

„Polymer Vesikel: Vom Trojanischem Pferd zum Nanoreaktor“

Oliver Grimm

In der griechischen Mythologie wurde Troja von den Griechen belagert. Das Trojanische Pferd wurde von den Trojanern in die Stadt hinein gebracht, und es gelang, den im Bauch des Pferdes versteckten Griechen mit wenigen Soldaten Troja einzunehmen. Vor einem ähnlichen Problem stehen Mediziner und Pharmafirmen heute. Um als Medikamente effektiv zu wirken, müssen diese ihren Weg zum Bestimmungsort finden, und mit wenig Wirkstoff sollte eine möglichst große Wirkung erzielt werden. Ideal wäre es, Wirkstoffe in einen Behälter verkapselt den Patienten zu verabreichen, die dann kontinuierlich freigesetzt werden, am besten bevorzugt dort, wo sie gerade benötigt werden, wie zum Beispiel in entzündetem Gewebe oder in Tumoren. Eine vielversprechende Lösung sind Polymersomen (Abb. 1).[1] Dies sind Nanobehälter aus Polymeren, die innen mit einem Wirkstoff gefüllt werden können und von einem speziellen Polymer umhüllt sind.

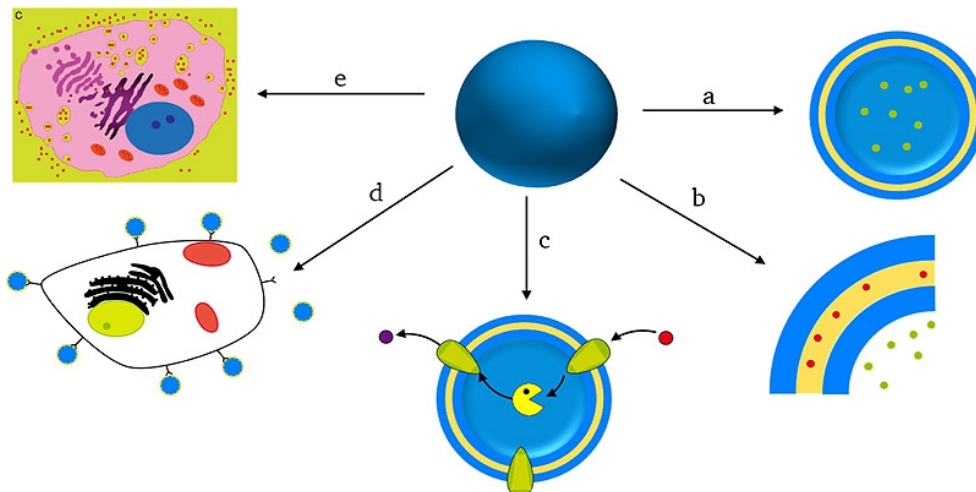


Abbildung 1: Überblick zur Verwendung von Polymersome. (a) Beladen mit Medikamenten, (b) Gleichzeitige Beladung von hydrophilen und hydrophoben Chemikalien, (c) Verwendung als Nanoreaktor, (d) Funktionalisierung mit Antikörpern zum Markieren von Zellen, (e) Aufnahme von Polymersome als Künstliche Organelle in Zellen (Adapted with permission from Ref 7. Copyright 2008 American Chemical Society)

Diese künstlichen Vesikel können zum Beispiel als sogenanntes ABA-Blockcopolymer hergestellt werden. Diese bestehen aus hydrophilen (A) und hydrophoben (B) Monomerbausteinen, die miteinander zu einem langen Polymer verknüpft und vernetzt sind (Tabelle 1). Solche Materialien können sich aufgrund des wasserabweisenden (hydrophoben) Mittelblocks selbst zu Hohlkugeln mit einem Durchmesser von 100 bis 300 nm organisieren.[2]

Tabelle 1: Gängige Polymere und Monomere^[3]

Hydrophiler Teil (Blau)	Teil	Hydrophober Teil (Gelb)
Poly(2-Methyloxazolin) PMOXA		Polydimethylsiloxan PDMS
Polyethylenoxid PEO		Polyethylethylen PEE
Poly(N-Vinylpyrrolidon) PVP		Polybutadien PB

