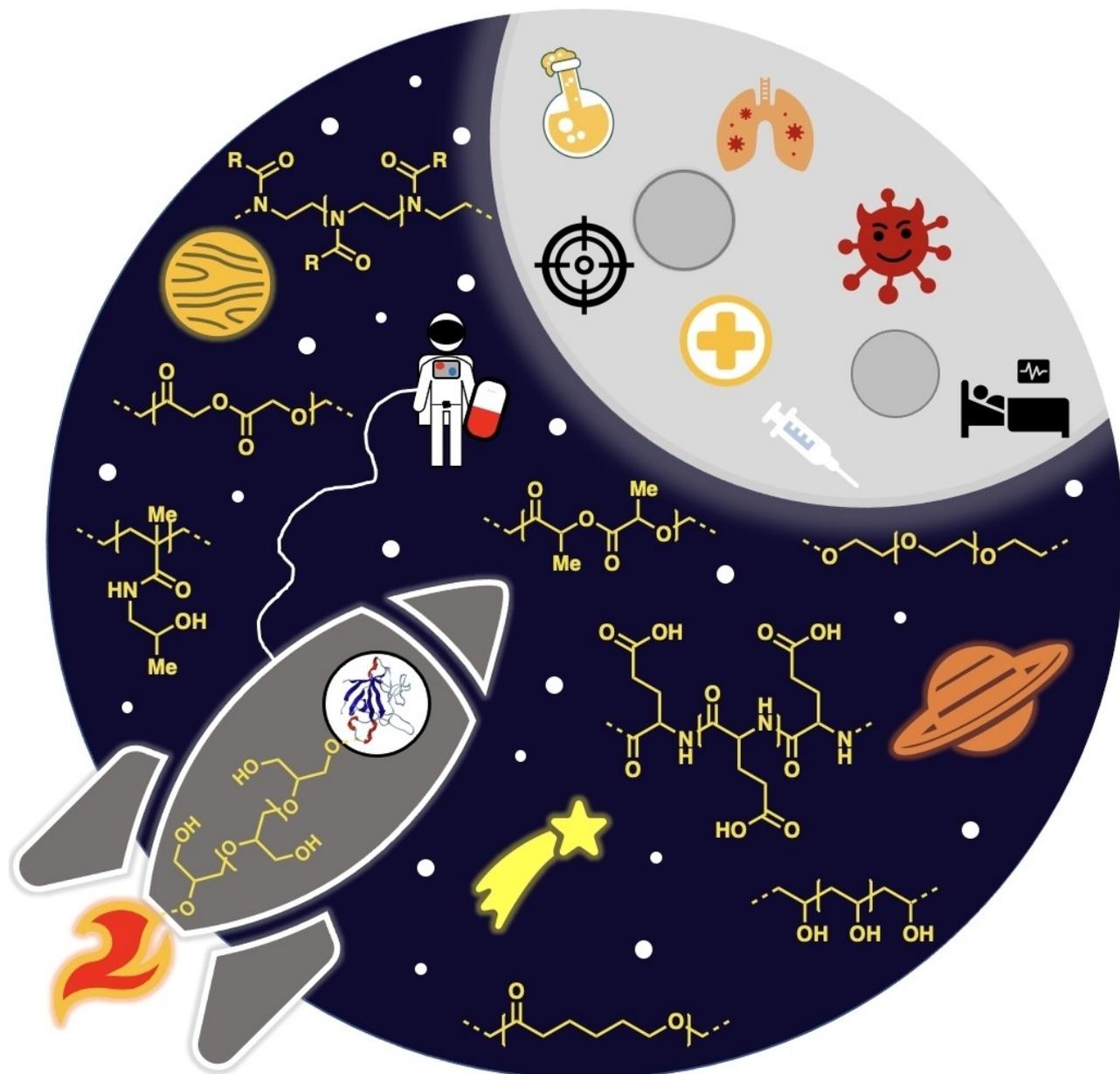


Wirkstoff-Transport

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, 61, e202203942

Internationale Ausgabe: doi.org/10.1002/anie.202203942

Deutsche Ausgabe: doi.org/10.1002/ange.202203942

Chemische Ansätze für synthetische Wirkstofftransportsysteme für systemische Anwendungen*Daniel Braatz⁺, Mariam Cherri⁺, Michael Tully⁺, Mathias Dimde, Guoxin Ma, Ehsan Mohammadifar, Felix Reisbeck, Vahid Ahmadi, Michael Schirner, und Rainer Haag**

Abstract: Schlechte Wasserlöslichkeit und geringe Bioverfügbarkeit von pharmazeutischen Wirkstoffen (APIs) sind die Hauptursache für Verzögerungen in der pharmazeutischen Industrie und stellen eine große Hürde für die Entwicklung neuer Arzneimittel dar. Der Transport von Arzneimitteln ist nach wie vor die größte Herausforderung für die Anwendung niedermolekularer Medikamente und Biopharmazeutika. Die drei Herausforderungen für synthetische Transportsysteme sind: (i) Kontrolle über die Wirkstoffverteilung und Clearance im Blut, (ii) Solubilisierung schlecht wasserlöslicher Wirkstoffe und (iii) selektive Akkumulation in bestimmten Geweben. Obwohl viele Polymer-basierte Systeme die ersten beiden Anforderungen erfüllen und in die klinische Praxis umgesetzt wurden, hat bisher noch kein zielgerichtetes, synthetisches Abgabesystem den Markt erreicht. Dieser Aufsatz soll einen Überblick über die Herausforderungen und Anforderungen zur Entwicklung und Umsetzung neuer Polymer-basierter Darreichungssysteme geben. Hauptaugenmerk liegt hierbei auf den chemischen Ansätzen für die Darreichung von Wirkstoffen für systemische Anwendungen.

1. Allgemeine Aspekte und Anwendungsbereich

Die derzeitige COVID-19-Pandemie hat den zentralen Bedarf an sicheren und wirksamen Systemen zur Darreichung von Arzneimitteln aufgezeigt, insbesondere für Therapeutika und Impfstoffe auf Oligonukleotidbasis.^[1] Das Forschungsgebiet der Drug Delivery geht auf die frühen 1970er Jahre zurück und ist sicherlich ein ausgereiftes Gebiet, jedoch kann es aufgrund der erforderlichen klinischen Studien zehn bis zwanzig Jahre dauern, bis ein solches System von den zuständigen Behörden zugelassen wird. Für den Weg vom neuen Konzept bis hin zur Anwendung im Menschen bedarf es häufig vieler wichtiger, aber schrittweiser Verbesserungen.

Mehr als 100 Jahre nach Paul Ehrlichs Vision der "magischen Kugel"^[2] sind die wichtigsten Herausforderungen bei der Darreichung von Arzneimitteln unverändert: (i) Kontrolle über die Wirkstoffverteilung und Clearance im Blut, (ii) Solubilisierung schlecht wasserlöslicher Wirkstoffe und (iii) selektive Akkumulation in bestimmten Geweben. Obwohl viele polymerbasierte Systeme die ersten beiden Anforderungen erfüllen und in die klinische Praxis umgesetzt wurden, konnte bisher noch kein zielgerichtetes, synthetisches Abgabesystem den Markt erreichen. Dieser Aufsatz befasst sich mit chemischen Ansätzen zur systemischen Darreichung von Arzneimitteln. Auf biotechnologische Ansätze zur Wirkstoffverabreichung,^[3] medizinische Geräte,^[4] orale Aufnahme^[5] oder lokale Darreichungsformen^[6] (wie beispielsweise Formen der verzögerten Freisetzung) wird nicht eingegangen, da diese in anderen Aufsätzen zu finden sind.^[7]

Die langjährige Ansicht, dass Polyethylenglycol (PEG) der "Goldstandard" für biomedizinische Polymere sei, wurde in den letzten Jahren immer mehr hinterfragt, da einige Berichte über Antikörper gegen PEG bei Patienten veröffentlicht wurden und Zulassungsbehörden vor mehreren PEGylierten Biopharmazeutika gewarnt haben.^[8] Als Konsequenz bedarf es großer Anstrengungen, um neue Alternativen für synthetische Wirkstofftransportsysteme für systemische Anwendungen zu finden, indem man aus bereits zugelassenen Systemen lernt und sich der offenen Herausforderung der gezielten Abgabe an den Menschen widmet, ohne Biopharmazeutika wie Antikörper zu verwenden.

2. Polymerkonjugate

2.1. Polymer-Protein-Konjugate

Therapeutische Biomoleküle wie Antikörper, Proteine und Peptide, haben sich im 21. Jahrhundert zu einer wichtigen Arzneimittelklasse entwickelt, welche neue Behandlungsmöglichkeiten durch den Ersatz oder die Inhibierung nativer Proteine oder anderer struktureller Ziele ermöglicht.^[9] Trotz ihrer hohen Spezifität weisen diese so genannten Biopharmazeutika jedoch einige Nachteile wie geringe Löslichkeit und metabolische Stabilität auf.^[10]

Die Modifizierung von Biopharmazeutika mit dem synthetischen Makromolekül Polyethylenglycol (PEG) bietet einen effizienten Ansatz zur Bewältigung dieser Herausforderungen. Bei der PEGylierung handelt es sich um die kovalente Kopplung einer oder mehrerer PEG-Ketten an einen pharmazeutischen Wirkstoff (API); sie sticht aus den bisher erforschten Techniken zur Darreichung therapeutischer Proteine hervor. Nach der Konjugation bildet PEG eine stabile Hydratschicht, die in der Regel aus zwei bis drei Wassermolekülen pro Monomereinheit besteht.^[11] Diese Hydrathülle vergrößert die Proteinarzneimittel, was sowohl mit einer erhöhten Blutkreislaufzeit und metabolischer Stabilität als auch einer verringerten Immunogenität einhergeht.^[12] Außerdem führt die Konjugation von PEG an Proteine oder andere Objekte im Nanometerbereich (d.h. Nanopartikel und Liposomen) zu dem so genannten Tarnungseffekt ("Stealth-Effekt"), der die Annäherung von Plasmaproteinen und Makrophagen stört und somit die Zirkulationszeit weiter erhöht.^[8]

[*] D. Braatz,* M. Cherri,* Dr. M. Tully,* Dr. M. Dimde, G. Ma, Dr. E. Mohammadifar, Dr. F. Reisbeck, Dr. V. Ahmadi, Prof. Dr. M. Schirner, Prof. Dr. R. Haag
Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin
Takustraße 3, 14195 Berlin (Deutschland)
E-mail: haag@chemie.fu-berlin.de

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

© 2022 Die Autoren. Angewandte Chemie veröffentlicht von Wiley-VCH GmbH. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution Non-Commercial License, die eine Nutzung, Verbreitung und Vervielfältigung in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert und nicht für kommerzielle Zwecke genutzt wird.

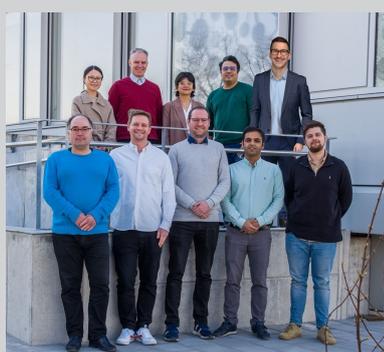
Der klinische Erfolg dieser Technologie ist offensichtlich: Derzeit sind mehr als 14 PEGylierte Proteinanzwemittel auf dem Markt (Tabelle 1) und viele weitere unterlaufen klinische Studien.^[13] Trotz dieses Erfolgs resultieren aus der PEGylierung einige Nachteile, mitunter der Verlust der Bioaktivität und die Bildung von anti-PEG-Antikörpern, welche einerseits Immunreaktionen und andererseits eine beschleunigte Clearance aus dem Blut auslösen können, womit die Hauptvorteile der PEGylierung verfallen.^[13a,14] Die aktuelle Forschung legt daher ein Hauptaugenmerk auf alternative Makromoleküle zur chemischen Konjugation und Verlängerung der Halbwertszeit therapeutischer Proteine sowie biomedizinische Nanosysteme.

Die frühen Forschungsarbeiten zur PEGylierung, ihre Weiterentwicklung und die auf dem Markt erhältlichen PEGylierten Systeme wurden bereits ausführlich erörtert.^[8,15] Dieser Aufsatz gibt eine kurze Zusammenfassung der unterschiedlichen Generationen von PEG-Wirkstoffkonjugaten in Abhängigkeit von ihrer Biokonjugationschemie und beleuchtet die jüngsten Entwicklungen sowie die Zukunftsperspektiven der PEGylierung und alternativer PEG-Makromoleküle. Die frühesten Forschungen zur PEGylierung gehen auf 1977 zurück, als Abuchowski und Davies ihre Auswirkung auf die Immunogenität der Modellproteine Rinderleberkatalase (BLC) und Rinderserumalbumin (BSA) untersuchten.^[16] Im Allgemeinen werden zur Proteinmodifizierung PEGs verwendet, die ein Molekulargewicht zwischen 2 und 40 kDa sowie eine geringe Dispersität (<1.1) und klassischerweise eine lineare oder alternativ verzweigte Architektur aufweisen.^[17] Zur Vermeidung von Quervernetzungen wird in der Regel monofunktionelles Methoxy-PEG (mPEG) verwendet.^[18] Neben dem Molekulargewicht, welches sich hauptsächlich auf die Zirkulationszeit im Blut und die Bioverfügbarkeit auswirkt, ist eine weitere Schlüsseleigenschaft von mPEG seine Linkerchemie, die eine entscheidende Rolle bei der Bestimmung der Konjugatstabilität spielt.

Die erste Generation von PEGs zeichnet sich durch ein geringes Molekulargewicht (<12 kDa) und eine lineare Architektur aus und wird meistens für wahllose PEGylierung an der Aminogruppe von Lysin verwendet. Bei Adagen[®] und Oncaspar[®], beides zugelassene PEG-Protein-Konjugate der ersten Generation, wird diese Konjugationsstrategie verwendet. Darüber hinaus wurden beide unter Verwendung eines instabilen Succinimidylsuccinat-Linkers (PEG-SS) synthetisiert, der eine Esterbindung enthält, welche bei neutralem pH zur Hydrolyse neigt.^[20] Instabile Linker wie PEG-SS dienen häufig als Hapten auf der Proteinoberfläche und verstärken die Immunogenität, wie bei PEG-Asparaginase beobachtet wurde. Die zweite

min (BSA) untersuchten.^[16] Im Allgemeinen werden zur Proteinmodifizierung PEGs verwendet, die ein Molekulargewicht zwischen 2 und 40 kDa sowie eine geringe Dispersität (<1.1) und klassischerweise eine lineare oder alternativ verzweigte Architektur aufweisen.^[17] Zur Vermeidung von Quervernetzungen wird in der Regel monofunktionelles Methoxy-PEG (mPEG) verwendet.^[18] Neben dem Molekulargewicht, welches sich hauptsächlich auf die Zirkulationszeit im Blut und die Bioverfügbarkeit auswirkt, ist eine weitere Schlüsseleigenschaft von mPEG seine Linkerchemie, die eine entscheidende Rolle bei der Bestimmung der Konjugatstabilität spielt.

Die erste Generation von PEGs zeichnet sich durch ein geringes Molekulargewicht (<12 kDa) und eine lineare Architektur aus und wird meistens für wahllose PEGylierung an der Aminogruppe von Lysin verwendet. Bei Adagen[®] und Oncaspar[®], beides zugelassene PEG-Protein-Konjugate der ersten Generation, wird diese Konjugationsstrategie verwendet. Darüber hinaus wurden beide unter Verwendung eines instabilen Succinimidylsuccinat-Linkers (PEG-SS) synthetisiert, der eine Esterbindung enthält, welche bei neutralem pH zur Hydrolyse neigt.^[20] Instabile Linker wie PEG-SS dienen häufig als Hapten auf der Proteinoberfläche und verstärken die Immunogenität, wie bei PEG-Asparaginase beobachtet wurde. Die zweite



Von oben links nach unten links: G. Ma, R. Haag, M. Cherri, V. Ahmadi, M. Tully, D. Braatz, E. Mohammadifar, M. Dimde, F. Reisbeck und M. Schirner.

Vahid Ahmadi schloss sein Promotionsstudium an der Freien Universität Berlin im Jahr 2021 ab. Er untersuchte funktionale Polymere mit definierter Architektur für Bio-Interface-Interaktionen unter der Leitung von Rainer Haag. Seine aktuelle Postdoc-Forschung konzentriert sich auf die Entwicklung von Polymerarchitekturen mit antiviralen Eigenschaften im Rahmen eines Start-up-Projekts NoVirall (EXIST-Forschungstransfer).

Daniel Braatz schloss 2019 seinen Master in Chemie an der Freien Universität Berlin ab. Derzeit promoviert er dort unter der Betreuung von Rainer Haag und Matthias Ballauff. Seine Forschung widmet sich der Entwicklung von amphiphilen dendritischen Blockcopolymericellen und deren systematischer Charakterisierung und Anwendung.

Mariam Cherri war zwei Jahre lang als Verfahreningenieurin und technische Beraterin in der Energiewirtschaft tätig. Derzeit ist sie Doktorandin in der Gruppe von Rainer Haag an der Freien Universität Berlin. Ihr Forschungsschwerpunkt liegt auf der Synthese funktioneller Polymerarchitekturen, deren Charakterisierung, Skalierbarkeit und systemischen Anwendungen.

Mathias Dimde promovierte in Chemie an der Freien Universität Berlin. Von 2017 bis 2021 war er Postdoktorand in einem Verbundprojekt in der Gruppe von Rainer Haag und Uwe Schedler (PolyAn GmbH). Derzeit arbeitet er im Forschungszentrum für Elektronenmikroskopie (FZEM) in der Ludwig-Gruppe und koordiniert die Core Facility BioSupraMol an der Freien Universität Berlin. Seine Forschungsschwerpunkte liegen in der Entwicklung funktioneller Trägersysteme für Diagnostik und Therapie sowie in der Erforschung ihrer strukturellen Organisation und supramolekularen Zusammenhänge.

Rainer Haag ist Professor für Organische und Makromolekulare Chemie an der FU Berlin. Seit 2021 ist er Sprecher des SFB 1449 "Dynamische Hydrogele an biologischen Grenzflächen". Seine Forschungsschwerpunkte sind biologisch abbaubare und multivalente Makromoleküle, supramolekulare Architekturen, Nanotransporter für die Wirkstoffabgabe und nachhaltige Polymersynthesen. In der gründungsorientierten Lehre gewann er mit seinem Projekt "Translation von Projektideen" den Lehrpreis 2014 der FU Berlin. Gemeinsam mit dem Unternehmen Dendropharm erhielt er 2016 den Innovationspreis Berlin-Brandenburg. Seit 2019 ist er gewähltes Mitglied der Deutschen Akademie der Technikwissenschaften (acatech). 2022 wurde er mit dem ERC Advanced Grant ausgezeichnet.

Guoxin Ma studierte Polymerwissenschaft und -technik an der Sichuan University und der Freien Universität Berlin. Derzeit ist sie Doktorandin bei Rainer Haag an der Freien Universität Berlin. Ihr Forschungsschwerpunkt liegt auf der Synthese und biomedizinischen Anwendung von multifunktionalen Polymermaterialien.

Ehsan Mohammadifar schloss 2018 seine Promotion in Chemie an der Universität von Teheran ab. Derzeit arbeitet er als Postdoc in der Gruppe von Rainer Haag an der Freien Universität Berlin mit einem Schwerpunkt auf der Synthese und Modifikation von biokompatiblen Polymeren für biomedizinische Anwendungen.

Felix Reisbeck promovierte in der Gruppe von Rainer Haag an der Freien Universität Berlin mit dem Forschungsschwerpunkt auf der Synthese verschiedener Architekturen von Polymeren für biomedizinische Anwendungen. Weitere Forschungsinteressen umfassen Polymere in der Optoelektronik (Fraunhofer IAP). Derzeit ist er wissenschaftlicher Leiter eines Start-up-Projekts zur Entwicklung neuartiger Stammzellmatrizen.

Michael Schirner promovierte an der Friedrich-Schiller-Universität Jena. Er ist Facharzt für Pharmakologie und Toxikologie und seit 2016 Gastprofessor für Polymerwissenschaften an der FU Berlin. Seine Forschungsinteressen sind neuartige Therapeutika in der Onkologie und bei Entzündungskrankheiten, medizintechnische Geräte für die Krankheitsdiagnose und neuartige Technologien zur Verabreichung von Medikamenten. Vor 2015 war er 25 Jahre lang in der Forschung und frühen Entwicklung in der Pharma- und Medizinprodukteindustrie tätig. Er ist Gründer von drei Start-up-Unternehmen in den Bereichen Medizintechnik, Biotechnologie und Forschungsdiagnostik und berät außerdem Universitäten und Unternehmen beim frühen Technologietransfer.

Michael Tully studierte Pharmazie an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Während seiner Promotion in der Gruppe von Rainer Haag beschäftigte er sich mit der Synthese und Charakterisierung von PEG-alternativen Polymer-Biokonjugaten für die verlängerte Zirkulationshalbwertszeit von Biopharmazeutika. Derzeit arbeitet er in Turku, Finnland.

Michael Tully studierte Pharmazie an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Während seiner Promotion in der Gruppe von Rainer Haag beschäftigte er sich mit der Synthese und Charakterisierung von PEG-alternativen Polymer-Biokonjugaten für die verlängerte Zirkulationshalbwertszeit von Biopharmazeutika. Derzeit arbeitet er in Turku, Finnland.

Tabelle 1: Zugelassene PEGylierte Biopharmazeutika.

Markenname	API	PEG-M _w [Anzahl PEG pro Protein]	PEG-Architektur/PEG-Linker	Zulassung	Entwickler
Adagen®	PEG-Adenosindeaminase, Pegademase	5 kDa [1–17]	Linear/mPEG-SS	1990	Enzon
Oncaspar®	PEG-Asparaginase, Pegaspargase	5 kDa [69–82]	Linear/mPEG-SS	1994	Enzon
PegIntron®	PEG-Interferon α-2b	12 kDa [1]	Linear/mPEG-SC	2000	Schering-Plough/ Enzon
Pegasy®	PEG-Interferon α-2a	40 kDa [1]	Verzweigt via Lysin/mPEG-NHS	2001	Hoffmann-La Roche
Neulasta®	PEG-Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor Pegfilgrastim	20 kDa [1]	Linear/mPEG-Propionaldehyd	2002	Amgen
Somavert®	PEG-Antagonist für menschlichen Wachstumsfaktor-Rezeptor, Pegvisomant	5 kDa [4–6]	Linear/mPEG-NHS	2003	Pfizer
Macugen®	PEG-anti-VEGF Aptamer, Pegaptanib	40 kDa [1]	Verzweigt via Lysin/mPEG-NHS	2004	Pfizer
Mircera®	PEG-Erythropoietin beta	30 kDa [1]	Linear/mPEG-NHS	2007	Hoffmann-La Roche
Cimzia®	PEG-Certolizumab	40 kDa [1]	Verzweigt via Lysin/mPEG-Maleimid	2008	Nektar/UCB Pharma
Krystexa®	PEG-Ericase, Pegloticase	10 kDa [durchschnittl. 40.8] 40 kDa [1]	Linear/mPEG-pNPC	2010	Savient
Ormontys®	PEG-Erythropoietin-mimetisches Peptid, Peginesatid	40 kDa [1]	Verzweigt via Lysin/mPEG-NHS	2012	Affymax/ Takeda
Plegridy®	PEG-Interferon beta-1a	20 kDa [1]	Linear/mPEG-O2-Propionaldehyd	2014	Biogen
Adynovi®/Adynovate®	PEG-rekombinanter Faktor VIII	20 kDa	verzweigt via Glycerol/ mPEG-NHS	2015	Baxalta
Refixia®/Reblyn®	PEG-rekombinanter Faktor IX	[durchschnittl. 2] 40 kDa [1]	Linear/Konjugation durch Enzym	2017	Novo Nordisk
Revcovi™	Antihämophilie-Faktor	5.6 kDa [13]	Linear/mPEG-SC	2018	Leadient Biosciences
Asparlas™	Elapegademase	5 kDa [31–39]	Linear/mPEG-SC	2018	Servier
Palynzig™	Calaspargase pegol	20 kDa [32–36]	Linear/mPEG-NHS	2018	Biomarin
Jivi®	PEG-Phenylalanin Ammoniak-Lyase, Pegvaliase-pqpz	60 kDa [1]	Verzweigt/mPEG-maleimid	2018	Bayer
	PEG-rekombinanter Faktor VIII				
	Antihämophilie-Faktor				

Daten übernommen aus Lit. [13, 19] oder öffentlich zugänglichen Quellen (EU: europäischer öffentlicher Bewertungsbericht (EPAR) und Zusammenfassung der Produkteigenschaften). Siehe Text für weitere Quellen. M_w: Molekulargewicht; API: pharmazeutischer Wirkstoff; -SC::Succinimidylcarbonat; -SS: Succinimidylsuccinat.

