedeutet einen starken Impuls für akademische wie industrielle Forschung, die Möglichkeiten praktischer Anwendungen von Polymervesikeln auf Gebieten wie Beschichtungen, Wirkstofflieferanten, Nanopartikeln, Nanoreaktoren, Kosmetika und Vermeidung von Umweltverschmutzung zu erkunden.

Online veröffentlicht am 23. Januar 2007

- [1] A. D. Bangham, M. M. Standish, J. C. Watkins, *J. Mol. Biol.* **1965**, *13*, 238.
- [2] a) H. R. Petty, *Molecular Biology of Membranes, Structure and Function*, Plenum, New York, **1993**; b) *Microspheres, Microcapsules, and Liposomes, MML Series, Vol. 6*, Citus Books, London, **2003**.
- [3] P. L. Soo, A. Eisenberg, *J. Polym. Sci. Part B* **2004**, *42*, 923.
- [4] D. E. Discher, A. Eisenberg, *Science* **2002**, *297*, 967.
- [5] a) L. Zhang, A. Eisenberg, *Macromolecules* **1996**, *29*, 8805; b) L. Luo, A. Eisenberg, *Langmuir* **2001**, *17*, 6804; c) L. Luo, A. Eisenberg, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1043; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1001; d) J. Wu, A. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2880.
- [6] L. Zhang, A. Eisenberg, *Science* **1995**, *268*, 1728.
- [7] M. Antonietti, S. Förster, *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 1323.
- [8] I. W. Hamley, *Soft Matter* **2005**, *1*, 36.
- [9] B. M. Discher, Y. Won, D. S. Ege, J. C. M. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, D. A. Hammer, *Science* **1999**, *284*, 1143.
- [10] J. Yang, D. Lévy, W. Deng, P. Keller, M.-H. Li, *Chem. Commun.* **2005**, 4345.
- [11] L. Ayres, P. Hans, J. Adams, D. W. P. M. Löwik, J. C. M. van Hest, *J. Polym. Sci. Part A* **2005**, *43*, 6355.
- [12] F. Checot, A. Brulet, J. Oberdisse, Y. Gnanou, O. Mondain-Monval, S. Lecommandoux, *Langmuir* **2005**, *21*, 4308.
- [13] H. Kukula, H. Schlaad, M. Antonietti, S. Förster, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1658.
- [14] J. Rodriguez-Hernandez, S. Lecommandoux, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2026.
- [15] J. Du, S. P. Armes, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12800.
- [16] J. Du, Y. Tang, A. L. Lewis, S. P. Armes, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17982.
- [17] O. Uzun, A. Sanyal, H. Nakade, R. J. Thibault, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14773.
- [18] E. Bellomo, M. D. Wyrsta, L. Pakstis, D. J. Pochan, T. J. Deming, *Nat. Mater.* **2004**, *3*, 244.
- [19] Y. Li, B. Lotiz, C. L. McCormick, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5924; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5792.
- [20] a) J. Z. Du, Y. M. Chen, Y. H. Zhang, C. C. Han, K. Fischer, M. Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14710; b) J. Z. Du, Y. M. Chen, *Macromolecules* **2004**, *37*, 5710; c) J. Z. Du, Y. M. Chen, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 5194; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5084; d) J. Z. Du, Y. M. Chen, *Macromolecules* **2004**, *37*, 6322.
- [21] C. L. McCormick, A. B. Lowe, *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 312.
- [22] a) Y. Li, B. S. Lokitz, C. L. McCormick, *Macromolecules* **2006**, *39*, 81–89; b) Y. Li, B. S. Lokitz, S. P. Armes, C. L. McCormick, *Macromolecules* **2006**, *39*, 2726.
- [23] A. J. Convertine, N. Ayres, C. W. Scales, A. B. Lowe, C. L. McCormick, *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 1177.
- [24] A. J. Convertine, B. S. Lokitz, Y. Vasileva, L. J. Myrick, C. W. Scales, A. B. Lowe, C. L. McCormick, *Macromolecules* **2006**, *39*, 1724.
- [25] K. B. Thurmond, T. Kowalewski, K. L. Wooley, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6656.
- [26] A. Guo, G. Liu, J. Tao, *Macromolecules* **1996**, *29*, 2487.
- [27] J. Rodriguez-Hernandez, J. Babin, B. Zappone, S. Lecommandoux, *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 2213.