

Selbstzerlegende Polymere**

Wenxin Wang und Cameron Alexander*

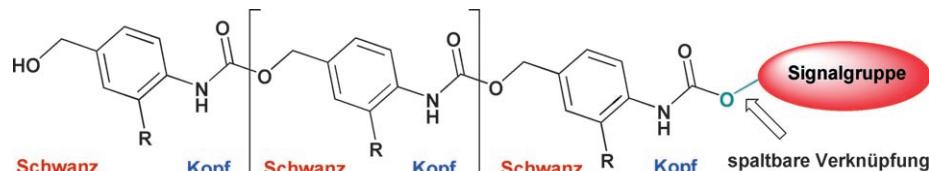
Diagnostik · Kaskadenreaktionen · Polymere ·
Sensoren · Wirkstofftransport

Die immer ausgeklügelteren Techniken zur Herstellung wohldefinierter Makromoleküle aus künstlichen Bausteinen haben zu einem steigenden Interesse an der Untersuchung synthetischer Polymere für biologische Anwendungen geführt. Moderne Synthesetechniken setzen auf Polymerisationskatalysatoren, die vielzählige funktionelle Gruppen tolerieren, was zu einer faszinierenden Vielfalt von makromolekularen und polymeren Materialien geführt hat.^[1-3] Im Hinblick auf ihre molekulare Architektur, ihre Suprastrukturen und ihre Funktionalität werden die synthetischen Polymere ihren natürlichen Vorbildern zunehmend ähnlicher.^[4,5] Während bei der Synthese und dem Aufbau von Polymeren bereits erhebliche Fortschritte erzielt wurden, hat die kontrollierte Depolymerisation oder Zerlegung von Polymeren bisher nur wenig Interesse gefunden. Dieses geringe Interesse ist umso überraschender, wenn man bedenkt, dass natürliche Polymere ebenso einfach abgebaut wie aufgebaut und modifiziert werden können. Tatsächlich können sich lebende Systeme in erheblichem Umfang und mit großer Atomeffizienz auf Reaktionswegen vor und zurück bewegen. Die wiederholte Erzeugung, Verarbeitung und Hydrolyse von Spinnenseidenproteinen ist nur eines von vielen Beispielen für den natürlichen Auf- und Abbau von Polymeren.^[6] Man hat daher begonnen, nach künstlichen Materialien zu suchen, die sich ebenso einfach ab- wie aufbauen lassen, sodass man zwischen Zuständen mit unterschiedlicher (biologischer) Aktivität umschalten kann. Ein Schritt in diese Richtung sind Polymere, die bei ihrer Synthese so programmiert wurden, dass sie durch äußere Stimuli wieder zerlegt werden und dabei biologisch wertvolle Verbindungen freisetzen.

Wichtige Beiträge dazu wurden von der Arbeitsgruppe von Doron Shabat an der Universität Tel Aviv geleistet, die in

den letzten Jahren eine Reihe von Arbeiten zu „selbstzerlegenden“ Systemen veröffentlicht hat. Von besonderem Interesse ist eine aktuelle Untersuchung von Sagi et al.,^[7] in der die sequenzielle Zerlegung eines linearen Hauptkettenpolymers beschrieben wird, die durch eine einzelne Aktivierungsreaktion ausgelöst wird (Schema 1).

Das selbstzerlegende System basiert auf einem ausgeklügelten Konstruktionsprinzip: Die Polymere sind so auf-



Schema 1. Allgemeine Struktur eines selbstzerlegenden Hauptkettenpolymers.

gebaut, dass Reaktionen zwischen benachbarten Gruppen stattfinden können, nämlich 1,6-Eliminierungen und Decarboxylierungen. Für den Polymeraufbau wurde ein blockiertes Isocyanat eingesetzt, das in Gegenwart eines Katalysators durch Homopolymerisation Polyurethanketten bildete, deren Enden mit einer Signalgruppe versehen wurden. Die Wiederholungseinheiten wurden in den *para*-Positionen der aromatischen Ringe durch NHC(O)OCH₂-Brücken miteinander verknüpft; dadurch wurden die Polymere mit einem Zerlegungsmechanismus versehen, der in dem Moment wirksam wird, in dem die Endgruppe entfernt wird. Dies erinnert an die Entfernung des Schlusssteins aus einem Brückenbogen, die dessen gesamte Struktur destabilisiert und so zu seinem Zusammenbruch führt (abgesehen davon, dass sich in unserem Fall der „Schlussstein“ nicht in der Mitte, sondern am Ende des „Bogens“ befindet).