Generation PEGylierter Proteine besteht größtenteils aus PEGs mit höherem Molekulargewicht (> 12 kDa) und stabilerem Linker sowie eher verzweigten Architekturen. Diese so genannten Y-förmigen PEGs können auf Basis eines Lysin-Kerns synthetisiert werden und sind hinsichtlich verminderter Antigenität, Immunogenität und Proteolyse effektiver als ihre linearen Analoga.^[17,21] Der erste Kassenschlager in dieser Gruppe war sicherlich die PEGylierte Form von IFN- α 2a (Pegasys \rightarrow), welche seit ihrer Zulassung im Jahr 2001 durch Roche vermarktet wird. mPEG-N-Hydroxysuccinimid (mPEG-NHS), welches zur Modifizierung von IFN- α 2a benutzt wird, ist eine verbesserte Version des anfangs verwendeten PEG-SS, da es zu einem stabileren Amidlinker führt.^[22] Die Reaktivität von mPEG-NHS kann eingestellt werden, indem man den Spacer zwischen dem Polymerrückgrat und der reaktiven NHS-Gruppe anpasst.^[23]

Die dritte PEG-Generation zielt darauf ab, den Verlust an Bioaktivität des Proteins nach der PEGylierung zu vermindern, indem dieses ortsspezifisch an PEG konjugiert wird. Das erste Produkt, bei dem ortsselektive PEG-Chemie eingesetzt wurde, wurde im Jahr 2002 zugelassen: Bei Pegfilgrastim (Neulasta $\text{\textcircled{R}}$) handelt es sich um einen Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktor (G-CSF), der am N-Terminus mit einem linearen 20-kDa-PEG modifiziert ist.^[24] Im Vergleich zu den bisher aufgeführten Linker-Methoden ermöglicht diese Herangehensweise die Erhaltung der Ladung des nativen Proteins.^[25] Ein weiterer Ansatz zur ortsspezifischen PEGylierung ist die gezielte Konjugation an Thiole in Cysteinen. Diese sind nur selten in Proteinen vorhanden. Falls vorhanden, sind sie in der Regel nicht für Konjugation geeignet, da sie sich aufgrund ihres hydrophoben Charakters häufig in der aktiven Bindungsstelle oder im Inneren eines Proteins befinden. Mit Hilfe der Gentechnik ist es jedoch möglich, Cysteine weit entfernt vom aktiven Zentrum einzuführen und so eine Modifizierung mit PEG zu ermöglichen.^[18] Das 2008 zugelassene Certolizumab Pegol (Cimzia $\text{\textcircled{R}}$) ist das erste PEGylierte Protein auf dem Markt, bei dem Thiol-Maleimid-Chemie zur Konjugation verwendet wird. Cimzia $\text{\textcircled{R}}$, ein gegen den Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF- α) gerichtetes Antikörper-Fab-Fragment, trägt ein künstlich hergestelltes Cystein, das mit einem verzweigten 40-kDa-PEG-Maleimid modifiziert ist.^[26] Ein weiteres Beispiel für diese Konjugationsstrategie ist der PEGylierte Faktor VIII (Jivi $\text{\textcircled{R}}$), der im Jahr 2008 als erster ortsspezifisch PEGylierter Blutgerinnungsfaktor zugelassen wurde.^[27]

Eine noch selektivere Methode zur PEGylierung von Proteinen ist die spannungsvermittelte oder Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition. Dieser Ansatz erfordert den gentechnischen Einbau unnatürlicher Aminosäuren in die Proteinsequenz, die dann an das betreffende Polymer konjugiert werden können.^[28] Die ortsspezifische Kopplung ist jedoch nicht immer praktikabel und kann zu geringen Ausbeuten führen, weswegen diese Technologie auf den Labormaßstab beschränkt bleibt.

Ortsspezifische PEGylierung kann auch anhand von Enzymen erreicht werden. In der Regel wird das zu PEGylierende Protein gentechnisch mit einer Markierung versehen, die eine enzymvermittelte Ligation des PEG-Substrats erlaubt, das eine bestimmte funktionale Gruppe aufweist.^[29]

Typische Enzyme, die für diesen Ansatz verwendet werden, sind Sortase^[30] und Transglutaminase, andere sind jedoch auch möglich.^[19b] Enzymatische PEGylierung wurde bereits für mehrere Biomoleküle erfolgreich demonstriert^[31] und hat es mit Rebinyn $\text{\textcircled{R}}$ /Refixia $\text{\textcircled{R}}$, einem PEGylierten rekombinanten Blutgerinnungsfaktor IX von Novo Nordisk, sogar auf den Markt geschafft (Zulassung im Jahr 2017).

2.1.1. Zukunftsperspektiven der PEGylierung

Mit einigen Kandidaten, die derzeit klinische Studien unterlaufen, wird PEG in den nächsten Jahren das bevorzugte Makromolekül für Darreichung und Modulation der Halbwertszeit therapeutischer Proteine bleiben.^[32] PEG wird allgemein als sicherer, nicht-toxischer Trägerstoff betrachtet. Wegen der Tendenz seiner Protein- oder Nanoträger-Konjugate, die Bildung von Antikörpern auszulösen, wurde diese Ansicht in den letzten Jahren allerdings mehr und mehr in Frage gestellt. Es wurde festgestellt, dass diese Anti-PEG-Antikörper zu einer beschleunigten Clearance aus dem Blut und manchmal Immunreaktionen führen können, was den Verlust der ursprünglichen Vorteile der PEGylierung bedeutet.^[13a,33] Sogar in gesunden Bevölkerungsgruppen, die noch nie mit einem PEGylierten Therapeutikum in Berührung gekommen waren, wurden Anti-PEG-Antikörper nachgewiesen (Bis zu 72 % wurden von Yang et al. festgestellt), was vermutlich auf die weite Verbreitung von PEG in Haushalts- und Kosmetikprodukten zurückzuführen ist.^[14d,34] Seltene anaphylaktische Reaktionen, die für den kürzlich zugelassenen Comirnaty $\text{\textcircled{R}}$ -Impfstoff von BioNTech-Pfizer gemeldet wurden, werden vermutlich durch die 2-kDa-PEG-Anteile auf der Oberfläche der Nanopartikelformulierung verursacht.^[35] Während bisher nur zwei PEGylierte Proteinanzwemittel aufgrund von Hypersensitivität gegen den Arzneimittelteil vom Markt genommen wurden – Kryostexxa $\text{\textcircled{R}}$ und Omontys $\text{\textcircled{R}}$ (in der EU im Jahr 2016 bzw. 2013) –, ist die Bildung von Anti-PEG-Antikörpern in den Zusammenfassungen der Produkteigenschaften vieler zugelassener PEGylierter Proteine gut dokumentiert (öffentlich zugängliche Dateien bei der EMA (EPAR), z.B. für Plegridy $\text{\textcircled{R}}$, Palynzig $\text{\textcircled{TM}}$ oder Jivi $\text{\textcircled{R}}$), was auch im Fall von Jivi $\text{\textcircled{R}}$ zu einer speziellen Warnung vor PEG-bedingter Hypersensitivität führte. Die Zeit wird zeigen, ob solche Antikörper zu einem größeren Problem für die Sicherheit von Patienten werden, aber PEG-assoziierte Immunogenität wird im Allgemeinen noch als Seltenheit betrachtet, wobei die Vorteile der PEGylierung gewichtiger als die Nachteile sind. Die nächste Generation der PEGylierung wird höchstwahrscheinlich darauf abzielen, ortsspezifische Methoden der Proteinkonjugation zu verbessern, um den Verlust an Bioaktivität zu verringern und PEGylierte Produkte zu ermöglichen, die genauso wirksam sind wie ihre unmodifizierten Analoga. Die enzymatische PEGylierung könnte ein Weg sein, dieses Problem anzugehen, wenngleich die Hochskalierung dieses Prozesses ein Problem darstellt.^[19b] Andere Studien berichten über die Synthese von biologisch abbaubarem PEG^[36] sowie reduktionsresponsive PEGylierung^[37] und könnten

einen Weg aufzeigen, die Anlagerung größerer PEG-Einheiten in Organen zu verhindern.

2.1.2. Makromolekül-Alternativen zu PEG

Einige zu PEG alternative Makromoleküle zur Verlängerung der Halbwertszeit und Darreichung therapeutischer Proteine wurden bereits in der Literatur zusammengefasst.^[38] Dieser Aufsatz wird sich mit der chemischen Poly-

mer-Protein-Konjugation beschäftigen und nicht weiter auf andere vielversprechende Biotechnologien zur Verlängerung der Halbwertszeit wie XTENylierung, PASylierung und Fusionsproteine eingehen. Eine Übersicht von alternativen Polymeren ist in Abbildung 1 dargestellt.

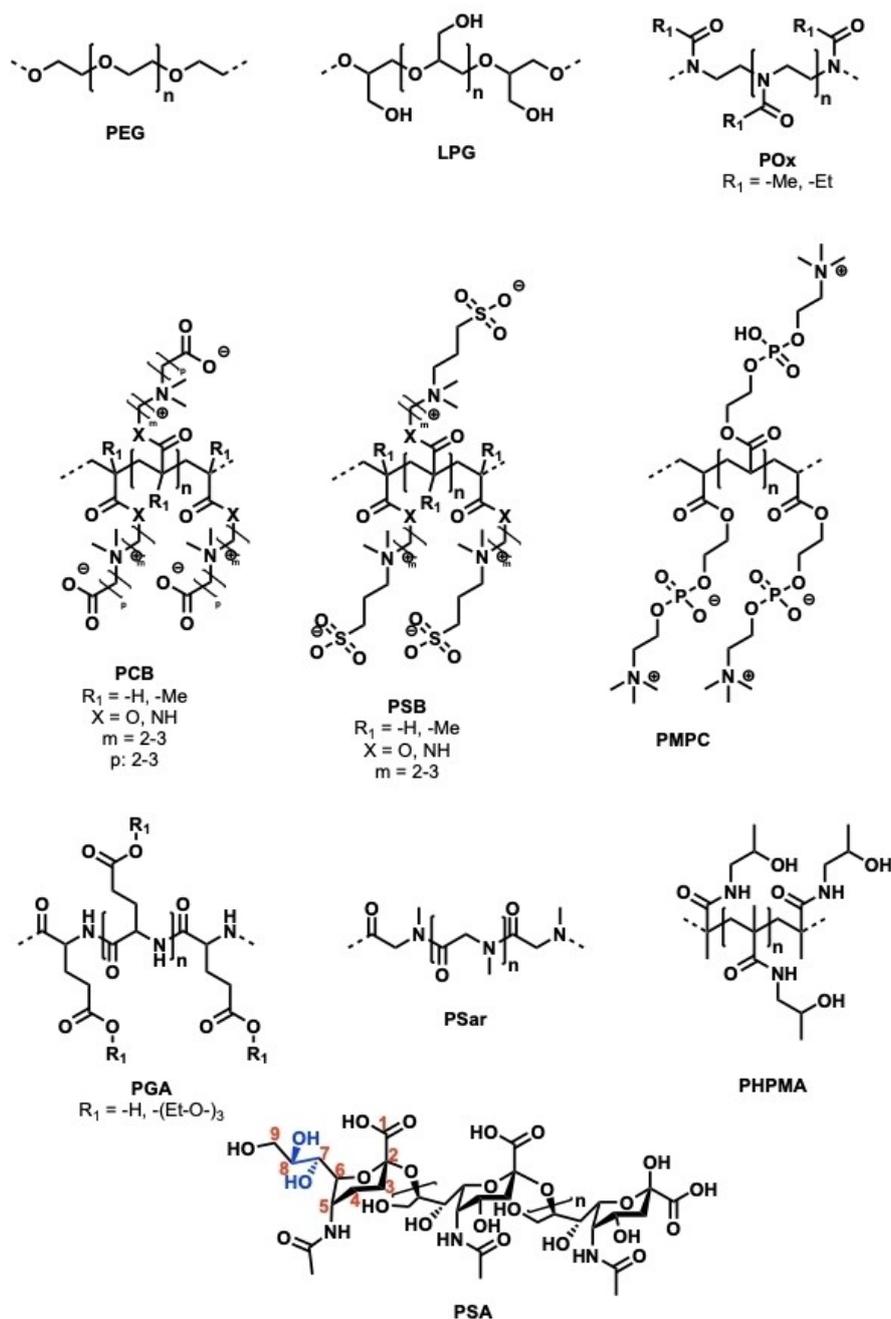


Abbildung 1. Übersicht von polymeren PEG-Alternativen zur Konjugation an Proteine und Arzneimittel: Poly(ethylenglycol) (PEG), lineares Polyglycerin (LPG), Poly(2-oxazolin) (POx), Polycarboxybetaine (PCB), Polysulfobetaine (PSB), Poly(2-methacryloyloxyethyl-phosphorylcholin) (PMPC), Polyglutaminsäure (PGA), Polysarcosin (PSar), Poly(*N*-(2-hydroxypropyl)methacrylamid) (PHPMA) und Polysialinsäure (PSA).

2.1.2.1. Polyglycerine (PGs)

Polyglycerine, auch Polyglycidole genannt, sind eine Klasse von Makromolekülen auf Polyetherbasis mit Hydroxymethyleneinheiten in der Seitenkette (Abbildung 1). Ihre hohe Hydrophilie und Wasserlöslichkeit machen sie für eine Vielzahl potenzieller Anwendungen attraktiv, wie beispielsweise als "Stealth"-Polymere, die die Adsorption von Proteinen an der Oberfläche verhindern, oder als responsive Gerüste für die Darreichung von Arzneimitteln.^[39] PGs gelten als sehr biokompatibel und wenig toxisch.^[40] Im Gegensatz zu PEG sind PGs deutlich hydrophiler, wie der Wasserkontaktwinkel ihrer Monoschichten auf einer Goldoberfläche zeigt (34° bei PEG gegenüber 20° bei PG).^[39a] Dies führt auch zu geringerer unspezifischer Proteinbindung und einer extrem niedrigen Proteinkorona bei mit PG beschichteten Nanopartikeln.^[41] Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass hochmolekulares LPG (100 kDa) eine längere Halbwertszirkulationszeit als viele andere lineare Polymere wie PEG, Polyvinylalkohol (PVA) oder Hydroxypropylacrylamid (HPMA) aufweist, was auf das große Potenzial von Polyglycerinen zur Verlängerung der mittleren Verweildauer von Proteintherapeutika hinweist.^[40c] PGs werden in der Regel durch anionische Ringöffnungspolymerisation (AROP) des geschützten Monomers Etoxyethylglycidylether (EEGE) synthetisiert, wobei eine Fülle an Architekturen, wie unter anderen lineare (LPG), hyperverzweigte (HPG) oder dendronisierte Brush-Polymere (denPG), hergestellt werden kann.^[42] Durch Variation des Monomers können unterschiedliche Funktionalitäten am Polymerrückgrat eingeführt werden, aber EEGE wird am häufigsten verwendet.^[43]

Für die selektive Konjugation an Proteine sind Polymere mit einer monofunktionellen Endgruppe erwünscht. Diese Konfiguration kann durch Verwendung eines geeigneten Initiators, wie z. B. Tetraoctylammoniumbromid oder -azid, erreicht werden.^[44] Weitere erfolgreich synthetisierte mono-LPGs umfassen LPG-NH₂,^[45] LPG-SH,^[39a,45b,46] LPG-Propargyl,^[47] LPG-Cyclooctin^[42a] und LPG-Vinylsulfonat.^[48] Die endfunktionalisierten LPGs können mittels eines kurzen Linkers modifiziert oder direkt an Proteine angebracht werden.

Tully et al. verwendeten LPG-Aldehyd unterschiedlicher Molekulargewichte (5–40 kDa) zur Ligation des therapeutischen Proteins Anakinra am N-Terminus anhand reduktiver Aminierung.^[49] Als Referenz wurden auf dieselbe Art und Weise PEG-Anakinra-Konjugate ähnlicher Molekulargewichte synthetisiert. Die LPG-Konjugate wiesen eine etwas kompaktere hydrodynamische Größe als ihre PEG-Analoga des gleichen Molekulargewichts auf, während die In-vitro-Rezeptor-Affinität in Abhängigkeit vom Molekulargewicht abnahm und keine signifikanten Unterschiede zwischen PEG und LPG beobachtet werden konnten. Die terminale Halbwertszeit von mit einem 40-kDa-LPG modifizierten Anakinra war vierfach länger als im Vergleich zum nativen Protein und in derselben Spanne des PEG-Analogums gleichen Molekulargewichts. Dieselben LPG-Aldehyd-Verbindungen wurden auch zur N-terminalen Modifizierung des Proteins Interleukin-4 verwendet.^[49]

In einer weiteren Studie unserer Gruppe wurde LPG-N₃ (10, 20, 40 kDa) benutzt, um am C-Terminus mit Propargyl modifiziertes Exenatid (ein kleines Protein, das zur Behandlung von Diabetes mellitus Typ II eingesetzt wird) zu binden.^[50] Die Konjugation wurde mittels CuAAC durchgeführt, und erneut dienten die entsprechenden PEG-Varianten ähnlichen Molekulargewichts als Vergleich. Die In-vitro-Bioaktivität von Exenatid nahm bei allen Polymerkonjugaten ab. Darüber hinaus bewirkte eine einzige Injektion eines 40-kDa-LPG-Exenatid-Konjugats bei diabetischen Mäusen eine signifikante Senkung des Blutzuckerspiegels über einen Zeitraum von bis zu 72 Stunden. Diese Eigenschaft war mit der des PEG-Analogons vergleichbar und untermauert das Potenzial von LPG zur Verlängerung der therapeutischen Aktivität von Proteinwirkstoffen. Weitere Studien berichten über LPG-Konjugate von Interferon- α 2a,^[42a] Lysozym und Rinderserumalbumin (BSA),^[45a] wobei BSA auch für einen "grafting-from"-Ansatz verwendet wurde.^[51]

2.1.2.2. Poly(2-oxazoline) (POx)

Polyoxazoline (POx) sind eine vielversprechende Polymerklasse mit mehreren potenziellen Anwendungen im Bereich des Wirkstofftransports (Abbildung 1).^[52] Sie werden durch kationische Ringöffnungspolymerisation (CROP) erzeugt und werden häufig als Pseudopolypeptide bezeichnet, da sie in jeder Wiederholungseinheit eine Peptidbindung enthalten.^[53] Um die Polymerisation zu terminieren, müssen Nukleophile (z. B. OH⁻, -NH⁻, -S⁻ oder -COO⁻) zugegeben werden, die die Synthese endfunktioneller POx für selektive Proteinmodifikation ermöglichen.^[53b] Zusätzlich können Seitenkettenfunktionalitäten durch Variation des Monomers eingeführt werden, um die thermischen Eigenschaften oder Löslichkeit von POx zu beeinflussen. Die beiden am meisten untersuchten Formen für die Proteinkonjugation sind 2-Methyl-2-oxazoline (PMeOx) und die etwas hydrophobere 2-Ethyl-2-oxazoline (PEtOx), die beide eine gute Biokompatibilität in vitro aufweisen.^[54] Mero et al. konnten bereits die erfolgreiche Konjugation von PEtOx an das therapeutisch relevante Protein G-CSF demonstrieren. Lineare PEtOx von 5, 10 und 20 kDa wurden entweder mit einer endständigen Aldehydgruppe für die chemische N-terminale Ligation oder endständigen Amingruppen für die enzymatische Konjugation mittels Transglutaminase (TG) versehen.^[55] Die PEtOx-Konjugate zeigten eine etwas geringere Bioaktivität in vitro, führten jedoch in vivo zu einer höheren therapeutischen Aktivität, wobei das über TG synthetisierte PEtOx-Konjugat etwas besser abschnitt. Andere Studien beschreiben die Konjugation von PEtOx an RNase, Katalase, Urikase, Insulin und Erythropoietin (EOP) mittels PEtOx-NHS an Lysinresten.^[53b,56] Eine ortsspezifische Kopplungsstrategie für PEtOx wurde von Hauptstein et al. genutzt, die unter Verwendung bioorthogonaler SpAAC Interferon- α 2a mit entweder PEtOx, LPG oder PEG von 10 kDa modifizierten. Die jeweiligen PEtOx-Biokonjugate zeigten eine ähnliche Bioaktivität in vitro, aber eine etwas geringere thermische Stabilität als ihre PEG- und LPG-Analoga.^[42a] Ein weiteres Beispiel für die ortsspezifische Kopplung von

POx findet sich in der Arbeit von Lühmann et al., die erfolgreich bioorthogonale CuAAC verwendeten, um PMeOx (4 kDa) an Interleukin-4 zu binden.^[57]

2.1.2.3. Polyzwitterionen (PZIs/Polybetaine)

Polyzwitterionen (PZIs), auch Polybetaine genannt (Abbildung 1), sind Makromoleküle, die zwar insgesamt neutral geladen sind, aber eine positiv und eine negativ geladene funktionelle Gruppe am selben Monomer aufweisen. Sie werden durch kontrollierte radikalische Polymerisation (RAFT oder ATRP) hergestellt und bestehen aus einem Polymethacrylsäure- oder Polyamid-Grundgerüst mit einer quartären Ammoniumgruppe und einer anionischen Gruppe, die aus Sulfonat-, Carboxy- oder Phosphatgruppen besteht. Es können mehrere Unterklassen beschrieben werden, darunter Polysulfobetaine (pSB), Polycarboxybetaine (pCB) oder Polyphosphobetaine (pPB).^[58] Ihre starke Hydratation, hohe Hydrophilie und Biokompatibilität machen sie zu einer vielversprechenden Polymerklasse mit interessanten Eigenschaften wie starken elektrostatischen Wechselwirkungen und Antifouling-Verhalten.^[59]

Die meisten PZI-Protein-Konjugate, über die in der Literatur berichtet wird, wurden durch einen “grafting-to”-Ansatz synthetisiert, aber einige der verfügbaren Studien verwendeten eine In-situ-“grafting-from”-Methode, bei der das Biomolekül vor der Polymerisation mit einem Initiator modifiziert wurde.^[60] Hu et al. exprimierten IFN mit einer kurzen C-terminalen Markierung, die für die Sortase-vermittelte Anbringung eines Initiators für die In-situ-Polymerisation von Poly(2-methacryloyloxyethylphosphorycholin) (PMCP), einem pPB-Derivat, verwendet wurde.^[60a] Ihr IFN-PMCP-Konjugat mit einem Molekulargewicht von 57 kDa übertraf das kommerzielle Pegasys® (40-kDa-Polymer) in Bezug auf die In-vitro-Bioaktivität, zeigte aber in vivo eine vergleichbare Zirkulationszeit und Tumorrakkumulation. Sortase kann ebenfalls verwendet werden, um einen kleinen Azid-Linker an das Protein zu binden, der anschließend an ein Polymer-Alkin gekoppelt werden kann, wie erfolgreich für PMPC-Konjugate von Exenatid gezeigt wurde.^[61]

Die Bildung von Antipolymer-Antikörpern kann im Fall von PEG ein Problem darstellen, da sie häufig mit immunologischen Reaktionen oder beschleunigter Blut-Clearance PEGylierter Proteine und Nanotransporter verbunden ist.^[13a,62] Jiang und Mitarbeiter befassten sich mit diesem Problem in einer interessanten Studie, indem sie die Menge an Antipolymer-Antikörpern quantifizierten, die sich nach wiederholter Injektion von PEG- und pCB-Konjugaten von Proteinen unterschiedlicher Immunogenität bildeten.^[63] Die Konjugate wurden hergestellt, indem PEG-SH oder pCB-SH von 5, 10 oder 20 kDa an die jeweiligen Proteine, welche mit einem kurzen Maleimid-Linker modifiziert waren, gekoppelt wurden. SPR- und ELISA-Techniken bestätigten eine erhöhte Menge an Anti-PEG-IgM- und -IgG-Antikörpern, die mit der Immunogenität der Proteinkomponenten korrelierte und somit den haptenischen Charakter von PEG bestätigte. Im Gegensatz dazu wurde für die pCB-Konjugate

eine minimale bis praktisch keine Bildung von Anti-pCB-Antikörpern festgestellt.

2.1.2.4. Polypeptide (PPs)

Polypeptide (PPs) sind biologisch abbaubare Makromoleküle, die durch Polymerisation hochreaktiver *N*-Carboxyanhydride als Monomere entstehen.^[53a] Für die Proteinkonjugation werden hauptsächlich zwei Arten von PPs verwendet: Poly- γ -glutaminsäure (γ -PGA) und das Polypeptoid Polysarcosin (PSar, Poly(*N*-methylglycin); Abbildung 1).

γ -PGA ist von der FDA für die Verwendung in Kosmetika zugelassen und wurde bereits erfolgreich an IFN und andere Biomoleküle konjugiert.^[64] Eine Studie von Lu und Mitarbeitern wies auf die Relevanz der PGA-Konformation in IFN-PGA-Konjugaten hin, welche sich auf verschiedene Eigenschaften wie die Aktivität oder das “Stealth”-Verhalten gegenüber dem Immunsystem auswirkt. Kurz gesagt, ein “bürstenartiges” PGA (20 kDa, mit drei Ethylenglycol-Einheiten pro Monomer) mit entweder unstrukturierter (DL-PGA) oder helikaler (L-PGA) Konformation wurde an den N-Terminus von IFN konjugiert.^[64b] Dabei führte das starre, helikale L-PGA-IFN zu einer höheren Antitumoraktivität in vitro und in vivo und verhinderte ebenfalls eine beschleunigte Clearance durch Anti-Polymer-Antikörper aus dem Blut, was im Gegensatz zu dem unstrukturierten DL-PGA-IFN und einem ähnlich synthetisierten PEG-IFN-Konjugat stand. Vergleichbare Ergebnisse wurden in der gleichen Studie für den Wachstumsfaktor VHGF beobachtet

2.1.2.5. Polysarkosin (PSar)

Polysarkosin (PSar) ist ein Polymer auf Basis der endogenen, nicht-proteinogenen Aminosäure Sarkosin und weist ein ähnliches “Stealth”-Verhalten wie PEG, jedoch eine geringere Kettenflexibilität in Lösung auf.^[65] PSar wurde bereits als PEG-Alternative für die Oberflächenmodifikation von Lipid-Nanopartikeln zum Transport genetischen Materials (RNA, DNA) genutzt, ein System, das mit dem derzeit von der Firma BioNTech entwickelten SARS-Cov2-Impfstoffs vergleichbar ist.^[66] Auf Liposomen aufgefropft, konnte PSar eine beschleunigte Clearance aus dem Blut verhindern und führte bei wiederholter Darreichung zur Bildung einer geringeren Menge an Anti-Polymer-Antikörpern als PEG.^[67] Unseres Wissens wurde die erste erfolgreiche Konjugation von PSar an ein therapeutisches Protein von Lu und Mitarbeitern berichtet, die N-terminale PSar-IFN-Konjugate synthetisierten.^[68] Bei vergleichbarer terminaler Halbwertszeit zeigten diese Konjugate eine höhere In-vitro-Aktivität und ein langsames In-vivo-Tumorstadium als ihre jeweiligen PEG-Analoga. Darüber hinaus war PSar besser im Stande, nach wiederholter Darreichung die Bildung von Anti-IFN-Antikörpern zu verhindern, was auf einen besseren Immuntarnungseffekt im Vergleich zu PEG schließen lässt.

