

Hierarchische Selbstorganisation für die Nanomedizin

Kyle J. M. Bishop*

Blockcopolymere · Nanopartikel · Photoakustische Bildgebung · Vesikel · Wirkstofftransport

Für die medizinische Bildgebung und die photodynamische Therapie benötigt man effiziente Sonden, die im nahen Infrarot (NIR) absorbieren, denn dort ist das biologische Gewebe am durchlässigsten.^[1] Gold-Nanopartikel (GNPs) wurden in diesem Zusammenhang sehr häufig eingesetzt, da ihre optischen Eigenschaften über die Partikelgröße und -form in einem breiten Bereich eingestellt werden können. Um eine starke Absorption im NIR zu erzielen, sind typischerweise größere Partikel mit charakteristischen Größen von über 50 nm erforderlich; für den medizinischen Einsatz hingegen sind oftmals kleinere GNPs – unter 6 nm – erwünscht, die vom Körper leichter wieder ausgeschieden werden.^[2] Diese gegenläufigen Anforderungen bezüglich der Partikelgröße lassen sich in Einklang bringen, indem man individuelle GNPs zu größeren Multipartikelaggregaten zusammenfügt.^[3] Werden Partikel in engen Kontakt zueinander gebracht, interagieren ihre kollektiven elektronischen Anregungen – ihre Oberflächenplasmonen – in der Weise, dass sich die Resonanzanregung von sichtbaren zu infraroten Wellenlängen verschiebt.^[4] Zum Beispiel kann das Absorptionsmaximum von linearen GNP-Ketten über die Länge der Kette und den Abstand zwischen den Partikeln von ungefähr 520 nm nach 800 nm gezielt moduliert werden.^[5] Damit bietet die Anordnung von NPs zu spezifischen Architekturen eine attraktive Route für die maßgeschneiderte Entwicklung von Kontrastmitteln für die medizinische Bildgebung (z. B. photothermische, photoakustische und oberflächenverstärkte Raman-Bildgebung).

Aber warum hier aufhören? Nanopartikelaggregate können zusätzliche Funktionen ausführen. Mit amphiphilen Blockcopolymeren (BCPs) funktionalisierte GNPs können sich spontan zu vesikulären Strukturen anordnen, die als mikroskopische Container für den Transport und die kontrollierte Freisetzung therapeutischer Wirkstoffe dienen.^[6] Diese Materialien bieten eine Plattform für die Krebstheranostik, die photoakustische Bildgebung mit Therapieformen basierend auf einer lichtinduzierten Wirkstofffreisetzung kombiniert. Aufgrund der relativ großen Interpartikelabstände absorbieren Vesikel aus kleinen BCP-GNPs jedoch am stärksten im sichtbaren Spektrum anstatt im erwünschten NIR-Bereich. Allgemeiner ausgedrückt: Je mehr Funktionen

wir einem Material geben, desto schwieriger wird es, jede Funktion gut auszuführen.

Multifunktionelle Aggregate erfordern oftmals einen hierarchischen Aufbau, da Strukturen auf unterschiedlichen Größenskalen für unterschiedliche Funktionen benötigt werden. Idealerweise sollten sich GNPs zu definierten Clustern anordnen, die eine möglichst hohe NIR-Absorption aufweisen, sowie zu größeren Vesikeln, welche die therapeutische Fracht tragen. Während wir es recht gut beherrschen, Nanopartikelaggregate auf einer individuellen Skala gezielt zu entwickeln (z. B. Partikelketten oder Vesikel), verbleibt es eine außerordentliche Herausforderung in der Nanowissenschaft, eine hierarchische Struktur in nanoskalige Komponenten einzuprogrammieren.

Vor kurzem zeigten Nie, Chen und Mitarbeiter, wie Oberflächenchemie und Assemblierungskinetik aufeinander abgestimmt werden können, um die Assemblierung von BCP-GNPs zu linearen Partikelschnüren zu dirigieren, die sich anschließend zu vesikulären Containern falten.^[7] Infolge der hohen Ordnung der Partikel in den Vesikelwänden zeigen diese Aggregate eine starke Absorption bei NIR-Wellenlängen (ca. 760 nm). Die Autoren demonstrierten ferner, wie dieser subtile Wechsel der hierarchischen Ordnung zu einer fast zehnfachen Verstärkung des photoakustischen Signals für die In-vivo-Bildgebung führt. Nicht zuletzt bietet der Mechanismus, durch den diese multifunktionellen Aggregate gebildet werden, allgemeine Einsichten, die für das gezielte Herstellen von hierarchischer Ordnung in anderen Nanopartikelaggregaten genutzt werden können.