Ein besonders interessanter Aspekt der aktuellen Arbeiten von Sagi et al. ist die Demonstration von Kaskaden von Spaltungsreaktionen, die sich in Bereichen anwenden lassen, die weit über die programmierte Polymerzerlegung hinausgehen. Im ersten Beispiel wurde die Spaltungsreaktion am Ende der Polymerkette für eine hochempfindliche Proteindetektion genutzt. Hierfür wurde eine 4-Hydroxy-2-butanoneinheit (ein Substrat für die β-Eliminierung durch das verbreitete Protein Rinderserumalbumin (BSA)) am Kopf der Polymerkette als Proteinsensor eingeführt. In der Hauptkette konnte durch sorgfältiges Design der Monomereneinheiten eine fluorogene Gruppe eingebaut werden. Wenn

[*] Dr. W. Wang, Dr. C. Alexander
School of Pharmacy
University of Nottingham
Nottingham, NG7 2RD (Großbritannien)
Fax: (+44) 115-951-5102
E-Mail: cameron.alexander@nottingham.ac.uk

[**] Wir danken dem UK Engineering and Physical Sciences Research Council (EPSRC) (Grant EP/E021042/1) für die finanzielle Unterstützung.

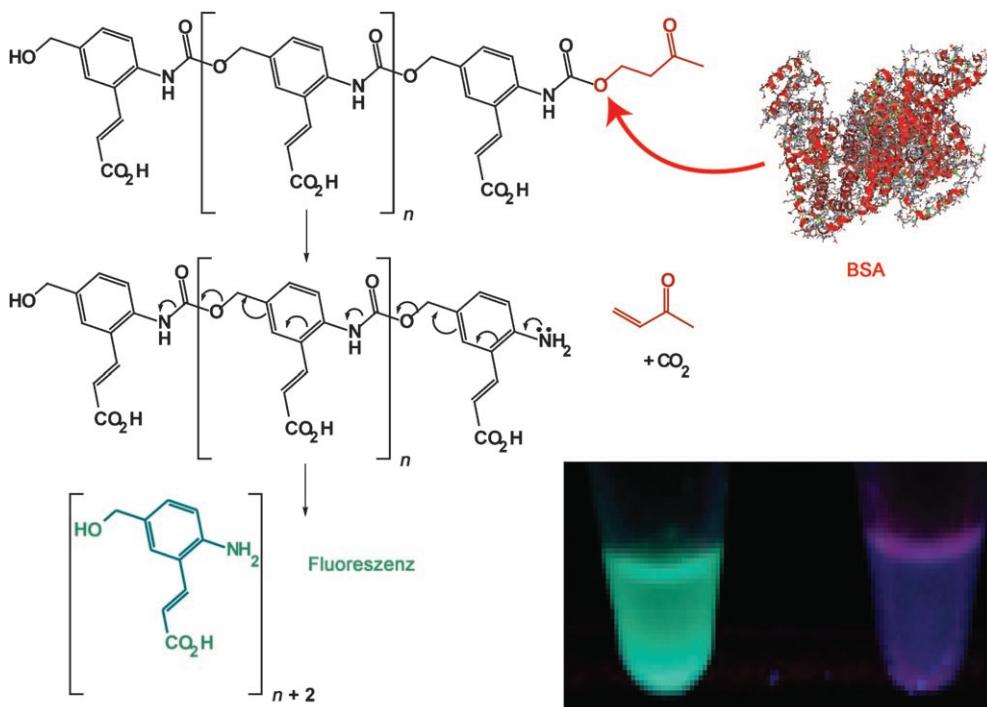
diese Gruppe in der Carbamatform (d. h. in der Polyurethan-kette) vorliegt, zeigt sie nur schwache Fluoreszenzemission, als freies Amin dagegen weist sie eine hohe Emissionsintensität auf. Die Inkubierung des butanongeschützten Polymers mit BSA führte zur Entfernung der Butanongruppe am Kopfende des Polymers, wodurch die terminale Aminogruppe zugänglich wird; bei der nachfolgenden Zerlegung der Polymerkette werden dann die substituierten 4-Aminobenzyalkoholmoleküle freigesetzt, die wiederum durch die Zunahme der Fluoreszenz den Ablauf der Kaskadenreaktion anzeigen (Schema 2).

