

Dendrimere

Maximillian Zieringer und Rainer Haag, Freie Universität Berlin

1. Einleitung

Dendrimere sind hochverzweigte, kugelförmige Makromoleküle mit vielen Seitenketten, die einem zentralen Kern entspringen.

Ihre einzigartigen Eigenschaften, wie der hohe Verzweigungsgrad, die Multivalenz, die kugelförmige Architektur sowie das definierte, hohe Molekulargewicht machen Dendrimere zu einem viel versprechendem Gerüst für eine Vielzahl von biomedizinischen Anwendungen und unterscheiden sie deutlich von linearen Polymeren.

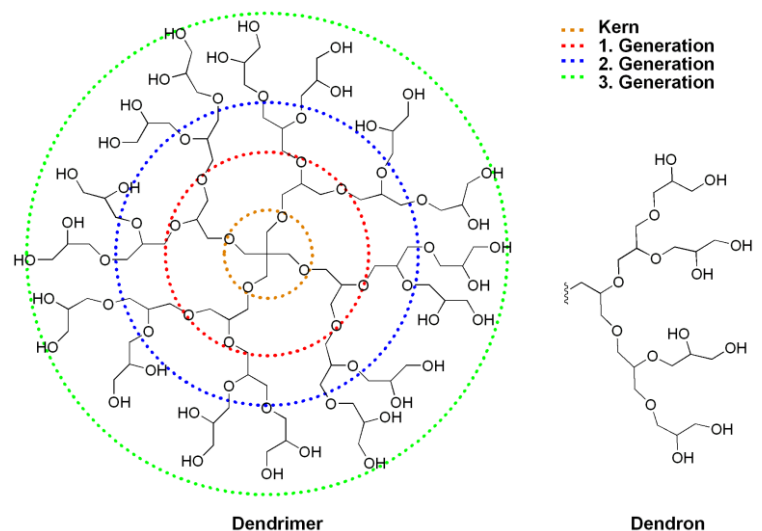
Gerade durch die Möglichkeit, das Molekulargewicht und die chemische Zusammensetzung von Dendrimern während der Synthese zu planen, lässt sich ihre Biokompatibilität und Pharmakokinetik modifizieren.

Die ersten Berichte über Dendrimere stammen aus den späten 1970er und 1980er Jahren [1-3]. Seit diesen Pionierstudien haben sich unzählige Arbeitsgruppen aus verschiedensten Arbeitsbereichen mit ihnen befasst, was zu einem erstaunlichen Fortschritt in der Synthese, der Analyse sowie den Anwendungen geführt hat [4].

2. Aufbau, Synthese und interessante Eigenschaften

Struktur. Ein Dendrimer ist ein polymerähnliches Molekül, das sich aus vielen perfekt verzweigten Monomeren zusammensetzt, die einem zentralen Kern entspringen. Würde man den Dendrimerkern entfernen, würde man eine bestimmte Anzahl, abhängig von der Konnektivität (2, 3, 4 oder mehr) des Kerns, von gleichen Fragmenten erhalten; so genannte Dendrone. Prinzipiell kann man ein Dendrimer in drei Bereiche aufteilen: den Kern, das Innere (Dendrone) und die Peripherie (oder terminale Gruppen). Ausgehend vom Kern, bezeichnet man die Anzahl der Schichten verzweigender Monomere bis zur Peripherie als die Generation (G-1, G-2, G-3) des Dendrimers. Folglich sind Dendrimere höherer Generationen größer, höher verzweigt und haben eine größere Anzahl an terminalen Gruppen an der Peripherie als Dendrimere niedrigerer Generationen (Abb. 1).

Abb. 1: Schematischer Aufbau eines Dendrimers am Beispiel eines Polyglycerin Dendrimers. Gestrichelte Kreise markierten verschiedene Strukturregionen des Dendrimers.



Synthese. Dendrimere können entweder durch divergente oder konvergente Synthese dargestellt werden. Während der divergenten Synthese werden an ein zentrales Kernmolekül schrittweise Generationen von Dendrimerbausteinen angefügt. Sie resultiert in einem quasi exponentiellen Wachstum.