2.1.2.6. Polysialinsäure (PSA)

Polysialinsäure (PSA) ist ein höchst hydrophiles, lineares und negativ geladenes Makromolekül, das in den Hüllen einiger Gram-negativer Bakterien (z. B. *Escherichia coli*) vorkommt und aus α -glykosidisch verknüpften Sialinsäureanteilen besteht.^[69] Sie dient den Bakterien als natürliches "Stealth"-Polymer, das die beschleunigte Clearance aus dem Blut und die Erkennung durch das Immunsystem verhindert. Die verschiedenen Isotypen von PSA wirken sich stark auf die Zirkulationszeit in vivo aus, wobei der Grad der Phospholipid-Acylierung und die Art der glykosidischen Bindung eine essenzielle Rolle spielen.^[70] Zusätzlich kann die Ladungsabstoßung an der glomerulären Membran die Eliminierung von PSA vermindern und die Zirkulationszeit erhöhen.^[71] Bei physiologischem pH weist PSA eine ausreichende Stabilität auf, aber ihre Anlagerung in Organen kann durch Abbau von zellulären Neuraminidasen verhindert werden.^[72] Auf Liposomen aufgepfropft, verhindert PSA nachweislich die Bildung von IgM-Antikörpern und mildert somit die beschleunigte Clearance aus dem Blut, ein Problem, das häufig bei PEGylierten Liposomen beobachtet wird.^[73] Die Technologie der PSAYlierung wird unter dem Namen PolyXen™ vermarktet und derzeit von der Firma Xenetic Biosciences (ehemals Lipoxen PLC) angeboten.

Für die Konjugation an Proteine wird hauptsächlich PSA aus dem *E.-coli*-K1-Stamm (auch als Colominsäure oder CA bekannt) verwendet. Letztere enthält an ihrem nicht-reduzierenden Ende ein einzelnes vicinales Diol, das leicht unter milden Bedingungen oxidiert werden kann (z. B. mit NaIO_4), um eine Aldehydgruppe zur direkten Protein-konjugation oder für weitere Modifizierung mit bifunktionalen Linkern herzustellen.^[74] Weitere Studien berichten von der erfolgreichen enzymatischen Konjugation von PSA.^[75] Die direkte N-terminale Bindung von PSA-Aldehyd mittels reduktiver Aminierung wurde bereits für eine Vielzahl an Proteinen genutzt, darunter Insulin, Erythropoietin (EPO) und Desoxyribonuklease I,^[76] wobei die beiden letzteren sogar in klinischen Studien untersucht wurden.^[76c] Interessante Ergebnisse wurden ebenfalls hinsichtlich der Gewebeporosität erzielt: Die PSAYlierung eines Antikörperfragments führte zu einer 30-fach erhöhten Tumoraufnahme im Vergleich zu seiner unmodifizierten Version.^[77]

2.2. Polymer-Wirkstoff-Konjugate

Polymer-Wirkstoff-Konjugate (PDCs), oder polymere Prodrugs, sind ein Werkzeug für die Darreichung von Arzneimitteln in der Nanomedizin, bei denen ein oder mehrere Wirkstoffe kovalent an einen Polymerträger gebunden sind. Die Konjugation eines therapeutischen Wirkstoffs an ein Polymer bietet mehrere Vorteile, darunter eine erhöhte Zirkulationszeit im Blut, eine kontrollierte Abgabe und verbesserte Pharmakokinetik sowie eine stark verbesserte Wasserlöslichkeit, geringere Toxizität und intrazelluläre Abgabe. Diese Konjugationsstrategie wurde vor allem für

potente Antitumormedikamente mit hoher Zytotoxizität und schlechter Löslichkeit verwendet.

1955 berichtete Jatzkewitz über das erste PDC, bei dem Meskalin mittels Dipeptid-Spacer an ein Copolymer aus *N*-Vinylpyrrolidon und Acrylsäure konjugiert wurde.^[78] 1975 schlug Ringsdorf ein konzeptuelles Modell vor, in dem ein ideales PDC durch die Konjugation eines pharmazeutischen Wirkstoffs an ein biokompatibles Polymergrundgerüst definiert ist (Abbildung 2). Zur Erhöhung der therapeutischen Effizienz können in diesem Modell auch zusätzliche Targeting-Einheiten und wasserlösliche Gruppen an das Grundgerüst gebunden werden.^[79]

Das Forschungsgebiet wurde dann durch bahnbrechende Forschung in den späten 1970er und frühen 1980er Jahren vorangetrieben, als die Forschung von Kopecek und Duncan die ersten Fortschritte in Richtung klinische Forschung brachte.^[80] Der Fortschritt in der Polymerchemie hat seit diesen wegweisenden Arbeiten zu einer bemerkenswerten Zunahme an geeigneten Polymeren geführt, deren Strukturen für die Entwicklung und Optimierung von Transportsystemen maßgeschneidert werden können. Zu den biokompatiblen Polymeren mit hydrophilen Grundgerüsten, die in die klinische Anwendung überführt wurden, gehören synthetische Polymere wie PEG, *N*-(2-Hydroxypropyl)methacrylamid-Copolymere, Poly(vinylpyrrolidon), Poly(ethylenimin) und lineare Polyamidoamine; natürliche Polymere wie Polyglucose, Dextrin, Hyaluronsäure und Chitosane; sowie pseudosynthetische Polymere wie Poly(aminosäuren), Poly(L-Lysin), Poly(glutaminsäure) (PGA), Poly(apfelsäure) und Poly(aspartamide).^[81] Wenngleich sich einige Polymer-Wirkstoff-Konjugate in der klinischen Erprobung befinden, ist bisher noch keines auf den Markt.

Aus dem allgemeinen Beispiel von Ringsdorfs konzeptuellem Modell (Abbildung 2) wurde eine enorme Liste linearer PDCs entwickelt, die für die Krebstherapie entwickelt und untersucht wurden (Tabelle 2). Therapeutische Wirkstoffe und Targeting-Einheiten werden an ein hydrophiles Polymergerüst gebunden, um ihre Zirkulationszeit im Körper zu verlängern, die Wasserlöslichkeit des Systems zu erhöhen, unerwünschte Toxizität zu verringern und den Wirkstoff gezielt in das gewünschte Gewebe zu bringen. Die Chemie des Linkers spielt ebenfalls eine wichtige Rolle: Er muss stabil genug sein, um eine vorzeitige Freisetzung des Wirkstoffs zu vermeiden, muss aber auch die Freisetzung des Wirkstoffs am Wirkort als Reaktion auf eine Änderung

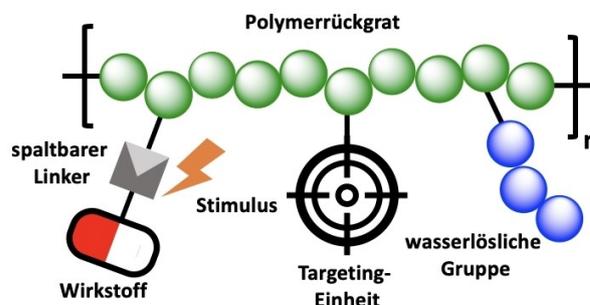


Abbildung 2. Konzeptuelles Schema des Ringsdorf-Modells.

Tabelle 2. Überblick über Polymer-Wirkstoff-Konjugate in klinischen Studien.

Markenname	API	Polymerstruktur	Indikation	Versuchsphase	Entwickler
PK1	Doxorubicin	Poly(N-(2-Hydroxypropyl)methacrylat)	Brustkrebs, nicht kleinzelliges Lungenkarzinom, kolorektales Karzinom	II	CRC/Pharmacia
PK2	Doxorubicin	Poly(N-(2-Hydroxypropyl)methacrylat)	Primäre/metastasierte hepatozelluläre Karzinome	II	CRC/Pharmacia
AP5280	Platin	Poly(N-(2-Hydroxypropyl)methacrylat)	Verschiedene Malignome	II	Access Pharmaceuticals
ProLindaCTM/AP5346	Oxaliplatin	Poly(N-(2-Hydroxypropyl)methacrylat)	Ovarialkarzinom	II	Pharmacia
PNU166945	Paclitaxel	Poly(N-(2-Hydroxypropyl)methacrylat)	Brustkrebs, Neoplasien	I	Pharmacia
MAG-CPT, PNU166148	Camptothecin	Poly(N-(2-Hydroxypropyl)methacrylat)	Fortgeschrittene solide Malignome	I	Blue link Pharmaceuticals
CRUX-101	Camptothecin	PEG-Cyclodextrin	Ovarial- und Tubenkarzinom, Peritonealkarzinose	II	Nektar Therapeutic
NKTR-118	Naloxol	PEG	Opioid-bedingte Obstipation	III	Nektar Therapeutic
NKTR-102	Irinotecan	PEG	Brustkrebs	III	Nektar Therapeutic
NKTR-262	TLR7/TLR8-Agonist	PEG	Solide Tumoren	I/II	Nektar Therapeutics
NKTR-105	Docetaxel	PEG	Solide Tumoren	I	Nektar Therapeutics
Onzeald	Irinotecan	PEG	Brustkrebs	III	Nektar Therapeutic
Opaxio™/Xyotax™/CT-2103	Paclitaxel	Polyglutaminsäure	Ovarial- und Tubenkarzinom, Peritonealkarzinose	III	CTI BioPharma
CT-2106	Camptothecin	Polyglutaminsäure	Darmkrebs, Ovarialkarzinom	I/II	Cell Therapeutics
OsteoDex	Alendronat	Dextran	Prostatakrebs	II	DexTechMedical
Somadex	Somatostatin	Dextran	Neuroendokrine Tumoren	II	DexTechMedical
BP-C1	Pt ^{II}	Benzo-Polycarbonsäure-Polymer	Brustkrebs	II	Meabco A/S
DFP-13318	SN38	PEG	Solide Tumoren	I	ProLynx
Deliriotecan	T2513	Carboxymethyl-dextran	Verschiedene Malignome	I	Daiichi Pharmaceuticals
EZN-2208	SN38	PEG	Neoplasien	II	Enzon
Fleximer®/XMT-1001	Camptothecin	Poly(1-Hydroxymethyl-ethylen hydroxymethylformal)	Magenkarzinom, Lungenkarzinom	I	Mersana
PROTHECAN	Camptothecin	PEG	Lungenkarzinom	II	Enzon

des pH-Werts, das Vorhandensein von Enzymen oder die Empfindlichkeit gegenüber überexprimierten Molekülen in der Mikroumgebung des Tumors erleichtern.^[82] Der Wirkstoff kann entweder durch nachträgliche Konjugation an das vorher synthetisierte Polymergerüst oder durch Konjugation an das Monomer vor der Polymerisation gebunden werden. Die Konjugation des Wirkstoffs an das Monomer vor der Polymerisation bietet einerseits die Kontrolle über die Dichte des letztlich konjugierten Wirkstoffs, andererseits muss das Risiko der Beeinträchtigung des Polymerisationsprozesses berücksichtigt werden.^[83]

2.2.1. Poly-N-(2-Hydroxypropyl)methacrylamid (PHPMA)

In der Anfangsphase der Forschung zu PDC gegen Krebs gehörten lineare Copolymere aus N-(2-Hydroxypropyl)methacrylamid (HPMA) aufgrund ihrer hervorragenden Biokompatibilität und ihrer nicht-immunogenen Eigenschaften zu den am meisten untersuchten wasserlöslichen Polymeren. Darüber hinaus waren die ersten in diesen Studien verwendeten HPMA-Copolymere in vitro mit LEP- und HeLa-Zelllinien biokompatibel und führten in vivo nicht zur Bildung von Antikörpern.^[84] Anschließend klinische Studien zeigten, dass HPMA-Copolymere im menschlichen Körper selbst bei Konzentrationen von mehr als 20 g m^{-2} ohne Immunogenität oder polymerbedingte Toxizität toleriert wurden. HPMA wurde als N-substituiertes Methacrylamidmonomer verwendet, da die α -Kohlenstoffsubstitution und die N-substituierte Amidbindung hydrolytische Stabilität der Seitenkette des resultierenden Polymers gewährleisten. HPMA-Copolymere bieten eine hohe Beladungskapazität und verfügen über multivalente Grundgerüste, an die eine hohe Anzahl an Wirkstoffen kovalent gebunden werden kann.^[85] Aufbauend auf der Forschung von Kopecek und Mitarbeitern in den 1990er Jahren war das erste PDC mit passivem Targeting, das klinische Studien unterlief, das HPMA-Copolymer-Doxorubicin (PK1). Dieses bestand aus einem HPMA-Copolymer, das über einen abbaubaren Tetrapeptid-Linker an Doxorubicin (DOX) konjugiert war.^[86] Kurz nachdem PK1 in der klinischen Versuchsphase I untersucht wurde, folgte PK2 als Schwesterpräparat zur Behandlung von Leberhepatozyten in klinischen Studien. PK2 hatte zunächst die gleiche Struktur wie PK1 und benutzte darüber hinaus Galactosamin als Targeting-Einheit. Obwohl präklinische und klinische Studien der Phase I zu PK1 und PK2 zeigten, dass die Konjugation von DOX an HPMA-Copolymer die Plasmazirkulationshalbwertszeit im Vergleich zu freiem DOX von fünf Minuten auf eine Stunde erhöht, wurden die Studien in Phase II aufgrund der geringeren Wirksamkeit im Vergleich zu Tierversuchen und der fehlenden effizienten Tumorakkumulation eingestellt. HPMA-Copolymer-Paclitaxel-Konjugate (PNU166945) wurden hergestellt, indem der Wirkstoff über eine Esterbindung an ein 30-kDa-Copolymer mit einer Ladekapazität von 5 Gew.-% gebunden wurde.^[87] PNU166945 wurde in Studien der Phase I an nur 12 Patienten untersucht. Die Studien wurden aufgrund der bei Ratten festgestellten schwerwiegenden Neurotoxizität freien Paclitaxels (PTX) abgebro-

chen. Es wird vermutet, dass freies PTX nach Spaltung der Esterbindung im Blutkreislauf die Blut-Hirn-Schranke passieren kann, was hingegen nachweislich nicht bei dem Polymer-PTX-Konjugat gegeben ist.^[88] HPMA-Copolymer-Camptothecin (CPT) wurde durch Veresterung der -OH-Gruppe von CPT mit einem Glycinrest entwickelt, gefolgt von Konjugation des modifizierten CPT an das Polymer über einen Glycylaminohexanoyl-Spacer.^[89] Hohe Blasentoxizität und ein Mangel an sichtbarer Antitumoraktivität, möglicherweise aufgrund der schnellen Esterhydrolyse, brachten die Untersuchung von HPMA-CPT in Phase I der klinischen Studien zum Stillstand. Zwei weitere HPMA-Copolymer-Wirkstoff-Konjugate, AP5280 (Carboplatin) und AP5346 (Oxaliplatin), wurden in klinischen Studien der Phase II zur Behandlung verschiedener bösartiger Erkrankungen sowie von Eierstockkrebs untersucht.^[90] In diesen Formulierungen sind Platinderivate über einen Glycyl-Phenylalanyl-Leucyl-Glycin-Tetrapeptidspacer (GFLG), der pH-Wert- und Cathepsin-B-responsiv ist, mit HPMA-Copolymeren verbunden.^[91] Die Struktur und Größe der HPMA-Copolymer-Wirkstoffkonjugate spielen ebenfalls eine wichtige Rolle für ihre Antitumoreffizienz. Nakamura et al.^[92] zeigten, dass ein sternförmiges HPMA-Pirarubicin-Konjugat (400 kDa; 26 nm), basierend auf einem PAMAM-Dendrimer, Tumorwachstum in S-180-Tumormäusen deutlich besser inhibiert als ein lineares HPMA-Copolymer-Pirarubicin-Konjugat (39 kDa; 8.2 nm). In beiden Fällen war das Medikament über einen Hydrazon-Linker an das System konjugiert.

2.2.2. Polyglutaminsäure

Gemeinsam mit Polyasparaginsäure gehört Polyglutaminsäure (PGA) zu den am häufigsten verwendeten Polyamino-säuren für den Arzneimitteltransport. PGA weist freie Carboxylat-Gruppen auf, die dem Polymer eine negative Ladung verleihen und die Funktionalität für die Konjugation von Wirkstoffen bieten. PGA wird in der Regel entweder chemisch durch Polymerisation von N-Carboxyanhydrid der L-Glutaminsäure oder durch Biosynthese anhand bestimmter Bakterienarten hergestellt.^[93] Ihre Biokompatibilität, biologische Abbaubarkeit, nicht-immunogene Eigenschaft und Wasserlöslichkeit machen PGA zu einem geeigneten Kandidaten zum Transport von Medikamenten. PGA wurde weitreichend in linearen^[94] und verzweigten Strukturen^[95] als Homopolymer oder amphiphiles Blockcopolymer, das micellare Aggregate bilden kann, für die Darreichung von Arzneimitteln eingesetzt.^[96]

Die Konjugation von PGA an Arzneimittel kann auf verschiedene Weisen erfolgen: Das Krebsmedikament kann über eine Esterbindung^[97] oder einen spaltbaren Linker^[98] direkt an das Polymer gebunden werden. Alternativ kann PGA in einem einfacheren Prozess aufgrund seiner polyanionischen Eigenschaft einen ionischen Komplex mit einem positiv geladenen Wirkstoff bilden.^[99] Es hat sich gezeigt, dass die Linkerchemie einen wichtigen Einfluss auf die biologische Aktivität der Konjugate hat. In einer vergleichenden Studie entdeckte die Gruppe von Vicent, dass die

Verwendung eines kleinen, flexiblen Glycin-Linkers für die Konjugation von Arzneimitteln zu einer höheren In-vivo-Aktivität führt als die direkte Anbringung oder die Verwendung eines sperrigeren Linkers. Zurückzuführen ist dieser Effekt auf die Wirkung des Linkers auf die Freisetzungskinetik, die Größe, die Sekundärstruktur und die interne Anordnung der Konjugate.^[100] OpaxioTM und CT-2106^[101] sind PGA-Wirkstoffkonjugate, die derzeit für die Krebsbehandlung untersucht werden und bei denen Paclitaxel und Camptothecin über Esterbindungen verbunden sind. OpaxioTM, auch bekannt als CT-2103, Xyotax und Paclitaxel Poliglumex, ist ein von CTI BioPharma entwickeltes PGA-Paclitaxel-Konjugat. Präklinische Studien zeigten Stabilität im Blutkreislauf, geringere Toxizität und höhere Tumorkumulation als herkömmliches Paclitaxel. OpaxioTM enthält 37 Gew.-% Paclitaxel, das an ein Polymer gebunden ist, das unter Spaltung durch Cathepsin B Diglutamyl-Paclitaxel freisetzen kann.^[102] Das Konjugat wurde in klinischen Studien der Phase III zur Behandlung von Eierstock- und Lungenkrebs getestet, aber nicht für den Markt freigegeben, da Paclitaxel Poliglumex bei einer Dosis von 210 mg m⁻² Neurotoxizität verursachte.^[103]

2.3. Dendrimer-Wirkstoff-Konjugate

Im Gegensatz zu linearen Polymeren sind Dendrimere eine Klasse von Makromolekülen, die sich durch eine stark verzweigte und gut definierte Architektur auszeichnen. Die Bestandteile eines Dendrimers sind (i) ein Initiator, (ii) Generationen sich wiederholender Einheiten, die außerhalb dieses inneren Kerns angebracht sind, und (iii) endständige funktionelle Gruppen an der äußersten Generation.^[104] Dendrimere haben aufgrund ihrer kugelförmigen Struktur, ihrer hohen Funktionalität und ihrer kontrollierten Größe (1–15 nm) ein großes Potenzial für den Wirkstofftransport, da sie schnell von Zellen aufgenommen werden und biologische Barrieren durchdringen, zielgerichtet wirken und die Löslichkeit hydrophober Arzneimittel erhöhen können.^[105] Die einzigen dendritischen Systeme, die in die klinische Erprobung und auf den Markt gekommen sind, sind jedoch Poly-L-Lysin-Dendrimere (PLL) und Derivate (www.starpharma.com; Tabelle 3). Dennoch zeigt das Dendrimer Polyamidoamin (PAMAM) ebenfalls großes Potenzial für die Anwendung in Dendrimer-Wirkstoff-Konjugat-Systemen. Die Stabilität des PAMAM-Dendrimers kann jedoch beeinträchtigt werden, da es bei hoher Temperatur oder hohem pH-Wert, die während der Synthese erforderlich sein können,

Retro-Michael-Reaktionen (β -Eliminierungen) durchlaufen kann.^[106]

2.3.1. Dendritisches Poly-L-Lysin (PLL)

DEP[®] Docetaxel ist in den klinischen Studien unter den Dendrimer-Wirkstoff-Konjugaten bisher am weitesten fortgeschritten und befindet sich derzeit in Phase II (EudraCT-Nummer: 2016-000877-19). In Studien hat sich gezeigt, dass DEP[®] Docetaxel weniger Neutropenie und geringere Toxizität der Hilfsstoffe verursacht als Taxotere[®].^[107] Das erste vermarktete Dendrimer von Starpharma ist SPL7013 (Vivagel[®]), ein therapeutisches Dendrimer zur Prävention von Infektionen durch HIV und Herpes-Simplex-Virus (HSV). SPL7013 ist ein PLL-Dendrimer der vierten Generation, das einen divalenten Benzhydrolaminkern (BHA) und 32 Naphthalindisulfonsäuregruppen an der Oberfläche enthält und ein Molekulargewicht von 16.581 kDa aufweist.^[108] Die Endgruppen verleihen der dendritischen Oberfläche eine hohe anionische Ladung und Hydrophobie.^[109] SPL7013 hat In-vitro-Aktivität gegen HIV-1-Kladen und HIV-2 gezeigt, indem es die Anhaftung und Zelleintritt von Viren hemmt. SPL7013 hat auch eine geringe Toxizität bei Zelllinien von Gebärmutterhals- und Dickdarmepithelzellen gezeigt und stört die interzellulären "Tight Junctions" polarisierter Epithelzellen nicht.^[110]

Patterson et al. berichteten über ein Dendrimer-Wirkstoff-Konjugat, bei dem AZD4320 chemisch an die freien Lysine eines PEGylierten Poly-L-Lysin-Dendrimers der fünften Generation mit Glutarat, Thioldiglycolat und Diglycolat als chemische Linker konjugiert wurde (Abbildung 3). Das Molekulargewicht des Dendrimers lag bei etwa 105 kDa, und seine Beladung wurde mit 24–30 Gew.-% (25–42 AZD4320-Moleküle) angegeben. Die Löslichkeit in Wasser war höher als 100 mg mL⁻¹, und es wies einen hydrodynamischen Durchmesser von etwa 10 nm (PDI < 0.2, PDI = Polydispersitätsindex) auf.^[111] AZD4320-Dendrimer-Konjugate erhöhten die Löslichkeit des Wirkstoffs deutlich, was die intravenöse Darreichung erleichtern würde. AZD4320 ist ein potenter dualer Bcl-2/Bcl-xL-Inhibitor, der eine gute Wirksamkeit gezeigt hat, jedoch hat seine kardiovaskuläre Toxizität seine klinische Entwicklung als eigenständiges Medikament verhindert. Das Dendrimer-Wirkstoff-Konjugat hat in präklinischen Modellen Wirksamkeit und kardiovaskuläre Verträglichkeit gezeigt, so dass es in die klinische Entwicklung voranschreiten konnte.^[111]

Tabelle 3: Übersicht an Dendrimer-Wirkstoff-Konjugaten.