Im Wesentlichen handelt es sich um einen Verstärkungsmechanismus, bei dem einzelnes Signal, die Hydrolyse einer Endgruppe, zur Vervielfachung einer Antwortreaktion führt – in diesem Fall zur vielfachen Freisetzung von fluoreszierenden Reportermolekülen. Damit wäre eine sehr effiziente Detektion möglich, deren Signal/Antwort-Verhältnis auf einfache Weise durch den Polymerisationsgrad gesteuert werden könnte: Die Reaktion auf die initiale Kettensspaltung wäre umso ausgeprägter, je größer die Zahl der Monomer-einheiten im Polymer wäre. Indem man das Polymer mit unterschiedlichen Endgruppen versieht, die jeweils als Substrat für ein anderes Enzym wirken, könnte man außerdem mit einem einzigen Polymer einen ganzen Bereich von Sensoren abdecken, denn das Signal der Reportermoleküle hängt nicht von den Details der Kettensspaltung ab, die zur Zerlegung des Polymers führt. Allerdings muss man den bei der Detektion von Enzymen und Enzymaktivität üblichen Vorbehalt beachten: Ein einzelnes aktives Enzymmolekül, das sich in ei-

nem Pool inaktiver Spezies befindet, kann durchaus mehrfache Signaleignisse auslösen, sodass diese Methode (wie alle anderen Methoden, die auf reaktiven Spezies beruhen) nicht zwischen aktiven und inaktiven Komponenten unterscheiden kann. In den meisten Fällen ist diese Unterscheidung unnötig, denn bei biochemisch wichtigen Enzymen muss man in der Regel nur die spezifische Aktivität des jeweiligen Enzyms detektieren. Allerdings gibt es einige besondere Fälle (z.B. Immunreaktionen), in denen man die absoluten Proteinkonzentrationen beachten muss; sehr geringe Mengen einer immunogenen Substanz würden durch diese oder andere Methoden der Proteindetektion nicht erfasst werden.

Die aktuelle Arbeit von Sagi et al. bietet ebenfalls eine wichtige Erweiterung der Selbstzerlegungsstrategie.^[8–17] In der Arbeitsgruppe von Shabat wurden schon vorher Anwendungen für den Wirkstofftransport untersucht, wobei chemische Reaktionen eingesetzt wurden, die durch verschiedene biochemische Stimuli ausgelöst werden können (Abbildung 1). Zu den Mechanismen, mit denen die Wirkstoffe freigesetzt wurden, zählten nucleophile intramolekulare Cyclisierungen, die zu stabilen cyclischen Spezies führten, Chinonmethid-Umlagerungen und Selbsteliminierungen. Alle diese Systeme haben die wichtige Eigenschaft, dass die Signalgruppe so variiert werden kann, dass sie durch viele verschiedene Stimuli aktiviert wird. Aufgrund des Polymerdesigns kann die Art der Endgruppe sehr flexibel gewählt werden, sodass man das Reaktionsprofil genau auf ein Substrat abstimmen kann. In jedem Fall ist es erforderlich, dass die durch einen biochemischen oder anderen Stimulus ausgelöste Aktivierungsreaktion ein aktives Nucleophil erzeugt, z.B. ein aromatisches Amin oder aktiviertes Phenol. Bisher wurden Endgruppen aufgebaut, die bei Einwirkung von Säuren oder Basen, katalytischen Antikörpern, Amidasen und nun auch Esterasen aktiviert werden. In allen diesen Fällen führen der Stimulus und die Aktivierungsreaktion zur Freisetzung eines Nucleophils, das anschließend die Kaskadenreaktion in Gang setzt, durch die das Polymer sequenziell abgebaut wird.