Werden zuerst die einzelnen Dendrone generationsweise synthetisiert und danach an einen Kern gebunden, spricht man von konvergenter Synthese. Ihre Vorteile liegen in einer höheren Ausbeute und der Möglichkeit, verschiedenartige Dendrone zusammenfügen zu können, um beispielsweise amphiphile Dendrimere zu synthetisieren.

Dendrimere werden immer schrittweise synthetisiert und sind deshalb, im Unterschied zu herkömmlichen Polymeren, monodispers. Der Vorteil eines monodispersen Produkts liegt nicht nur in der besseren synthetischen Reproduzierbarkeit, sondern auch in der Verringerung experimenteller und therapeutischer Schwankungen. In der Praxis können jedoch monodisperse Produkte meistens bis zur dritten Generation einfach erreicht werden.

Durch die große Auswahl an geeigneten „Bausteinen“ für die Dendrimersynthese, ergeben sich unzählige Möglichkeiten der chemischen Zusammensetzung eines Dendrimers. Die meisten Dendrimere, die eine biomedizinische Rolle spielen, basieren auf Polyamidoaminen, Polyaminen, Polyamiden, Polyethern, und Polyestern [5-9].

Multivalenz. Die am meisten ausgenutzte Eigenschaft von Dendrimeren ist ihre Multivalenz. Im Gegensatz zu linearen Polymeren, sind die terminalen Gruppen bei Dendrimeren enger gepackt je höher das Molekulargewicht und folglich die Generation ist. So lässt sich eine hoch konzentrierte Ladung mit Wirkstoffen oder spektroskopischen Labels an der Peripherie des Dendrimers erreichen.

Die hohe Anzahl von Endgruppen kann ebenso die Löslichkeit eines Dendrimers beeinflussen. Beispielsweise kann eine hohe Anzahl von hydrophilen Endgruppen ein hydrophobes Inneres wasserlöslich machen. Besonders nützlich ist die Multivalenz allerdings wenn mehrere Liganden (Wirkstoffe etc.) an die Peripherie des Dendrimers gebunden werden. Die Affinität zwischen der dendritischen Anordnung dieser Liganden und eines Ziels (z. B. Zelle) mit multiplen Rezeptoren ist um ein Vielfaches größer, als dies bei der Bindung eines monovalenten Liganden an das Zielobjekt der Fall wäre. Auf diese Weise können Liganden, die einzeln eine geringe Bindungsaffinität zum Ziel haben, gebunden an ein Dendrimer, eine sehr hohe Gesamtbindungsaffinität aufweisen. Dieser Effekt wird zur Inhibition von HIV Infektionen ausgenutzt oder um Tumor-Zell-Adhäsion vorzubeugen [10].

Kern-Schale-Architekturen. Wird die Peripherie eines hydrophoben Dendrimers mit einer Schicht hydrophiler Einheiten (z. B. PEG-ketten, Glycerin-Einheiten, o. ä.) funktionalisiert, erhält man einen dendritischen Nanotransporter micellenartiger Struktur. Man bezeichnet hier das eigentliche Dendrimer als Kern und die äußere Schicht als Schale. Kern-Schale-Architekturen eignen sich aufgrund ihrer Struktur, Gastmoleküle mittels nichtkovalenter Wechselwirkungen (z. B. ionische Wechselwirkungen, Wasserstoffbrücken und Van-der-Waals-Wechselwirkungen) zu verkapseln. Das Innere des Dendrimers bietet in diesem Fall eine spezielle Nanoumgebung, die sich deutlich von der Schale und dem eigentlichen Lösungsmittel unterscheidet^[5]. Auf diese Weise ist es schon gelungen, schwer wasserlösliche Gastmoleküle in Wasser zu lösen.