Markenname	API	Dendritische Struktur	Indikation	Versuchsphase	Entwickler
Vivagel [®]	–	PEGyliertes PLL	Antivirale Aktivität	Vermarktet	Starpharma
DEP [®] docetaxel	Docetaxel	PEGyliertes PLL	Lungen-, Prostatakarzinom	II	Starpharma
DEP [®] CABAZITAXEL	Cabazitaxel	PEGyliertes PLL	Prostata-, Ovarialkarzinom	I/II	Starpharma
DEP [®] IRINOTECAN	Irinotecan	PEGyliertes PLL	Kolorektales oder Pankreaskarzinom	I/II	Starpharma
AZD0466	AZD4320	PEGyliertes PLL	Dualer Bcl2/xL-Inhibitor	II	Starpharma/AstraZeneca
DEP [®] GEMCITABINE	Gemcitabin	PEGyliertes PLL	Pankreas-, Lungenkarzinom	Präklinisch	Starpharma

ten geführt hat, die die wichtigsten Einschränkungen dieser Systeme angehen.^[116] Eine dieser Herausforderungen ist die Nichtabbaubarkeit eines für diese Anwendung häufig verwendeten Polymers. Dieses Problem hat in jüngster Zeit zu Versuchen inspiriert, abbaubare Polymere zu synthetisieren, indem spaltbare Gruppen in das Polymerrückgrat miteingebracht werden.^[117] Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Wirkstoffbelastung, die durch die Verwendung stark verzweigter Polymere und von Dendrimeren als multifunktionelle Plattformen angegangen wurde. Dies ist eine Rolle, in der sich diese dendritischen Polymere als Alternative zu difunktionalen linearen Polymeren wie PEG auszeichnen.^[111] Dies gilt auch für ladungsschaltbare PDCs, deren Ladung im Tumorgewebe von negativ zu positiv übergeht und die somit den transendothelialen und transzellulären Transport des Wirkstoffs ermöglichen.^[118]

3. Supramolekulare Wirkstofftransportsysteme

In den bisherigen Abschnitten wurden verschiedene polymerbasierte Bausteine für den Transport von Wirkstoffen beschrieben. Je nach Anwendung werden Träger mit einer großen funktionellen Oberfläche, abstimmbaren physikalisch-chemischen und mechanischen Eigenschaften benötigt, um eine effiziente Abschirmung, einen effizienten Transport und eine effiziente Freisetzung der empfindlichen Ladung zu gewährleisten. Hierfür wurde eine breite Palette an Nanotransportern unterschiedlicher Größen, Architekturen und Oberflächeneigenschaften entwickelt. Zu diesen zählen unimolekulare und polymere Micellen sowie Liposomen und Polymersomen (Abbildung 4).

3.1. Unimolekulare Micellen

Unimolekulare Systeme sind Einzelmolekülmicellen mit kovalent gebundenen Kompartimenten, d. h. Kern und Schale, mit unterschiedlicher Architektur wie z. B. Dendrimere, dendrimerartige Sternpolymere, hyperververzweigte sowie dendronisierte Polymere.^[119] Unimolekulare Systeme haben auf dem Gebiet der gezielten Wirkstoffabgabe an Popularität

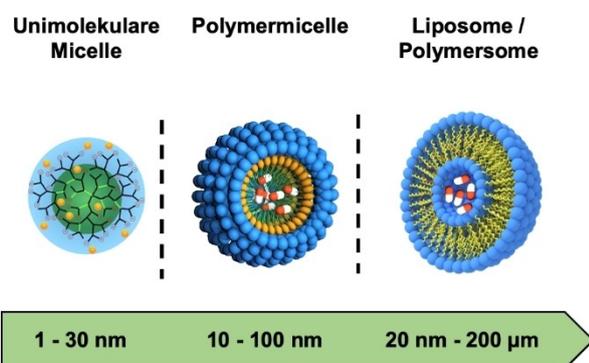


Abbildung 4. Architekturen und Kategorien supramolekularer Wirkstofftransportsysteme.

gewonnen, da sie eine ausgezeichnete Stabilität gegenüber Veränderungen in der Mikroumgebung wie Temperatur, pH und Ionenstärke aufweisen (Abbildung 5).^[120]

Eine unimolekulare Micelle ist ein supramolekulares Wirkstoffabgabesystem, bei dem ein Gastmolekül durch multivalente Wechselwirkungen physikalisch in dem System eingekapselt ist und nicht monovalent kovalent gebunden ist. Die inneren Hohlräume und Oberflächenfunktionalitäten dendritischer Systeme machen sie zu guten Kandidaten für die Darreichung von Arzneimitteln. Je nach strukturellen Eigenschaften kann das Arzneimittel durch nicht-kovalente Wechselwirkungen entweder in den inneren Hohlräumen des dendritischen Kerns (d. h. Endorezeptoren)^[121] oder auf der multivalenten Oberfläche (d. h. Exorezeptoren) verkapselt werden.^[122]

Eines der frühesten Beispiele für die physikalische Wechselwirkung zwischen Dendrimer und Gast ist als "dendritische Box" bekannt und wurde von Meijer vorgeschlagen.^[121] Eine modifizierte Oberfläche von G5-PPI-Dendrimeren mit Boc-geschütztem Phenylalanin war in der Lage, Gastmoleküle unterschiedlicher Größe einzukapseln. Bei diesem Modell hingen die Wechselwirkungen von der Größe des Gastmoleküls und den Hohlräumen des Dendrimers ab.^[123] Der Nachteil dieser unimolekularen Micelle ist jedoch ihre schlechte Wasserlöslichkeit, da sie für organische Lösungsmittel konzipiert wurde.

Die Bindung des Gastes an den Dendrimerkern kann auch über hydrophobe, elektrostatische Wechselwirkungen oder Wasserstoffbrücken erfolgen. Fréchet et al. berichteten über eine unimolekulare Micelle, die ein dendritisches Netzwerk aus Polyarylethern mit Carboxylatgruppen an der Oberfläche ist. Das System zeigte die Fähigkeit, Pyren, ein unpolares Molekül, in Wasser zu lösen.^[124] In diesem Fall war die Konzentration der Dendrimere proportional zum gelösten Pyren, und die Wirt-Gast-Wechselwirkungen wurden durch π - π -Wechselwirkungen zwischen dem elektronenreichen Arylether und dem aromatischen Gastmolekül vermittelt.^[125] Michell und Mitarbeiter entwickelten einen

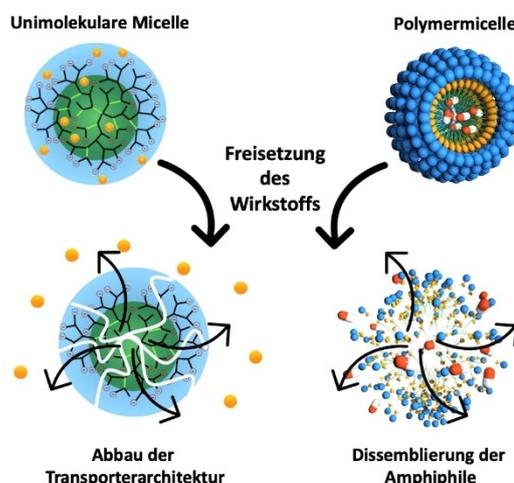


Abbildung 5. Das unterschiedliche Verhalten von unimolekularen und Polymermicellen bei Abbau und Wirkstofffreisetzung.

Ansatz zur Verkapselung saurer aromatischer antibakterieller Verbindungen, die auf einen niedrigeren pH-Wert reagierten. Diese Dendrimere basieren auf PAMAM, indem die Amine an der Oberfläche mit einem Glycerin-Derivat modifiziert wurden, was zu einem wasserlöslichen System führt. Es wird angenommen, dass der Wirt-Gast-Komplex durch Säure-Base-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem inneren tertiären Aminkern und dem sauren Substrat gebildet wird. Tabelle 4 gibt einen Überblick über einige der fortgeschrittenen unimolekularen Wirkstofftransportsysteme.

Imdendrim ist eine von der Französischen Gesellschaft zur Förderung der medizinischen Forschung entwickeltes Wirkstofftransportsystem, das derzeit klinische Studien unterläuft (NCT03255343). Belhadj-Tahar et al. schlugen dieses Poly-L-Lysin-Dendrimer der fünften Generation, das mit "Nitroimidazol-Methyl-1,2,3-Triazol-Methyl-Di(2-pycolyl)amin" 2x Methylen statt Methyl gemischt und mit einem [188re]Rhenium-Nitroimidazol-Liganden beladen ist, als In-situ-Krebsbehandlung für solide Tumoren vor, die auf herkömmliche Therapien nicht ansprechen.^[126] Ziel der Versuche ist es, die Wirksamkeit und Sicherheit des Systems zur Darreichung von Arzneimitteln nach der In-situ-Einführung zu bewerten und es mit herkömmlichen Methoden zur Behandlung von Leberkrebs zu vergleichen. Vorläufige Ergebnisse zeigten die Sicherheit und Effizienz von Imdendrim, nachdem ein Patient, bei dem ein Adenokarzinom des absteigenden Dickdarms im Stadium IV diagnostiziert wurde, 50 mCi des Medikaments erhalten hatte. Der Patient wurde 1 Woche nach der Behandlung entlassen und regelmäßig nachbeobachtet. Nach 30 Tagen wies der Patient einen standardisierten Uptake-Wert (SUV) von 1.7 auf (Verhältnis vor/nach der Behandlung) und hat damit gut auf die Therapie angesprochen.^[126]

Obwohl kein anderes unimolekulares Micellensystem klinische Studien erreicht hat, haben mehrere Systeme ihre Wirksamkeit in vivo bewiesen. Brooks et al. entwickelten unimolekulare Micellen auf der Basis von Derivaten hyperverzweigter Polyglycerine,^[127] Brut et al. verkapselten Paclitaxel als mukoadhäsiven Wirkstoff gegen nicht-muskelinvasiven Blasenkrebs in einem unimolekularen System.^[128] Der Wirkstoff wurde mit der Methode der Lösungsmittelverdampfung verkapselt und in vivo an Nacktmäusen mit orthotopen KU7-luc-Tumoren getestet. Die Ergebnisse zeigten, dass das unimolekulare System nicht nur in vivo gut verträglich war, sondern auch bei der Verringerung des orthotopen Tumorwachstums deutlich wirksamer war als das freie Arzneimittel.^[128]

Andererseits berichteten Guo et al. über ein unimolekulares Micellensystem, das aus einem einzelnen mehrarmigen amphiphilen Block-Copolymer aus Poly(amidoamin)-Poly(valerolacton)-Poly(ethylenglycol) gebildet wurde, um das Glaukom zu bekämpfen. Dies ist eine häufige Erblindungskrankheit, die durch den Verlust von retinalen Ganglienzellen (RGCs) gekennzeichnet ist. Die unimolekularen Micellen wurden sowohl mit der Cholera-Toxin-B-Domäne (CTB) konjugiert, um die RGCs anzusprechen, als auch mit dem Farbstoff Cy5.5, um das System zu verfolgen. Das System wurde außerdem mit dem S1R-Agonisten Dehydro-

Tabelle 4: Überblick über unimolekulare Arzneimittelabgabesysteme.

API	Polymerstruktur	Polymerarchitektur	Anwendung	Versuchsphase	Entwickler	Quelle
Rhenium-188-Komplex	Polylysin-PEI-CT8-hPG und hPG-CT10-PEG	Dendrimer	Therapie von Leberkrebs	I	Yang et al.	[126]
Paclitaxel	PAMAM-PVL	Derivatisierte hyperverzweigte Polyglycerine	Intravasikale Therapie von Blasenkrebs	-	Burt et al.	[128]
Dehydroepiandrosteron (DHEA)	PEG-Cy5.5/CTB	Mehrrarmiges Block-Copolymer	Verlust von Ganglienzellen der Netzhaut (Glaukom)	-	Guo et al.	[129]
1,2-Diaminocyclohexanplatin(II)	PAM-PIIub-PEG	Mehrrarmiges Block-Copolymer	Therapie von Lungenkrebs	-	Mei et al.	[130]
AB3	PAMAM-PVL-PEG-OCH3/Cy5/KE108	Mehrrarmiges Block-Copolymer	Therapie von medullärem Schilddrüsenkrebs	-	Chen et al.	[131]
Thalidapsin-A	H40-PLA-PEG-OCT	Mehrrarmiges Block-Copolymer	Neuroendokrine Krebstherapie	-	Chen et al.	[132]
Doxorubicin	β-CD-(PCLPAEMA-PPEGMA)21	21-armiges sternförmiges Triblock-Polymer	Tumorthherapie	-	Zhang et al.	[133]
Sunitinib	hPG-PCL sulfates	Sulfatierte hyperverzweigte Polyglycerine	Anti-Tumor-Wirkung	-	Haag et al.	[134]

epiandrosteron (DHEA) verkapselt, um den RGC-schützenden Sigma-1-Rezeptor (S1R) zu nutzen. Das Wirkstofftransportsystem wurde dann intraokular in Mäuse injiziert, wo es sich nachweislich in der RGC-Schicht anreicherte und diese mindestens 14 Tage lang schützte.^[129]

Mei et al. berichteten über die längere Halbwertszeit und Stabilität einer unimolekularen Micelle im Vergleich zu ihrer äquivalenten Diblock-Copolymer-Micelle. Diese unimolekulare Micelle besteht aus einem hydrophilen, biologisch abbaubaren, PEGylierten dendritischen Block-Copolymer (Generation-3-PAMAM, Polyglutaminsäure).^[130]

Chen et al. haben ebenfalls zwei Systeme entwickelt, die in vivo große Stabilität und vielversprechende Ergebnisse zeigten. Ihr erstes unimolekulares System wurde aus einem hyperverzweigten Kern (Boltorn® H40) und etwa 25 amphiphilen Poly(lactid-Poly(ethylenglycol)-Blockcopolymerarmen (H40-PLA-PEG) gebildet. Das System wurde weiter funktionalisiert, um Somatostatin-Rezeptoren in neuroendokrinen (NE) Krebsarten anzusprechen. Anschließend wurde Thailandepsin-A (TDP-A) in das System eingekapselt und an Nacktmäusen, die NE-Krebs trugen, getestet. In-vivo-Studien zeigten, dass die unimolekularen Micellen im Vergleich zu TDP-A allein eine größere krebshemmende Wirkung haben.^[131] Die zweite unimolekulare Micelle wurde zur Bekämpfung von medullärem Schilddrüsenkrebs (MTC) entwickelt. Sie wurde verwendet, um einen Wirkstoff (AB3) zu verkapseln, der MTC wirksam hemmen kann, aber unter schlechter Wasserlöslichkeit und Stabilität leidet und schnell aus dem Körper ausgeschieden wird, so dass er nicht in der Lage ist, auf Tumoren zu wirken.^[132]

Die von Zhang et al. entwickelte unimolekulare Micelle, die aus einem multifunktionalen Nanotransporter für die gezielte Ausrichtung gegen krankes Gewebe besteht und die kontrollierte Freisetzung ermöglicht, kann auch als bildgebendes Mittel sowohl für die Diagnostik als auch für die gezielte Therapie eingesetzt werden. Das System besteht aus einem 21-armigen sternförmigen Triblock-Polymer aus β -CD-PCL-(PAEMA-PPEGMA)₂₁. Die Synthese erfolgte mittels ROP- und ATRP-Techniken, und die resultierenden unimolekularen Micellen zeigten eine hohe kolloidale Stabilität. Sie verkapselten erfolgreich 60 % der Ausgangsmenge an Doxorubicin (DOX).^[133]

Kürzlich berichtete unsere Gruppe über die Synthese eines unimolekularen Wirkstofftransportsystems im 100-Gramm-Maßstab, das auf biologisch abbaubaren Polyglycerinsulfaten basiert. Die biologische Abbaubarkeit beruht auf den Caprolacton-Einheiten, die in das Polymergrundgerüst der hyperverzweigten Struktur integriert sind.^[134] Die katalysierte Synthese wurde im 100-Gramm-Maßstab durchgeführt. Das System erhöhte nachweislich die Löslichkeit von Sunitinib, einem multizentrischen Rezeptor-Tyrosinkinase-Inhibitor, der von der FDA für die Behandlung von Nierenzellkarzinomen und Imatinib-resistenten gastrointestinalen Stromatumoren zugelassen wurde. Dieses unimolekulare System zeigte eine überlegene Leistung, als es an Mäusen gegen ein A431-Tumor-Xenograft-Modell getestet wurde.^[134,135]

3.2. Micellen und Polymericellen

Taxol® ist eine von der FDA 1992 zugelassene Formulierung von Paclitaxel mit Cremophor EL®, die auf einem selbstorganisiertem micellarem Transportsystem basiert. Taxol® wird häufig zur Behandlung von Eierstock- und Brustkrebs eingesetzt. Die hohe Hydrophobie der meisten Chemotherapeutika erfordert eine tropfenweise intravenöse Injektion über mehrere Stunden. Während der Infusion laugen die Hilfsstoffe in der Formulierung die Weichmacher aus den Röhrchen aus, was die Eigenschaften des Materials verändert und unerwünschte Nebenreaktionen hervorruft.^[136] Darüber hinaus werden Lösungsverstärker mit Toxizität und allergischen Reaktionen bei Patienten in Verbindung gebracht.^[137] Obwohl Cremophor EL® und Tween® 80 Amphiphile sind, zerfallen sie sofort nach der Injektion, was zu einer schnellen Ausscheidung aus dem Blutkreislauf führt und eine hohe Arzneimittelakkumulation im gesunden Gewebe verursacht. Eine Möglichkeit, dieses Problem zu lösen, besteht darin, niedermolekulare Tenside durch polymere Tenside zu ersetzen. Aufgrund der höheren Grenzflächenenergie, die sich aus den größeren unlöslichen Polymersegmenten ergibt, ist die In-vivo-Stabilität von Polymericellen deutlich höher als die von niedermolekularen Tensiden. Dies verlängert die Zirkulationszeiten, erhöht die Halbwertszeit von Arzneimitteln und verbessert die Akkumulation, z. B. bei Krebstherapeutika in Tumoren. Darüber hinaus können polymere Micellen die erforderlichen therapeutischen Dosen und Darreichungsintervalle wirksam reduzieren. Die Verweildauer der intravenös injizierten Partikel wird durch den fehlenden Lymphabfluss verlängert.^{[165][138]} Micellen haben einen dynamischeren Charakter als nanoskalige Wirkstofffreisetzungssysteme, bei denen es sich meist um "statische" Systeme wie die in Abschnitt 2 beschriebenen Polymerkonjugate handelt. Folglich können sie ihre Ladung am Zielort leichter freisetzen als Polymer-Wirkstoff-Konjugate. Diese Dynamik kann jedoch auch unerwünschte Auslaugvorgänge begünstigen. Micellen in Aggregation befinden sich immer in einem Gleichgewicht zwischen freien Unimern und gebildeten Micellen, das durch die kritische Micellenkonzentration (CMC) gesteuert wird.

Die Stabilität der Polymericellen, ein entscheidender Faktor für die Zirkulationsdauer der injizierten Partikel, kann durch Variation der Kettenlänge und der Dichte des hydrophilen, schalenbildenden Polymers gesteuert werden.^[139] Außerdem zirkulieren größere Polymerpartikel länger im Blut als kleinere.^[140] Je länger die Zirkulationsdauer im Blutkreislauf ist, desto höher ist die Anreicherung im Tumorgewebe, die durch den EPR-Effekt bestimmt wird. Die Reaktion der injizierten Partikel auf ihre biologische Umgebung ist jedoch eine noch weitgehend ungelöste Frage:^[141] Es hat sich gezeigt, dass die Bildung einer biomolekularen Schicht um die injizierten Partikel ihre pharmakokinetischen Eigenschaften verändert,^[142] ihre Stabilität beeinträchtigt^[143] und ihre äußere Zusammensetzung beeinflusst.^[144] Die Oberflächenladung der Partikel bestimmt ihre Fähigkeit, die Zellmembranen zu durchdringen, und ihre Internalisierung in das Zytosol.^[145] Negativ geladene Partikel

weisen eine längere Zirkulationszeit auf, während positiv geladene Partikel schnell in der Milz und der Leber sequestriert werden.^[146] Nach der Internalisierung in das Zytosol kann die Freisetzung eines Arzneimittels selektiv durch die Aktivierung Stimuli-sensitiver Bindungen innerhalb der Polymerstruktur ausgelöst werden.^[147] Es wurde auch festgestellt, dass die Arzneimittelbeladung von Polymereicellen ihre Form und Konformation beeinflussen und die biologische Reaktion, die sie auslösen, verändern kann.^[148] Eine große Herausforderung bei der Entwicklung von Blockcopolymer-Micellen für biomedizinische Anwendungen ist das Zusammenspiel dieser vielfältigen Faktoren, die die pharmazeutische Wirksamkeit des Systems beeinflussen. Die Charakterisierung und Bewertung von polymeren Micellen ist ein zentraler Punkt bei ihrer Entwicklung.^[149] Als Faustregel gilt, dass für die Umsetzung micellarer Systeme in klinische Anwendungen die folgenden Kriterien erfüllt sein müssen: (i) die selbstorganisierten Systeme müssen im Gleichgewicht sein, und die Verdünnung bei der Injektion darf nicht zu einer schnellen Desaggregation führen; (ii) das Transportsystem muss seine Ladung an den Wirkort bringen, ohne dass sie in den Blutkreislauf gelangt; (iii) sobald der beladene Träger seinen Bestimmungsort erreicht hat, muss das Arzneimittel selektiv freigesetzt werden, und (iv) unspezifische Wechselwirkungen mit dem retikuloendothelialen System (RES) und anderen Systemen im Körper müssen vermieden werden.

Für die Synthese von amphiphilen Blockcopolymeren wurden zwei häufig verwendete Verfahren entwickelt. Der

einfachere Weg ist die Verwendung von mPEG-OH oder mPEG-NH₂ als Makroinitiator für die Polymerisation von zyklischen Monomeren wie Lactid, Glycolid, Caprolacton, NCAs oder Monomeren auf Epoxidbasis (Abbildung 6). Da dieser Ansatz auf zyklische Monomere beschränkt ist, wurde eine andere Strategie angewandt, um funktionelle Blockcopolymere aus vinylhaltigen Monomeren zu erzeugen. Bei diesem Verfahren wird mPEG-OH an ABCPA gekoppelt, was zu einem bifunktionalen mPEG₂-ABCPA-Azoinitiator führt, der für radikalische Polymerisationen von meist HPMA-basierten Monomeren verwendet wird. Neben dem Zugang dieses Ansatzes zu funktionellen Blockcopolymeren besteht das Problem der Abtrennung freier Homopolymere als Hauptkriterium für Wirkstoffe in ihrer hohen Reinheit, die mit Reinigungsmethoden wie Fällung, Dialyse oder Größenausschluss nur schwer zu erreichen ist. In den 1990er Jahren entwickelte die Gruppe von Kabanov A-B-A-Dreiblock-DOX-beladene Pluronic[®]-Micellen auf der Basis von PEO-*b*-PPO-*b*-PEO (Pluronic F127: EO100-PO65-EO100, Pluronic L61: EO2-PO30-EO2).^[150] Die endgültigen Micellen sind 30 nm groß und enthalten 8.2 Gew.-% DOX. SP1049 C war die erste polymere Micellenformulierung, die 1999 in die klinische Erprobung ging, präklinische Studien mit diesem Wirkstoff hatten eine ähnliche Pharmakokinetik wie DOX gezeigt.^[151] Seine schnelle Dissoziation führte folglich zu einer vergleichbaren Toxizität nach intravenöser Darreichung freier DOX-Formulierungen. SP1049 C wird derzeit in klinischen Versuchen der Phase II zur Behandlung

Synthetischer Ansatz zu Blockcopolymer-Micellen (BCP Micellen)

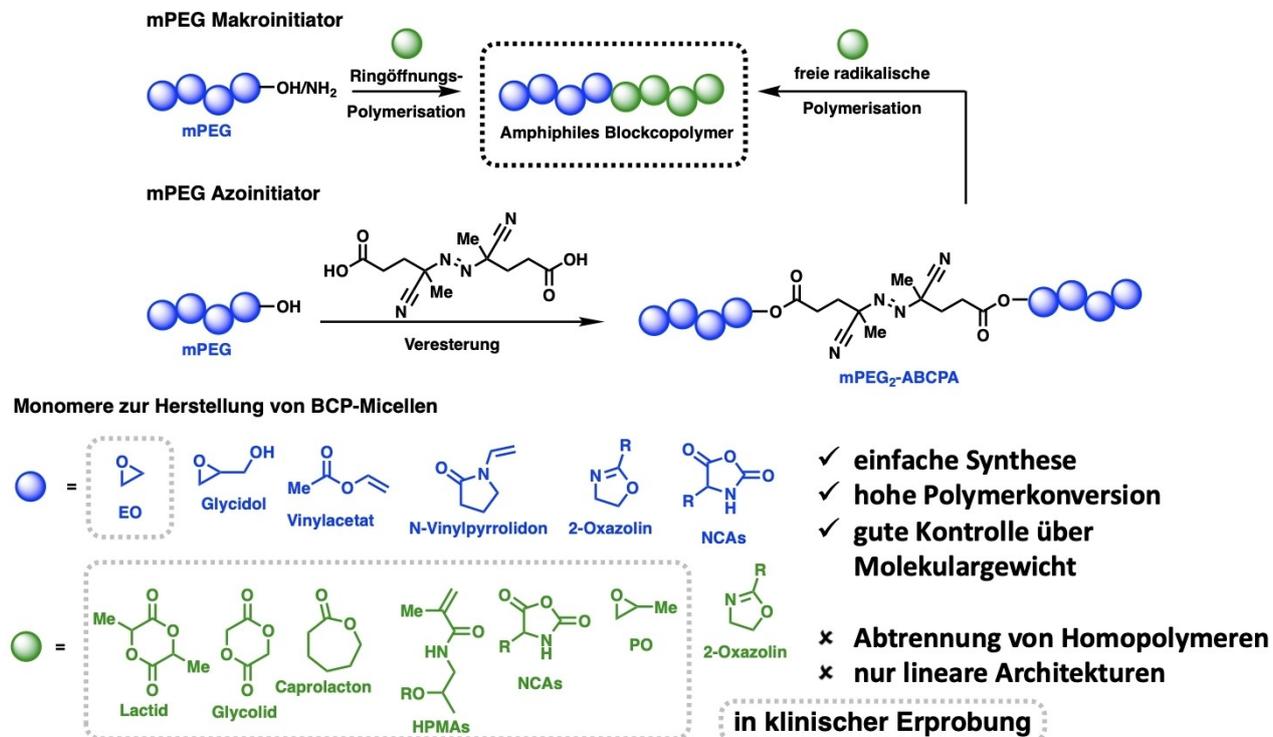


Abbildung 6. Überblick über synthetische Ansätze für amphiphile Blockcopolymere und die am häufigsten verwendeten Monomere.

von multiresistenten Krebserkrankungen untersucht. Seine geringe Stabilität bleibt jedoch ein ungelöster Nachteil.