Für die Biomedizin ist dieser Ansatz sehr vielversprechend, auch wenn vollkommen biokompatible selbstzerlegende Polymere und zugehörige Monomere noch entwickelt werden müssen. Die Möglichkeit, mit einem spezifischen biologischen Signalreagens verschiedene Arten von



Schema 2. BSA-induzierte Spaltung eines selbstzerlegenden Polymers, das aus potenziell fluorogenen Einheiten besteht. Nach der Entfernung der Schutzgruppe an der Aminogruppe am Kopfende des Polymers setzt die gezeigte Kaskadenreaktion ein, bei der fluoreszierende Reportermoleküle freigesetzt werden. Das Photo zeigt die Zunahme der Fluoreszenz ($\lambda_{\text{ex}} = 270 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 510 \text{ nm}$; links) im Vergleich jener der BSA-freien Polymerlösung (rechts).

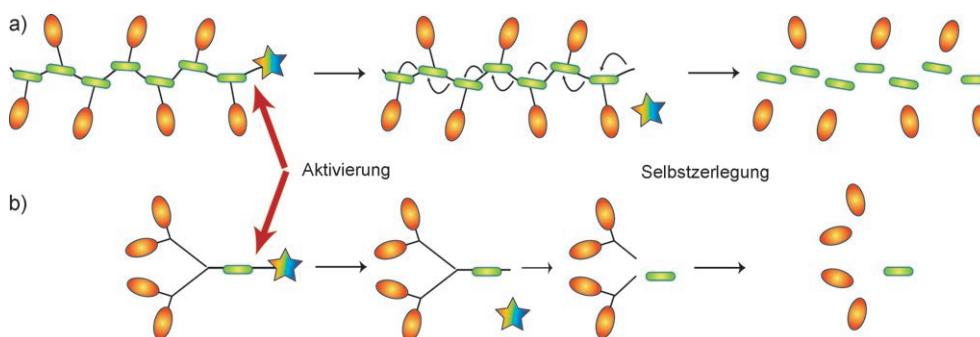


Abbildung 1. Selbstzerlegungsstrategie bei a) linearen Polymeren und b) Dendrimeren. Eine einzelne Aktivierungsreaktion induziert eine Kaskade von Selbsteliminierungen, durch die das lineare Polymer oder Dendrimer vollständig in seine einzelnen Bausteine, Seitenketten und Endgruppen dissoziiert.

Spaltungsreaktionen in großer Zahl auszulösen, bietet einige wichtige Vorteile für therapeutische Anwendungen. Wirkstoffe können in dem Polymer eingeschlossen bleiben, bis sie durch einen ortsspezifischen Stimulus freigesetzt werden. Antitumorwirkstoffe sind meist hochgradig cytotoxisch; die Möglichkeit, sie im Polymergerüst „einzuschließen“, bis der Tumor erreicht ist, verhindert ihre Freisetzung in gesundem Gewebe und reduziert damit die Nebenwirkungen erheblich. Selbstzerlegende Polymere wurden bisher dazu genutzt, den DNA-Topoisomerase-Inhibitor Doxorubicin in Leukämiezelllinien freizusetzen, wobei als Signalgeber der katalytische Antikörper 38C2 oder Penicillin-G-Amidase fungierte.^[11,12] Untersuchungen von Zellkulturen mit diesen Polymer-Doxorubicin-Konjugaten ergaben, dass eine dosisabhängige Inhibition des Zellwachstums bis hin zu dessen vollständiger Unterdrückung auftrat, wenn die selbstzerlegenden Polymere mit einer Propharmakon-Konzentration von 10–100 nm ausgestattet wurden. Das neue, von Sagi et al. beschriebene Konzept der Hauptkettenspaltung könnte in diesem Zusammenhang noch vorteilhafter sein, da es zu einer sehr hohen Wirkstoffkonzentration führen könnte. Bei einigen Antitumorwirkstoffen besteht das größte Problem darin, eine für die Abtötung der Tumorzellen garantiert ausreichende Menge des cytotoxischen Wirkstoffes zu den Zellen zu transportieren. Konventionelle Polymertherapeutika haben häufig den Nachteil einer geringen Wirkstoff-Gesamtbeladung, denn die Wirkstoffmoleküle sind meist nur an einen kleinen Teil der Polymerseitenketten gebunden. Wenn man die selbstzerlegenden Polymere so aufbaut, dass ihre Hauptketten sowohl den Wirkstoff enthalten als auch Gruppen, die die Löslichkeit erhöhen, könnte man vielleicht die hohe cytotoxische Wirkstoffbeladung verwirklichen, die für resistente Tumoren notwendig ist.

