

pH-Spaltbare Mikro- und Nanoträgersysteme**

Sabrina Nowag und Rainer Haag*

Makromolekulare Transportsysteme · Polyglycerine · Polyphenole · Selbstorganisation · Wirkstoff-Transport

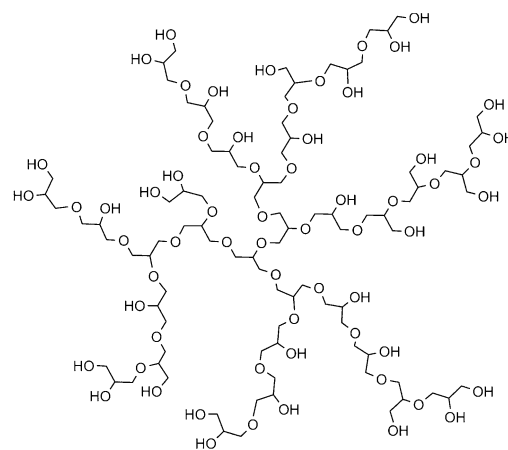
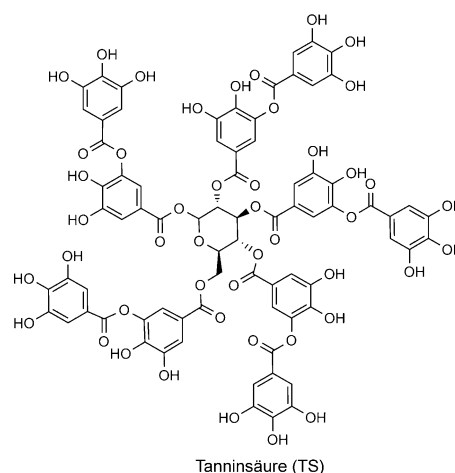
Eine der anspruchsvollsten Aufgaben beim Transport von Wirkstoffen ist die gezielte Freisetzung des verkapselten Gastes, die möglichst auf einen äußeren Reiz hin erfolgen soll. Ein häufig verwendeter Stimulus ist der pH-Unterschied zwischen der extra- und intrazellulären Region oder zwischen normalem und erkranktem Gewebe.^[1] Dadurch kann ein pH-spaltbarer Transporter seinen Gast nach Endozytose in Zellen oder auch in entzündetem Gewebe freisetzen.

Biokompatible Transportsysteme sind besonders für die milde Verkapselung und Freisetzung empfindlicher, biologischer Gastmoleküle interessant. Die Transportsysteme sollten hierbei die begrenzte Bioverfügbarkeit, die Löslichkeit, die Bioverteilung und die Blutzirkulationsdauer der Ladung verbessern.^[2] Ein weiterer wichtiger Aspekt ergibt sich nach dem Transport und der Freisetzung des Gastes. Dann stellen sich die Fragen nach der Bioabbaubarkeit sowie der Ausscheidung des Trägersystems aus dem Organismus.

Mikro- und Nanotransporter auf Basis von makromolekularen Architekturen werden daher gezielt mit pH-spaltbaren Bindungen ausgestattet. Diese ermöglichen die gezielte Freisetzung des Gastes bei niedrigem pH-Wert.

In diesem Highlight konzentrieren wir uns auf biokompatible Mikro- und Nanotransportsysteme, die ihre biologische Ladung unter milden Bedingungen verkapseln können. Zusätzlich soll die Ladung unter leicht sauren Bedingungen freigesetzt werden. Wir vergleichen dabei verschiedene, kürzlich veröffentlichte Konzepte für die Verkapselung von Wirkstoffen, Proteinen und Bakterien in pH-spaltbaren Trägersystemen.