Etwa zur gleichen Zeit beschrieben Kataoka und Mitarbeiter eines der ersten micellaren A-B-Diblock-Arzneimittelsysteme auf der Grundlage von PEG-*b*-Poly(α,β -Asparaginsäure-DOX)-Blockcopolymeren (NK911).^[152] DOX wurde über Amidbindungen kovalent an das Polymergerüst konjugiert (Abbildung 7). Da die Amidbindung gegenüber Hydrolyse sehr stabil ist, wurde DOX physikalisch in die Micellen geladen. Das konjugierte DOX erhöht die Stabilität der gebildeten Micellen durch π - π -Wechselwirkungen. Es dient auch als Agglomerat, das mit dem geladenen DOX interagiert, was zu einem Trägersystem mit reduzierter CMC, geringem Leaching und verlängerter Zirkulationszeit führt. Die gebildete Micelle hat eine Größe von 40 nm und eine Wirkstoffbeladung von 17 Gew.-% (Wirkstoff/Poly-

mer).^[153] Im Jahr 2001 wurde dieses System in klinischen Studien erprobt, wo seine Untersuchung die Ära der Erforschung von Micellen für den klinischen Einsatz einleitete und den ersten wirklichen Durchbruch auf diesem Gebiet darstellte. In klinischen Studien zeigte dieses System einen höheren Plasmawert (Fläche unter der Kurve oder AUC) als freies DOX. Obwohl NK911 eine geringere Stabilität aufwies, wurden seine kleineren Micellen besser von den Tumorzellen aufgenommen als DOXIL[®] mit einer Liposomengröße von 100–150 nm. Das kovalent an das Polymergerüst konjugierte DOX zeigte keine Antitumoraktivität, was wahrscheinlich auf die sich langsam abbauenden Amidbindungen zurückzuführen ist. Dieser Misserfolg machte deutlich, dass sowohl kohäsive Kräfte im Kern zur Erhöhung der Stabilität der Micellen als auch spaltbare Bindungen im Polymerrückgrat zur Freisetzung des Wirkstoffs zwingend

Chemische Konjugation des Chemotherapeutikums an das Polymerrückgrat

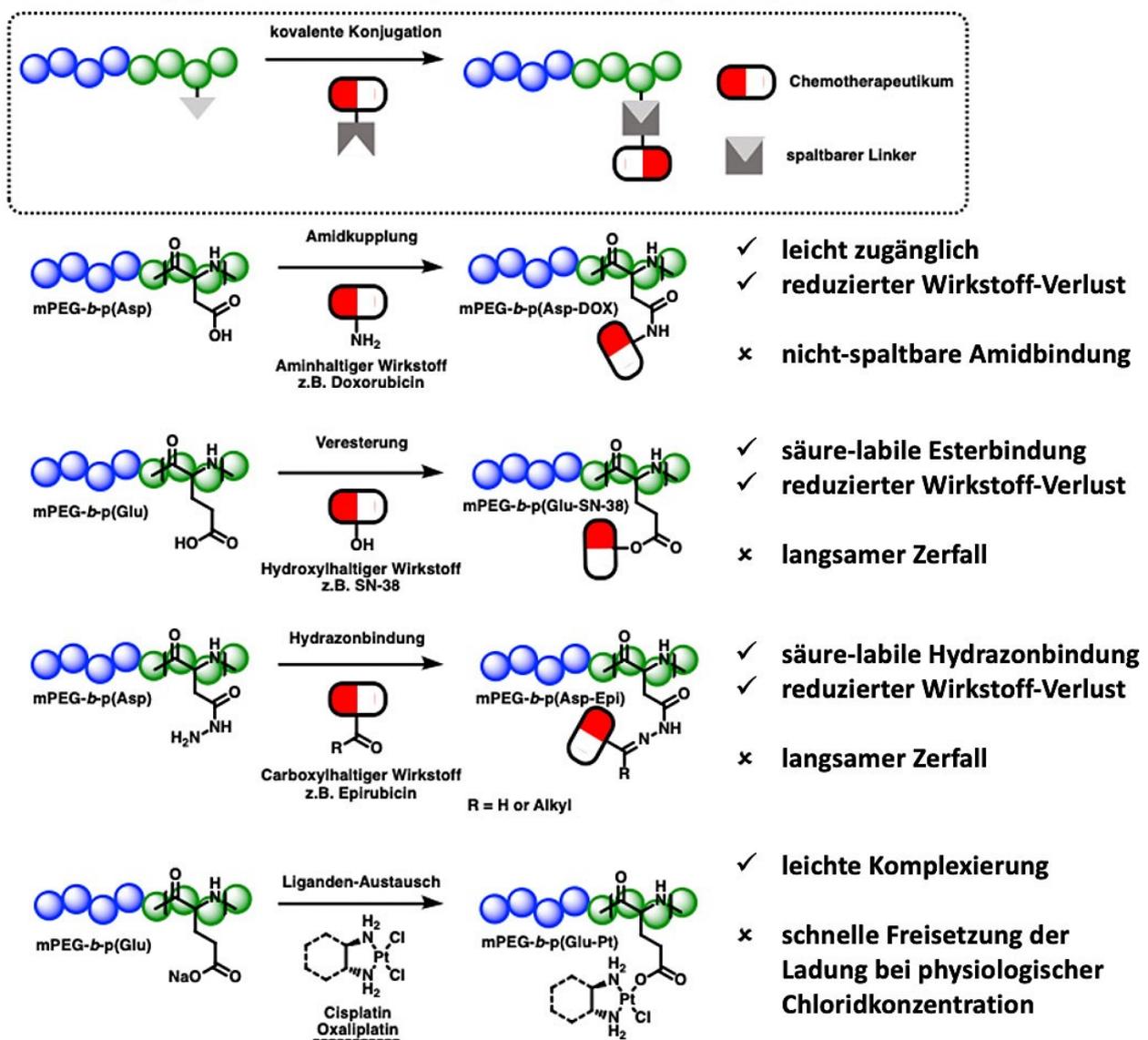


Abbildung 7. Konjugation der Wirkstoffe an Blockcopolymermicellen, die klinische Studien erreicht haben.

erforderlich sind.^[154] So wurde der Wirkstoff in den später entwickelten Systemen entweder durch Hydrazon- oder Esterbindungen kovalent gebunden (siehe NC-6300^[155] und NK012^[156]), wodurch die Systeme in der sauren Umgebung von Krebsgewebe abbaubar wurden. Außerdem wurde das Polymergerüst modifiziert, um die Hydrophobie zu erhöhen, indem aromatische Komponenten in die Polymerstruktur eingeführt wurden (siehe NK105^[157]).

Neben den Entwicklungen auf der Basis von mPEG-*b*-Poly(aminosäure)-Micellen und mPEG-*b*-Poly(HPMA-Lac) wurden weitere Systeme entwickelt, z.B. auf der Basis von Polyethern (Pluronic[®], SP1049 C)^[151b] und mPEG-*b*-Poly(ester) (mPEG-*b*-p(PLA); Genexol[®], Nanoxel[®]).^[158] Bisher sind die einzigen zugelassenen polymeren Micellen Genexol[®] und Nanoxel[®], die beide auf mPEG-*b*-p(PLA) basieren und mit den aus Taxanen gewonnenen Wirkstoffen Paclitaxel und Docetaxel beladen sind. Genexol[®] wurde 2006 in Südkorea zugelassen, während Nanoxel[®] 2007 in die Kliniken kam. Beide Formulierungen sind in ihrer Wirkung als Lösungsverstärker der hydrophoben Arzneimittel vergleichbar, doch aufgrund ihrer geringen In-vivo-Stabilität bietet keines der beiden Arzneimittel eine maßgeschneiderte Freisetzungskinetik oder eine erhöhte Arzneimittelretention.^[159]

Bislang wurden 11 polymere Micellenformulierungen in Arzneimittel umgesetzt, die sich in fortgeschrittenen klinischen Studien befinden. Einige Kandidaten, die derzeit untersucht werden, haben vielversprechende Ergebnisse bei der Behandlung verschiedener Krebsarten gezeigt. Tabelle 5 fasst alle polymeren Micellen zusammen, die klinische Studien erreicht haben und noch aktiv klinisch untersucht werden. Der Weg und der Status aller anderen ausgeschlossenen Systeme wird an anderer Stelle ausführlich erörtert.^[151c, 160]

3.3. Liposomen und Polymersomen

3.3.1. Liposomen

Die Pionierarbeit bei der Entwicklung liposomaler Vesikel für den Transport von Arzneimitteln geht auf die 1970er Jahre zurück, als Gregoriadis das Konzept des Arzneimittelschlusses in Liposomen aufstellte.^[161] Einige Jahre später wurde der erste Nachweis einer verbesserten In-vivo-Aktivität eines liposomalen Arzneimittels in einem Tiermodell erbracht.^[162]

Weitere zwei Jahrzehnte nach Gregoriadis ursprünglichem Konzept hatten die Liposomen ihre anfänglichen Probleme überwunden und zwei Arzneimittelformulierungen wurden zugelassen. Zunächst ermöglichte eine spezielle Hochdruckformulierung das Einbringen des amphiphilen Arzneimittels Amphotericin in die Membran der Liposomen. Diese liposomale Formulierung, AmBisome[®], wird zur Behandlung schwerer Pilzinfektionen mit klinischem Erfolg und geringer Toxizität eingesetzt.^[161b, 163]

Ein weiterer Durchbruch war die Zugabe PEGylierter Lipide,^[16a] die die Zirkulationszeit der Liposomen in vivo verlängern können. Dieser kleine, aber wichtige Lipidzusatz

sorgte für den “Stealth”-Effekt, der das zytotoxische Doxorubicin in ein länger zirkulierendes Antitumormittel mit geringerer Kardiotoxizität verwandelte.^[164] Die ersten klinischen Versuche mit liposomalen Arzneimitteln wurden 1989 durchgeführt, und 1994 wurden die ersten Studien am Menschen durchgeführt, in denen die längere Zirkulation von mit Doxorubicin beladenen PEGylierten Liposomen nachgewiesen wurde.^[164, 165] Seitdem wurden mit PEGylierten Liposomen verschiedene komplexe Formulierungsprobleme gelöst, um die Zirkulationszeit zu verlängern, und sie werden derzeit für die Darreichung von etwa 15 kommerziellen Medikamenten und vielen weiteren in klinischen Studien eingesetzt. Eine Reihe von Anpassungen der Lipidformulierungen (z.B. kationische Lipide für RNA und DNA) sowie weitere Innovationen haben zu dem Erfolg beigetragen, der Alnylam dazu veranlasste, sie für die Darreichung von siRNA in einer klinischen Studie in Betracht zu ziehen.^[166] Die von Arbutus Biopharma für Moderna und BioNTech/Pfizer entwickelten Technologien für COVID-19-Impfstoffe haben während der aktuellen Pandemie viele Tausende von Menschenleben gerettet, und sie werden derzeit an andere ungelöste Vakzinierungsansätze wie Malaria- und Tumorimpfungen angepasst.^{[167][168]}

3.3.2. Polymersomen

Die Lipidmembranen von Liposomen begrenzen jedoch ihre mechanische und thermische Stabilität, ein Nachteil, der durch ihre polymeren Analoga überwunden wurde. Der Begriff “Polymersom” bezieht sich auf synthetische Vesikel, die aus einer hydrophoben Doppelschichtmembran und einem wässrigen Lumen bestehen. In den Jahrzehnten seit der Bildung des ersten Polymersoms^[21] und der Beobachtung von sechs verschiedenen Morphologien^[169] in den 1990er Jahren haben umfangreiche Untersuchungen dieser Vesikel als Träger für eine breite Palette von therapeutischen Arzneimitteln, Enzymen, Peptiden und Nukleotiden zunehmendes Interesse geweckt. Im Gegensatz zu Polymermicellen können Polymersomen hydrophile Substanzen in einem wässrigen Inneren und hydrophobe Verbindungen innerhalb der Membran einkapseln. Polymersomen werden aus amphiphilen Blockcopolymeren in verschiedenen Architekturen durch Selbstorganisation gebildet. Da die Polymerketten individuell angepasst werden können, lassen sich Größe,^[170] Morphologie^[171] und Stimuli-Responsivität^[172] der Polymersomen durch Einstellung des Molekulargewichts^[173] des Blockcopolymeren und durch Modifizierung der Membranstruktur weiter abstimmen. Im Vergleich zu Liposomen mit reproduzierten biologischen Lipiden weisen Polymersomen eine kompakte Membran mit verbesserter Dicke, mechanischer Stabilität und chemischer Vielfalt auf. Polymersomen, die aus einem PEG-Block bestehen, haben aufgrund ihrer verlängerten Zirkulationszeit im Blut und ihrer geringen Off-Target-Akkumulation ein großes Potenzial gezeigt, was insbesondere auf Stabilitätsverbesserungen durch die reversible Vernetzung der Polymerdoppelschichten zurückzuführen ist.^[174] Darüber hinaus kann ihre äußere Oberfläche leicht durch Targeting-Liganden modifiziert

Tabelle 5: Überblick über Arzneimittelformulierungen mit Polymermicellen, die in klinischen Studien getestet wurden. Quelle: <https://clinicaltrials.gov> (abgerufen am 27. 04. 2022).

Markenname/API	Polymerstruktur	Art der Medikamentenbeladung	Studienphase/ NCT-Nummer	Indikation	Entwickler
NK012	7-Ethyl-10-hydroxy-CPT (SN-38)	mPEG-b-p(Clu-SN-38) Kovalente Esterbindung	Abgeschlossene Phase II eNCT00951054	Dreifach-negativer Brustkrebs	Nippon Kayaku, Japan
NC-6300	Epirubicin (4'-Epimer von DOX)	mPEG-b-p(Asp-Epirubicin)(Asp-ben) Kovalente Hydraxonbindung	fortlaufende Phase I/II NCT03168061	Fortgeschrittene solide Tumoren; metastasiertes oder inoperables Weichteilsarkom	NanoCarrier, Japan
Nanoxel®	Docetaxel	mPEG-b-p(PLA) Physikalisch durch hydrophobe Wechselwirkung	Zugelassen in Indien (2007)	Verschiedene Krebsarten	Samyang Biopharmaceuticals, Südkorea
Genexo®	Paclitaxel	mPEG-b-p(PLA) Physikalisch durch hydrophobe Wechselwirkung	Zugelassen in Südkorea (2006)	Metastasierender Brustkrebs	Samyang Biopharmaceuticals, Südkorea
SPT049 C	Doxorubicin	PEO-b-PPO-b-PEO, Pluronic® F127: EO100-PO65-EO100, L61: EO2-PO30-EO2 Physikalisch durch hydrophobe Wechselwirkung	Abgeschlossene Phase II Nicht auf clinicaltrials.gov aufgeführt	Abgeschlossene Phase II karzinome	Supratek Pharma, Kanada
CriPec634	Docetaxel derivatisiert mit Methacrylat	mPEG-b-p(HPMAM-Lac) Kern-quervernetzte Micellen mit chemisch gebundenem Wirkstoff	Abgeschlossene Phase II NCT03742713	Platinresistentes Ovarialkarzinom	Cristal Therapeutics, Niederlande

werden,^[175] und es wurde über eine wachsende Zahl von Studien zu Polymersomen berichtet, die so gestaltet sind, dass sie auf verschiedene Stimuli reagieren.^[176]

In Anbetracht des erheblichen Einflusses der Polymer-somgröße auf die Effizienz der intrazellulären Aufnahme wurden in den letzten Jahrzehnten zahlreiche Strategien zur Steuerung ihrer Größe entwickelt. Im Allgemeinen hängt die Größe eines Polymersoms von den Packungsparametern seiner amphiphilen Polymerketten während der Selbstorganisation in der Wasserphase ab.^[177] Zu den Möglichkeiten, die zur Kontrolle der Größe erforscht wurden, gehören die Länge der Polymerketten, die Mischungsrate des organischen Lösungsmittels mit der Wasserphase und die Prozesse nach der Extrusion und Ultraschallbehandlung. Die Korrelation zwischen der Morphologie der Aggregate und der Geometrie der BCPs wurde erstmals von Ahmed und Mitarbeitern festgestellt.^[178] Sowohl die Größe als auch die Morphologie der aus BCPs gebildeten Vesikel werden entscheidend durch die Masse oder den Volumenanteil des hydrophilen Blocks in BCPs (fA) bestimmt. In selbstorganisierten Systemen, die aus PEG mit hoher hydrophiler Wechselwirkung bestehen, wird die Vesikelstruktur beispielsweise optimiert, wenn der fPEG-Anteil im Bereich von 10–40 % liegt,^[179] und der Durchmesser des Polymersomkerns nimmt von 9.6 nm auf 10.6 nm zu, wenn der fPEG-Anteil auf 10 % reduziert wird.^[173] Auch externe Scherkräfte können den Durchmesser eines Polymersoms beeinflussen. Im Gegensatz zu Liposomen besitzen Polymersomen dickere Membranen mit ausgezeichneter mechanischer Leistung und einstellbaren chemischen Eigenschaften. Die große Anzahl biokompatibler Polymere bietet praktisch unbegrenzte Möglichkeiten, die Polymersomen chemisch zu modifizieren, um die Stabilität und Selektivität von Polymersomen zu optimieren und dadurch die Umlaufzeit und Biokompatibilität zu verbessern.

PEGylierte Liposomen, die sowohl elektrostatische als auch hydrophobe Wechselwirkungen mit Proteinen minimieren können, stellen einen Durchbruch in der Entwicklung von Arzneimittelträgern des 20. Jahrhunderts dar.^[180] Im Vergleich zu PEGylierten Liposomen erreichten Polymersomen, die aus PEG ähnlichen Molekulargewichts hergestellt wurden, eine zweifache Verlängerung der Zirkulationszeit auf 20–30 Stunden.^[173] Dennoch müssen die potenziellen immunogenen Aspekte von PEG berücksichtigt werden (siehe Abschnitt 2.1).

Neben der verbesserten Stabilität durch die Einführung einer PEG-Kette weisen Polymersomen, die aus amphiphilen BCPs mit PEG formuliert wurden, auch eine deutlich verbesserte Membranpermeabilität auf. Aufgrund der Diskussion über die verbesserte Membrandurchlässigkeit von PEGylierten Lipiden im Vergleich zu natürlichen Liposomen wurden aus BCPs mit PEG-Blöcken formulierte Vesikel als präzise steuerbare Abgabesysteme für Ladungen wie Arzneimittel, Proteine und Nukleotide entwickelt, obwohl die hydrodynamische Abstoßung durch die PEG-Kette nach wie vor eine geringe Effizienz bei der Verkapselung von Proteinen in Polymersomen darstellt. Zhang und Mitarbeiter berichteten jedoch über Polymersomen, die aus dem Triblock-Copolymer Dextran-*b*-PCL (DEX-*b*-PCL) aufge-

baut sind. Die symmetrische Membran dieses Polymersoms führt zu einer Permeabilisierung und einer synchronisierten Freisetzung des Frachtmoleküls Erythropoietin (EPO).^[181] Die bahnbrechende Studie von Discher und Mitarbeitern über Polymersomen auf der Basis von BCPs wie PEG-PCL, PEG-PLA und PEG-PBD für die siRNA-Freisetzung^[182] bot einen klaren Überblick über die potenzielle Rolle von Polymersomen im Bereich des Transports genetischen Materials. Die Gruppe von Zhong zeigte die Co-Selbstanordnung von cNGQ-Peptid-gesteuerten Polymersomen auf Grundlage des biologisch abbaubaren asymmetrischen Triblock-Copolymers Poly(ethylenglycol)-*b*-Poly(trimethylen-carbonat-*co*-dithiolan-trimethylen-carbonat)-*b*-Polyethylenimin (PEG-P(TMC-DTC)-PEI) und des Diblock-Copolymers cNGQ-PEG-P(TMC-DTC). Darüber hinaus wiesen sie sowohl die effiziente Beladung als auch die Aufnahme von siRNA durch A549-Lungenkrebszellen *in vivo* nach.^[183] Scott konzipierte Stimuli-responsive Polymersomen auf Basis von PEG-PPS für den endozytischen Transport von Antigenproteinen oder TLR-Agonisten an dendritische Zellen, um eine Immunantwort auszulösen. Das Modellantigen Ovalbumin, das eingekapselt und *in vitro* freigesetzt wurde, aktivierte erfolgreich dendritische Zellen aus der Milz und stimulierte das Priming von T-Zellen.^[184]

3.3.3. Stimuli-responsive Polymersomen

Der zuverlässige extrazelluläre pH-Wert des Tumormilieus von 6.5 bis 6.9 im Vergleich zum pH-Wert des Blutes von 7.4 bei normalem Stoffwechsel inspirierte die Entwicklung und Untersuchung von pH-responsiven Polymersomen. Die anhaltende und kontrollierbare Freisetzung von Polymersomen aus PEG-PCL wurde für Freisetzungszeiträume von 20 bis 200 Stunden beobachtet.^[185] Polymersomen mit Bindungen, die als Reaktion auf eine pH-Änderung gespalten werden können, weisen dagegen eine schnelle Freisetzung auf. pH-empfindliche Linker, einschließlich Acetal-, Ester- und Amingruppen, werden in großem Umfang in BCPs eingebaut.

Außerdem bietet die Anhäufung des natürlichen Reduktionsmittels Glutathion in Tumorherden einen entscheidenden Ansatzpunkt für die Konstruktion redox-sensitiver Polymersomen für die Darreichung von Medikamenten. Polymersomen, die aus amphiphilen, durch eine Disulfidbindung verbundenen Blockcopolymeren gebildet werden, zeigen eine schnelle *In-vitro*-Freisetzung von 10 Minuten oder weniger. Durch Reduktion spaltbare Polymersomen, die aus dem Triblock-Copolymer pPEGMA-PCL-SS-PCL-pPEGMA (Poly(polyethylenglycol-methacrylat)-Poly(caprolacton)-SS-Poly(caprolacton)-Poly(polyethylenglycolmethacrylat)) formuliert wurden und mit Folat- und Trastuzumab-Liganden auf der Membran ausgestattet sind, zeigen im Vergleich zu Polymersomen ohne Targeting-Einheit eine wirksame Abgabe von DOX an die Brustkrebszelllinien BT474 und MCF-7. Bei *In-vivo*-Studien an Mäusen wurde eine ca. 85-prozentige Tumorregression ohne signifikante Kardiotoxizität beobachtet, verglichen mit einer nur 40-

prozentigen Tumorchemmung bei der Behandlung mit freiem DOX.^[186]

4. Zukünftige Richtungen für supramolekulare Wirkstoffabgabesysteme

4.1. Anwendung der Kern-vernetzungs-Strategie

Die gezielte In-vivo-Wirkstoffabgabe durch herkömmliche Polymerträger kann aufgrund der ungünstigen Zirkulationskinetik, die eine Anreicherung am Tumorort verhindert, unzureichend sein. Wechselwirkungen mit Blutbestandteilen können zu einer unerwünschten Aggregation oder Disassemblierung der polymeren Wirkstoffträgersysteme führen. So kann beispielsweise die Wechselwirkung zwischen Plasmaproteinen und dem hydrophoben Teil der Micellen die Stabilität des Trägers beeinflussen, indem sie z.B. das empfindliche CMC-Gleichgewicht zwischen Unimern und Micellen stört und so eine schnelle, vorzeitige Freisetzung des eingekapselten Arzneimittels bewirkt. Diese Nachteile können durch eine Erhöhung der Stabilität überwunden werden, die durch Vernetzung der Polymersysteme erreicht wird, um ihr pharmakokinetisches Profil zu verbessern und ihre Zirkulationsleistung in vivo zu optimieren. Noch wichtiger ist, dass das Design der Vernetzungsprozesse eine synchronisierte Stabilisierung und die Beibehaltung der intrinsischen Eigenschaften erfordert. Erste Studien zur physikalischen Stabilisierung und chemischen Vernetzung von Kern, Hülle und Zwischenschichten haben es Forschern ermöglicht, Techniken zu finden, die die Erzeugung stabiler, biologisch abbaubarer Systeme ermöglichen, die ihre therapeutische Ladung am Zielort freisetzen können.

