

Ein Meisterstück in der Synthese: wohldefinierte, multivalente und multimodale dendritische Architekturen für biomedizinische Anwendungen

Lars Röglin, Edith H. M. Lempens und E. W. Meijer*

Bioorganische Chemie · Chemoselektive Ligationen ·
Dendrimere · Makromolekulare Chemie · Multivalenz

Dendrimere haben eine Reihe einzigartiger Eigenschaften, die sie zu interessanten Architekturen für biomedizinische Anwendungen machen. Bisher wurden multivalente und multimodale dendritische Strukturen überwiegend durch die statistische Modifikation der Endgruppen hergestellt. Ihre potenzielle Anwendung am Patienten verlangt dagegen nach wohldefinierten, monodispersen Materialien mit einer einheitlichen Struktur. Aktuelle Fortschritte in der chemischen Biologie und bei chemoselektiven Ligationsmethoden ermöglichen es nun, sich dieser Herausforderung zu stellen. In diesem Kurzaufsatz diskutieren wir die unterschiedlichen Synthesestrategien, einige Anwendungen, die diese neue Generation multivalenter und multimodaler Architekturen bereits nutzen, und die Herausforderungen für zukünftige Weiterentwicklungen.

1. Einleitung

Seit den späten 70er Jahren haben sich Dendrimere zu einer vielseitigen Substanzklasse zwischen kleinen organischen Molekülen und den Polymeren entwickelt. Ihre stufenweise Synthese liefert hochverzweigte, im Wesentlichen monodisperse Makromoleküle mit einer wohldefinierten Zahl von Endgruppen.^[1] Während sich frühe Studien auf die chemische Synthese und die Charakterisierung beschränkten, hat man sich bald auch für die Eigenschaften und Funktionen mit Blick auf mögliche Anwendungen interessiert.^[2] Bei Dendrimern lassen sich Größe, Architektur, Dichte und Zahl der Endgruppen flexibel einstellen, was sie zu einer sehr vielseitigen Strukturklasse für die Materialforschung und die Biomedizin macht.^[3] Unter anderem werden sie für den Wirkstofftransport, die Gentransfektion und die molekulare Bildgebung eingesetzt.^[4] Die ausgezeichnete Kontrolle über die Zahl der Endgruppen eröffnet zudem die Möglichkeit,

durch multivalente Wechselwirkungen Liganden mit einer erhöhten Affinität und Spezifität für biologische Targets herzustellen.^[5] Typischerweise sind Dendrimere sphärische Objekte mit Durchmessern im Nanometerbereich, was im Vergleich zu kleinen organischen Molekülen zu einer verlängerten

Zirkulationszeit im Blutkreislauf führt. Aus der verglichen mit normalen Polymeren geringeren Polydispersität (nahe 1.0) ergeben sich zudem verbesserte und reproduzierbarere pharmakokinetische Eigenschaften.^[6] Der biomedizinische Einsatz von Dendrimern steht nun an erster Stelle der Forschung, und es existiert eine ganze Reihe exzellenter Übersichtsartikel mit einer Fülle von Informationen über praktisch alle bedeutsamen Dendrimere.^[1b,c,2a,3a,-4c,5a,7]

Zahlreiche Forschungsgruppen haben über die statistische Modifikation von Dendrimern mit einheitlichen Endgruppen für Anwendungen wie Bor-Neutroneneinfangtherapie (boron neutron capture therapy, BNCT),^[8] Kernspintomographie (magnetic resonance imaging, MRI)^[9] oder Wirkstofftransport^[10] berichtet. Allerdings geht durch die statistische Verteilung der Endgruppen der Vorteil der Monodispersität und der Homogenität des Materials verloren. Der zunehmende Fortschritt in der chemischen Biologie führte zu neuen Forschungsthemen, wie multimodalen bildgebenden Verfahren, gerichtetem Wirkstofftransport oder der Kombination aus Bildgebung und Therapie.^[11] Derartige Anwendungen erfordern die Einführung mehrerer Funktionalitäten in einer hochkontrollierten Weise, wodurch die Dendrimersforschung einen neuen Impuls erhielt. Die Einführung chemoselektiver Ligationsmethoden^[12] wie der nativen chemischen Ligation, der Staudinger-Ligation,^[12a] der kupferkata-

[*] Dr. L. Röglin, E. H. M. Lempens, Prof. Dr. E. W. Meijer
Laboratory of Chemical Biology
Department of Biomedical Engineering
Eindhoven University of Technology
PO Box 513, 5600 MB Eindhoven (Niederlande)
Fax: (+31) 40-245-1036
E-Mail: e.w.meijer@tue.nl

lysierten Azid-Alkin-Cycloadition (CuAAC)^[12b,e] oder auch der Thiol-En-Reaktion^[12c] führte zu Verbesserungen in der Synthese, allerdings ist noch immer der ausgiebige Einsatz orthogonaler Schutzgruppen erforderlich. Nichtsdestotrotz bereiten diese Methoden, die die kontrollierte Synthese von wohldefinierten dendritischen Strukturen mit mindestens drei Funktionalitäten ermöglichen (z.B. Targeting, Bildgebung und Therapie), den Weg sowohl für eine breitere Anwendung in der biomedizinischen Forschung als auch für den Übergang vom Labor in die Klinik. In Abschnitt 2 dieses Kurzaufsatzes werden zunächst ausgewählte Syntheserouten zu wohldefinierten multimodalen dendritischen Verbindungen mit Blick auf potenzielle biomedizinische Anwendungen vorgestellt. In Abschnitt 3 diskutieren wir Anwendungen, in denen solche Materialien bereits genutzt werden. Wir haben, ohne den Anspruch auf Vollständigkeit, die unserer Meinung nach anschaulichsten Beispiele der letzten zehn Jahre für die Synthese von wohldefinierten, multivalenten und multimodalen dendritischen Architekturen ausgewählt. Schließen werden wir mit einem kurzen Ausblick auf zukünftige Entwicklungen.

2. Synthesestrategien für wohldefinierte multifunktionelle Dendrimere

Der Schlüssel für eine erfolgreiche Synthese von wohldefinierten monodispersen dendritischen Strukturen ist die präzise Kontrolle über einzeln reaktive Endgruppen an der Dendrimeroberfläche. Diese Kontrolle kann z.B. durch orthogonal geschützte funktionelle Gruppen, chemoselektive Funktionalitäten oder eine Kombination beider Möglichkeiten erzielt werden. Historisch wurden für die Dendrimer-synthese sowohl konvergente als auch divergente Strategien verwendet, die beide ihre Vor- und Nachteile haben. Der divergente Ansatz wurde von den Arbeitsgruppen um Tomalia und Newkome eingeführt und wird aufgrund der einfachen Durchführbarkeit häufig verwendet.^[13] Diesen Dendrimeren fehlt jedoch – besonders bei den höheren Generationen – die volle Kontrolle über die Reinheit und damit auch die exakte Zahl der Endgruppen. Daher weisen multifunktionelle Materialien häufig eine statistische Verteilung, bestenfalls eine abwechselnde Anordnung der Endgruppen auf. Die präparativ anspruchsvollere konvergente Synthese wurde von Hawker und Fréchet eingeführt.^[14] Der höhere Synthesaufwand macht sich mit einer sehr hohen Reinheit der resultierenden Dendrimere bezahlt. Zudem ermöglicht diese Vorgehensweise die Herstellung von Dendrons, die als Bausteine für die Synthese asymmetrischer Dendrimere mit unterschiedlichen Funktionalitäten an definierten Positionen dienen und auch für sich genommen überaus nützlich sind.

Beginnen werden wir mit Beispielen konvergenter und divergent/konvergenter Synthesestrategien, die auf der schrittweisen Anknüpfung verzweigter Einheiten an einen Kern beruhen. Dies ist die häufigere Vorgehensweise. Eine Ausnahme ist die divergente Festphasensynthese von Peptid-Dendrimeren, die als sogenannte „multiple antigenische Peptide“ häufig eingesetzt werden und deren Synthesemethoden an anderer Stelle umfassend beschrieben worden



Lars Röglin studierte Chemie an der Universität Dortmund (Diplom 2002) und promovierte im Bereich bioorganische Chemie bei Prof. Dr. O. Seitz an der Humboldt-Universität zu Berlin. Anschließend absolvierte er ein Postdoktorat bei Prof. Dr. E. W. Meijer mit Arbeiten über multivalente Architekturen für biomedizinische Anwendungen. Zurzeit forscht er am Chemical Genomics Centre in Dortmund über Protein-Protein-Wechselwirkungen.



Edith Lempens erhielt 2006 ihren M.Sc. in Biomedical Engineering an der Eindhoven University of Technology. Nach einem Forschungsaufenthalt bei Dr. P. E. Dawson am Scripps Research Institut in La Jolla promovierte sie zurzeit in Eindhoven bei Prof. E. W. Meijer. Ihr Forschungsgebiet sind multivalente Bindungsereignisse in der chemischen Biologie.