Caruso et al. haben vor kurzem ein neues Mikroverkapselungssystem für verschiedene Substrate beschrieben, das auf einer einstufigen Selbstorganisation durch koordinative Bindungen zwischen Metallionen und Tanninen basiert. Tannine gehören zu den Polyphenolen, die als natürliche Produkte in Pflanzen vorkommen.^[3] Die Tanninsäure (TS) besteht aus Polyphenolen, die über Esterbindungen an Glu-

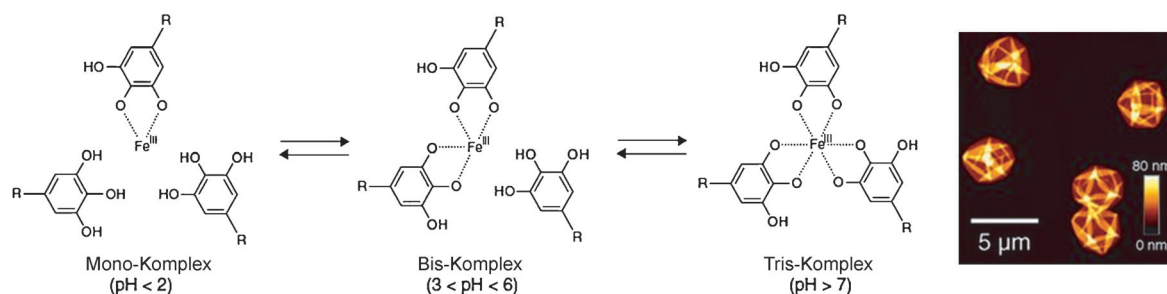


Schema 1. Vergleich der Strukturen von Tanninsäure (links) und dendritischem Polyglycerin (rechts) als Baustein für Mikro- und Nanotransporter.

cose gebunden sind (Schema 1). Wegen der Esterbindungen ist sie bioabbaubar, und die große Zahl an Hydroxygruppen gewährleistet eine gute Wasserlöslichkeit. Die Autoren haben die spontane Komplexbildung von Fe^{III} -Ionen mit TS-Catecholeneinheiten und die Adhäsion von TS auf verschiedenen Oberflächen genutzt, um auf einer Vielzahl von organischen und anorganischen Substraten oder sogar Bakterien, Filme zu bilden.

[*] M. Sc. S. Nowag, Prof. Dr. R. Haag
Freie Universität Berlin
Institut für Chemie und Biochemie
Takustraße 3, 14195 Berlin (Deutschland)
E-Mail: haag@chemie.fu-berlin.de
Homepage: <http://www.polytree.de>

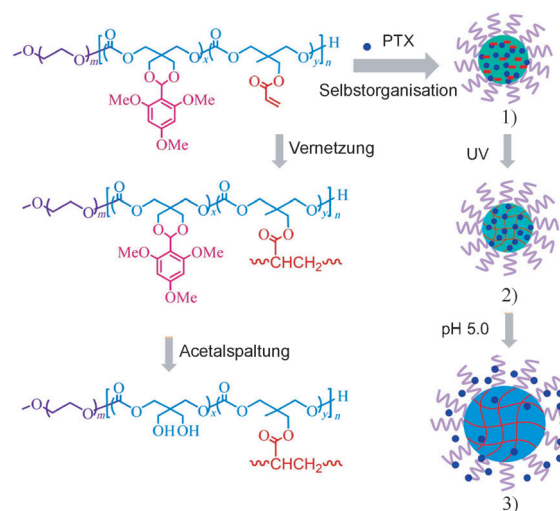
[**] Wir danken dem SFB 1112 der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Helmholtz Virtuellen Institut für finanzielle Unterstützung.



Schema 2. pH-Abhängige Koordination von Catecholeinheiten an Eisen(III) (links) zur Bildung von Filmen und Kapseln auf verschiedenen Substraten, z.B. Polystyrol (rechts). Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [3].

Die Selbstorganisation von TS ist ein pH-abhängiger Prozess (Schema 2). Bei $\text{pH} < 7$ werden Mono- und Bis-Komplexe des Metallions mit TS gebildet, während bei $\text{pH} > 7$ ein Metallion von drei TS-Molekülen koordiniert wird und, unabhängig von Größe und Form des Templates, stabile Filme gebildet werden. Daraus resultiert, dass die Mikrokapseln bei physiologischem pH-Wert stabil sind und sich unter mild sauren Bedingungen auflösen, wobei der eingeschlossene Gast freigesetzt wird. Diese Eigenschaften machen das System zu einem interessanten Kandidaten für biomedizinische Anwendungen. Da verschiedene Metallionen oder Polyphenole verwendet werden können, ist dieser Ansatz sehr vielseitig; die sehr hohe Biokompatibilität und niedrigen Materialkosten sind weitere Vorteile für den Transport auch anderer wichtiger Gäste, z.B. Wirkstoffe.