In diesen Experimenten wurden die Nanopartikelvesikel in Lösung aus GNPs (13 nm Durchmesser) hergestellt, die mit amphiphilen BCPs (Polystyrol-b-Polyethylenoxid; PS-b-PEO) funktionalisiert waren). Anfangs liegen die Partikel gut dispergiert in Tetrahydrofuran (THF) vor, das ein gutes Lösungsmittel für die hydrophoben PS-Blöcke ist. Wasser wird langsam durch Dialyse zugeführt, um attraktive solvophobe Wechselwirkungen zwischen den Partikeln zu induzieren. Letztendlich dirigieren diese Wechselwirkungen die Bildung von Vesikeln (bis zu 500 nm Durchmesser), die analog zu Vesikeln aus Lipiden oder BCPs sind, aber GNPs in den Wänden eingebettet haben. Wichtig ist dabei, dass die Organisation der Partikel im finalen Aggregat empfindlich von der Verankerungsdichte der Polymerketten auf ihrer Oberfläche abhängt (Abbildung 1).

Bei hohen Verankerungsdichten ($\sigma = 0.08 \text{ nm}^{-2}$) bilden die GNPs ein offenes Gitter mit charakteristischen Interpartikelabständen vergleichbar der Dicke der Vesikelwand

[*] Prof. K. J. M. Bishop

Department of Chemical Engineering
The Pennsylvania State University
University Park, PA 16802 (USA)
E-Mail: kjmbishop@engr.psu.edu

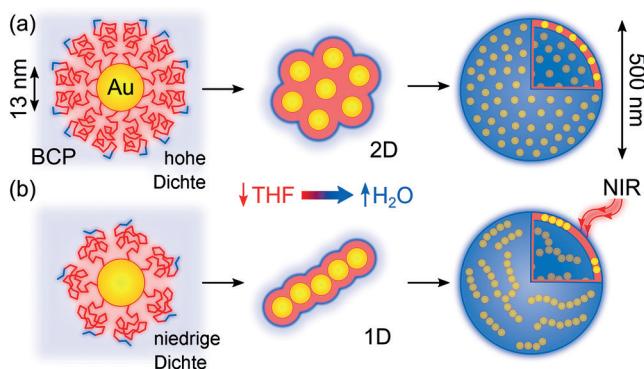


Abbildung 1. Gold-Nanopartikel (GNPs) funktioniert mit amphiphilen Blockcopolymeren (BCPs) aggregieren zu sphärischen Vesikeln. Abhängig von der Verankerungsdichte der BCPs bilden die GNPs offene 2D-Anordnungen (a) oder dicht gepackte 1D-Schnüre (b) innerhalb der Vesikelwand. Die 1D-Schnüre absorbieren stark bei nahinfraroten (NIR) Wellenlängen.

(Abbildung 1a). Die Plasmonenkopplung zwischen den GNPs führt zu einer Rotverschiebung des Absorptionsmaximums von 540 nm nach ungefähr 580 nm, erreicht aber nicht das NIR-Fenster. Wird allerdings die Verankerungsdichte verringert ($\sigma = 0.03 \text{ nm}^{-2}$), ordnen sich die Partikel zu linearen Ketten mit Interpartikelabständen von unter 1 nm an (Abbildung 1b). Die nun starke Plasmonenkopplung dieser GNPs führt zu einer erheblichen Verschiebung des Absorptionsmaximums nach ungefähr 760 nm, also ideal für die NIR-basierte Bildgebung.

Um zu verstehen, wie eine eher geringfügige Änderung der Verankerungsdichte zu derartig verschiedenen Aggregaten führen kann, müssen wir die Größe der BCP-Liganden (z.B. den Gyrationradius, $R_g \approx 6 \text{ nm}$) im Verhältnis zu ihrem Abstand, σ^{-2} , betrachten. Dieses Verhältnis wird oftmals als reduzierte Verankerungsdichte, $\Sigma = \pi R_g^{-2} \sigma$, ausgedrückt und liegt zwischen 3 und 9 in den Experimenten. Es ist kein Zufall, dass diese Werte im Übergangsbereich zwischen isolierten Polymerketten ($\Sigma < 1$) und der gestreckten Kette einer Polymerbürste ($\Sigma > 5$) liegen.^[8] Ein Absenken der Verankerungsdichte in diese Übergangsregion führt zu einer Polymerhülle, die dünner und besser komprimierbar ist.