Bert Meijer studierte an der Universität Groningen und promovierte dort 1982 in der organischen Chemie. Nach einer 10-jährigen Karriere in der Industrie (Philips und DSM) wurde er Leiter der Gruppe Molecular Science & Technology an der Eindhoven University of Technology. Seine Forschungen gelten dem Design, der Synthese, Charakterisierung und Anwendung von supramolekularen Architekturen mit Schwerpunkt auf Chiralität, Dendrimeren, π -konjugierten Polymeren, wasserstoffbrückenbildenden Architekturen und der nichtkovalenten Synthese von komplexen molekularen Systemen.

sind.^[15] Allerdings wurden in den letzten Jahren Peptid-Dendrimere häufig auch mit chemoselektiven Verknüpfungs- oder anderen Konjugationsmethoden kombiniert. Diese Ansätze ermöglichen ebenfalls die kontrollierte Synthese von wohldefinierten multimodalen Makromolekülen und wurden daher ebenfalls in diesen Kurzaufsatz aufgenommen. Zuletzt werden noch einige Beispiele von divergenten Prozessen diskutiert, die typischerweise von einem orthogonal geschützten Kern ausgehen und diese Orthogonalität durch die gesamte Synthese beibehalten.

2.1. Divergent/konvergente oder konvergente Ansätze

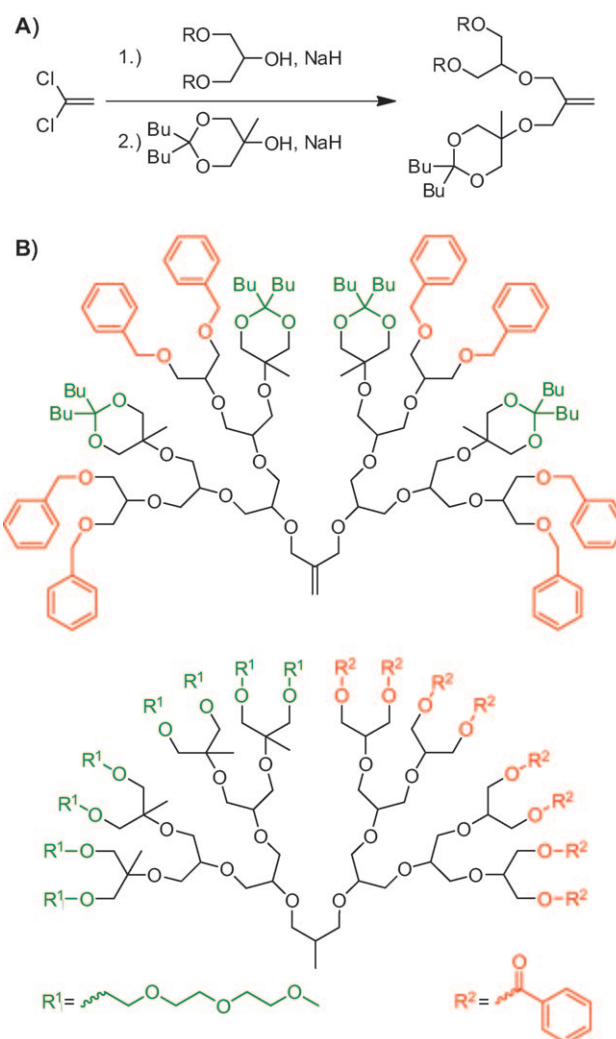
Eine frühe Synthese von Dendrimeren mit zwei unterschiedlichen, orthogonalen Schutzgruppen wurde von Fréchet und Mitarbeitern beschrieben,^[16] die eine konvergente Strategie^[14] für die Synthese von aliphatischen Polyether-Dendrons nutzten, um eine präzise Kontrolle über die dendritische Architektur zu erlangen. Der entscheidende Baustein ist 3-Chlor-2-chlormethyl-1-propen (Methallyldichlorid/MDC), das zwei wichtige Eigenschaften mitbringt: Zum einen kann das doppelt vorhandene Allylchlorid in einer Wil-

liamson-Reaktion substituiert werden, zum anderen lässt sich das verbleibende Alken durch Hydroborierung und Oxidation in eine Hydroxygruppe überführen, die für den nächsten Zyklus benötigt wird. Dieses Vorgehen ermöglicht sowohl die Synthese von Dendrons, bei denen die unterschiedlichen Schutzgruppen bzw. Funktionalitäten gleichmäßig verteilt sind (Schema 1B, oben), als auch von Dendrons, bei denen sich die unterschiedlichen funktionellen Gruppen jeweils in einer Hälfte befinden (Schema 1B, unten). Später verwendeten Lindhorst et al. diese Strategie zur Synthese von Polyetherglycodendrons mit Galactose- und Mannose-Einheiten (Schema 2).^[17] Dendrons mit diesen biologisch relevanten Zucker-Epitopen könnten als nützliche Oligosaccharid-Mimetika in biologischen Anwendungen dienen.

Ein weiteres Beispiel für das Potenzial der konvergenten Strategien sind die auf Triazin basierenden Dendrimere, die von Simanek und Mitarbeitern synthetisiert wurden. Durch Nutzung der für die Triazin-Chemie charakteristischen Reaktionskontrolle konnten Dendrimere mit fünf oder sechs unterschiedlichen funktionellen Gruppen (ungeschützte und geschützte Hydroxygruppen, Boc-geschützte Amine und Thiopyridyldisulfide) für die weitere Modifizierung hergestellt werden (Schema 3).^[18] Alle Arten von Konjugationsreaktionen mit Hydroxy-, Amino- oder Thiolgruppen können eingesetzt werden, um die gewünschte Funktionalisierung zu erreichen. Fünf oder sechs chemoselektive Funktionalitäten dürften für jede erdenkliche Anwendung mehr als ausreichend sein.

In einem neueren Beispiel wurde der Einsatz einer orthogonal geschützten Boc/Dde-Variante beschrieben (Dde = 1-(4,4-Dimethyl-2,6-dioxocyclohex-1-yliden)ethyl) beschrieben, die durch die höhere Stabilität z.B. im Vergleich zur Thiopyridylgruppe die Synthese und Aufreinigung erleichterte. Die Methode führte zur Synthese eines Dendrimers mit 24 Boc- und 12 Dde-geschützten Aminen. Um die funktionelle Modifizierung zu demonstrieren, wurden die Dde-Schutzgruppen entfernt und durch Thiopyridyl-geschützte 3-Thiopropansäure ersetzt sowie die vormals Boc-geschützten Amine PEGyliert (PEG = Polyethylenglycol), wodurch ein voll funktionalisiertes Dendrimer von 57 kDa erhalten wurde.^[19]

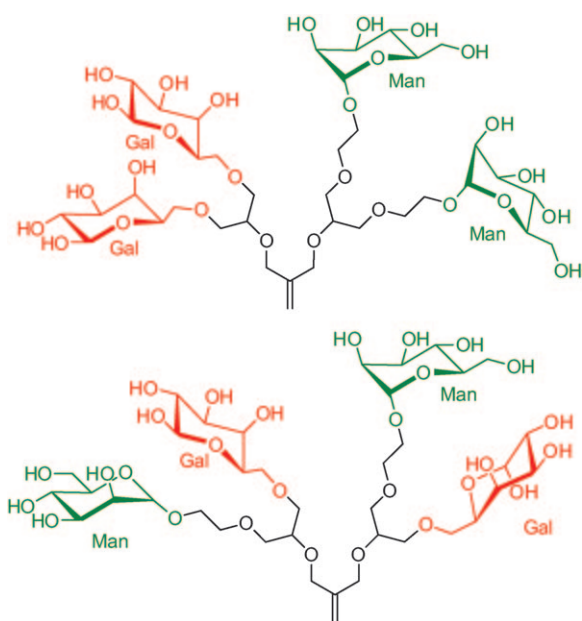
Weck et al. setzten monofunktionalisierte Bausteine (Schema 4A) für die Synthese von Newcome-artigen Dendrimern ein, die entweder eine oder zwei selektiv reagierende Gruppen enthalten.^[20] Um die Monofunktionalisierung zu erreichen, wurde ein Halbdendrimer mit einer orthogonal geschützten Hydroxygruppe mit einem weiteren Halbdendrimer, das ausschließlich *t*Bu-Ester enthielt, verknüpft (Schema 4B). Die Kombination aus zwei Halbdendrimern mit jeweils einer selektiv reagierenden Gruppe (einer freien und einer acetylierten Hydroxygruppe) ermöglicht die Synthese von Dendrimern mit einem zur weiteren Modifikation (z.B. durch Oxim-Ligation)^[21] geeigneten Aldehyd und einem Azid, das beispielsweise zur direkten Umsetzung in CuAAC-Reaktionen verwendet werden kann (Schema 4C). Das Endprodukt enthält drei chemoselektive Gruppen und sollte daher die Anbindung von beliebigen anwendungsspezifischen Schlüsselfunktionalitäten ermöglichen (Target-Erkennung, Wirkstoff, diagnostische Markierung).



Schema 1. A) Desymmetrisierung von 3-Chlor-2-chlormethyl-1-propen (nach Hydroborierung und Oxidation der Doppelbindung kann der Baustein für die Synthese der nächsten Generation verwendet werden). B) Orthogonal funktionalisierte Dendrons, synthetisiert mit der in (A) gezeigten Methode.^[16]

Ein Sonderfall der konvergenten Strategie ist die Verknüpfung zweier dendritischer Einheiten durch spezielle Verbindungsstücke. Diese können eine kovalente oder eine nicht-kovalente Verknüpfung der beiden Fragmente ermöglichen. Eine der ersten Reaktionen, die hierfür genutzt wurden, war die CuAAC-Reaktion. Lee et al. untersuchten verschiedene Reaktionsbedingungen, um eine optimale Kuppelung von Fréchet-artigen Benzylproparglyether-Dendrons (Schema 5A) oder Poly(amidoamin)(PAMAM)-Dendrons (Schema 5B) zu erzielen.^[22] Allerdings dürften die Bedingungen für die Verknüpfung der Fréchet-Dendrons (Toluol, 50 °C, > 20 h)^[22a] für den Einsatz mit funktionalisierten Dendrons ungeeignet sein. Die Bedingungen für die Verknüpfung der PAMAM-Dendrons (THF/Wasser 4:1, Raumtemperatur, 4 h)^[22b] sollten hingegen auch für Dendrons mit empfindlichen Funktionalitäten geeignet sein.