Der Wirkstoff-Transport, speziell von Tumortherapeutika, ist kritisch, da der eingeschlossene Gast während des Transports unwirksam sein soll, nach der Freisetzung im Zielgewebe aber seine volle zytotoxische Wirksamkeit zurückerlangen muss. Diese Kriterien erfordern Nanotransporter, die gezielt Tumorgewebe durch erhöhte Permeabilität erreichen und sich dort akkumulieren (EPR-Effekt; EPR = erhöhte Permeabilität und Retention).^[4] Jüngste Beispiele für Träger in Nanometergröße, die diese Kriterien erfüllen, sind die von Zhong et al. beschriebenen kernvernetzten Polymere micellen.^[5] Sie bestehen aus bioabbaubaren Diblock-Copolymeren, die in einem hydrophoben Polycarbonatblock säurelabile Acetale sowie photovernetzbare Acrylgruppen enthalten und Paclitaxel (PTX) mit einer hohen Beladungskapazität von bis zu 15 Gew.-% einschließen können. Nach der Vernetzung des Kerns waren die PTX-beladenen Nanoträger bei physiologischem pH-Wert stabil, und die Wirkstoff-Freisetzung war gehemmt. Die Acetalgruppen wurden jedoch bei pH 5 hydrolysiert, und PTX wurde aus dem nun polaren Innenraum freigesetzt (Schema 3). Die leeren Micellen zeigten in einem Kontrollexperiment nur eine geringfügige Zytotoxizität, während die PTX-beladenen Nanotransporter hoch toxisch gegenüber Tumorzellen waren, wodurch die effiziente Wirkstoff-Freisetzung nachgewiesen wurde. Allerdings war die Zytotoxizität des verkapselten Wirkstoffes niedriger als die von freiem PTX, was auf eine langsamere Zellaufnahme und Acetalhydrolyse im endosomalen Kompartiment zurückzuführen ist. Der Nachteil des beschriebenen Systems ist die begrenzte Abbaubarkeit des Polyacrylatkerns nach der Vernetzung.

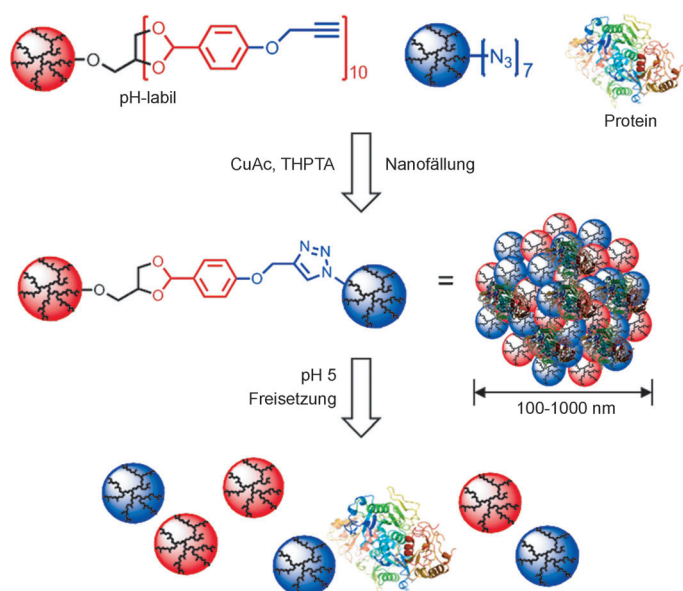


Schema 3. Photovernetzbare, pH-spaltbare Block-Copolymer-Micellen. PTX-beladene Micellen (1) wurden durch UV-Strahlung vernetzt (2). Die vernetzten, PTX-beladenen Nanopartikel zeigten extrazelluläre Stabilität und die Freisetzung des Wirkstoffs unter schwach sauren Bedingungen (3). Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [5].

Der leichte Abbau von säurelabilen Acetalen ist wiederum ein Vorteil der bioinerten Nanogelee, die kürzlich von Steinhilber et al. beschrieben wurden.^[6] Die Nanogelee mit einstellbaren Größen zwischen 100 und 1000 nm wurden durch die Vernetzung von dendritischen Polyglycerin(dPG)-Bausteinen über Cu-vermittelte Klick-Chemie hergestellt.