Durch eine z. B. pH-induzierte Spaltung der Schale soll eine kontrollierte Freisetzung der verkapselten Gastmoleküle im Zielmedium erfolgen (Abb. 2). Der Mechanismus der aktiven Abgabe im physiologischen pH-Bereich ist aber immer noch Objekt intensiver Forschung.

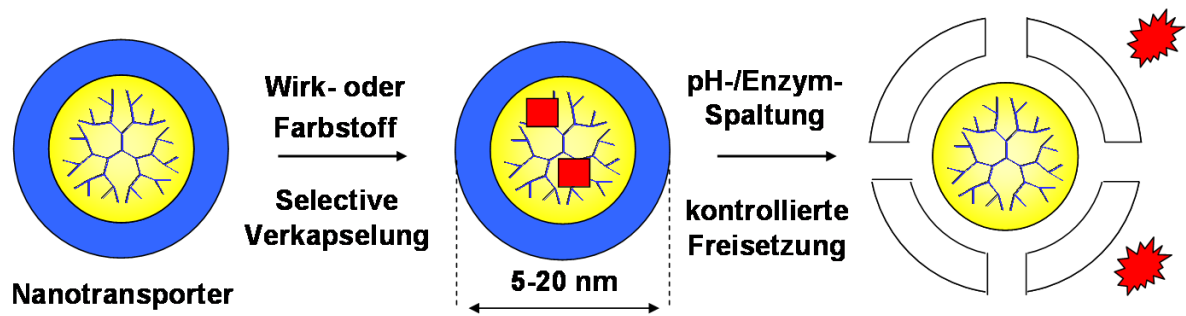


Abb. 2: Unimolekularer Nanotransporter für die Verkapselung und den Transport von Gastmolekülen. Die Freisetzung der verkapselten Moleküle erfolgt gezielt durch die Spaltung der Kern-Schale-Architektur.

3. Biologische Anwendungen

Biologische und medizinische Anwendungen von Dendrimeren haben in den letzten Jahren stark zugenommen und sind äußerst vielseitig. Dendrimere werden für Gen- und Wirkstofftransport, als Träger für Kontrastmittel, zur Tumorthherapie, für Bildgebungsverfahren, zur Gewebereparatur oder auch als Wirkstoff selbst eingesetzt^[6].

Viele dieser Anwendung nutzen einen passiven Targeting-Mechanismus, der auf einer Anreicherung von Makromolekülen in Tumorgewebe basiert und als erhöhte Permeabilität und Retention („enhanced permeability and retention“) oder EPR-Effekt bezeichnet wird^[7]. Biochemische und physiologische Eigenschaften von Tumorgewebe, wie Angiogenese, Hypervaskularisierung, defekter Gefäßaufbau und eingeschränkte oder fehlende Lymphdrainage, spielen hier eine wichtige Rolle. Makromoleküle, die im Gegensatz zu niedermolekularen Verbindungen, nicht in gesundes Gewebe diffundieren können, sammeln sich vorwiegend im Tumorgewebe an. Die fenestrierte und poröse Endothelzellschicht der Kapillaren erleichtern den Eintritt der Makromoleküle in das maligne Gewebe. Durch die mangelhafte Lymphdrainage werden Makromoleküle zurückgehalten und akkumulieren im Tumorgewebe.