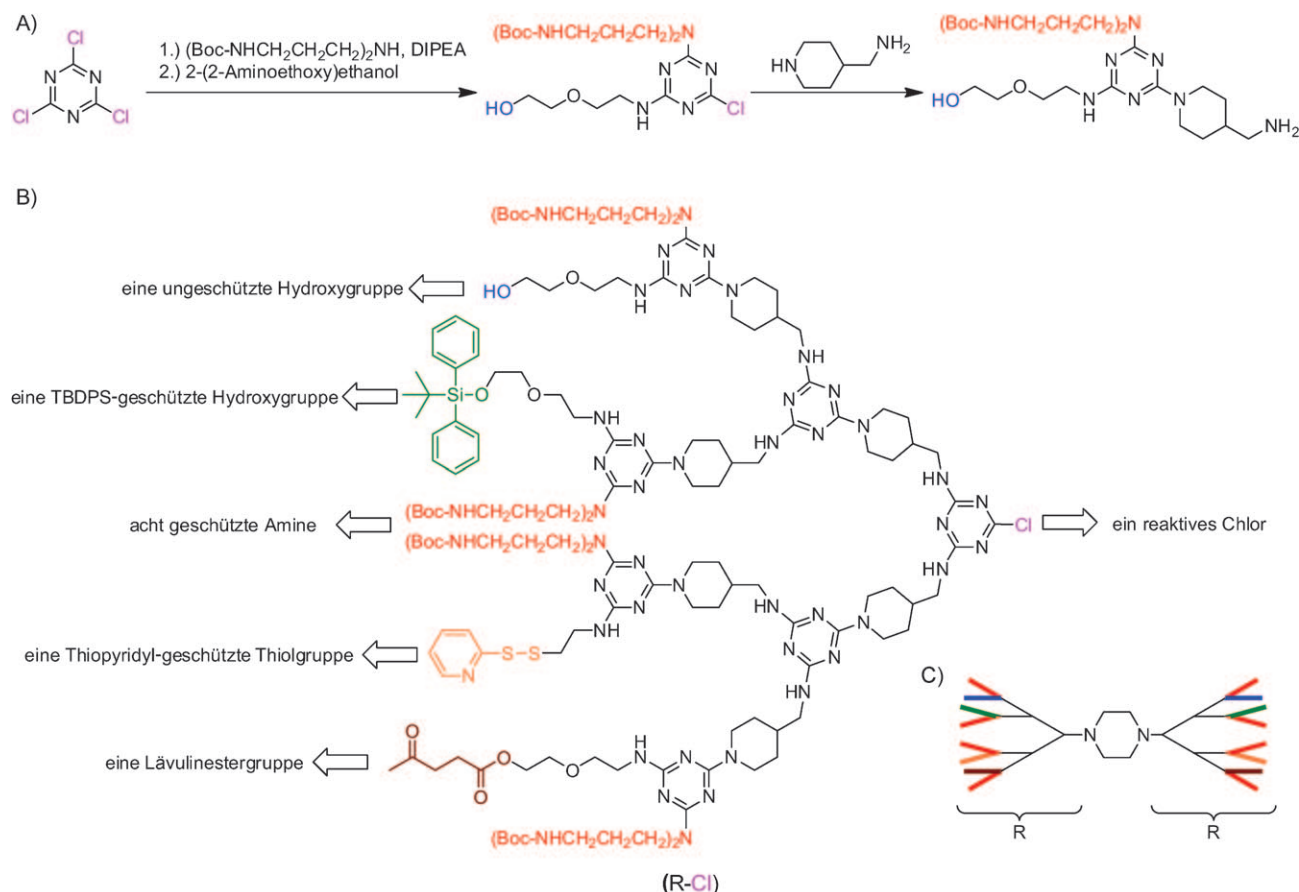
Die Diels-Alder-Cycloaddition ist eine weitere selektive und effiziente Konjugationsreaktion, die für die Verknüpfung



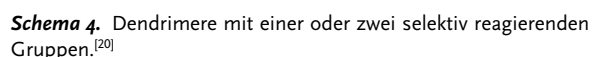
Schema 2. Zuckermodifizierte Polyether-Dendrons, synthetisiert mit der in Schema 1 gezeigten Methode.^[17]

zweier Halbdendrimere verwendet wurde. Kose et al. setzten ein Furan-funktionalisiertes Polyarylether-Dendron in Kombination mit Maleinimid-funktionalisierten Polyester-Dendrons als Modellsystem ein (Schema 6).^[23] Die Reaktionsausbeuten für das Modellsystem wurden lediglich für Reaktionen in Benzol bei 85°C angegeben, was bei funktionalisierten Systemen zu Problemen führen könnte. Vollständige *exo*-Stereoselektivität wurde nur mit den Dendrimern der ersten Generation erzielt. Die unterschiedliche Stereochemie betrifft jedoch den Kern des Makromoleküls und dürfte daher – auf jeden Fall bei Dendrimern höherer Generationen – nur einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Gesamtstruktur haben. Die Autoren konnten zeigen, dass die Reaktion auch bei Raumtemperatur möglich ist (auch wenn hierfür keine Ausbeuten angegeben wurden), und die Reaktion wurde auch schon mit Peptiden in wässrigen Systemen eingesetzt.^[24] Der Ansatz könnte daher auch für Peptid-funktionalisierte Dendrimere geeignet sein.

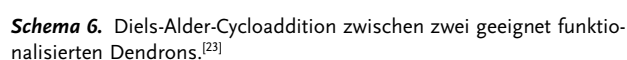
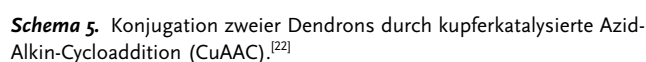
Ein anderer Ansatz wurde für die nicht-kovalente Dimerisierung zweier Ureidopyrimidinon(Upy)-funktionalisierter Oligoether- oder Newkome-artiger Dendrons genutzt.^[25] Die Methode beruht auf der Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen zwei Upy-Einheiten und ist daher auf apolare Lösungsmittel wie CHCl₃ beschränkt. Für Anwendungen in wässrig gepufferten In-vitro- oder In-vivo-Systemen dürfte sie daher ungeeignet sein. Eine mögliche Lösung



Schema 3. A) Synthese des Schlüsselintermediats der in (B) und (C) gezeigten Konstrukte durch Desymmetrisierung von Cyanurchlorid. B) Dendron mit sechs chemoselektiven funktionellen Gruppen. C) Die Kombination zweier Dendrons aus (B) führt zu einem Dendrimer mit immer noch fünf chemoselektiven funktionellen Gruppen.^[18]



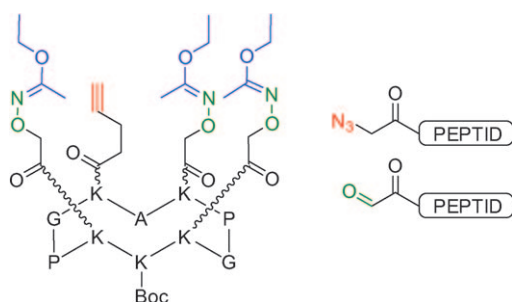
für dieses Problem könnte der Ersatz der Upy-Einheiten mit komplementären DNA-Strängen sein. Choi et al. konnten in diesem Zusammenhang bereits zeigen, dass mithilfe von DNA-Strängen zwei unterschiedlich funktionalisierte Dendrimere verknüpft werden können.^[26] Im Unterschied zur Upy-basierten Dimerisierung ist die DNA-Hybridisierung für die Anwendung in wässrigen Systemen prädestiniert und könnte auch zur Synthese unsymmetrischer Dimere verwendet werden. Fréchet und Mitarbeiter konnten zudem den Aufbau eines Dreikomponentensystems zeigen.^[27] Obwohl die Hybridisierung in beiden Fällen lediglich mit statistisch modifizierten Dendrimern oder unmodifizierten Dendrons gezeigt wurde, eignet sich dieser Ansatz sicher auch zur Verknüpfung von wohldefinierten, diskret funktionalisierten Dendrons.



2.2. Divergente Strategien

Die divergenten Strategien zur Synthese multifunktionaler Dendrimere beruhen vor allem auf der Verwendung orthogonal geschützter Bausteine. Das bekannteste Beispiel dieses Typs sind die Peptid-Dendrimere, die an anderer Stelle ausführlich diskutiert wurden.^[15] Anzumerken ist, dass die Verwendung von peptidischen Gerüststrukturen in den letzten Jahren durch das Aufkommen mehrerer orthogonaler chemoselektiver Ligationsmethoden^[12a,b,21a,28] deutlich zugenommen hat. Der Grund dafür ist darin zu suchen, dass es nicht mehr erforderlich ist, Konstrukte im Ganzen sequenziell herzustellen. Vielmehr wird die Orthogonalität der unterschiedlichen Schutzgruppen dazu verwendet, die entsprechende reaktive Gruppe für eine anschließende Ligation der gewünschten Funktionalität einzuführen.