Die Ähnlichkeit zwischen dPG und TS wird beim Vergleich der Strukturen in Schema 1 deutlich. Das hochverzweigte Gerüst mit zahlreichen Hydroxygruppen garantiert eine gute Wasserlöslichkeit und hohe Biokompatibilität. Allerdings ist dPG im Unterschied zu Polyphenolen (insbesondere TS) sehr proteinresistent.^[7]

Obwohl unspezifische Proteinwechselwirkungen mit dPG verhindert werden, konnte das Enzym Asparaginase unter milden Bedingungen in dPG-Nanogelen verkapselt werden, die durch tensidfreie und inverse Nanofällung erhalten werden. Säurelabile, cyclische Benzacetalbindungen ermöglichen in einer mild sauren Umgebung (pH 5) den Abbau des Nanogels zu kleinen Fragmenten, was die Freisetzung des Proteins ohne Aktivitätsverlust in ein schwach saures Zellkompartiment erlaubt (Schema 4). Dieses Konzept konnte jüngst



Schema 4. Proteinverkapselung durch Nanofällung mithilfe bioorthogonaler Vernetzung von dendritischen Polyglycerinen und pH-abhängiger Abbau des dPG-Nanogels mit der Freisetzung des Proteins.^[6]

auf die kupferfreie Klick-Reaktion zur Verkapselung von lebenden Zellen übertragen werden.^[6]

Trotz der vielen Vorteile von nano- und mikrometergroßen Transportsystemen für biomedizinische Anwendungen müssen nicht nur Wirkstoffe und biologisches Material transportiert und freigesetzt werden. Bei manchen neurodegenerativen Erkrankungen herrscht ein Ungleichgewicht von Metallionen, z. B. Cu-Mangel bei der Alzheimer-Krankheit.^[8] Der Transport von Metallionen und ihre pH-gesteuerte, in-

trazelluläre Freisetzung ist dabei eine schwierige Aufgabe, weshalb bisher nur wenige Beispiele beschrieben wurden.^[9,10] Da die Metallionenfreisetzung auch Bestandteil des oben gezeigten TS-Metallionenkomplexes ist,^[3] hat dieses universelle Trägersystem großes Potenzial für sehr verschiedene Transportanwendungen.

Eingegangen am 3. Oktober 2013

Online veröffentlicht am 4. Dezember 2013

- [1] J. R. Casey, S. Grinstein, J. Orlowski, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2010**, *11*, 50–61.
- [2] P. Rajpoot, V. Bali, K. Pathak, *Int. J. Pharm.* **2012**, *426*, 219–230.
- [3] H. Ejima, J. J. Richardson, K. Liang, J. P. Best, M. P. van Koeven, G. K. Such, J. W. Cui, F. Caruso, *Science* **2013**, *341*, 154–157.
- [4] H. Maeda, Y. Matsumura, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **1989**, *6*, 193–210.
- [5] Y. Wu, W. Chen, F. Meng, Z. Wang, R. Cheng, C. Deng, H. Liu, Z. Zhong, *J. Controlled Release* **2012**, *164*, 338–345.
- [6] a) D. Steinhilber, M. Witting, X. J. Zhang, M. Staegemann, F. Paulus, W. Friess, S. Küchler, R. Haag, *J. Controlled Release* **2013**, *169*, 289–295; b) D. Steinhilber, T. Rossow, S. Wedepohl, F. Paulus, S. Seiffert, R. Haag, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 13780–13785; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 13538–13543.
- [7] A. Papadopoulou, R. A. Frazier, *Trends Food Sci. Technol.* **2004**, *15*, 186–190.
- [8] T. A. Bayer, G. Multhaup, *J. Alzheimer's Dis.* **2005**, *8*, 201–206.
- [9] C. Treiber, M. A. Quadir, P. Voigt, M. Radowski, S. J. Xu, L. M. Munter, T. A. Bayer, M. Schaefer, R. Haag, G. Multhaup, *Biochemistry* **2009**, *48*, 4273–4284.
- [10] P. J. Halbrooks, A. M. Giannetti, J. S. Klein, P. J. Björkman, J. R. Larouche, V. C. Smith, R. T. A. MacGillivray, S. J. Everse, A. B. Mason, *Biochemistry* **2005**, *44*, 15451–15460.