Neben nicht-kovalent vernetzten Micellen (z. B. solche, die durch π - π -Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen, Dipolwechselwirkungen oder Wirt-Gast-Wechselwirkungen gebildet werden)^[187] kann die chemische Vernetzung durch radikalische oder photo(thermische) Polymerisationstechniken induziert werden.^[188] Darüber hinaus können bifunktionelle Gruppen an der Seiten- oder Endgruppe der Copolymere verwendet werden, um biologisch abbaubare Gruppen in das micellare System einzuführen. Rijcken und Mitarbeiter entwickelten eine Plattform, die auf der frühen Forschung zu mPEG-*b*-p(HEMA-Lac)-Copolymeren basierte, bei denen die methacrylierten Blöcke thermisch vernetzt wurden. Die Hydrolyse des Lactats und die Spaltung der eingebauten Esterbindung machten sie biologisch abbaubar.^[189] Die weiterentwickelte Formulierung CriPec634 schloss eine Studie der Phase II mit Docetaxel bei platinresistentem Eierstockkrebs ab (Tabelle 5). Darüber hinaus können mit Dithiolan vernetzte Micellen verwendet werden, um dynamische und reversible Vernetzungen zwischen den micellaren Polymerketten herzustellen.^[190]

Bei Polymersomen gilt die Vernetzung in den Lipidmembranen als geeignete Methode, um sie gegen Verdünnung nach der Injektion und Wechselwirkung mit dem Blutkomplex zu stabilisieren und so ihre Zirkulationszeit zu verlängern und die Umsetzung in die klinische Anwendung

zu ermöglichen.^[188,191] Kürzlich entwickelte Techniken wie die Einführung bifunktioneller Vernetzer in BCPs, die Verwendung von Monomeren mit bifunktionellen Gruppen, die eine Autopolymerisation durchlaufen, sowie die Thiol-En-Click-Chemie wurden zur Verbesserung der Stabilität von Polymersomen eingesetzt. Durch die Einführung von Dithiolan-funktionalisierten Carbonaten in das Polymergerüst, die eine Ringöffnungspolymerisation durchlaufen, wurde ein selbstvernetzendes Verhalten in Reduktions-sensitiven Polymersomen aus PEG-P(TMC-DTC) beobachtet.^[192] Dementsprechend können spezifische Wirkstoffe aktiv geladen und durch Thiol-Disulfid-Austausch freigesetzt werden. Darüber hinaus wurden bifunktionelle Vernetzer wie Cysteamin mit Stimuli-responsiven Bestandteilen für die gleichzeitige Vernetzung und Funktionalisierung genutzt. So berichteten Liu und Mitarbeiter über eine durch Licht aktivierte "spurlose" Vernetzungsstrategie. Hier kommt es durch Amidierung zwischen primär zerfallenen Aminen durch UV-Anregung zu einer ausgeprägten Vesikelvernetzung, die mit einem Übergang der Doppelschicht von hydrophob zu hydrophil während der Selbstorganisation verbunden ist.^[193]

Um die Oberfläche von Nanoträgern zu vergrößern, können Vernetzungsverfahren zur Bildung anderer Arten von Architekturen wie Nanogelen (Hydrogelen in Nanogröße) eingesetzt werden. Diese hoch hydratisierten Polymernetzwerke weisen geeignete inhärente Eigenschaften für die Anwendung als Wirkstofftransportsysteme auf, darunter Biokompatibilität sowie eine große Oberfläche für weitere Funktionalisierung und ein hydrophiles inneres Netzwerk, was sie für die Verkapselung, den Transport und die Freisetzung von empfindlichen Biomolekülen als Nutzlast besonders interessant macht. Zu den Methoden, die für die Bildung von Nanogelen verwendet werden können, gehören Emulsionstechniken, Nanofällung oder Nanolithographie, und sie alle beruhen auf ähnlichen Vernetzungsstrategien wie bei den zuvor beschriebenen Trägersystemen. Eine verbesserte Trägerstabilität geht jedoch mit der Notwendigkeit einher, eine sichere Freisetzung des geladenen Wirkstoffs am gewünschten Wirkort zu gewährleisten. Zu diesem Zweck werden die Stimuli für die Spaltung des jeweiligen Nanogelgerüsts durch Ausnutzung der biochemischen Mikroumgebung und der physikalisch-chemischen Merkmale des angestrebten Wirkortes (d.h. Gradienten im pH-Wert und Redoxpotential, Überexpression von Enzymen und Markermolekülen oder Ionenstärke) verwendet.^[194]

4.2. Zielgerichteter supramolekularer Wirkstofftransport

Neben der Entwicklung neuer Polymerarchitekturen, die die Stabilität und Beladungskapazität von Polymermaterialien verbessern sollen, ist die Bedeutung von Targeting-Liganden Gegenstand erheblicher Forschungsanstrengungen gewesen.^[195] Wie bereits in Abschnitt 2.1 (Polymer-Wirkstoff-Konjugate) erörtert, sind die Bioorthogonalität und Biokompatibilität der Kopplungsreaktionen eines Systems entscheidend für seine Anwendbarkeit in der Nanomedizin. Da jedoch Micellen und Liposomen im Bereich der zielgerichte-

ten Polymermaterialien eine immer größere Rolle spielen, muss auch die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, dass die Wechselwirkungen des Liganden oder der Linkerstruktur die Stabilität des Nanopartikels beeinträchtigen können (Abbildung 8).^[196]

4.2.1. Transport von Oligonukleotiden: DNA- und RNA-basierte Materialien

Die COVID-19-Pandemie hat gezeigt, dass ein enormer Bedarf an sicheren und geeigneten nanomedizinischen Transportsystemen besteht, z. B. für Materialien auf Oligonukleotidbasis.^[1,197]

Polymersomen, die mit oberflächenbasierten Targeting-Einheiten wie Peptiden, Proteinen und Antikörpern ausgestattet sind, spielen eine wesentliche Rolle bei der wirksamen Darreichung therapeutischer Wirkstoffe. Gewünschte funktionelle Endgruppen an hydrophilen Blöcken bieten die Möglichkeit, verschiedene Modifikationen vorzunehmen. So zeigen beispielsweise Polymersomen, die aus einem Blockcopolymer aus Polyethylenglycol-Polytrimethylencarbonat-Polydithiolan-Trimethylencarbonat (PEG-P(TMC)-P-

(DTC)) gebildet werden, das mit einem cNGQ-Peptid funktionalisiert und mit Doxorubicin beladen ist, in vitro eine hohe Bindungsfähigkeit an A549-Lungenkrebszellen und in vivo einen signifikanten Rückgang des Tumorumfanges.^[192] Eine gemeinsame Studie von Kataoka und Zhong, die auf der hervorragenden Selektivität und Effizienz von small interfering RNA (siRNA) basiert, hat die Induktion von hochwirksamem und sequenzspezifischem Gen-Inaktivierung auf $\alpha 3\beta 1$ -Integrin-überexprimierenden A549-Lungenkrebszellen veranschaulicht.^[183] 1995 entdeckten Kataoka und Mitarbeiter, dass das Mischen von zwei entgegengesetzt geladenen amphiphilen Block-Copolymeren zu eng verteilten Micellen führt, die als Polyion-Komplex-Micellen (PIC) bezeichnet werden.^[198] Normalerweise fallen PICs unter ladungsneutralen Bedingungen aus, aber im Fall von PIC-Micellen erhöht die hydrophile Hülle die Löslichkeit des Systems. Ihre Erkenntnisse ebneten den Weg für die Untersuchung von PIC-Micellen für die Darreichung neuer Klassen geladener (Makro-)Moleküle, wie Proteine, Nucleinsäuren, negativ geladene Photosensibilisatoren, pDNA und mRNA. PIC-Micellen wurden intensiv für die photodynamische Therapie sowie für den Protein- und Gentransport untersucht.

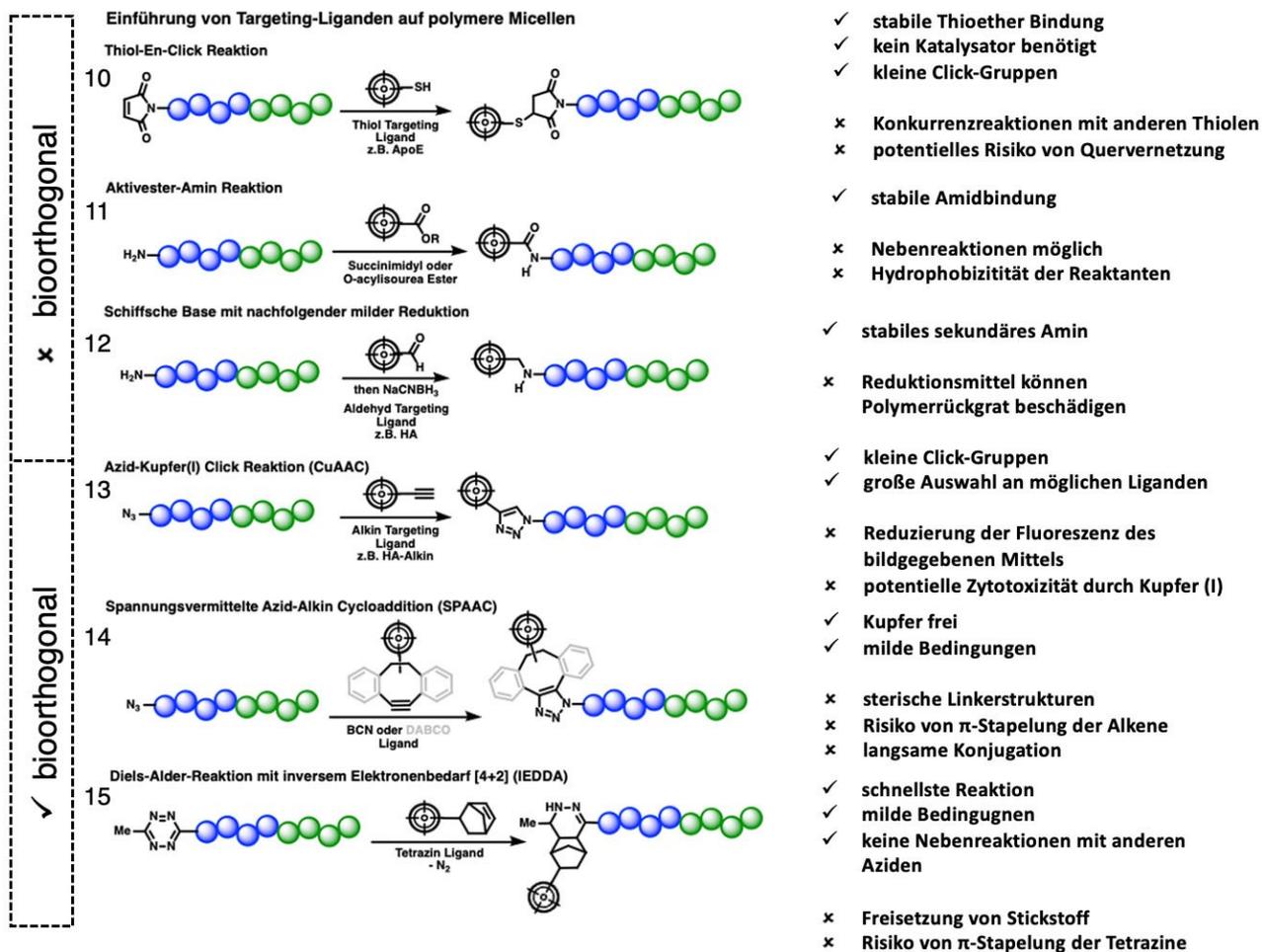


Abbildung 8. Überblick über synthetische Ansätze für die Einführung von Targeting-Liganden in amphiphile Blockcopolymer.

4.2.2. Ladungsumkehrende Polymerarchitekturen: verbesserter Transport von Proteinen und Wirkstoffen durch Ladungsmanipulation

Die PEGylierung ist ein attraktives Konzept zur Überwindung der Haupthindernisse für die Darreichung von Proteintherapeutika, ein weiteres ist ihre Integration in PIC-Micellen. Diese Micellen bestehen in der Regel aus einem hydrophilen Segment und einem geladenen Blockcopolymer, das mit dem entgegengesetzt geladenen Zielprotein in Wechselwirkung tritt, wodurch eine Protein-komplexierende Micelle gebildet wird, bei der das Protein im Micellenkern eingebaut ist. Eine kürzlich durchgeführte Studie hat gezeigt, dass PEG-Polykation-Blockcopolymere in der Lage sind, durch elektrostatische Wechselwirkungen gut definierte PIC-Micellen mit verschiedenen Proteinen zu bilden.^[199] Die geringe Ladungsdichte der meisten Proteine verhindert die Bildung stabiler Komplexe unter physiologischen Bedingungen, und PIC-Micellen-Komplexe neigen dazu, unter den Pufferbedingungen, die in vivo herrschen, zu dissoziieren.^[200] Eine häufig angewandte Strategie zur Verstärkung der elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Protein und Polymer ist die "Ladungsumwandlung" durch den Einbau pH-abbaubarer geladener Einheiten. So wird beispielsweise ein Überschuss an positiven Ladungen durch den Einbau von Carbonsäureanteilen verbraucht und umgekehrt. Um die Dissoziation in vivo zu verhindern, wurden mit Proteinen beladene PIC-Micellen mit pH-sensitiven Linkern zwischen dem Amin im Protein und einem Malein-

säureanhydrid-Derivat im Polymergerüst entwickelt (Abbildung 9).^[201]

Trotz zahlreicher technologischer Versuche in der Nanomedizin, die Anreicherung von Arzneimitteln im Tumorgewebe zu verbessern, gibt es nach wie vor mehrere ungelöste Hindernisse, darunter dicht gepackte Tumorzellen und ein hoher interstitieller Flüssigkeitsdruck, der zu einer begrenzten molekularen Diffusion und Extravasation in das Tumorgewebe führt. Selbst Sauerstoffmoleküle können nur bis zu 200 μm aus dem Gefäßsystem diffundieren.^[202] Es ist bekannt, dass positiv geladene oder kationisierte Nanotransporter die Akkumulation im Tumor wirksam verbessern können, indem sie die Transzytose auslösen und die Durchdringung durch mehrere Zellschichten erleichtern.^[203] Polykationische Polymere sind jedoch für ihre unspezifische zelluläre Aufnahme, ihre In-vivo-Toxizität und ihre durch Opsonisierung verursachte schnelle Clearance aus dem Blutkreislauf bekannt – Probleme, die bei neutralen oder negativ geladenen Nanoträgern nicht auftreten.^[146] Um diesen Einschränkungen entgegenzutreten, wurden pH- und Enzymgetriggerte Polymer-Wirkstoff-Konjugate entwickelt, die im Blutkreislauf neutral oder leicht anionisch sind, aber in der Mikroumgebung des Tumors eine positive Ladung erzeugen. Shen und Mitarbeiter entwickelten Polyamide, bei denen die Amidgruppen von einer Carbonsäure umgeben sind. Solche Amidgruppen können unter sauren Bedingungen hydrolysiert werden und Amingruppen mit positiver Ladung regenerieren, was zu einer verbesserten zellulären Aufnahme und Lokalisierung im Zellkern führt.^[118b,204] Unter Aus-

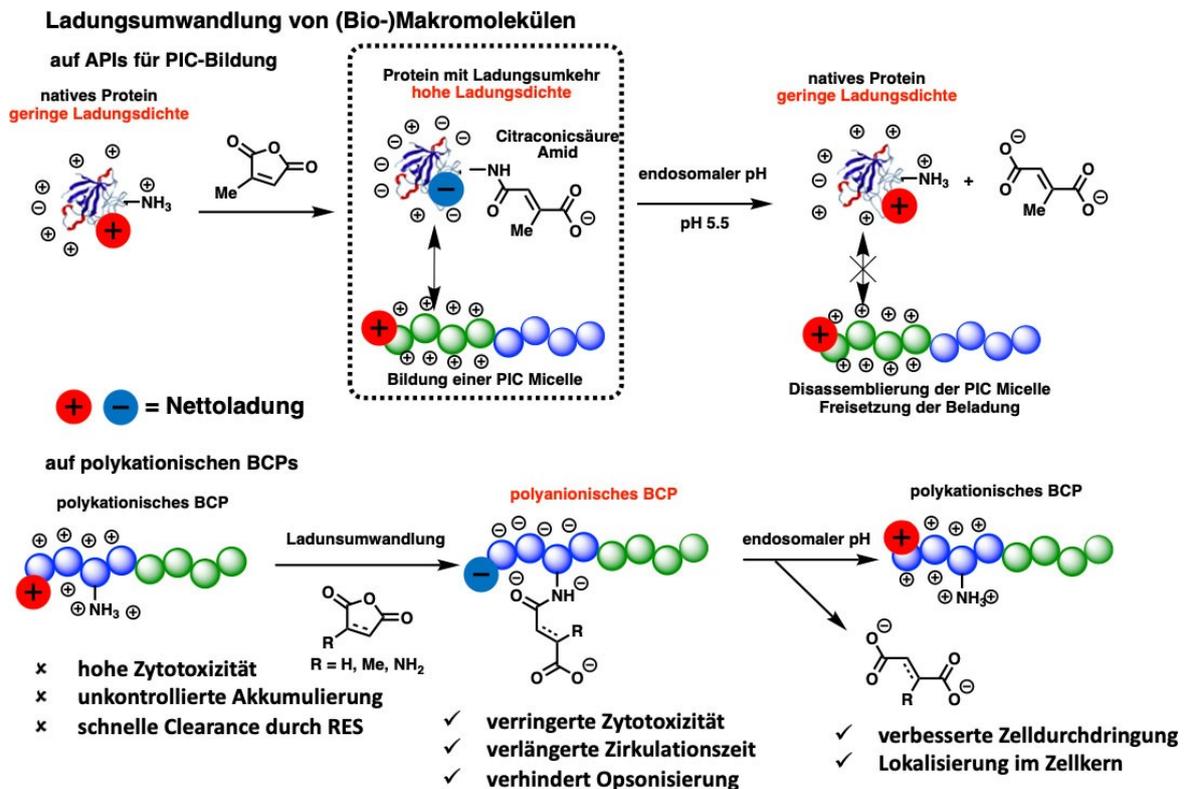


Abbildung 9. Das Konzept der Ladungsübertragung von Biomakromolekülen, um ihre therapeutische Effizienz zu verbessern.

nutzung des Enzyms γ -Glutamyltranspeptidase, das auf der Zellmembran überexprimiert wird, wurde ein enzymaktivierbares Polymer-Camptothecin-Konjugat synthetisiert: Das Enzym spaltet die γ -Glutamylgruppen ab, um positiv geladene primäre Amine zu erzeugen. Das daraus resultierende kationische Konjugat kann über Caveolae-vermittelte Endozytose und Transzytose wirksam in Tumorgewebe eindringen, was einen transendothelialen und transzellulären Transport ermöglicht.^[118a] Diese Errungenschaften könnten die erfolgreiche Umsetzung von Polymer-Wirkstoff-Konjugaten mit Ladungsumkehr in wirksame Therapien ermöglichen.

4.3. Zielgerichtete Nanopartikel-Wirkstofftransportsysteme

Transportsysteme zur Darreichung von Arzneimitteln in Form von Nanopartikeln werden seit den späten 1980er Jahren klinisch untersucht. Die meisten dieser Systeme werden im Körper passiv durch Flüssigkeitsbewegungen transportiert. In den letzten zwei Jahrzehnten haben aktive Targeting-Generationen von Nanopartikeln das präklinische Stadium der Arzneimittelentwicklung erreicht. Mit der Verfügbarkeit klinisch erprobter Antikörper gegen eine Vielzahl tumorzellspezifischer Membranrezeptoren wurden Antikörper-gebundene Nanopartikel für die gezielte Darreichung von Medikamenten untersucht. Aufgrund der Komplexität der pharmazeutischen Formulierungen wurden jedoch nur sehr wenige Formulierungen in die klinischen Phase-I/II-Studien aufgenommen. Im Einzelnen entwickelt Synergene Therapeutics sowohl SGT-53, ein kationisches Liposom, das mit einem Anti-Transferrin-Rezeptor-Antikörperfragment modifiziert ist und die Wildtyp-p53-Sequenz zur Behandlung von Glioblastomen, soliden Tumoren und Bauchspeicheldrüsenkrebs einkapselt, als auch SGT-94, eine RB94-Plasmid-DNA in einem mit einem Anti-Transferrin-Rezeptor-Antikörperfragment dekorierten Liposom. BIND-014 (BIND Therapeutics) ist das erste zielgerichtete nanopartikelartige Wirkstofftransportsystem auf Polymerbasis. Hier wurde ein auf PSMA abzielendes 2-(3-((S)-5-Amino-1-carboxypentyl)ureido)pentandisäure (ACUPA) und Docetaxel beladenes PEG-PLGA- oder PLA-PEG-Partikel in die klinische Phase I zur Behandlung von PSMA-positivem Prostatakrebs, nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom, Gebärmutterhalskrebs, Kopf- und Halskrebs und KRAS-positivem Lungenkarzinom eingeführt.^[205]

Neben zielgerichteten nanopartikelartigen Polymeren und Liposomen stellen Targeting-Peptide ein weiteres interessantes synthetisches System zur Darreichung von Arzneimitteln dar. Im Gegensatz zu Antikörpern und zielgerichteten nanopartikelartigen Systemen können Peptide mehr Effektormoleküle an das Ziel bringen und sie tiefer in das Krankheitsgewebe einbringen. Das Aufkommen fortschrittlicher Peptid-Plattformen hat das heutige äußerst erfolgreiche Screening von Peptiden auf hochaffine Bindung an extrazelluläre und Zellmembran-Wirkstoffziele ermöglicht. Neben dem Screening auf hohe Zielaffinität können Peptide chemisch modifiziert werden, um ihr pharmakokinetisches Verhalten, ihre chemische Resistenz, ihre Proteolyse-Stabilität und ihre physikochemischen Eigenschaften fein abzustim-

men. Angesichts der kurzen Halbwertszeit von Peptiden werden zwei verschiedene chemische Synthesestrategien angewandt, um ihre Ausscheidung aus dem Blutkreislauf zu verlangsamen: Modifizierung der chemischen Struktur durch Zyklisierung, Peptidstapelung oder Aminosäuresubstitution und chemische Konjugation mit größeren Molekülen wie PEG. Insgesamt eignen sich Peptide hervorragend für den gezielten Transport von therapeutischen und diagnostischen Wirkstoffen. Sie bieten auch eine Vielzahl chemischer Ansätze, um alle relevanten Eigenschaften des endgültigen Peptid-Wirkstoff-Konjugats einzustellen. Die Attraktivität von Peptiden für den gezielten Transport therapeutischer Effektormoleküle beruht auf ihrem Potenzial, innerhalb kurzer Zeit eine hohe Konzentration des Wirkstoffs im Blut zu erreichen. Während es bei Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten (ADCs) eine Woche oder länger dauern kann, bis sie aus dem Blutkreislauf eliminiert werden, können PDCs innerhalb von Stunden nach der intravenösen Darreichung hohe Ziel/Blut-Verhältnisse erreichen, vorausgesetzt, die Affinität des zielgerichteten Peptids liegt im niedrigen nanomolaren Bereich. Peptide eignen sich daher gut für den gezielten Transport von therapeutischen Effektormolekülen mit einem sehr kleinen therapeutischen Fenster.

Trotz dieses attraktiven chemischen Profils gibt es heute nur wenige PDCs in der klinischen Anwendung. Das ¹⁷⁷Lu-Dotatate so gemeint (LUTATHERA, Advanced Accelerator Applications USA, Inc.), ein radioaktiv markiertes Somatostatin-Analogon zur Behandlung von Somatostatin-Rezeptor-positiven gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumoren (GEP-NETs), wurde 2018 von der FDA zugelassen. Die Entwicklung radiomarkierter Somatostatin-Liganden war ein langfristiges Unterfangen, das mit der Erstbeschreibung von Somatostatin vor mehr als 45 Jahren begann.^[206] Es wurden zahlreiche diagnostische und therapeutische Somatostatin-Liganden entwickelt.^[207]

Kürzlich veröffentlichte 3B Pharmaceuticals die ersten klinischen Ergebnisse für ¹⁷⁷Lu-PDC, das auf den Neurotensin-1-Rezeptor bei Bauchspeicheldrüsenkrebs abzielt.^[208] FAP-2286, ein weiteres PDC für die Strahlentherapie, das auf das Fibroblasten-Aktivierungsprotein (FAP) abzielt, befindet sich in der frühen klinischen Entwicklung (NCT 04939610).

Ein weiterer Bereich der Arzneimittelentwicklung sind PDCs, die auf Homing-Rezeptoren wie RGD oder NGR abzielen.^[209] Die meisten PDCs zielen auf die Tripeptid-Säuresequenz Arg-Gly-Asp (RGD) ab, da diese eine hohe Affinität und Spezifität für Integrin $\alpha v \beta 3$ aufweist, das in vielen Tumoren überexprimiert ist.