Ein interessantes Beispiel für diesen Ansatz wurde kürzlich von Galibert und Mitarbeitern publiziert.^[29] Sie verwendeten das von Mutter et al. 1988 eingeführte Cyclopeptid^[30] als Ausgangspunkt für die Anbindung von zwei unterschiedlichen Peptidliganden durch orthogonale chemoselektive Ligationsverfahren (Schema 7).^[31] Diese Arbeit zeigt, dass die



Schema 7. Chemoselektive Ligationen ermöglichen die Modifikation eines geeignet funktionalisierten Cyclopeptid-Gerüsts.^[29] Die 1-Ethoxyethyliden(Ee)-Schutzgruppe (blau) wurde eigens entwickelt, um eine Überacylierung der NH-O-Funktionalität zu vermeiden.^[31]

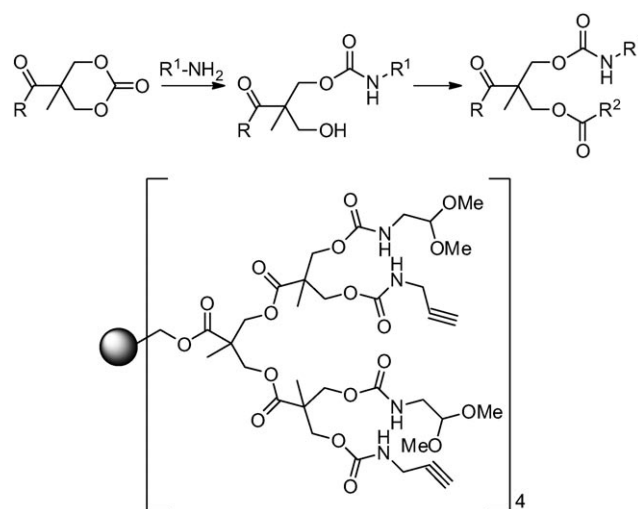
Kombination von CuAAC und Oximchemie sogar die Anbindung zweier Peptidliganden in einer Eintopfreaktion ermöglicht, was die Aufreinigung von Zwischenprodukten überflüssig macht und dadurch die Gesamtausbeute erhöht. Hierzu mussten jedoch zunächst geeignete Reaktionsbedingungen gefunden werden, die sowohl eine schnelle und stabile Bildung der Oximbindung als auch die CuAAC-Reaktion ermöglichen. Dies führte zu den außergewöhnlichen Reaktionsbedingungen von Kupfer-Nanopulver in 5-proz. Trifluoressigsäure (TFA). Allerdings ist die Gerüststruktur auf vier oder sechs reaktive Positionen beschränkt, da bei größeren Cyclopeptiden keine konformativ definierte Grundstruktur gewährleistet ist.

Ein frühes Beispiel unsymmetrischer PAMAM-Dendrimere wurde von Martin und Twyman beschrieben,^[32] die ein mono-Boc-geschütztes Ethylendiamin als Ausgangspunkt für ihre Synthese verwendeten. Nach drei Runden Standard-PAMAM-Synthese wurden die terminalen Estergruppen

durch Isobutylamide ersetzt. Die nachfolgende Entschützung der Boc-Gruppe und drei weitere Runden PAMAM-Synthese führten schließlich zum unsymmetrischen G3-Dendrimer mit Isobutylamid-Endgruppen in der einen Hälfte und Methylester-Endgruppen in der anderen.

Ein anderer Ansatz wurde von der Arbeitsgruppe um Fréchet entwickelt.^[33] Anstatt die gesamte Synthese in einem divergenten Syntheseweg durchzuführen, wurde so vorgegangen, dass das synthetisierte Dendrimer im letzten Schritt mithilfe cyclischer Carbonate desymmetrisiert wurde. Diese cyclischen Carbonate wurden an verschiedene Bis(hexamethylphosphortriamid)(HMPA)-Dendrimere angebunden. Die hocheffiziente und selektive Ringöffnung eines cyclischen Carbonats durch ein Amin ist ein wichtiger Schritt in der Polyurethan-Synthese und resultiert in einem stabilen Carbamat. Die Reaktion setzt gleichzeitig eine Alkoholgruppe frei, die für nachfolgende Modifikationen genutzt werden kann. Dies ermöglicht die direkte Einführung der nächsten Funktionalität ohne weitere Umwandlungs- oder Entschüttungsschritte. Ein möglicher Nachteil dieses Ansatzes ist, dass sich das Verhältnis zwischen den beiden Funktionalitäten nicht variieren lässt, da beide funktionellen Gruppen immer in gleicher Zahl vorhanden sind.

In einem verwandten Ansatz (Schema 8) wurde eine trifunktionelle Aminosäure an einen symmetrischen, aus aliphatischen Estern bestehenden Dendrimer-Kern gebunden. Die Amine wurden anschließend PEGyliert,^[34] wobei die dritte Aminosäure für weitere Konjugationsreaktionen, z. B. die Radioiodierung von Tyrosin, verblieb. Allerdings erwies sich die quantitative Funktionalisierung der PEGylierten Dendrimere als schwierig, wenn nicht gar unmöglich. In einem Beispiel versuchten die Autoren, den Antitumorstoff Doxorubicin über eine Hydrazonbindung an die Carbonsäureseitenkette einer Asparaginsäure anzuknüpfen. Da der direkte Weg einer Umsetzung der Asparaginsäure mit *tert*-Butylcarbazat aufgrund der Labilität der α -Amidoesterbindung gegenüber freien Aminen fehlschlug, wurde zunächst ein Boc-geschützter Hydroxyhydrazid-Linker einge-



Schema 8. Abschließende Desymmetrisierung durch cyclische Carbonate.^[34]

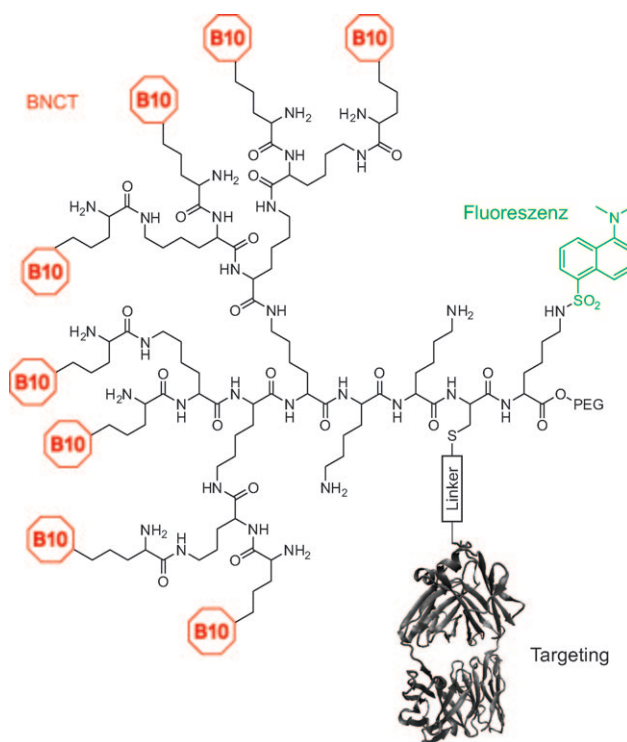
führt. Anhand von NMR-Messungen wurde ermittelt, dass die Ausbeute dieser Reaktion etwa 50 % betrug. Da im Folgeschritt, der Anbindung des Doxorubizins an das freigesetzte Hydrazid, ebenfalls eine Ausbeute von 50 % beobachtet wurde, ergibt sich eine Gesamtbeladung mit Doxorubicin von gerade einmal rund 25 %. Obwohl dieser Beladungsgrad für die angestrebten Anwendungen ausreichend sein dürfte, geht natürlich der Vorteil des Umgangs mit exakt definierten Einheiten anstelle statistisch modifizierter Dendrimere wieder verloren.

3. Anwendungen multivalenter, multifunktionaler Dendrimere

Die Entwicklung dendritischer Architekturen für den Einsatz in biomedizinischen Anwendungen erfordert eine Funktionalisierung der an der Oberfläche befindlichen Gruppen. Die homogene Anbindung von pharmazeutischen Wirkstoffen, Targeting-Funktionen und (radioaktiven) Markierungen an ein einzelnes Grundgerüst ist eine präparative Herausforderung, zur Herstellung von Molekülen mit eindeutig definierter Struktur aber essenziell. In diesem Abschnitt diskutieren wir vielversprechende medizinische Anwendungen multifunktionaler Dendrimere wie multivalentes Targeting, multimodale Bildgebung oder eine Kombination aus Bildgebung und Wirkstofftransport. Die vorgestellten Makromoleküle können grob in die Klassen 1) Dendrons, 2) verbundene Dendrons und 3) verschiedene dendritische Strukturen eingeordnet werden.