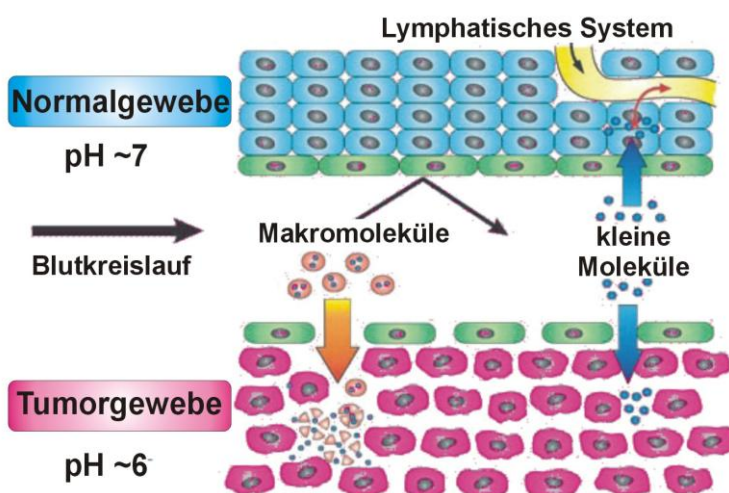


Abb. 3: Schematische Darstellung der Charakteristika von Normal- und Tumorgewebe in Bezug auf ihre vaskuläre Permeabilität und die Retention von kleinen und großen Molekülen (EPR-Effekt).

Der EPR-Effekt wird bei Makromolekülen beobachtet, die mindestens eine Größe von 20 kDa haben. Es existiert eine Korrelation zwischen der Plasmahalbwertszeit, der renalen Clearance und der Anreicherung des Dendrimeres im Tumor.

Um eine signifikante Anreicherung des zirkulierenden Makromoleküls im Tumor zu gewährleisten, gilt es, eine verlängerte Aufenthaltszeit im Plasma zu schaffen. Grundsätzlich führt ein Molekulargewicht oberhalb der Nierenschwelle (ca. 30 kDa) und eine neutrale Ladung zu diesem Effekt.

Die Vorteile von Nanotransportern soll das folgende Beispiel verdeutlichen.

Wirkstofftransport. Indem man einen Wirkstoff an ein geeignetes Dendrimer bindet, lassen sich die Löslichkeit des Wirkstoffs in wässrigem Medium und die Halbwertszeit im Blutkreislauf erhöhen. Zudem kann er gezielter in malignes Gewebe transportiert werden. Bestimmte Barrieren (z.B. Blut-Hirn-Schranke) können leichter passiert und der Wirkstoffmetabolismus verlangsamt werden^[8].

Eines der frühesten Beispiele für die Anti-Tumorwirksamkeit von Wirkstoff-Dendrimer Konjugaten *in vivo*, ist die Komplexierung von Cisplatin an die peripheren Carboxylatgruppen eines PAMAM Dendrimers^[9]. Die Konjugation von Cisplatin an diesem Dendrimer führte zu einer zehnfachen Steigerung der Löslichkeit aber auch zu einer Quervernetzung der Dendrimere durch den Wirkstoff, was zu Aggregatdurchmessern bis zu 40 nm führte. Verabreicht man Mäusen diese Konjugate intravenös, sammeln sie sich vorwiegend über den EPR-Effekt in subkutanem Tumorgewebe an. Durch das Konjugat ist der Level von Platin im Tumorgewebe fünfmal höher als der Level der durch den Wirkstoff bei gleicher Dosis ohne Träger erreicht wird.

4. Weitere dendritische Architekturen

Hyperverzweigte Polymere sind eine weitere Klasse dendritischer Makromoleküle, die in letzter Zeit aufgrund ihrer dendrimerähnlichen Eigenschaften erhöhte Aufmerksamkeit erhalten. Sie werden in nur einem Schritt synthetisiert und sind typischerweise nicht perfekt verzweigt und sehr polydispers. Wenn sie für eine bestimmte Anwendung geeignet sind, kann man sie zumeist in größeren Mengen und weitaus billiger erwerben als perfekte Dendrimere.