Polymersomen aus Blockcopolymeren sind einfach herzustellen, und das Freisetzungsprofil des eingekapselten Wirkstoffes hängt von der Dicke der Hüllschicht ab.[2] Es ist auch möglich, Polymersomen Schicht für Schicht

aufzubauen. Dies ist etwas aufwändiger, ermöglicht jedoch gezieltes Einstellen von Eigenschaften, wie Dicke und Volumen des Polymersoms. Besonders interessant ist, dass die Oberfläche von Polymersomen gezielt chemisch modifiziert werden kann, so dass es zum Beispiel möglich ist, diese mit Antikörpern zu dekorieren, die Tumorzellen erkennen und an diese binden.[4] Dies führt dazu, dass sich Polymersomen gezielt im Tumorgewebe ansammeln und genau dort ihren Wirkstoff freisetzen, wie zum Beispiel die Zellteilungs-hemmende Chemikalie Doxorubicin.[5]

Polymersomen erfüllen daher mehrere Aufgaben: Ersten müssen Sie einen Wirkstoff einschließen, diesen aber auch gezielt und wohl dosiert freisetzen können. Zweitens sollte ihre Oberfläche so funktionalisiert sein, dass sie zum einen nicht vom Körper als Fremdstoffe erkannt werden, zum anderen aber die Möglichkeit besteht, mit dem Zielort im Körper in Wechselwirkung treten zu können. Um dies zu erreichen, ist eine Reihe von technischen und biochemischen Hürden zu überwinden.

Eine technische Herausforderung ist es, Polymersomen mit Chemikalien zu beladen (Abbildung 2). Dies kann dadurch geschehen, dass die Polymersomen in einer Lösung hergestellt werden, die bereits den Wirkstoff enthält (Abb. 2d). Alternativ können die Nanopartikel erst Wirkstoff-frei hergestellt werden. Durch Einbringen in eine Wirkstoff-Lösung kann dann eine Befüllung durch Konzentrationsausgleich via Diffusion erfolgen (Abb. 2a). Dieser Vorgang ist abhängig vom Material und der Dicke des Vesikels. Die Beladung des Vesikels dauert mit dieser Technik genauso lange wie das spätere Freisetzen des Inhalts. Eine sehr elegante Lösung für die Aufnahme- und Freisetzungsteuerung besteht darin, Kanal-Proteine in das Polymersom einzubauen. Dies sind Proteine, die, eingebettet in die Membran menschlicher oder bakterieller Zellen,

den Durchtritt von Stoffen von außen in die Zelle hinein oder aus der Zelle heraus ermöglichen. Diese Proteine können auf biochemischem Weg isoliert und in Polymersomen mit hydrophober Hülle eingebettet werden (Abb. 2b). Abhängig vom verwendeten Protein und der Größe und Auskleidung des Proteinkanals, der die Polymersomhülle durchdringt, werden die ein- und ausdiffundierenden Stoffe nach Größe, Ladung und Hydrophobizität gefiltert. LamB und OmpF, beides membrangängige Proteine aus Bakterien, lassen zum Beispiel sehr gut Ionen und Zucker durch ihren Proteinkanal passieren, während sie für andere niedermolekulare Verbindungen impermeabel sind.

Um den Weg der Polymersome im Organismus zu verfolgen, gibt es in vivo und ex vivo Methoden. Eine häufig angewandte Methode besteht darin, Polymersomen mit Fluoreszenzfarbstoffen zu beladen, die sich meist im Inneren der hydrophoben Polymerschicht befinden. Voraussetzung dafür sind hohe Extinktionskoeffizienten, Quantenausbeuten und keine Toxizität. Der Nachweis der Polymersome wird umso einfacher, je mehr Fluoreszenzfarbstoffmoleküle

in einem Polymersom enthalten sind.[3] Um Polymersome in vivo nachzuweisen bietet sich Fluoreszenzspektroskopie im nahen Infrarot Bereich an. Eine gute Quantenausbeute in diesem Spektralbereich zeigen Porphyrin-Derivate, die Zink komplexiert haben.[3] Da die Haut für Infrarotstrahlung durchlässig ist, können mit dieser Markierung Polymersomen