3.1. Dendrons

Qualmann et al. waren 1996 die ersten, die ein multifunktionelles Dendron, das einen Polylysine-Kern aufwies, beschrieben.^[35] Die Anbindung von acht Carboranclustern an die Außenschale in Kombination mit einem Antikörperfragment und einem Fluorophor im Zentrum führte zu einem vielversprechenden System für Anwendungen in der Bor-Neutroneneinfangtherapie (Schema 9). Durch Verwendung eines TentaGel-PAP-Harzes für die Festphasensynthese wurde zusätzlich eine PEG-Gruppe eingeführt, um die Wasserlöslichkeit des Dendrons zu verbessern. Dieses Beispiel zeigt bereits, wie vier unterschiedliche Funktionalitäten in einer hochkontrollierten Weise durch schnelle und effiziente Festphasensynthese eingeführt werden können. In einer späteren Studie setzten Kantchev et al. mannosylierte Polylysine-Dendrons der vierten Generation mit einem Fluorophor am C-Terminus ein, um die vom Mannose-Rezeptor vermittelte Aufnahme von Pathogenen durch dendritische Zellen nachzuahmen.^[36] Die Verwendung derartiger Glycodendrons könnte eine nützliche Strategie sein, um beispielsweise die Immunogenität eines Peptids in der Impfstoffentwicklung zu erhöhen.^[37] Seit diesen Arbeiten wurden Glycodendrimere für eine ganze Reihe von Anwendungen eingesetzt. Einen Überblick über die vorhandenen Strategien und möglichen biologischen Anwendungen von Glycodendrimern bietet der Übersichtsartikel von Chabre und Roy.^[38]



Schema 9. Polylysine-Dendron der zweiten Generation, das mit acht Carboranclustern (rot), einem Antikörper-Fragment (grau) und einem Fluorophor (grün) funktionalisiert wurde.^[35]

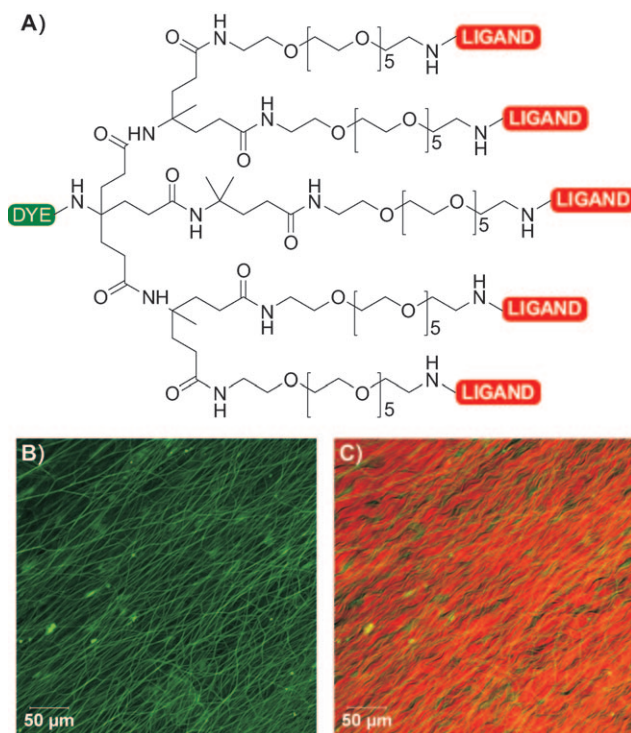
Eine ähnliche Strategie wurde kürzlich von Lsvarghi et al. verwendet, um unterschiedliche Generationen peptidfunktionalisierter Polylysine-Dendrons mit einer Biotingruppe im Zentrum herzustellen. Die Konstrukte wurden als mögliche Biosensoren für den Nachweis von Bakteriosporen in der Luft, im Wasser und in Nahrungsmitteln untersucht.^[39] Im direkten Vergleich mit dem schwach bindenden, monovalenten Peptid wurde für die di- und tetravalenten Peptide eine Erhöhung der Sporenbindungsaffinität um eine bzw. zwei Größenordnungen beobachtet.

Neben den Polylysinestrukturen wurde auch andere Arten funktionalisierter Dendrons beschrieben. Beispielsweise wurden PAMAM-Dendrons mit DNA kondensiert, nachdem das Zentrum des Dendrons mit einem peptidmodifizierten PEG substituiert wurde. Das verwendete Peptid (WIFPWQL) kann das Konstrukt gezielt zu Zellen transportieren, die das als Tumormarker identifizierte glucoseregulierte Protein-78kDa (GRP-78) überexprimieren. In-vitro-Experimente zeigten, dass das Dendron effizient Prostatakrebszellen sowohl erkannte als auch transfizierte und zudem Potenzial für die klinische Anwendung im gegen Tumorzellen gerichteten Gentransfer hat.^[40]

Kostiainen et al. stellten ebenfalls präzise definierte Dendrons her, die biokompatibel sind und einen effizienten Gentransfer ermöglichen. Sie verwendeten Dendrons vom Newkome-Typ der ersten und zweiten Generation, die an der Peripherie mit Spermin modifiziert wurden. Dieses natürlich vorkommende Polyamin bindet mit hoher Affinität an DNA, wie mit einem Ethidiumbromid-Verdrängungsassay gezeigt wurde. Die Funktionalisierung des Zentrums mit einem Ma-

leininimid ermöglichte die Konjugation an Proteine über freie Cystein-Thiolgruppen. Die Anbindung des Adhäsionsproteins Hydrophobin (HFBI) an ein Spermin-Dendron der zweiten Generation erzeugte ein selbstorganisierendes Amphiphil, das in vitro eine effektive Gentransfektion ermöglichte.^[41]

Eine weitere dendritische Struktur vom Newkome-Typ ist das markierte pentamere Peptid-Dendron, das in unserer Arbeitsgruppe entwickelt wurde (Schema 10 A).^[42] Hier

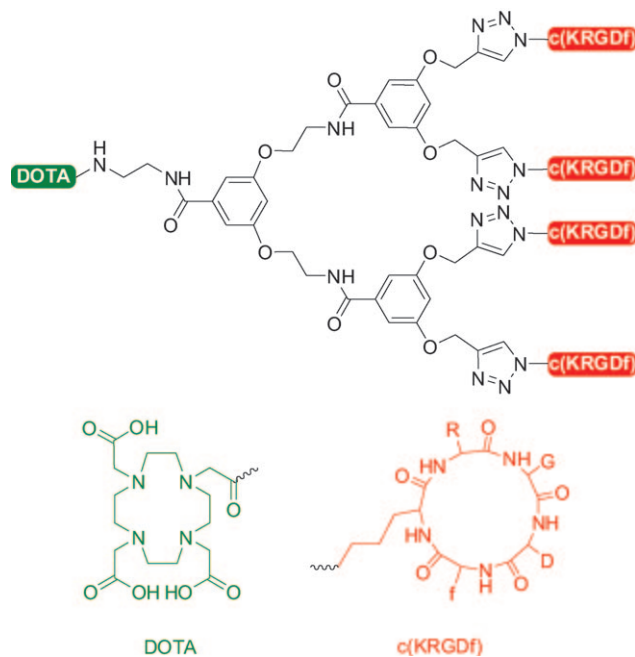


Schema 10. A) Pentavalentes Dendron vom Newkome-Typ, das die multivalente Kopfgruppe des M13-Phagen nachahmt. B,C) Konfokale Fluoreszenzbilder von Gewebeproben aus Schweineperikard, eingefärbt mit dem fluoresceinmarkierten Dendron (grün) und AlexaFluor568-markiertem CNA35 (rot).^[42]

wurde durch Nachbildung der multivalenten Architektur des M13-Phagenkopfes eine vielseitige Plattform für die Affinitätssteigerung von durch Phagendisplay identifizierten Peptiden gestaltet. Die Synthese basiert auf einer orthogonalen Schutzgruppenstrategie, die durch eine chemoselektive Ligation der Peptide vervollständigt wird. PEG-Einheiten wurden verwendet, um säurelabile, tritylgeschützte Cysteinreste an die Peripherie anzubinden, während die orthogonale, basenlabile Fluorenylmethoxycarbonyl(Fmoc)-Gruppe die Anbindung einer Biotin- oder Fluorescein-Markierung im Zentrum ermöglichte. Abschließend wurden durch native chemische Ligation zuvor durch Phagendisplay identifizierte, an Collagen Typ I bindende Peptide (HVWMQAPGGG) eingeführt. Bindungsexperimente mit Collagen Typ I zeigten im Vergleich zum monovalenten Peptid einen hundertfachen Anstieg der Affinität. Inkubation von Gewebe aus dem Schweineperikard mit dem fluoresceinmarkierten Pentamer offenbarte ein ausgeprägtes Fasernetzwerk, das ausschließlich

aus Collagen Typ I bestand (Schema 10B). Eine zusätzliche Anfärbung mit AlexaFluor568-markiertem CNA35, einem bekannten, an diverse Collagentypen bindenden Protein, zeigte die Spezifität des peptidfunktionalisierten Dendrons auf (Schema 10C). Das Dendron könnte somit als Visualisierungswerkzeug in der Diagnose von Krankheiten verwendet werden, die auf einer Störung des Collagen-Umsatzes beruhen (wie Angiogenese oder Atherosklerose). In der Folge wurde über eine ganze Serie dieses Dendrontyps mit arithmetischer Kontrolle des Verzweigungsgrades (AB_2 , AB_3 , AB_4 und AB_5) berichtet.^[43]

Der Einsatz von multifunktionellen Dendrons für die Anwendung im Tumor-Targeting und der Tumor-Bildgebung wurde durch die Synthese von Peptid-Dendrons mit einer DOTA-Gruppe gezeigt (DOTA = 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure). Monomere, dimere und tetramere Aminosäuredendrons wurden ausgehend von 3-Hydroxymethylbenzoat oder 3,5-Dihydroxymethylbenzoat und 2-Bromethylamin hergestellt.^[44] Abschließend wurde eine mikrowellenunterstützte 1,3-dipolare Cycloaddition durchgeführt, um die dendritischen Alkine mit *N*- ϵ -Azido-modifiziertem c(KRGDF) umzusetzen (Schema 11). Die selektive



Schema 11. Struktur eines DOTA-konjugierten tetraivalenten Cyclopeptid[c(KRGDF)]-Dendrimers.^[45]