Unter diesen Bedingungen kommen neue Wechselwirkungen ins Spiel: Starke Van-der-Waals(vdW)-Kräfte zwischen proximalen GNPs verursachen ein Zusammensinken der Polymerhüllen, was in kleineren Interpartikelabständen (oder gar Partikelfusion) resultiert. Solche Wechselwirkungen sind bei hohen Verankerungsdichten vernachlässigbar, da die dickere Polymerschicht größere Abstände zwischen den Partikeln erzwingt (Abbildung 2a).

Die Bildung von Partikelketten resultiert aus Vielkörperwechselwirkungen zwischen polymerstabilisierten Partikeln (Abbildung 2b).^[9] Wenn zwei BCP-GNPs wechselwirken, unterliegen sie einer Umverteilung ihrer Polymerhüllen, dabei entsteht eine hochdichte Region in der Nähe des Kontaktpunkts. Folgerichtig nähert sich ein drittes Partikel bevorzugt von einem der Enden, an denen es einen engen vdW-Kontakt herstellen kann, statt von den Seiten, wo ein solcher Kontakt verhindert wird. Im Gegensatz dazu werden

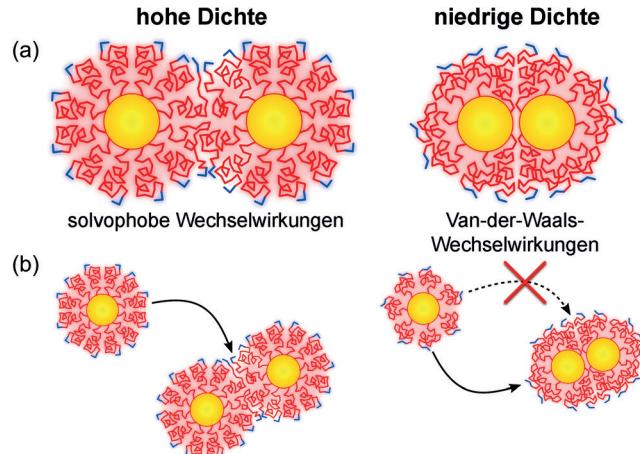


Abbildung 2. a) GNPs mit hoher Verankerungsdichte wechselwirken hauptsächlich über solvophobe Kräfte zwischen ihren Polymerhüllen; GNPs mit niedriger Verankerungsdichte wechselwirken hauptsächlich über Van-der-Waals(vdW)-Kräfte zwischen den Partikelkernen. b) Solvophobe Wechselwirkungen begünstigen die Bildung von planaren Aggregaten, während eine Kombination aus anziehenden vdW-Kräften und sterischer Abstoßung die Bildung von Partikelketten begünstigt.

Wechselwirkungen zwischen BCP-GNPs mit hoher Verankerungsdichte durch solvophobe Kräfte (nicht vdW-Kräfte) zwischen den Polymeren vermittelt. Diese Vielkörperwechselwirkung führt nun zu planaren Anordnungen, da diese das hydrophobe Polymer am besten vor dem polaren Lösungsmittel verbergen.

Die letzte Zutat für das Erreichen dieser hierarchischen Strukturen ist die Kontrolle der Assemblierungskinetik. Mit der allmählichen Zuführung von Wasser assemblieren die GNPs zunächst zu linearen Ketten, die mit der Zeit länger wachsen. Eine weitere Erhöhung des Wassergehalts führt zu stärkeren solvophoben Wechselwirkungen zwischen den Ketten und vermittelt ihre Anordnung zu planaren Aggregaten sowie letztendlich zu geschlossenen Vesikeln. Demzufolge ist die charakteristische Länge der GNP-Ketten in den finalen Vesikeln abhängig vom Verhältnis der Geschwindigkeit, mit der Wasser zugeführt wird, und der Geschwindigkeit der Bildung und des Wachstums der Ketten. Auf diese Weise ist es möglich, die charakteristische Länge der GNP-Ketten (und damit des Absorptionsmaximums) durch Abstimmung der Assemblierungskinetiken zu steuern.