Ein weiterer Aspekt der medizinischen Anwendung dieser Polymerklasse besteht darin, dass man den Freisetzungsmechanismus so einstellen kann, dass er komplementär zu herkömmlichen Wirkstofftransportprozessen ist. Als biochemischer Signalgeber für Wirkstofftransportsysteme diente bisher z.B. die Veränderung des pH-Wertes: Säureempfindliche Polymer-Wirkstoff-Konjugate werden bei den relativ niedrigen pH-Werten von 7.4–5.6 in den endosomalen Kompartimenten aktiviert.^[18–20] Auch Reduktionsmittel wie Glutathion, das im Cytosol als Antioxidans wirkt, fanden Ver-

wendung.^[21] Der Einbau von Acetal-, Ketal- oder Hydrazonsignalgruppen wurde zwar bisher nicht beschrieben, sollte aber zu Polymeren mit effizienten biostabilisierten Freisetzungsmechanismen führen.

Eine weitere interessante Anwendung dieser neuen Materialien könnte aus der sequenziellen Natur des Zerlegungsprozesses resultieren. Die sequenzielle Zerlegung des Polymers vom Kopf- zum Schwanzende

wurde elegant nachgewiesen, indem am Schwanzende eine 4-Nitroanilin-Reportergruppe eingebaut wurde, sodass sich die Zerlegung der gesamten Polymerkette durch Umkehrphasen-HPLC beobachten ließ. Bei Gegenwart von BSA wurde über einen Zeitraum von zehn Stunden eine Zunahme von 4-Nitroanilin beobachtet. Die Ergebnisse zeigten, dass die Reaktion in einer progressiven Sequenz aus Aminbildung, 1,6-Eliminierung und Decarboxylierung entlang der Kette erfolgte. Man kann sich leicht eine Polymersequenzanalyse mithilfe dieses Prozesses vorstellen, wenn an verschiedenen Stellen in der Polymerkette unterschiedliche Reportergruppen eingebaut werden.

Die aktuelle Untersuchung der Arbeitsgruppe von Shabat hat den Zugang zu einer neuen Familie von Polymeren eröffnet, deren Auf- und Abbau eng miteinander verbunden sind. Diese Forschungsarbeiten sind von weitreichender Bedeutung. Erstens lässt die Methode des Polymeraufbaus (Urethansynthese) Modifizierungen zu; daher sind viele unterschiedliche Arten von Substitutionen in den Haupt- und Seitenketten möglich. Zweitens erfolgt die Zerlegung der Polymere sequenziell und kann durch geeignete Wahl der chemischen Reaktionen mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten erfolgen, sodass, falls erforderlich, verzögerte Freisetzungswirkungen verwirklicht werden könnten. Schließlich lässt sich der auslösende Schritt genau auf eine Vielzahl von physikalischen, chemischen oder biologischen Stimuli abstimmen. Entsprechend vielfältig sind die denkbaren Anwendungen dieser Polymere.

Sagi et al. haben mithilfe ihrer detaillierten Kenntnisse der physikalisch-organischen Chemie unter Einsatz effizienter nucleophiler Reaktionen und Kaskadenreaktionen eine wertvolle Materialklasse entwickelt, die in ganz verschiedenen Bereichen eine wichtige Rolle spielen kann, darunter analytische Sonden, die Diagnostik oder Wirkstofftransportsysteme und medizinische Funktionseinheiten.

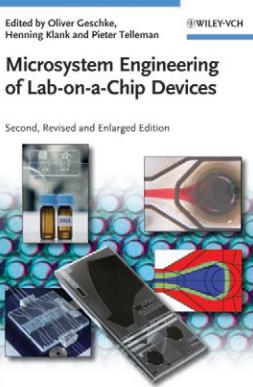
Online veröffentlicht am 4. September 2008

[1] F. Lecolley, C. Waterson, A. J. Carmichael, G. Mantovani, S. Harrisson, H. Chappell, A. Limer, P. Williams, K. Ohno, D. M. Haddleton, *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 2689.