Bindung dieser cyclischen Peptide an $\alpha\beta_3$ -Integrine zielt auf die Vorbeugung von Tumorwachstum durch Inhibition der Angiogenese ab. Nach Anbindung der DOTA-Gruppe an den dendritischen Kern wurden Festphasenbindungsassays und Bioverfügbarkeitsstudien durchgeführt. Das tetramere Konstrukt wies hierbei eine erhöhte Affinität für $\alpha\beta_3$ -Integrine und eine signifikant erhöhte Tumoraufnahme in athymischen Mäusen mit einem subkutan wachsenden SK-TC-52-Nierenkarzinom auf.^[45]

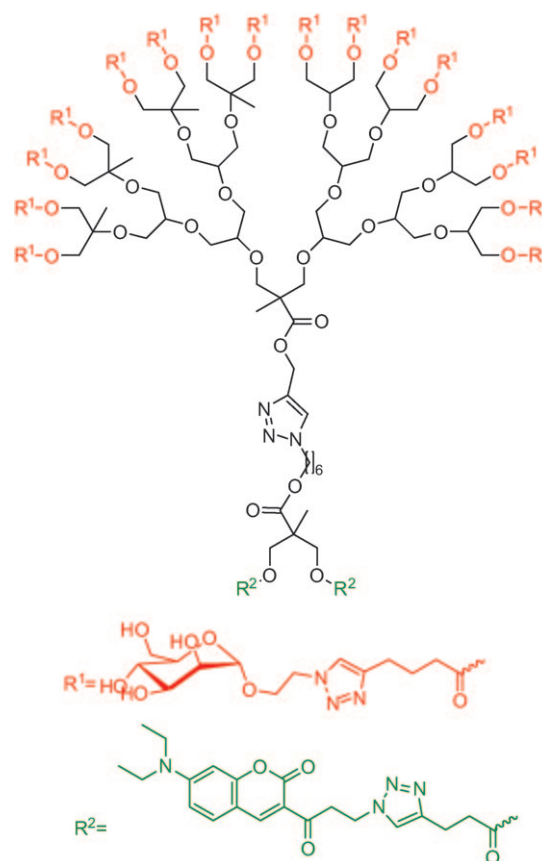
In einer weiteren Arbeit untersuchten Wu et al. die Verwendung von synthetischen Glycodendrons als neue Strategie zur Beschichtung von einwandigen Kohlenstoffnanoröhren (SWNTs), um auf diese Weise ihre Bindung an Zellen zu erhöhen. Derartige SWNTs wurden bereits für die Bildgebung, den Wirkstofftransport und das Targeting von Krebszellen verwendet, erfordern jedoch Modifikationen, um die Zelltoxizität zu verringern. Difunktionelle Dendrimere basierend auf dem biokompatiblen Baustein 2,2-Bis(hydroxymethyl)propionsäure (G2 und G3) wurden mit den unterschiedlichsten peripheren Kohlenhydratgruppen funktionalisiert. Die Anbindung einer Pyrengruppe an das Zentrum ermöglichte die Bindung an SWNTs über π - π -Wechselwirkungen.^[46] In-vitro-Experimente mit diesen biokompatiblen SWNTs ergaben eine receptorspezifische Bindung und Markierung der Zellmembran.

3.2. Verbundene Dendrons

Bis jetzt haben wir ausschließlich Dendrons mit einer einzelnen Modifikation am Zentrum betrachtet. In jüngster Zeit berichteten nun mehrere Arbeitsgruppen über die Synthese funktioneller Dendrimere durch Zusammenfügen zweier Dendrons. Wu et al. verwendeten den 2,2-Bis(hydroxymethyl)propionsäure-Baustein für die Synthese von Dendrons mit entweder einem Alkin oder einem Azid im Zentrum. Zwei Serien bis zur vierten Generation wurden synthetisiert, und die Kupplung der unterschiedlichen Blöcke durch Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition verlief glatt. Schließlich wurde noch ein unsymmetrisches Dendrimer mit zwei 7-Diethylcumarin-Farbstoffen im Zentrum und 16 Mannosegruppen an der Peripherie synthetisiert (Schema 12), das gegenüber monomerer Mannose in einem Hämagglutininassay eine 240fache Aktivität aufwies.^[47]

Ein vergleichbares Konzept wurde zur Entwicklung multivalenter, zielspezifischer MRI-Kontrastmittel für mögliche Anwendungen in der In-vivo-Bildgebung kardiovaskulärer Erkrankungen genutzt. Zwei Polylysin-Dendrons mit einem Thioester- bzw. einem Cysteinrest im Zentrum wurden durch native chemische Ligation verknüpft. Die chemische Struktur des Dendrimers bestehend aus einem Diethylentriaminpentaessigsäure(DTPA)-modifizierten Dendron der zweiten Generation und einem Peptid-funktionalisierten (GRGDS) Dendron der ersten Generation ist in Schema 13 dargestellt.^[48]

Deguisse et al. verwendeten ebenfalls die Azid-Alkin-Cycloaddition für die Synthese wohldefinierter Glycodendrimere mit Fucosidgruppen in der einen und Galactosidgruppen in der anderen Hälfte. Fucosid und Galactosid inhibieren PA-IL- bzw. PA-III-Lectine in Gram-negativen Bakterien wie *Pseudomonas aeruginosa* und sind daher interessante therapeutische Substanzen für die Vorbeugung von bakteriellen Infektionen. Die sich wiederholende Einheit für die Synthese der Dendrons basiert auf einer aromatischen Diazidosäure. Letztlich erfolgte die Verknüpfung der beiden Bausteine durch die Bildung von Amidbindungen mit einem Bisamin.^[49] Heterodifunktionelle Dendrimere mit bis zu acht Fucosiden und acht Galactosiden banden sowohl PA-IL- als

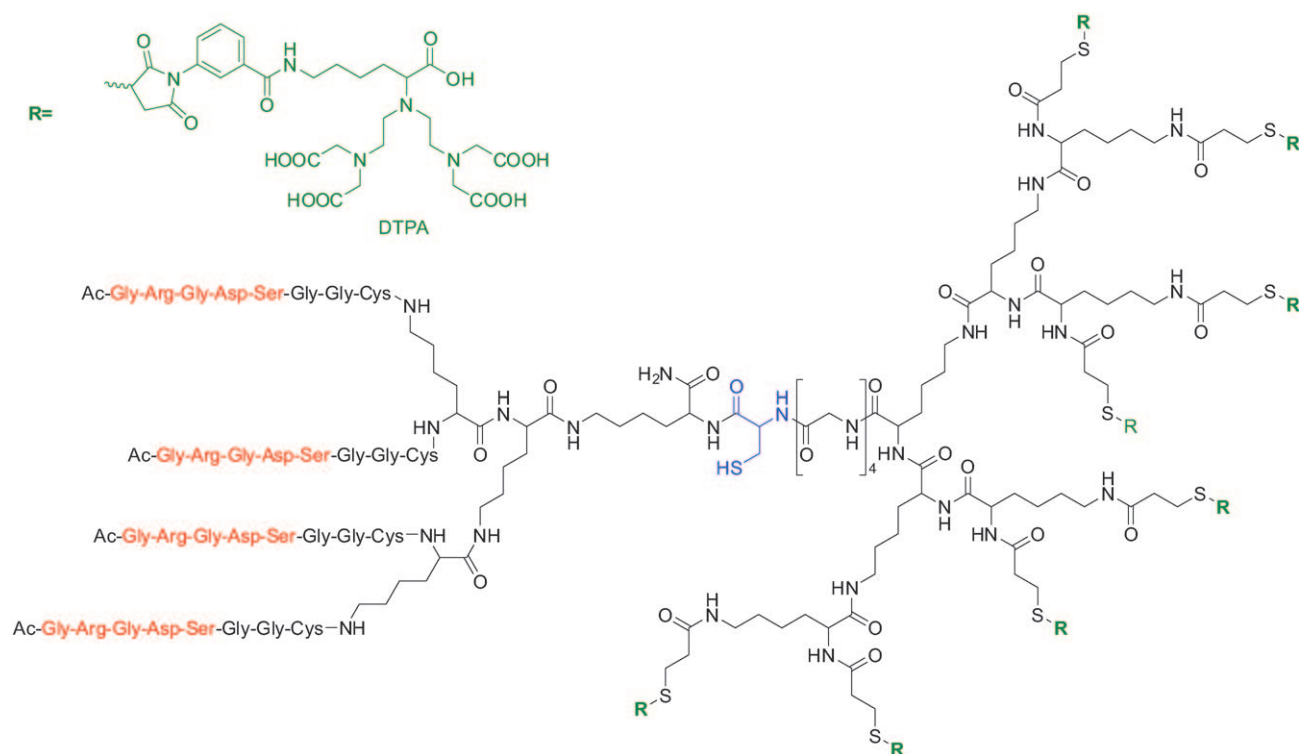


Schema 12. Unsymmetrisches Dendrimer mit 16 Mannose-Einheiten und zwei Cumarin-Fluorophoren.^[47]

auch PA-III-Lectine und führten zu deren Clustering. Die Beispiele zeigen, wie durch die Kombination zweier Dendrons das Verhältnis zwischen den Markierungs- und Targeting-Komponenten kontrolliert und optimiert werden kann. Darüber hinaus sind beide Funktionalitäten physisch voneinander getrennt in individuellen Clustern angeordnet, was eine optimale Präsentation der Liganden für die Bindung an Rezeptoren ermöglicht.