Dieses spezifische Beispiel einer hierarchischen Selbstorganisation bietet allgemeine Einsichten für die gezielte Entwicklung anderer mehrskaliger Strukturen: Erstens, dass Organisation auf mehreren Längenskalen mehrere Paare von konkurrierenden Kräften erfordert. Im vorliegenden Fall wird der kleine Abstand zwischen den GNPs durch die konkurrierende Wirkung anziehender vdW-Kräfte und sterischer Abstoßungskräfte bestimmt; der größere Abstand zwischen den Ketten wird durch solvophobe Wechselwirkungen zwischen den Polymerhüllen gewährleistet. Zweitens, dass Vielkörperkräfte eine attraktive Route für komplexe gerichtete Wechselwirkungen zwischen sphärisch symmetrischen Komponenten bieten.^[9] Solche Kräfte entstehen oft zwischen Komponenten mit adaptiven Oberflächen, die sich beim

Eintreten einer Wechselwirkung rekonfigurieren.^[10] Trotz ihres potentiellen Nutzens wird das rationale Design dieser Wechselwirkungen Vorhersagemodelle erfordern, welche über die häufige Annahme paarweiser additiver Kräfte hinausgehen. Schließlich erfordert die Feinabstimmung der Organisation auf mehreren Skalen eine Kontrolle über die Assemblierungskinetik, in der Weise dass aufeinanderfolgende Stufen von hierarchischer Ordnung zu geeigneten Zeitpunkten aktiviert werden. Im vorliegenden Fall wurde diese Kontrolle durch Feinabstimmung der Lösungsmittelpolarität erreicht, indem die Stärke der solvophoben Wechselwirkungen mit einer vorgeschriebenen Geschwindigkeit angehoben wurde.

Aus praktischer Sicht sind diese hierarchischen Aggregate vielversprechend für die Realisierung theranostischer Werkzeuge, die Bildgebung, chemische Detektion, Phototherapie und kontrollierte Wirkstofffreisetzung in einer gemeinsamen Plattform kombinieren. Nie, Chen und Mitarbeiter konnten zeigen, dass ihre hierarchischen Aggregate zu signifikanten Verstärkungen in der photoakustischen Bildgebung führen können, die gepulste optische Anregung im NIR nutzt, um Schallwellen zu induzieren, die von Ultraschalldetektoren abgebildet werden. Nach Injizieren ihrer „Kettenvesikel“ in Mausgewebe demonstrierten die Autoren eine achtfache Verstärkung des photoakustischen Signals; Vesikel ohne Kettenstruktur zeigen diese Verstärkung nicht, weil ihre Absorption zu gering ist. Weitere Anwendungen basierend auf einer Anregung im NIR werden sicher folgen: phototherapeutische Behandlungen, welche das lokalisierte Erhitzen betroffener Gewebebereiche (z. B. Tumoren) erfordern;

lichtinduzierte Freisetzung von therapeutischen Wirkstoffen aus Vesikeln; oder chemischer In-vivo-Nachweis basierend auf oberflächenverstärkter Raman-Streuung (SERS). Selbstorganisation auf der Nanoskala bietet zahlreiche Perspektiven für die Nanomedizin – aber auch umgekehrt sind neue Impulse aus diesem Gebiet zu erwarten.

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1598–1600
Angew. Chem. **2016**, *128*, 1626–1628

- [1] R. Weissleder, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 316–317.
- [2] T. L. Doane, C. Burda, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2885–2911.
- [3] J. M. Tam, J. O. Tam, A. Murthy, D. R. Ingram, L. L. Ma, K. Travis, K. P. Johnston, K. V. Sokolov, *ACS Nano* **2010**, *4*, 2178–2184.
- [4] N. J. Halas, S. Lal, W. S. Chang, S. Link, P. Nordlander, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3913–3961.
- [5] T. Chen, M. Pourmand, A. Feizpour, B. Cushman, B. M. Reinhard, *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 2147–2152.
- [6] Y. Liu, J.-J. Yin, Z. Nie, *Nano Res.* **2014**, *7*, 1719–1730.
- [7] Y. Liu, J. He, K. Yang, C. Yi, Y. Liu, L. Nie, N. M. Khashab, X. Chen, Z. Nie, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 15809–15812; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 16035–16038.
- [8] W. J. Brittain, S. Minko, *J. Polym. Sci. Part A* **2007**, *45*, 3505–3512.
- [9] P. Akcora, H. Liu, S. K. Kumar, J. Moll, Y. Li, B. C. Benicewicz, L. S. Schadler, D. Acehan, A. Z. Panagiotopoulos, V. Pryamitsyn, et al., *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 354–359.
- [10] H.-Y. Lee, S. H. R. Shin, A. M. Drews, A. M. Chirisan, S. A. Lewis, K. J. M. Bishop, *ACS Nano* **2014**, *8*, 9979–9987.

Eingegangen am 19. November 2015
 Online veröffentlicht am 8. Januar 2016