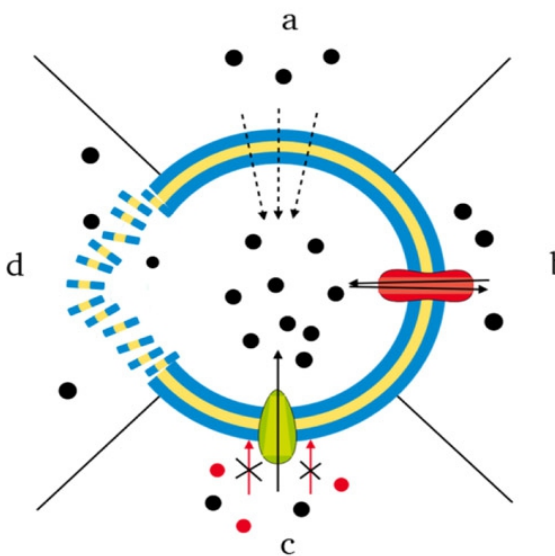


Abbildung 2: Wege in das Polymersom (a) Diffusion in Polymersom, (b) Passiver Transport durch Membranprotein, (c) Selektiver Passiver Transport durch Membranprotein, (d) Einschließen der Beladung während der Selbstorganisation der Triblockcopolymeren.

direkt in Blutgefäßen und Geweben mithilfe eines Fluoreszenz-Detektors auf ihrem Weg durch den Körper bis zu 1 cm Tiefe beobachtet werden.[6]

Polymersome werden ex vivo meist mittels Fluoreszenz-Mikroskopie nachgewiesen. Hier kann auch auf Fluoreszenzfarbstoffe zurückgegriffen werden, die nicht im nahen Infrarot-Bereich ihr Absorptionsmaximum haben.

Die Hülle von Polymersomen kann darüber hinaus so modifiziert werden, dass diese Partikel auch von Zellen aufgenommen werden können. So wurden 200 nm große Polymersomen zum Beispiel mit dem Oligonukleotid Polyguanylat dekoriert. Solche Strukturen werden von Fresszellen des Immunsystems (Makrophagen) erkannt und von diesen aufgenommen (Abb. 3)[7] Damit ist vielleicht eines Tages möglich, Enzyme, die in das Polymersom eingeschlossen sind, gezielt in das Innere von Zellen zu bringen, wo sie dann ihre gewünschte biologische Aktivität entfalten können. Solche Polymersome als künstliche Zellorganellen eröffnen damit ganz neue Wege für die subzelluläre Medizin.

Die Beladung von Polymersomen nicht nur mit niedermolekularen Verbindungen, sondern auch mit Enzymen eröffnet neue biotechnologische und biomedizinische Anwendungen. Im Inneren des Polymersoms ist das Enzym geschützt und besonders langlebig (Abb. 1c). Solange durch passive Kanäle genügend Substrat hinein und Produkt hinaus diffundiert, kann es über einen langen Zeitraum seine Arbeit auch an Orten verrichten, an denen es ungeschützt rasch zerstört würde.[8] Wenn mehrere verschiedene Enzyme in ein Polymersom eingebracht werden, sind sogar Eintopf-Kaskadenreaktionen möglich. Dies gelingt durch die Trennung der Reaktionsräume außerhalb des Vesikels und darin. Eine Modellreaktion ist zum Beispiel die folgende: Acetylglucose wird außerhalb des Polymersoms von *Candida antarctica* Lipase B (CALB) zu Glucose umgewandelt. Nach der Diffusion der Glucose in das Polymersom wandelt Glucoseoxidase (GOX) die Glucose in ein Lakton um und setzt dabei Wasserstoffperoxid frei. Dieses ist Cosubstrat einer ebenfalls in den Polymersomen gespeicherten Peroxidase, die das chromogene Substrat ABTS (2,2'-azinobis(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfonsäure) mithilfe von Wasserstoffperoxid zu einem grünen Farbstoff umsetzt. Damit können auf elegante Weise mehrere Reaktionsschritte in einer Kaskadenreaktion mit mehreren Enzymen durchgeführt werden, die durch die Polymersomenhülle voneinander getrennt sind.[8] So werden Nebenreaktionen verhindert.