3.3. Sonstige dendritische Strukturen

Zur Synthese von multifunktionellen Dendrimern wurden nicht ausschließlich Dendrons verwendet. Fuchs et al. stellten ausgehend von orthogonal geschützter 3,5-Bis(3-aminopropyl)benzoesäure ein difunktionelles Polyamidamin-Dendrimer der ersten Generation her (Schema 14 A).^[50] In das Konstrukt wurden drei Dansyl-Fluorophore für die intrazelluläre Detektion und drei enzymatisch spaltbare Oligopeptide (GRGF) eingebaut. Darüber hinaus wurde ein 2,3-D,L-Diaminopropionsäure(Dap)-Ligand für eine mögliche Komplexierung von antitumoraktivem Pt^{2+} an den N-Terminus gebunden. Konfokale Fluoreszenzmikroskopie belegte die schnelle (10 min) Internalisierung der Dendrimere in HeLa-Zellen. Nach mehr als 18 h sammelten sich die Dendrimere in Clustern in der Nähe des Zellkerns, was auf die



Schema 13. Kombination zweier Lysin-Dendrons durch native chemische Ligation für Anwendungen in der gerichteten MRI.^[48]

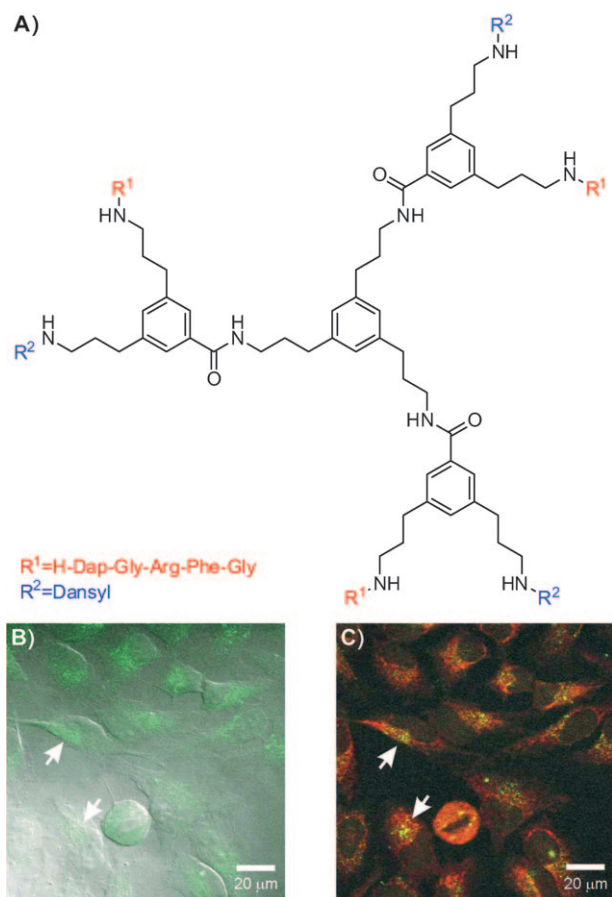
Anreicherung im Golgi-Apparat hinweist (Schema 14B). Die Anbindung von Antitumorstoffen an spaltbare Peptide könnte Konstrukte für die Krebstherapie ergeben.^[51]

Lim und Simanek untersuchten ein weiteres Wirkstoff-transportsystem basierend auf PEGylierten Triazin-Dendrimern, die über zwei funktionelle Gruppen für die Radioiodierung und zur Anbindung von 16 Antitumorstoffen verfügen. Die Syntheseroute basiert auf der schrittweisen Reaktion von Cyanurchlorid mit Amin-Nucleophilen und führt zu dendritischen Strukturen mit drei unterschiedlichen, exakt definierten funktionellen Gruppen.^[52]

Die Beispiele zeigen, dass wohldefinierte dendritische Architekturen für den Einsatz in biomedizinischen Anwendungen prädestiniert sind. Die meisten der beschriebenen Strukturen basieren auf Dendrons mit mehreren Ligand an der Peripherie und einer einzelnen Markierung (Fluorophor oder Kontrastmittel) im Zentrum. Allerdings wären mehrere Markierungen beispielsweise für die In-vivo-Visualisierung günstiger. Dieser Aspekt wird von den wenigen bisher existierenden Beispielen für die Verknüpfung mehrerer Dendrons aufgegriffen. Hierbei kann das Verhältnis zwischen Markierung und zielführenden Liganden kontrolliert werden. Um vollständig von den Vorteilen der wohldefinierten, multivalenten und multifunktionellen Makromoleküle zu profitieren, ist auch weiterhin eine interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen der Organochemie und chemischen Biologie erforderlich.

4. Schlussfolgerungen

In den letzten Jahren wurden die Vorteile einer kontrollierten Synthese von monodispersen, multivalenten und multimodalen Architekturen erkannt. Eine neue Generation dendritischer Strukturen für biomedizinische Anwendungen wurde durch orthogonale Schutzgruppenstrategien – häufig in Kombination mit chemoselektiven Ligationsmethoden – synthetisiert. Aus den bereits publizierten Anwendungen lässt sich erkennen, dass die definierte Anbindung von mindestens drei Funktionalitäten (z. B. für Targeting, Bildgebung und Behandlung) essenziell für zukünftige biomedizinische Materialien ist, obwohl sie weiterhin eine präparative Herausforderung bleibt. So erfordert etwa das von Simanek et al. hergestellte multifunktionelle Dendron (Schema 3 A) eine mehrstufige Synthese mit nicht weniger als zehn konvergenten Reaktionsschritten. Fundamentale Fragen nach der besten Gesamtgröße eines Konstrukts, der Zahl der benötigten funktionellen Gruppen und der Länge der Zwischenstücke sind immer noch weitgehend unerforscht. Diese Fragen müssen für eine Feinabstimmung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen und für den Übergang vom Labor in die Klinik jedoch beantwortet werden. Um das endgültige Ziel einer idealen Struktur für Targeting, Bildgebung oder Wirkstofftransport zu erreichen, bedarf es der bestmöglichen Zusammenarbeit zwischen den wissenschaftlichen Disziplinen mit der Synthese in der Schlüsselposition. Es ist jetzt erkannt worden, dass die bahnbrechenden Entwicklungen in der Synthese, die häufig bei der Herstellung von Wirkstoffen erzielt wurden, auch im schnell wachsenden Gebiet der chemischen Biologie eingesetzt werden müssen. Die Synthese



Schema 14. A) Multifunktionelles Dendrimer der ersten Generation, funktionalisiert mit einem Pentapeptid als Spaltungsstelle für Cathepsin B, Chelatliganden für die Pt^{2+} -Komplexierung und einem Dansyl-Fluorophor; B,C) Aufnahmen von HeLa-Zellen nach 18 h Inkubation mit dem Dendrimer (grün). Die innere Kernmembran und Teile des endoplasmatischen Retikulums wurden mit Antikörpern gegen LUMA (rot) eingefärbt. Die Pfeile markieren Cluster der markierten Dendrimere.^[51]

multivalenter und multimodaler Architekturen wird in den kommenden Jahren weiter an Interesse und Bedeutung gewinnen.

L.R. und E.H.M.L. trugen zu gleichen Teilen zu dieser Arbeit bei. L.R. dankt für ein NWO-Rubicon-Stipendium. Diese Arbeit wurde durch Mittel der NWO (VIDI 700 56.428) unterstützt. Die Autoren danken Dr. M. Merkx für die kritische Durchsicht des Manuskripts. Übersetzt von L.R.

Eingegangen am 30. Juni 2010

Online veröffentlicht am 29. November 2010

- [1] a) D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 119; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 138; b) S. M. Grayson, J. M. J. Fréchet, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3819; c) G. R. Newkome, C. D. Shreiner, *Polymer* **2008**, 49, 1.
- [2] a) A. M. Caminade, J. P. Majoral, *Acc. Chem. Res.* **2004**, 37, 341; b) D. Astruc, E. Boisselier, C. Ornelas, *Chem. Rev.* **2010**, 110, 1857.