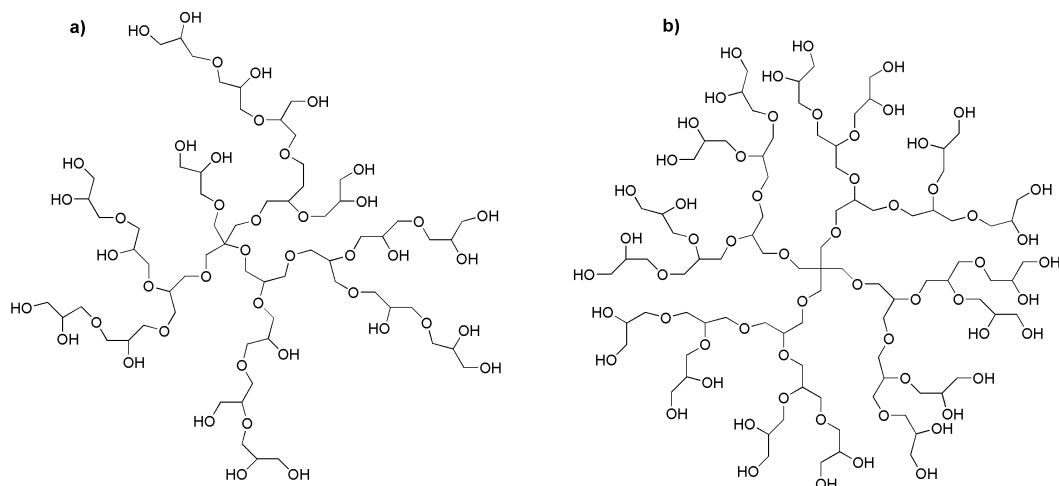


Abb. 4: Vergleich zwischen einem a) hyperverzweigten Polyglycerin Polymer und einem b) Polyglycerin Dendrimer.

Obwohl sich die meisten Arbeiten in diesem Feld mit hyperverzweigten Polymeren mit einem zentralen Kern beschäftigen, beschäftigen sich neuere Studien mit dendritischen Molekülen, die

einen polymeren Kern haben. Diese so genannten dendronisierten Polymere bestehen aus einem linearen Polymer, an dessen sich wiederholenden Einheiten Dendrone gebunden sind. Sie können zum einen die typischen dendritischen (z. B. Multivalenz, Kern-Schale-Architektur), zum anderen aber völlig unterschiedliche biologische und physikalische Eigenschaften aufweisen.

4. Literatur

1. Buhleier, E., W. Wehner, and F. Vögtle, *Cascade"- and "Nonskid-Chain-like" Syntheses of Molecular Cavity Topologies*. Synthesis, 1978: p. 155-158.
2. Denkewalter, R.G., J. Kolc, and W.J. Lukasavage, *Macromolecular highly branched homogeneous compound based on lysine units*, in US Patent 4,289,872. 1981.
3. Newkome, G.R., et al., *Micelles. Part 1. Cascade molecules: a new approach to micelles. A [27]-arborol*. Journal of Organic Chemistry, 1985. **50**(11): p. 2003-2004.
4. Fréchet, J.M.J. and D.A. Tomalia, *Dendrimers and Other Dendritic Polymers*. 2001, Chichester, New York: Wiley.
5. Tomalia, D.A., A.M. Naylor, and W.A. Goddard, *Starburst Dendrimers: Molecular-Level Control of Size, Shape, Surface Chemistry, Topology, and Flexibility from Atoms to Macroscopic Matter*. Angewandte Chemie International Edition in English, 1990. **29**(2): p. 138-175.
6. de Brabander-van den Berg, E.M.M. and E.W. Meijer, *Poly(propylene imine) Dendrimers: Large-Scale Synthesis by Heterogeneously Catalyzed Hydrogenations*. Angewandte Chemie International Edition in English, 1993. **32**(9): p. 1308-1311.
7. Sadler, K. and J.P. Tam, *Peptide dendrimers: applications and synthesis* Reviews in Molecular Biotechnology 2002. **90**(3-4): p. 157-354.
8. Liu, M., K. Kono, and J.M.J. Fréchet, *Water-soluble dendritic unimolecular micelles:: Their potential as drug delivery agents*. Journal of Controlled Release, 2000. **65**(1-2): p. 121-131
9. Morgan, M.T., et al., *Dendritic molecular capsules for hydrophobic compounds*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(50): p. 15485-9
10. André, S., et al., *First demonstration of differential inhibition of lectin binding by synthetic tri- and tetravalent glycoclusters from cross-coupling of rigidified 2-propynyl lactoside*. Organic & Biomolecular Chemistry, 2003. **1**(22): p. 3909-3916.