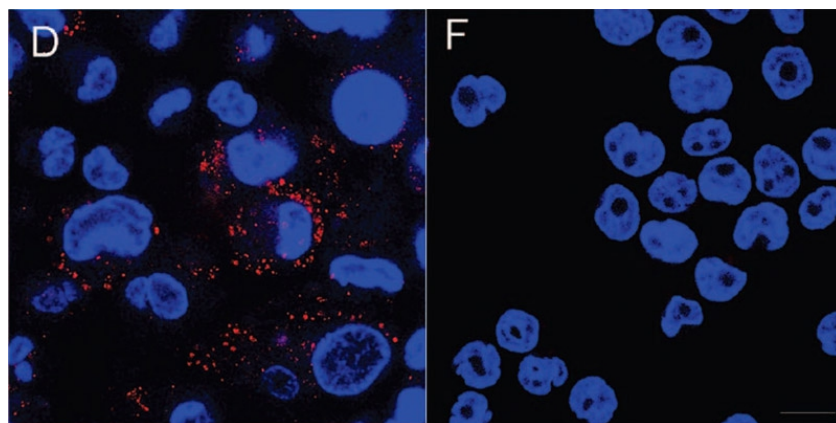



Abbildung 3: Fluoreszenzmarker beladene Polymersome (rot) an THP-1 Makrophagen (blau) (Adapted with permission from Ref 7. Copyright 2008 American Chemical Society)
(a) Polyguanylsäure funktionalisierte Polymersome
(b) unfunktionalisierte Polymersome

Zusammenfassung und Ausblick

Polymersomen sind Nanopartikel, die in ihrem Inneren Wirkstoffe oder auch Biokatalysatoren speichern (und freisetzen) können. Ihre Stärke liegt in der Vielfältigkeit der Beladung und den sich daraus ergebenden umfangreicheren Einsatzmöglichkeiten. Durch doppeltes Beladen, sowohl mit Fluoreszenzmarkern als auch mit Wirkstoffen, lässt sich der Weg der Polymersomen im Körper und die Verteilung der gespeicherten Wirkstoffe nachvollziehen. Der Einbau von verschiedenen Proteinen in die Membran und/oder deren Speicherung im Innenraum ermöglicht die Herstellung von Polymersomen-Nanoreaktoren, die eine ganze Kaskade von Reaktionen in einem Reaktionsraum ablaufen lassen können. Durch Antikörperdekorierung auf der Oberfläche können Polymersomen so programmiert werden, dass sie selektiv an Tumorzellen binden und dort einen zellschädigenden Wirkstoff freisetzen. Durch spezielle Oberflächenmarkierungen können Sie darüber hinaus so funktionalisiert werden, dass sie von Zellen aufgenommen werden und in den Zellen quasi als künstliche Organelle am intrazellulären Stoffwechselgeschehen mitwirken und dieses gezielt beeinflussen.

Kontakt:	Schlauer Fuchs
 <p>Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Chemie der Technischen Universität Darmstadt verfasst (s. Woche 2).</p> <p>Der Autor, Oliver Grimm, ist Studierender des Fachs Chemie (Master) an der TU Darmstadt</p> <p>(E-Mail: grimmoliver@gmx.net).</p> <p>Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Harald Kolmar</p> <p>(E-Mail: kolmar@biochemie.tu-darmstadt.de).</p>	<p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Welche Aufgaben sollten Polymersomen erfüllen?</p>

Literatur:

- [1] P. Tanner, P. Baumann, R. Enea, O. Onaca, C. Palivan, W. Meier, *Accounts of chemical research* **2011**, *44*, 1039-1049.
- [2] O. Onaca, D. W. Hughes, V. Balasubramanian, M. Grzelakowski, W. Meier, C. G. Palivan, *Macromolecular bioscience* **2010**, *10*, 531-538.
- [3] P. P. Ghoroghchian, M. J. Therien, D. A. Hammer, *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology* **2009**, *1*, 156-167.
- [4] F. Caruso, J. K. Heath, E. C. Nice, *Journal of American Chemical Society* **2010**, *132*, 15881-15883.
- [5] D. E. Discher, V. Ortiz, G. Srinivas, M. L. Klein, Y. Kim, D. Christian, S. Cai, P. Photos, F. Ahmed, *Progress in Polymer Science* **2007**, *32*, 838-857.
- [6] P. P. Ghoroghchian, P. R. Frail, K. Susumu, D. Blessington, A. K. Brannan, F. S. Bates, B. Chance, D. A. Hammer, M. J. Therien, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2005**, *102*, 2922-2927.
- [7] P. Hunziker, W. Meier, M. S., P. Broz, N. Ben-Haim, *Nano Letters* **2008**, *8*, 1368-1373.
- [8] D. M. Vriezema, P. M. Garcia, N. Sancho Oltra, N. S. Hatzakis, S. M. Kuiper, R. J. Nolte, A. E. Rowan, J. C. van Hest, *Angewandte Chemie* **2007**, *46*, 7378-7382.