5. Schlussfolgerungen

Die Entwicklung von Arzneimitteln ist ein langwieriges, komplexes und teures Unterfangen, das in jeder Phase des Prozesses mit einem hohen Maß an Unsicherheit behaftet ist. Die schlechte Wasserlöslichkeit von pharmazeutischen Wirkstoffen (APIs) ist eine der Hauptursachen für Verluste in der pharmazeutischen Industrie und stellt eine enorme Hürde für die Entwicklung von Arzneimitteln dar. Mit dem

Aufkommen der heutigen Algorithmen zur Arzneimittelentwicklung, wie z. B. Hochleistungs-screening und kombinatorische Chemie, nimmt die Zahl schlecht wasserlöslicher Wirkstoffe stark zu. Es werden fortschrittliche Technologien für die Darreichung von Arzneimitteln benötigt, um sicherzustellen, dass die innovativen Therapeutika von morgen im Körper der Patienten verfügbar und wirksam sind. Die jüngsten Fortschritte bei der Entwicklung von Polymermaterialien haben spezielle Arzneimittelformulierungen auch bei kritischen physikalisch-chemischen Arzneimitteleigenschaften ermöglicht. Neue polymere Materialien müssen in klinischen Versuchen getestet und von den medizinischen Behörden zugelassen werden. Dank bahnbrechender Fortschritte bei der chemischen Synthese biokompatibler Polymere und bei den physikalisch-chemischen Charakterisierungsmethoden sind Polymere für maßgeschneiderte Lösungen zum Transport von Arzneimitteln heute sowohl in der wissenschaftlichen Forschung als auch in der Arzneimittelentwicklung voll etabliert. Eine wachsende Zahl synthetischer Polymerarchitekturen und hochentwickelter Methoden zur Arzneimittelformulierung steht nun zur Verfügung, um die komplexen Anforderungen der Arzneimitteldesorption, der Blutkinetik, des Metabolismus und schließlich der Ausscheidung aus dem Blut zu erfüllen. Dennoch müssen mehr polymere Wirkstofftransportsysteme klinisch evaluiert werden. Für einzelne Forschungsgruppen ist es jedoch schwierig, die weiteren Entwicklungsschritte wie GMP-Produktion, Langzeitstabilitätstests und klinische Studien zu finanzieren, nachdem die ersten Evaluierungen in verschiedenen In-vitro- und In-vivo-Versuchen abgeschlossen sind. Andererseits ist die klinische Entwicklung neuer Polymere nicht das primäre Ziel der Pharmaunternehmen, da sich ihre Forschungskapazitäten in erster Linie auf die Identifizierung und Validierung neuartiger Arzneimittel-Pharmakophore konzentrieren. Die künftige Arzneimittelentwicklung in der Industrie muss die neuesten Erkenntnisse der Polymerchemie, der pharmazeutischen Technologie und der translationalen Forschung in vollem Umfang umsetzen, um neue Lösungen zu liefern und eine erfolgreiche klinische Umsetzung zu ermöglichen. Die Finanzierung von öffentlich-privaten Partnerschaften (z. B. zwischen Forschungseinrichtungen und Unternehmen) ist jedoch erforderlich, um Entwicklungsrisiken und regulatorische Hürden frühzeitig anzugehen, damit neue Arzneimittelabgabesysteme in frühe klinische Studien überführt werden können. Darüber hinaus werden sich neue Wirkstofftransportkonzepte für die Darreichung von Arzneimitteln auf die zielgerichtete Anreicherung von Arzneimitteln in kranken Organen, Geweben und Zellen konzentrieren und eine Stimulus-gesteuerte Freisetzung von Wirkstoffen ermöglichen. Schließlich werden im Hinblick auf die wirtschaftlichen und rechtlichen Anforderungen der pharmazeutischen Industrie weniger komplexe Lösungen für die Darreichung von Arzneimitteln benötigt, um ihre Integration in den frühen Entwicklungsprozess zu erleichtern.

Danksagung

Die Autoren danken für die Förderung durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) in dem Projekt "Next-PEG", der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Sonderforschungsbereich (SFB) 1449 und dem Sino-German Center on targeted drug delivery. Übersetzung: Dr. Felix Reisbeck. Open Access Veröffentlichung ermöglicht und organisiert durch Projekt DEAL.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

Stichwörter: PEGylierung · Polymer-Protein-Konjugate · Polymer-Wirkstoff-Konjugate · Selbstorganisierende Systeme · Wirkstofftransportsysteme

- [1] I. Sadeghi, J. Byrne, R. Shakur, R. Langer, *J. Controlled Release* **2021**, *331*, 503–514.
- [2] P. Ehrlich, in *The Collected Papers of Paul Ehrlich* (Hrsg.: F. Himmelweit), Pergamon, Oxford, **1960**, S. 106–117.
- [3] a) L. Alvarez-Erviti, Y. Seow, H. Yin, C. Betts, S. Lakhal, M. J. A. Wood, *Nat. Biotechnol.* **2011**, *29*, 341–345; b) I. T. Cavarretta, V. Altanerova, M. Matuskova, L. Kucerova, Z. Culig, C. Altaner, *Mol. Ther.* **2010**, *18*, 223–231.
- [4] J. M. Maloney, S. A. Uhland, B. F. Polito, N. F. Sheppard, C. M. Pelta, J. T. Santini, *J. Controlled Release* **2005**, *109*, 244–255.
- [5] K. Kohli, S. Chopra, D. Dhar, S. Arora, R. K. Khar, *Drug Discovery Today* **2010**, *15*, 958–965.
- [6] a) S. P. Sullivan, D. G. Koutsonanos, M. del Pilar Martin, J. W. Lee, V. Zarnitsyn, S.-O. Choi, N. Murthy, R. W. Compans, I. Skountzou, M. R. Prausnitz, *Nat. Med.* **2010**, *16*, 915–920; b) J. W. Lee, J.-H. Park, M. R. Prausnitz, *Biomaterials* **2008**, *29*, 2113–2124.
- [7] D. Brambilla, P. Luciani, J.-C. Leroux, *J. Controlled Release* **2014**, *190*, 9–14.
- [8] K. Knop, R. Hoogenboom, D. Fischer, U. S. Schubert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6288–6308; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 6430–6452.
- [9] D. E. Szymkowski, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2005**, *8*, 590–600.
- [10] a) W. R. Strohl, *BioDrugs* **2015**, *29*, 215–239; b) P. Caliceti, F. M. Veronese, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2003**, *55*, 1261–1277; c) R. E. Kontermann, *Expert Opin. Biol. Ther.* **2016**, *16*, 903–915.
- [11] K. R. Daley, K. J. Kubarych, *J. Phys. Chem. B* **2017**, *121*, 10574–10582.
- [12] F. M. Veronese, G. Pasut, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 1451–1458.
- [13] a) G. T. Kozma, T. Shimizu, T. Ishida, J. Szebeni, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2020**, *154–155*, 163–175; b) A. M. Ramos-de-la-Peña, O. Aguilar, *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2020**, *26*, 333–348.
- [14] a) J. K. Armstrong, G. Hempel, S. Koling, L. S. Chan, T. Fisher, H. J. Meiselman, G. Garratty, *Cancer* **2007**, *110*, 103–111; b) Y. Mima, Y. Hashimoto, T. Shimizu, H. Kiwada, T. Ishida, *Mol. Pharmaceutics* **2015**, *12*, 2429–2435; c) J. S. Sundy, N. J. Ganson, S. J. Kelly, E. L. Scarlett, C. D. Rehrig, W. Huang, M. S. Hershfield, *Arthritis Rheum.* **2007**, *56*, 1021–1028; d) Q. Yang, T. M. Jacobs, J. D. McCallen, D. T. Moore,

- J. T. Huckaby, J. N. Edelstein, S. K. Lai, *Anal. Chem.* **2016**, 88, 11804–11812.
- [15] a) R. A. Olson, A. B. Korpusik, B. S. Sumerlin, *Chem. Sci.* **2020**, *11*, 5142–5156; b) C. Chen, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Prog. Polym. Sci.* **2020**, *105*, 101241.
- [16] a) A. Abuchowski, J. R. McCoy, N. C. Palczuk, T. van Es, F. F. Davis, *J. Biol. Chem.* **1977**, *252*, 3582–3586; b) A. Abuchowski, T. van Es, N. C. Palczuk, F. F. Davis, *J. Biol. Chem.* **1977**, *252*, 3578–3581.
- [17] F. M. Veronese, P. Caliceti, O. Schiavon, *J. Bioact. Compat. Polym.* **1997**, *12*, 196–207.
- [18] M. J. Roberts, M. D. Bentley, J. M. Harris, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, *64*, 116–127.
- [19] a) P. L. Turecek, M. J. Bossard, F. Schoetens, I. A. Ivens, *J. Pharm. Sci.* **2016**, *105*, 460–475; b) J. K. Dozier, M. D. Distefano, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 25831–25864.
- [20] M. C. Carter, M. E. Meyerhoff, *J. Immunol. Methods* **1985**, *81*, 245–257.
- [21] C. Monfardini, O. Schiavon, P. Caliceti, M. Morpurgo, J. M. Harris, F. M. Veronese, *Bioconjugate Chem.* **1995**, *6*, 62–69.
- [22] S. Zalipsky, G. Barany, *Polym. Prepr. Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.* **1986**, *27*, 1–2.
- [23] J. M. Harris, A. Kowzlowski, US Patent 5672662, **1997**.
- [24] G. Molineux, *Curr. Pharm. Des.* **2004**, *10*, 1235–1244.
- [25] O. Kinstler, G. Molineux, M. Treuheit, D. Ladd, C. Gegg, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 477–485.
- [26] A. Nesbitt, G. Fossati, M. Bergin, P. Stephens, S. Stephens, R. Foulkes, D. Brown, M. Robinson, T. Bourne, *Inflamm. Bowel Dis.* **2007**, *13*, 1323–1332.
- [27] B. Mei, C. Pan, H. Jiang, H. Tjandra, J. Strauss, Y. Chen, T. Liu, X. Zhang, J. Severs, J. Newgren, J. Chen, J. M. Gu, B. Subramanyam, M. A. Fournel, G. F. Pierce, J. E. Murphy, *Blood* **2010**, *116*, 270–279.
- [28] a) K. Tamshen, Y. Wang, S. M. F. Jamieson, J. K. Perry, H. D. Maynard, *Bioconjugate Chem.* **2020**, *31*, 2179–2190; b) L. Wu, J. Chen, Y. Wu, B. Zhang, X. Cai, Z. Zhang, Y. Wang, L. Si, H. Xu, Y. Zheng, C. Zhang, C. Liang, J. Li, L. Zhang, Q. Zhang, D. Zhou, *J. Controlled Release* **2017**, *249*, 84–93; c) T. Lühmann, G. Jones, M. Gutmann, J. C. Rybak, J. Nickel, M. Rubini, L. Meinel, *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2015**, *1*, 740–746.
- [29] M. Rashidian, J. K. Dozier, M. D. Distefano, *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 1277–1294.
- [30] M. W. Popp, J. M. Antos, G. M. Grotenbreg, E. Spooner, H. L. Ploegh, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 707–708.
- [31] a) M. W. Popp, S. K. Dougan, T. Y. Chuang, E. Spooner, H. L. Ploegh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 3169–3174; b) D. da Silva Freitas, A. Mero, G. Pasut, *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 456–463; c) A. Grigoletto, A. Mero, H. Yoshioka, O. Schiavon, G. Pasut, *J. Drug Targeting* **2017**, *25*, 856–864; d) X. Hui, W. Cao, D. Zhang, W. Ge, S. Li, Y. Li, *Shengwu Gongcheng Xuebao* **2020**, *36*, 750–762.
- [32] M. Swierczewska, K. C. Lee, S. Lee, *Expert Opin. Emerging Drugs* **2015**, *20*, 531–536.
- [33] a) E. Wenande, L. H. Garvey, *Clin. Exp. Allergy* **2016**, *46*, 907–922; b) P. Sellaturay, S. Nasser, P. Ewan, *J. Allergy Clin. Immunol.* **2021**, *9*, 670–675.
- [34] a) A. W. Richter, E. Akerblom, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **1984**, *74*, 36–39; b) J. K. Armstrong, in *PEGylated Protein Drugs: Basic Science and Clinical Applications*, Springer, Berlin, **2009**.
- [35] P. Sellaturay, S. Nasser, S. Islam, P. Gurugama, P. W. Ewan, *Clin. Exp. Allergy* **2021**, *51*, 861–863.
- [36] Q. Cai, X. Li, W. Zhu, *Macromolecules* **2020**, *53*, 2177–2186.
- [37] J. Chen, M. Zhao, F. Feng, A. Sizovs, J. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10938–10941.
- [38] a) Y. Qi, A. Chilkoti, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2015**, *28*, 181–193; b) T. T. Hoang Thi, E. H. Pilkington, D. H. Nguyen, J. S. Lee, K. D. Park, N. P. Truong, *Polymers* **2020**, *12*, 298.
- [39] a) C. Siegers, M. Biesalski, R. Haag, *Chemistry* **2004**, *10*, 2831–2838; b) Y. Deng, J. K. Saucier-Sawyer, C. J. Hoimes, J. Zhang, Y. E. Seo, J. W. Andrejcsk, W. M. Saltzman, *Biomaterials* **2014**, *35*, 6595–6602; c) J. Khandare, M. Calderón, N. M. Dagia, R. Haag, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2824–2848; d) M. Calderon, M. A. Quadir, S. K. Sharma, R. Haag, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 190–218.
- [40] a) R. K. Kainthan, S. R. Hester, E. Levin, D. V. Devine, D. E. Brooks, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4581–4590; b) R. K. Kainthan, J. Janzen, E. Levin, D. V. Devine, D. E. Brooks, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 703–709; c) M. Imran ul-haq, B. F. Lai, R. Chapanian, J. N. Kizhakkedathu, *Biomaterials* **2012**, *33*, 9135–9147.
- [41] T. Bewersdorff, J. Vonnemann, A. Kanik, R. Haag, A. Haase, *Int. J. Nanomed.* **2017**, *12*, 2001–2019.
- [42] a) P. Pouyan, C. Nie, S. Bhatia, S. Wedepohl, K. Achazi, N. Osterrieder, R. Haag, *Biomacromolecules* **2021**, *22*, 2298; b) H. Gheybi, S. Sattari, A. Bodaghi, K. Soleimani, A. Dadkhah, M. Adeli, in *Engineering of Biomaterials for Drug Delivery Systems*, Elsevier, Amsterdam, **2018**, S. 103–171.
- [43] A. Thomas, S. S. Muller, H. Frey, *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 1935–1954.
- [44] a) M. Gervais, A.-L. Brocas, G. Cendejas, A. Deffieux, S. Carlotti, *Macromolecules* **2010**, *43*, 1778–1784; b) M. Gervais, A.-L. Brocas, G. Cendejas, A. Deffieux, S. Carlotti, *Macromol. Symp.* **2011**, *308*, 101–111; c) A. M. L. Gervais, S. Carlotti, A. Deffieux, *Macromolecules* **2009**, *42*, 2395–2400.
- [45] a) F. Wurm, C. Dingels, H. Frey, H. A. Klok, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 1161–1171; b) M. Weinhart, I. Grunwald, M. Wyszogrodzka, L. Gaetjen, A. Hartwig, R. Haag, *Chem. Asian J.* **2010**, *5*, 1992–2000.
- [46] R. Bej, K. Achazi, R. Haag, S. Ghosh, *Biomacromolecules* **2020**, *21*, 3353–3363.
- [47] A. Thomas, K. Niederer, F. Wurm, H. Frey, *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 899–909.
- [48] D. Haamann, H. Keul, D. Klee, M. Möller, *Macromolecules* **2010**, *43*, 6295–6301.
- [49] M. Tully, M. Dimde, C. Weise, P. Pouyan, K. Licha, M. Schirner, R. Haag, *Biomacromolecules* **2021**, *22*, 1406–1416.
- [50] M. Tully, S. Wedepohl, D. Kutifa, C. Weise, K. Licha, M. Schirner, R. Haag, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2021**, *164*, 105–113.
- [51] B. R. Spears, J. Waksal, C. McQuade, L. Lanier, E. Harth, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 2394–2396.
- [52] a) R. Hoogenboom, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7978–7994; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 8122–8138; b) T. Lorson, M. M. Lubtow, E. Wegener, M. S. Haider, S. Borova, D. Nahm, R. Jordan, M. Sokolski-Papkov, A. V. Kabanov, R. Luxenhofer, *Biomaterials* **2018**, *178*, 204–280.
- [53] a) M. Barz, R. Luxenhofer, R. Zentel, M. J. Vicent, *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 1900–1918; b) T. X. Viegas, M. D. Bentley, J. M. Harris, Z. Fang, K. Yoon, B. Dizman, R. Weimer, A. Mero, G. Pasut, F. M. Veronese, *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 976–986.
- [54] a) M. Bauer, S. Schroeder, L. Tauhardt, K. Kempe, U. S. Schubert, D. Fischer, *J. Polym. Sci. Part A* **2013**, *51*, 1816–1821; b) M. Bauer, C. Lautenschlaeger, K. Kempe, L. Tauhardt, U. S. Schubert, D. Fischer, *Macromol. Biosci.* **2012**, *12*, 986–998.
- [55] A. Mero, Z. Fang, G. Pasut, F. M. Veronese, T. X. Viegas, *J. Controlled Release* **2012**, *159*, 353–361.
- [56] T. X. Viegas, Z. Fang, K. Yoon, R. Weimer, B. Dizman, in *Engineering of Biomaterials for Drug Delivery Systems. Beyond Polyethylene Glycol*. (Hrsg.: A. Parambath), Wood-

- head Publishing Series in Biomaterials, Cambridge, **2018**, S. 173–198.
- [57] T. Lühmann, M. Schmidt, M. N. Leiske, V. Spieler, T. C. Majdanski, M. Grube, M. Hartlieb, I. Nischang, S. Schubert, U. S. Schubert, L. Meinel, *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2017**, *3*, 304–312.
- [58] S. Kudaibergenov, W. Jaeger, A. Laschewsky, in *Supramolecular Polymers Polymeric Betains Oligomers*, Springer, Berlin, **2006**, S. 157–224.
- [59] a) Q. Shao, S. Jiang, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 15–26; b) W. Yang, L. Zhang, S. Wang, A. D. White, S. Jiang, *Biomaterials* **2009**, *30*, 5617–5621; c) S. Jiang, Z. Cao, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 920–932.
- [60] a) J. Hu, G. Wang, W. Zhao, W. Gao, *J. Controlled Release* **2016**, *237*, 71–77; b) S. Bhattacharjee, W. Liu, W. H. Wang, I. Weitzhandler, X. Li, Y. Qi, J. Liu, Y. Pang, D. F. Hunt, A. Chilkoti, *ChemBioChem* **2015**, *16*, 2451–2455.
- [61] Y. Pang, J. Liu, Y. Qi, X. Li, A. Chilkoti, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 10296–10300; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 10452–10456.
- [62] P. Zhang, F. Sun, S. Liu, S. Jiang, *J. Controlled Release* **2016**, *244*, 184–193.
- [63] B. Li, Z. Yuan, H. C. Hung, J. Ma, P. Jain, C. Tsao, J. Xie, P. Zhang, X. Lin, K. Wu, S. Jiang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 13873–13876; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 14069–14072.
- [64] a) Y. Hou, H. Lu, *Bioconjugate Chem.* **2019**, *30*, 1604–1616; b) Y. Hou, Y. Zhou, H. Wang, J. Sun, R. Wang, K. Sheng, J. Yuan, Y. Hu, Y. Chao, Z. Liu, H. Lu, *ACS Cent. Sci.* **2019**, *5*, 229–236; c) Y. Hou, Y. Zhou, H. Wang, R. Wang, J. Yuan, Y. Hu, K. Sheng, J. Feng, S. Yang, H. Lu, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 1170–1178; d) H. Wang, Y. Hou, Y. Hu, J. Dou, Y. Shen, Y. Wang, H. Lu, *Biomacromolecules* **2019**, *20*, 3000–3008.
- [65] a) S. Bleher, J. Buck, C. Muhl, S. Sieber, S. Barnert, D. Witzigmann, J. Huwyler, M. Barz, R. Suss, *Small* **2019**, *15*, 1904716; b) B. Weber, A. Birke, K. Fischer, M. Schmidt, M. Barz, *Macromolecules* **2018**, *51*, 2653–2661; c) G. Settanni, T. Schafer, C. Muhl, M. Barz, F. Schmid, *Comput. Struct. Biotechnol. J.* **2018**, *16*, 543–550.
- [66] S. S. Nogueira, A. Schlegel, K. Maxeiner, B. Weber, M. Barz, M. A. Schroer, C. E. Blanchet, D. I. Svergun, S. Ramishetti, D. Peer, P. Langguth, U. Sahin, H. Haas, *ACS Appl. Nano Mater.* **2020**, *3*, 10634–10645.
- [67] K. Son, M. Ueda, K. Taguchi, T. Maruyama, S. Takeoka, Y. Ito, *J. Controlled Release* **2020**, *322*, 209–216.
- [68] Y. Hu, Y. Hou, H. Wang, H. Lu, *Bioconjug. Chem.* **2018**, *29*, 2232–2238.
- [69] K. J. Colley, K. Kitajima, C. Sato, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2014**, *49*, 498–532.
- [70] *Encapsulation and Controlled Release, Woodhead Publishing Series in Food, Science, Technology and Nutrition* (Hrsg.: G. Gregoriadis, B. McCormack, D. R. Karsa, R. A. Stephenson), Elsevier, Amsterdam, **2005**, S. 75–85.
- [71] *Therapeutic Proteins: Strategies to Modulate Their Plasma Half-Lives* (Hrsg.: A. Constantinou, C. Chen, M. P. Deonrain, R. Kontermann), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 95–115.
- [72] J. Siekmann, P. L. Turecek, in *Polymer-Protein Conjugates*, Elsevier, Amsterdam, **2020**, Hrsg. 455–469.
- [73] X. Han, T. Zhang, M. Liu, Y. Song, X. Liu, Y. Deng, *Coatings* **2020**, *10*(9), 834.
- [74] G. Gregoriadis, S. Jain, I. Papaioannou, P. Laing, *Int. J. Pharm.* **2005**, *300*, 125–130.
- [75] T. Lindhout, U. Iqbal, L. M. Willis, A. N. Reid, J. Li, X. Liu, M. Moreno, W. W. Wakarchuk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 7397–7402.
- [76] a) A. I. Fernandes, G. Gregoriadis, *Biochim. Biophys. Acta Protein Struct. Mol. Enzymol.* **1996**, *1293*, 90–96; b) A. I. Fernandes, G. Gregoriadis, *Biochim. Biophys. Acta Protein Struct. Mol. Enzymol.* **1997**, *1341*, 26–34; c) A. I. Fernandes, G. Gregoriadis, *Int. J. Pharm.* **2001**, *217*, 215–224; d) S. Jain, D. H. Hreczuk-Hirst, B. McCormack, M. Mital, A. Epenetos, P. Laing, G. Gregoriadis, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2003**, *1622*, 42–49; e) H. Meng, S. Jain, C. Lockshin, U. Shaligram, J. Martinez, D. Genkin, D. B. Hill, C. Ehre, D. Clark, H. Hoppe IV, *Recent Pat. Drug Delivery Formulation* **2018**, *12*, 212–222.
- [77] A. Constantinou, A. A. Epenetos, D. Hreczuk-Hirst, S. Jain, M. Wright, K. A. Chester, M. P. Deonrain, *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 924–931.
- [78] H. Jatzkewitz, *Z. Naturforsch. B* **1955**, *10*, 27–31.
- [79] H. Ringsdorf, *J. Polym. Sci. Part C* **1975**, *51*, 135–153.
- [80] R. Duncan, L. W. Seymour, K. B. O'Hare, P. A. Flanagan, S. Wedge, I. C. Hume, K. Ulbrich, J. Strohal, V. Subr, F. Spreafico, M. Grandi, M. Ripamonti, M. Farao, A. Suarato, *J. Controlled Release* **1992**, *19*, 331–346.
- [81] R. Duncan, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, *2*, 347–360.
- [82] a) I. Ekladios, R. Liu, H. Zhang, D. H. Foil, D. A. Todd, T. N. Graf, R. F. Padera, N. H. Oberlies, Y. L. Colson, M. W. Grinstaff, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 8443–8450; b) R. Namgung, Y. Mi Lee, J. Kim, Y. Jang, B.-H. Lee, I.-S. Kim, P. Sokkar, Y. M. Rhee, A. S. Hoffman, W. J. Kim, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 3702; c) N. Rades, K. Achazi, M. Qiu, C. Deng, R. Haag, Z. Zhong, K. Licha, *J. Controlled Release* **2019**, *300*, 13–21; d) S. Shen, X. Xu, S. Lin, Y. Zhang, H. Liu, C. Zhang, R. Mo, *Nat. Nanotechnol.* **2021**, *16*, 104–113.
- [83] Q. Feng, R. Tong, *Bioeng. Transl. Med.* **2016**, *1*, 277–296.
- [84] L. Korčáková, E. Paluska, V. Hašková, J. Kopeček, *Z. Immunitätsforsch. Exp. Klin. Immunol.* **1976**, *151*, 219–223.
- [85] J. Kopeček, P. Kopečková, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2010**, *62*, 122–149.
- [86] P. A. Vasey, S. B. Kaye, R. Morrison, C. Twelves, P. Wilson, R. Duncan, A. H. Thomson, L. S. Murray, T. E. Hilditch, T. Murray, S. Burtles, D. Fraier, E. Frigerio, J. Cassidy, *Clin. Cancer Res.* **1999**, *5*, 83–94.
- [87] J. M. Meerum Terwogt, W. W. ten Bokkel Huinink, J. H. Schellens, M. Schot, I. A. Mandjes, M. G. Zurlo, M. Rocchetti, H. Rosing, F. J. Koopman, J. H. Beijnen, *Anti-Cancer Drugs* **2001**, *12*, 315–323.
- [88] J. Yang, J. Kopeček, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2017**, *31*, 30–42.
- [89] N. E. Schoemaker, C. van Kesteren, H. Rosing, S. Jansen, M. Swart, J. Lieverst, D. Fraier, M. Breda, C. Pellizzoni, R. Spinelli, M. G. Porro, J. H. Beijnen, J. H. M. Schellens, W. W. ten Bokkel Huinink, *Br. J. Cancer* **2002**, *87*, 608–614.
- [90] J. M. Rademaker-Lakhai, C. Terret, S. B. Howell, C. M. Baud, R. F. de Boer, D. Pluim, J. H. Beijnen, J. H. M. Schellens, J.-P. Droz, *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 3386–3395.
- [91] a) S. Parveen, F. Arjmand, S. Tabassum, *RSC Adv.* **2019**, *9*, 24699–24721; b) D. P. Nowotnik, E. Cvitkovic, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, *61*, 1214–1219.
- [92] H. Nakamura, E. Koziolová, T. Etrych, P. Chytil, J. Fang, K. Ulbrich, H. Maeda, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015**, *90*, 90–96.
- [93] A. Ogunleye, A. Bhat, V. U. Irorere, D. Hill, C. Williams, I. Radecka, *Microbiology* **2015**, *161*, 1–17.
- [94] B. Manocha, A. Margaritis, *J. Nanomater.* **2010**, *2010*, 780171.
- [95] Y. Pu, S. Chang, H. Yuan, G. Wang, B. He, Z. Gu, *Biomaterials* **2013**, *34*, 3658–3666.
- [96] C. Li, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 695–713.
- [97] C. Li, D.-F. Yu, R. A. Newman, F. Cabral, L. C. Stephens, N. Hunter, L. Milas, S. Wallace, *Cancer Res.* **1998**, *58*, 2404–2409.
- [98] Y. Bae, N. Nishiyama, S. Fukushima, H. Koyama, M. Yasuhiro, K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 122–130.