[2] W. A. Braunecker, K. Matyjaszewski, *J. Mol. Catal. A* **2006**, *254*, 155.

- [3] Y. T. Li, S. P. Armes, *Macromolecules* **2005**, *38*, 5002.
- [4] E. P. Holowka, D. J. Pochan, T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12423.
- [5] Y. Lee, S. Fukushima, Y. Bae, S. Hiki, T. Ishii, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5362.
- [6] F. Vollrath, D. P. Knight, *Nature* **2001**, *410*, 541.
- [7] A. Sagi, R. Weinstain, N. Karton, D. Shabat, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5434.
- [8] L. Adler-Abramovich, R. Perry, A. Sagi, E. Gazit, D. Shabat, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 859.
- [9] R. J. Amir, E. Danieli, D. Shabat, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 812.
- [10] R. Perry, R. J. Amir, D. Shabat, *New J. Chem.* **2007**, *31*, 1307.
- [11] D. Shabat, *J. Polym. Sci. Part A* **2006**, *44*, 1569.
- [12] R. Weinstain, R. A. Lerner, C. F. Barbas, D. Shabat, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13104.
- [13] R. J. Amir, M. Popkov, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, D. Shabat, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4452; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4378.
- [14] K. Haba, M. Popkov, M. Shamis, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, D. Shabat, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 726; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 716.
- [15] R. J. Amir, D. Shabat, *Chem. Commun.* **2004**, 1614.
- [16] M. Shamis, H. N. Lode, D. Shabat, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1726.
- [17] H. N. Lode, M. Shamis, G. Gaedicke, D. Shabat, *Blood* **2003**, *102*, 623 A.
- [18] M. P. Xiong, Y. Bae, S. Fukushima, M. L. Forrest, N. Nishiyama, K. Kataoka, G. S. Kwon, *ChemMedChem* **2007**, *2*, 1321.
- [19] N. Murthy, Y. X. Thng, S. Schuck, M. C. Xu, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12398.
- [20] E. R. Gillies, A. P. Goodwin, J. M. J. Fréchet, *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 1254.
- [21] S. Takae, K. Miyata, M. Oba, T. Ishii, N. Nishiyama, K. Itaka, Y. Yamasaki, H. Koyama, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6001.

Wiley-VCH BOOK SHOP



O. Geschke / H. Klank / P. Tellerman
(eds.)

Microsystem Engineering of Lab-on-a-Chip Devices

This expanded second edition of the concise practical approach to microsystem technology focuses on analytical applications in life sciences at a non-specialist level, clearly illuminating the principles of the design and manufacture of lab-on-a-chip devices.

297 pp, cl, € 95.00
ISBN: 978-3-527-31942-8

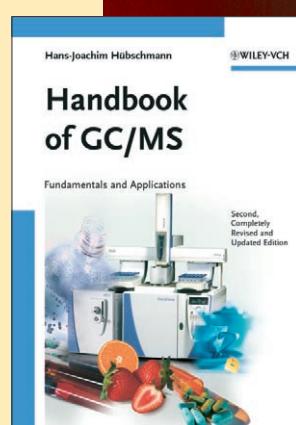
H.-J. Hübschmann

Handbook of GC/MS

Fundamentals and Applications

This is the first comprehensive reference work for GC/MS now in its second edition. The new edition features an extended glossary as well as new sections on topics such as 'Automated Solvent Extraction (ASE)', 'Hyphenation with Isotope Ratio MS' and the 'TOF-technique'.

approx. 650 pp, cl, € 179.00
ISBN: 978-3-527-31427-0



Prices are subject to change without notice.

You can order online via <http://www.wiley-vch.de>
Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA · POB 10 11 61 · D-69451 Weinheim, Germany
Phone: 49 (0) 6201/606-400 · Fax: 49 (0) 6201/606-184 · E-Mail: service@wiley-vch.de

BS_0804_C_AWV2_4_U-2_80

WILEY-VCH