- [3] a) C. C. Lee, J. A. MacKay, J. M. J. Fréchet, F. C. Szoka, *Nat. Biotechnol.* **2005**, 23, 1517; b) H. Rami, K. Ashok, *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, 31, 947.
- [4] a) S.-E. Stiriba, H. Frey, R. Haag, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 1385; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1329; b) E. R. Gillies, J. M. J. Fréchet, *Drug Discovery Today* **2005**, 10, 35; c) S. Svenson, D. A. Tomalia, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2005**, 57, 2106; d) M. Guillot-Nieckowski, S. Eisler, F. Diederich, *New J. Chem.* **2007**, 31, 1111; e) J. B. Wolinsky, M. W. Grinstaff, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, 60, 1037.
- [5] a) R. Haag, F. Kratz, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1218; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1198; b) L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 2408; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 2348; c) C. A. Hunter, H. L. Anderson, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 7624; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 7488.
- [6] R. Duncan, L. Izzo, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2005**, 57, 2215.
- [7] a) R. Esfand, D. A. Tomalia, *Drug Discovery Today* **2001**, 6, 427; b) B. Helms, E. W. Meijer, *Science* **2006**, 313, 929.
- [8] a) W. Yang, R. F. Barth, D. M. Adams, M. J. Ciesielski, R. A. Fenstermaker, S. Shukla, W. Tjarks, M. A. Caligiuri, *Cancer Res.* **2002**, 62, 6552; b) S. Shukla, G. Wu, M. Chatterjee, W. Yang, M. Sekido, L. A. Diop, R. Mueller, J. J. Sudimack, R. J. Lee, R. F. Barth, W. Tjarks, *Bioconjugate Chem.* **2003**, 14, 158; c) G. Wu, R. F. Barth, W. Yang, M. Chatterjee, W. Tjarks, M. J. Ciesielski, R. A. Fenstermaker, *Bioconjugate Chem.* **2004**, 15, 185; d) W. Yang, R. F. Barth, G. Wu, A. K. Bandyopadhyaya, B. T. S. Thirumamagal, W. Tjarks, P. J. Binns, K. Riley, H. Patel, J. A. Coderre, M. J. Ciesielski, R. A. Fenstermaker, *Appl. Radiat. Isot.* **2004**, 61, 981; e) W. Yang, R. F. Barth, G. Wu, S. Kawabata, T. J. Sferra, A. K. Bandyopadhyaya, W. Tjarks, A. K. Ferketich, M. L. Moeschberger, P. J. Binns, K. J. Riley, J. A. Coderre, M. J. Ciesielski, R. A. Fenstermaker, C. J. Wikstrand, *Clin. Cancer Res.* **2006**, 12, 3792.
- [9] a) V. S. Talanov, C. A. S. Regino, H. Kobayashi, M. Bernardo, P. L. Choyke, M. W. Brechbiel, *Nano Lett.* **2006**, 6, 1459; b) Y. Koyama, V. S. Talanov, M. Bernardo, Y. Hama, C. A. S. Regino, M. W. Brechbiel, P. L. Choyke, H. Kobayashi, *J. Magn. Reson. Imaging* **2007**, 25, 866; c) S. Langereis, A. Dirksen, T. M. Hackeng, M. H. P. van Genderen, E. W. Meijer, *New J. Chem.* **2007**, 31, 1152; d) C. A. Boswell, P. K. Eck, C. A. S. Regino, M. Bernardo, K. J. Wong, D. E. Milenic, P. L. Choyke, M. W. Brechbiel, *Mol. Pharm.* **2008**, 5, 527; e) S. D. Swanson, J. F. Kukowska-Latallo, A. K. Patri, C. Y. Chen, S. Ge, Z. Y. Cao, A. Kotlyar, A. T. East, J. R. Baker, *Int. J. Nanomed.* **2008**, 3, 201.
- [10] G. Spataro, F. Malecaze, C. O. Turrin, V. Soler, C. Duhayon, P. P. Elena, J. P. Majoral, A. M. Caminade, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 326.
- [11] A. Louie, *Chem. Rev.* **2010**, 110, 3146.
- [12] a) M. Köhn, R. Breinbauer, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 3168; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 3106; b) J. F. Lutz, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 1036; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 1018; c) A. Dondoni, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 9133; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 8995; d) C. P. R. Hackenberger, D. Schwarzer, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 10182; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 10030; e) J. F. Lutz, H. G. Börner, *Prog. Polym. Sci.* **2008**, 33, 1.
- [13] a) G. R. Newkome, Z. Q. Yao, G. R. Baker, V. K. Gupta, *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 2003; b) D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith, *Polym. J.* **1985**, 17, 117.
- [14] C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7638.
- [15] a) L. Crespo, G. Sanclimens, M. Pons, E. Giralt, M. Royo, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 1663; b) P. Niederhafner, J. Sebestik, J. Jezek, *J. Pept. Sci.* **2005**, 11, 757; c) T. Darbre, J.-L. Reymond, *Acc. Chem. Res.* **2006**, 39, 925; d) P. Niederhafner, M. Reinis, J. Sebestik, J. Jezek, *J. Pept. Sci.* **2008**, 14, 556; e) P. Niederhafner, J. Sebestik, J. Jezek, *J. Pept. Sci.* **2008**, 14, 2; f) P. Niederhafner, J. Sebestik, J. Jezek, *J. Pept. Sci.* **2008**, 14, 44.

- [16] S. M. Grayson, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10335.
- [17] K. Elsner, M. M. K. Boysen, T. K. Lindhorst, *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 1715.
- [18] M. B. Steffensen, E. E. Simanek, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 5290; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5178.
- [19] A. P. Umali, H. L. Crampton, E. E. Simanek, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9866.
- [20] P. Goyal, K. Yoon, M. Weck, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 8801.
- [21] a) O. Melnyk, J. A. Fehrentz, J. Martinez, H. Gras-Masse, *Biopolymers* **2000**, *55*, 165; b) M. A. Gauthier, H. A. Klok, *Chem. Commun.* **2008**, 2591.
- [22] a) J. W. Lee, B. K. Kim, *Synthesis* **2006**, 615; b) J. W. Lee, B. K. Kim, H. J. Kim, S. C. Han, W. S. Shin, S. H. Jin, *Macromolecules* **2006**, *39*, 2418; c) J. W. Lee, J. H. Kim, B. K. Kim, W. S. Shin, S. H. Jin, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 894; d) J. W. Lee, J. H. Kim, H. J. Kim, S. C. Han, J. H. Kim, W. S. Shin, S.-H. Jin, *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 579.
- [23] M. M. Kose, G. Yesilbag, A. Sanyal, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2353.
- [24] a) A. D. de Araújo, J. M. Palomo, J. Cramer, M. Köhn, H. Schröder, R. Wacker, C. Niemeyer, K. Alexandrov, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 302; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 296; b) A. D. de Araújo, J. M. Palomo, J. Cramer, O. Seitz, K. Alexandrov, H. Waldmann, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6095.
- [25] a) H. Sun, A. E. Kaifer, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3845; b) C. H. Wong, H. F. Chow, S. K. Hui, K. H. Sze, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1811.
- [26] Y. Choi, T. Thomas, A. Kotlyar, M. T. Islam, J. J. R. Baker, *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 35.
- [27] S. L. Goh, M. B. Francis, J. M. J. Fréchet, *Chem. Commun.* **2002**, 2954.
- [28] C. R. Becer, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4998; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4900.
- [29] M. Galibert, P. Dumy, D. Boturyn, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2614; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2576.
- [30] a) M. Mutter, E. Altmann, K. H. Altmann, R. Hersperger, P. Koziej, K. Nebel, G. Tuchscherer, S. Vuilleumier, H. U. Gremlich, K. Müller, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 835; b) M. Mutter, G. Tuchscherer, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1988**, *9*, 437.
- [31] S. Foillard, M. O. Rasmussen, J. Razkin, D. Boturyn, P. Dumy, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 983.
- [32] I. K. Martin, L. J. Twyman, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1119.
- [33] A. P. Goodwin, S. S. Lam, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6994.
- [34] S. J. Guillaudeau, M. E. Fox, Y. M. Haidar, E. E. Dy, F. C. Szoka, J. M. J. Fréchet, *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 461.
- [35] B. Qualmann, M. M. Kessels, H.-J. Musiol, W. D. Sierralta, P. W. Jungblut, L. Moroder, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 970; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 909.
- [36] E. A. B. Kantchev, C.-C. Chang, D.-K. Chang, *Biopolymers* **2006**, *84*, 232.
- [37] E. A. B. Kantchev, C.-C. Chang, S.-F. Cheng, A.-C. Roche, D.-K. Chang, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1377.
- [38] Y. M. Chabre, R. Roy, *Curr. Top. Med. Chem.* **2008**, *8*, 1237.
- [39] S. Lusvardi, J. M. Kim, Y. Creeger, B. A. Armitage, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1815.
- [40] K. C. Wood, S. M. Azarin, W. Arap, R. Pasqualini, R. Langer, P. T. Hammond, *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 403.
- [41] M. A. Kostianinen, G. R. Szilvay, J. Lehtinen, D. K. Smith, M. B. Linder, A. Urtti, O. Ikkala, *ACS Nano* **2007**, *1*, 103.
- [42] B. A. Helms, S. W. A. Reulen, S. Nijhuis, P. T. H. M. de Graaf-Heuvelmans, M. Merkx, E. W. Meijer, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11683.
- [43] E. H. M. Lempens, B. A. Helms, A. R. Bayles, M. Merkx, E. W. Meijer, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 111.
- [44] S. J. E. Mulders, A. J. Brouwer, P. G. J. van der Meer, R. M. J. Liskamp, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 631.
- [45] I. Dijkgraaf, A. Y. Rijnders, A. Soede, A. C. Dechesne, G. W. Van Esse, A. J. Brouwer, F. H. M. Corstens, O. C. Boerman, D. T. S. Rijkers, R. M. J. Liskamp, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 935.
- [46] P. Wu, X. Chen, N. Hu, U. C. Tam, O. Blixt, A. Zettl, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5100; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5022.
- [47] P. Wu, M. Malkoch, J. N. Hunt, R. Vestberg, E. Kaltgrad, M. G. Finn, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, C. J. Hawker, *Chem. Commun.* **2005**, 5775.
- [48] A. Dirksen, E. W. Meijer, W. Adriaens, T. M. Hackeng, *Chem. Commun.* **2006**, 1667.
- [49] I. Deguisse, D. Lagnoux, R. Roy, *New J. Chem.* **2007**, *31*, 1321.
- [50] S. Fuchs, T. Kapp, H. Otto, T. Schöneberg, P. Franke, R. Gust, A. D. Schlüter, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1167.
- [51] S. Fuchs, H. Otto, S. Jehle, P. Henklein, A. D. Schlüter, *Chem. Commun.* **2005**, 1830.
- [52] J. Lim, E. E. Simanek, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 201.