- [99] A. Duro-Castano, A. Sousa-Herves, A. Armiñán, D. Charbonnier, J. J. Arroyo-Crespo, S. Wedepohl, M. Calderón, M. J. Vicent, *J. Controlled Release* **2021**, *332*, 10–20.
- [100] J. J. Arroyo-Crespo, C. Deladriere, V. J. Nebot, D. Charbonnier, E. Masiá, A. Paul, C. James, A. Armiñán, M. J. Vicent, *Adv. Funct. Mater.* **2018**, *28*, 1800931.
- [101] J. Homsí, G. R. Simon, C. R. Garrett, G. Springett, R. De Conti, A. A. Chiappori, P. N. Munster, M. K. Burton, S. Stromatt, C. Allievi, P. Angiuli, A. Eisenfeld, D. M. Sullivan, A. I. Daud, *Clin. Cancer Res.* **2007**, *13*, 5855–5861.
- [102] S. A. Shaffer, C. Baker-Lee, J. Kennedy, M. S. Lai, P. de Vries, K. Buhler, J. W. Singer, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2007**, *59*, 537–548.
- [103] L. Paz-Ares, H. Ross, M. O'Brien, A. Riviere, U. Gatzemeier, J. Von Pawel, E. Kaukel, L. Freitag, W. Digel, H. Bischoff, R. García-Campelo, N. Iannotti, P. Reiterer, I. Bover, J. Prendiville, A. J. Eisenfeld, F. B. Oldham, B. Bandstra, J. W. Singer, P. Bonomi, *Br. J. Cancer* **2008**, *98*, 1608–1613.
- [104] a) D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith, *Polym. J.* **1985**, *17*, 117–132; b) H. Frey, R. Haag, *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 257–267.
- [105] a) N. K. Jain, U. Gupta, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2008**, *4*, 1035–1052; b) K. L. Wooley, J. M. J. Fréchet, C. J. Hawker, *Polymer* **1994**, *35*, 4489–4495.
- [106] D. Astruc, E. Boisselier, C. Ornelas, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1857–1959.
- [107] Starpharma.
- [108] a) T. D. McCarthy, P. Karellas, S. A. Henderson, M. Giannis, D. F. O'Keefe, G. Heery, J. R. Paull, B. R. Matthews, G. Holan, *Mol. Pharmaceutics* **2005**, *2*, 312–318; b) E. Gong, B. Matthews, T. McCarthy, J. Chu, G. Holan, J. Raff, S. Sacks, *Antiviral Res.* **2005**, *68*, 139–146.
- [109] D. Tyssen, S. A. Henderson, A. Johnson, J. Sterjovski, K. Moore, J. La, M. Zanin, S. Sonza, P. Karellas, M. P. Giannis, G. Krippner, S. Wesselingh, T. McCarthy, P. R. Gorry, P. A. Ramsland, R. Cone, J. R. Paull, G. R. Lewis, G. Tachedjian, *PLoS One* **2010**, *5*, e12309.
- [110] a) C. F. Price, D. Tyssen, S. Sonza, A. Davie, S. Evans, G. R. Lewis, S. Xia, T. Spelman, P. Hodsmann, T. R. Moench, A. Humberstone, J. R. Paull, G. Tachedjian, *PLoS One* **2011**, *6*, e24095; b) C. S. Dezzutti, V. N. James, A. Ramos, S. T. Sullivan, A. Siddig, T. J. Bush, L. A. Grohskopf, L. Paxton, S. Subbarao, C. E. Hart, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 3834–3844.
- [111] C. M. Patterson, S. B. Balachander, I. Grant, P. Pop-Damkov, B. Kelly, W. McCoull, J. Parker, M. Giannis, K. J. Hill, F. D. Gibbons, E. J. Hennessy, P. Kemmitt, A. R. Harmer, S. Gales, S. Purbrick, S. Redmond, M. Skinner, L. Graham, J. P. Secrist, A. G. Schuller, S. Wen, A. Adam, C. Reimer, J. Cidado, M. Wild, E. Gangl, S. E. Fawell, J. Saeh, B. R. Davies, D. J. Owen, M. B. Ashford, *Commun. Biol.* **2021**, *4*, 112.
- [112] M. E. Fox, S. Guillaudeu, J. M. J. Fréchet, K. Jerger, N. Macaraeg, F. C. Szoka, *Mol. Pharmaceutics* **2009**, *6*, 1562–1572.
- [113] R. M. England, J. I. Hare, J. Barnes, J. Wilson, A. Smith, N. Strittmatter, P. D. Kemmitt, M. J. Waring, S. T. Barry, C. Alexander, M. B. Ashford, *J. Controlled Release* **2017**, *247*, 73–85.
- [114] Z. Xu, Y. Wang, Z. Ma, Z. Wang, Y. Wei, X. Jia, *Polym. Chem.* **2016**, *7*, 715–721.
- [115] Y.-Y. Jiang, G.-T. Tang, L.-H. Zhang, S.-Y. Kong, S.-J. Zhu, Y.-Y. Pei, *J. of Drug Targ.* **2010**, *18*, 389–403.
- [116] I. Ekladios, Y. L. Colson, M. W. Grinstaff, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2019**, *18*, 273–294.
- [117] a) J. Suksiriworapong, V. Taresco, D. P. Ivanov, I. D. Styliari, K. Sakchaisri, V. B. Junyaprasert, M. C. Garnett, *Colloids Surf. B* **2018**, *167*, 115–125; b) F.-T. Tsai, Y. Wang, D. J. Darensbourg, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 4626–4633.
- [118] a) Q. Zhou, S. Shao, J. Wang, C. Xu, J. Xiang, Y. Piao, Z. Zhou, Q. Yu, J. Tang, X. Liu, Z. Gan, R. Mo, Z. Gu, Y. Shen, *Nat. Nanotechnol.* **2019**, *14*, 799–809; b) Z. Zhou, Y. Shen, J. Tang, M. Fan, E. A. Van Kirk, W. J. Murdoch, M. Radosz, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 3580–3589; c) Y. Lee, S. Fukushima, Y. Bae, S. Hiki, T. Ishii, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5362–5363; d) M. Tangsangaksri, H. Takemoto, M. Naito, Y. Maeda, D. Sueyoshi, H. J. Kim, Y. Miura, J. Ahn, R. Azuma, N. Nishiyama, K. Miyata, K. Kataoka, *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 246–255.
- [119] J. Xu, S. Luo, W. Shi, S. Liu, *Langmuir* **2006**, *22*, 989–997.
- [120] a) M. C. Lukowiak, B. N. Thota, R. Haag, *Biotechnol. Adv.* **2015**, *33*, 1327–1341; b) R. Savić, T. Azzam, A. Eisenberg, D. Maysinger, *Langmuir* **2006**, *22*, 3570–3578; c) J. Gong, M. Chen, Y. Zheng, S. Wang, Y. Wang, *J. Controlled Release* **2012**, *159*, 312–323.
- [121] J. F. Jansen, E. M. de Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *Science* **1994**, *266*, 1226–1229.
- [122] F. Zeng, S. C. Zimmerman, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1681–1712.
- [123] J. F. G. A. Jansen, E. W. Meijer, E. M. M. De Brabander - Van Den Berg, *Macromol. Symp.* **1996**, *102*, 27–33.
- [124] C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7638–7647.
- [125] C. J. Hawker, K. L. Wooley, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 1287–1297.
- [126] H. Belhadj-Tahar, A. Chen, Y. Jia, S. Wu, N. Sadeg, H. Zhao, C. Li, G. Gu, Y. Gao, G. Yang, *Am. J. Clin. Oncol.* **2018**, *36*, e15569–e15569.
- [127] R. K. Kainthan, C. Mugabe, H. M. Burt, D. E. Brooks, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 886–895.
- [128] C. Mugabe, B. A. Hadaschik, R. K. Kainthan, D. E. Brooks, A. I. So, M. E. Gleave, H. M. Burt, *BJU Int.* **2009**, *103*, 978–986.
- [129] L. Zhao, G. Chen, J. Li, Y. Fu, T. A. Mavlyutov, A. Yao, R. W. Nickells, S. Gong, L.-W. Guo, *J. Controlled Release* **2017**, *247*, 153–166.
- [130] G. Liu, H. Gao, Y. Zuo, X. Zeng, W. Tao, H. I. Tsai, L. Mei, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 112–119.
- [131] R. Jaskula-Sztul, W. Xu, G. Chen, A. Harrison, A. Dammalapati, N. Nair, Y. Cheng, S. Gong, H. Chen, *Biomaterials* **2016**, *91*, 1–10.
- [132] R. Jaskula-Sztul, G. Chen, A. Dammalapati, A. Harrison, W. Tang, S. Gong, H. Chen, *J. Mater. Chem. B* **2017**, *5*, 151–159.
- [133] W. Lin, X. Zhang, L. Qian, N. Yao, Y. Pan, L. Zhang, *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 3869–3880.
- [134] M. Cherri, M. Ferraro, E. Mohammadifar, E. Quaas, K. Achazi, K. Ludwig, C. Grötzinger, M. Schirner, R. Haag, *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2021**, *7*, 2569–2579.
- [135] E. Mohammadifar, F. Zabihi, Z. Tu, S. Hedtrich, A. Nematikharat, M. Adeli, R. Haag, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 7375–7383.
- [136] M. E. A. Faouzi, T. Dine, M. Luyckx, C. Brunet, M.-L. Mallevais, F. Goudaliez, B. Gressier, M. Cazin, J. Kablan, J. C. Cazin, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1995**, *13*, 1363–1372.
- [137] H. Gelderblom, J. Verweij, K. Nooter, A. Sparreboom, *Eur. J. Cancer* **2001**, *37*, 1590–1598.
- [138] H. Maeda, J. Wu, T. Sawa, Y. Matsumura, K. Hori, *J. Controlled Release* **2000**, *65*, 271–284.
- [139] M. Kanapathipillai, A. Brock, D. E. Ingber, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2014**, *79–80*, 107–118.
- [140] J. Wang, W. Mao, L. L. Lock, J. Tang, M. Sui, W. Sun, H. Cui, D. Xu, Y. Shen, *ACS Nano* **2015**, *9*, 7195–7206.

- [141] a) K. Achazi, R. Haag, M. Ballauff, J. Dervede, J. N. Kizhakkedathu, D. Maysinger, G. Multhaupt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 3882–3904; *Angew. Chem.* **2021**, *133*, 3926–3950; b) S. Schöttler, K. Landfester, V. Mailänder, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 8806–8815; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 8950–8959.
- [142] N. Bertrand, P. Grenier, M. Mahmoudi, E. M. Lima, E. A. Appel, F. Dormont, J.-M. Lim, R. Karnik, R. Langer, O. C. Farokhzad, *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 777.
- [143] J. Lu, S. C. Owen, M. S. Shoichet, *Macromolecules* **2011**, *44*, 6002–6008.
- [144] a) I. Alberg, S. Kramer, M. Schinnerer, Q. Hu, C. Seidl, C. Leps, N. Drude, D. Möckel, C. Rijcken, T. Lammers, M. Diken, M. Maskos, S. Morsbach, K. Landfester, S. Tenzer, M. Barz, R. Zentel, *Small* **2020**, *16*, 1907574; b) S. Tenzer, D. Docter, J. Kuharev, A. Musyanovych, V. Fetz, R. Hecht, F. Schlenk, D. Fischer, K. Kiouptsi, C. Reinhardt, K. Landfester, H. Schild, M. Maskos, S. K. Knauer, R. H. Stauber, *Nat. Nanotechnol.* **2013**, *8*, 772–781.
- [145] E. C. Cho, J. Xie, P. A. Wurm, Y. Xia, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 1080–1084.
- [146] A. E. Nel, L. Mädler, D. Velegol, T. Xia, E. M. V. Hoek, P. Somasundaran, F. Klaessig, V. Castranova, M. Thompson, *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 543–557.
- [147] a) N. Kamaly, B. Yameen, J. Wu, O. C. Farokhzad, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 2602–2663; b) P. T. Wong, S. K. Choi, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 3388–3432.
- [148] M. H. Stenzel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 2202–2206; *Angew. Chem.* **2021**, *133*, 2230–2234.
- [149] M. Ghezzi, S. Pescina, C. Padula, P. Santi, E. Del Favero, L. Cantù, S. Nicoli, *J. Controlled Release* **2021**, *332*, 312–336.
- [150] A. Venne, S. Li, R. Mandeville, A. Kabanov, V. Alakhov, *Cancer Res.* **1996**, *56*, 3626.
- [151] a) V. Alakhov, E. Klinski, S. Li, G. Pietrzynski, A. Venne, E. Batrakova, T. Bronitch, A. Kabanov, *Colloids Surf. B* **1999**, *16*, 113–134; b) S. Danson, D. Ferry, V. Alakhov, J. Margison, D. Kerr, D. Jowle, M. Brampton, G. Halbert, M. Ranson, *Br. J. Cancer* **2004**, *90*, 2085–2091; c) D. Hwang, J. D. Ramsey, A. V. Kabanov, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2020**, *156*, 80–118.
- [152] a) Y. Masayuki, M. Mizue, Y. Noriko, O. Teruo, S. Yasuhisa, K. Kazunori, I. Shohei, *J. Controlled Release* **1990**, *11*, 269–278; b) M. Yokoyama, S. Inoue, K. Kataoka, N. Yui, T. Okano, Y. Sakurai, *Makromol. Chem.* **1989**, *190*, 2041–2054.
- [153] H. Cabral, K. Kataoka, *J. Controlled Release* **2014**, *190*, 465–476.
- [154] Y. Bae, S. Fukushima, A. Harada, K. Kataoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4640–4643; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4788–4791.
- [155] M. Harada, I. Bobe, H. Saito, N. Shibata, R. Tanaka, T. Hayashi, Y. Kato, *Cancer Sci.* **2011**, *102*, 192–199.
- [156] F. Koizumi, M. Kitagawa, T. Negishi, T. Onda, S.-I. Matsumoto, T. Hamaguchi, Y. Matsumura, *Cancer Res.* **2006**, *66*, 10048.
- [157] T. Hamaguchi, Y. Matsumura, M. Suzuki, K. Shimizu, R. Goda, I. Nakamura, I. Nakatomi, M. Yokoyama, K. Kataoka, T. Kakizoe, *Br. J. Cancer* **2005**, *92*, 1240–1246.
- [158] S. C. Kim, D. W. Kim, Y. H. Shim, J. S. Bang, H. S. Oh, S. W. Kim, M. H. Seo, *J. Controlled Release* **2001**, *72*, 191–202.
- [159] X. Sun, G. Wang, H. Zhang, S. Hu, X. Liu, J. Tang, Y. Shen, *ACS Nano* **2018**, *12*, 6179–6192.
- [160] a) H. He, L. Liu, E. E. Morin, M. Liu, A. Schwendeman, *Acc. Chem. Res.* **2019**, *52*, 2445–2461; b) P. Mi, K. Miyata, K. Kataoka, H. Cabral, *Adv. Therapeutics* **2021**, *4*, 2000159.
- [161] a) G. Gregoriadis, B. E. Ryman, *Biochem. J.* **1971**, *124*, 58P; b) L. D. Saravolatz, C. Bern, J. Adler-Moore, J. Berenguer, M. Boelaert, M. den Boer, R. N. Davidson, C. Figueras, L. Gradoni, D. A. Kafetzis, K. Ritmeijer, E. Rosenthal, C. Royce, R. Russo, S. Sundar, J. Alvar, *Arch. Clin. Infect. Dis.* **2006**, *43*, 917–924.
- [162] T. Kobayashi, S. Tsukagoshi, Y. Sakurai, *Gann* **1975**, *66*, 719–720.
- [163] D. R. Proffitt, M. Bhalla, R. Gossweiler, J. Midgett, *Psychon. Bull. Rev.* **1995**, *2*, 409–428.
- [164] Y. Barenholz, *J. Controlled Release* **2012**, *160*, 117–134.
- [165] A. Gabizon, R. Catane, B. Uziely, B. Kaufman, T. Safra, R. Cohen, F. Martin, A. Huang, Y. Barenholz, *Cancer Res.* **1994**, *54*, 987–992.
- [166] S. C. Semple, A. Akinc, J. Chen, A. P. Sandhu, B. L. Mui, C. K. Cho, D. W. Sah, D. Stebbing, E. J. Crosley, E. Yaworski, I. M. Hafez, J. R. Dorkin, J. Qin, K. Lam, K. G. Rajeev, K. F. Wong, L. B. Jeffs, L. Nechev, M. L. Eisenhardt, M. Jayaraman, M. Kazem, M. A. Maier, M. Srinivasulu, M. J. Weinstein, Q. Chen, R. Alvarez, S. A. Barros, S. De, S. K. Klimuk, T. Borland, V. Kosovrasti, W. L. Cantley, Y. K. Tam, M. Manoharan, M. A. Ciufolini, M. A. Tracy, A. de Fougerolles, I. MacLachlan, P. R. Cullis, T. D. Madden, M. J. Hope, *Nat. Biotechnol.* **2010**, *28*, 172–176.
- [167] K. L. Mallory, J. A. Taylor, X. Zou, I. N. Waghela, C. G. Schneider, M. Q. Sibilo, N. M. Punde, L. C. Perazzo, T. Savransky, M. Sedegah, S. Dutta, C. J. Janse, N. Pardi, P. J. C. Lin, Y. K. Tam, D. Weissman, E. Angov, *npj Vaccines* **2021**, *6*, 84.
- [168] BionTech, **2022**.
- [169] L. Zhang, A. Eisenberg, *Science* **1995**, *268*, 1728–1731.
- [170] a) R. Bleul, R. Thiermann, M. Maskos, *Macromolecules* **2015**, *48*, 7396–7409; b) R. Thiermann, W. Mueller, A. Montesinos-Castellanos, D. Metzke, P. Löb, V. Hessel, M. Maskos, *Polymer* **2012**, *53*, 2205–2210.
- [171] J. Habel, A. Ogbonna, N. Larsen, L. Schulte, K. Almdal, C. Hélix-Nielsen, *J. Polym. Sci. Part B* **2016**, *54*, 699–708.
- [172] a) W. Chen, F. Meng, R. Cheng, Z. Zhong, *J. Controlled Release* **2010**, *142*, 40–46; b) Y. Fang, W. Yang, L. Cheng, F. Meng, J. Zhang, Z. Zhong, *Acta Biomater.* **2017**, *64*, 323–333; c) H. Gao, W. Shi, L. B. Freund, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 9469–9474.
- [173] P. J. Photos, L. Bacakova, B. Discher, F. S. Bates, D. E. Discher, *J. Controlled Release* **2003**, *90*, 323–334.
- [174] Y. Zou, Y. Fang, H. Meng, F. Meng, C. Deng, J. Zhang, Z. Zhong, *J. Controlled Release* **2016**, *244*, 326–335.
- [175] Y. Zhong, M. Dimde, D. Stöbener, F. Meng, C. Deng, Z. Zhong, R. Haag, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 27530–27538.
- [176] W. Gu, F. Meng, R. Haag, Z. Zhong, *J. Controlled Release* **2021**, *329*, 676–695.
- [177] R. Nagarajan, *Langmuir* **2002**, *18*, 31–38.
- [178] D. E. Discher, F. Ahmed, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2006**, *8*, 323–341.
- [179] H. Lee, R. G. Larson, *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 1757–1765.
- [180] D. Papahadjopoulos, T. Allen, A. Gabizon, E. Mayhew, K. Matthay, S. Huang, K. Lee, M. Woodle, D. Lasic, C. Redemann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 11460–11464.
- [181] Y. Zhang, F. Wu, W. Yuan, T. Jin, *J. Controlled Release* **2010**, *147*, 413–419.
- [182] Y. Kim, M. Tewari, J. D. Pajeroski, S. Cai, S. Sen, J. Williams, S. Sirsi, G. Lutz, D. E. Discher, *J. Controlled Release* **2009**, *134*, 132–140.
- [183] Y. Zou, M. Zheng, W. Yang, F. Meng, K. Miyata, H. J. Kim, K. Kataoka, Z. Zhong, *Adv. Mater.* **2017**, *29*, 1703285.
- [184] E. A. Scott, A. Stano, M. Gillard, A. C. Maio-Liu, M. A. Swartz, J. A. Hubbell, *Biomaterials* **2012**, *33*, 6211–6219.
- [185] F. Ahmed, D. E. Discher, *J. Controlled Release* **2004**, *96*, 37–53.

- [186] A. Kumar, S. V. Lale, S. Mahajan, V. Choudhary, V. Koul, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7*, 9211–9227.
- [187] M. Lin, Y. Dai, F. Xia, X. Zhang, *Mater. Sci. Eng. C* **2021**, *119*, 111626.
- [188] a) M. Talelli, M. Barz, C. J. Rijcken, F. Kiessling, W. E. Hennink, T. Lammers, *Nano Today* **2015**, *10*, 93–117; b) R. K. O'Reilly, C. J. Hawker, K. L. Wooley, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 1068–1083.
- [189] C. J. Rijcken, C. J. Snel, R. M. Schiffelers, C. F. van Nostrum, W. E. Hennink, *Biomaterials* **2007**, *28*, 5581–5593.
- [190] Y. Liu, M. J. van Steenberg, Z. Zhong, S. Oliveira, W. E. Hennink, C. F. van Nostrum, *Macromolecules* **2020**, *53*, 7009–7024.
- [191] Y. Li, K. Xiao, W. Zhu, W. Deng, K. S. Lam, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2014**, *66*, 58–73.
- [192] Y. Zou, F. Meng, C. Deng, Z. Zhong, *J. Controlled Release* **2016**, *239*, 149–158.
- [193] X. Wang, G. Liu, J. Hu, G. Zhang, S. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3138–3142; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 3202–3206.
- [194] a) S. L. Mekuria, Z. Ouyang, C. Song, J. Rodrigues, M. Shen, X. Shi, *Bioconjugate Chem.* **2022**, *33*, 87–96; b) A. Gruber, L. Navarro, D. Klingner, *Adv. Mater. Interfaces* **2020**, *7*, 1901676; c) Y. Jiang, J. Chen, C. Deng, E. J. Suuronen, Z. Zhong, *Biomaterials* **2014**, *35*, 4969–4985; d) A. Oehrl, S. Schötz, R. Haag, *Colloid Polym. Sci.* **2020**, *298*, 719–733; e) L. Gao, F. Zabihi, S. Ehrmann, S. Hedtrich, R. Haag, *J. Controlled Release* **2019**, *300*, 64–72; f) X. Zhang, S. Malhotra, M. Molina, R. Haag, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 1948–1973.
- [195] L. Taiariol, C. Chaix, C. Farre, E. Moreau, *Chem. Rev.* **2022**, *122*, 340–384
- [196] M. Srinivasarao, P. S. Low, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 12133–12164.
- [197] M. Germain, F. Caputo, S. Metcalfe, G. Tosi, K. Spring, A. K. O. Åslund, A. Pottier, R. Schiffelers, A. Ceccaldi, R. Schmid, *J. Controlled Release* **2020**, *326*, 164–171.
- [198] A. Harada, K. Kataoka, *Macromolecules* **1995**, *28*, 5294–5299.
- [199] a) A. Kim, Y. Miura, T. Ishii, O. F. Mutaf, N. Nishiyama, H. Cabral, K. Kataoka, *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 446–453; b) Y. Lee, T. Ishii, H. Cabral, H. J. Kim, J.-H. Seo, N. Nishiyama, H. Oshima, K. Osada, K. Kataoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5309–5312; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 5413–5416; c) Y. Lee, T. Ishii, H. J. Kim, N. Nishiyama, Y. Hayakawa, K. Itaka, K. Kataoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2552–2555; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 2606–2609.
- [200] A. Harada, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9241–9242.
- [201] A. Tao, G. L. Huang, K. Igarashi, T. Hong, S. Liao, F. Stellacci, Y. Matsumoto, T. Yamasoba, K. Kataoka, H. Cabral, *Macromol. Biosci.* **2020**, *20*, 1900161.
- [202] a) Y. Matsumoto, J. W. Nichols, K. Toh, T. Nomoto, H. Cabral, Y. Miura, R. J. Christie, N. Yamada, T. Ogura, M. R. Kano, Y. Matsumura, N. Nishiyama, T. Yamasoba, Y. H. Bae, K. Kataoka, *Nat. Nanotechnol.* **2016**, *11*, 533–538; b) M. F. Flessner, J. Choi, K. Credit, R. Deverkadra, K. Henderson, *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 3117–3125; c) A. I. Minchinton, I. F. Tannock, *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 583–592.
- [203] a) S. Miura, H. Suzuki, Y. H. Bae, *Nano Today* **2014**, *9*, 695–704; b) S. Syvänen, D. Edén, D. Sehlén, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2017**, *493*, 120–125.
- [204] P. Xu, E. A. Van Kirk, Y. Zhan, W. J. Murdoch, M. Radosz, Y. Shen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4999–5002; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5087–5090.
- [205] A. C. Anselmo, S. Mitragotri, *Bioeng. Transl. Med.* **2019**, *4*, e10143.
- [206] P. Brazeau, W. Vale, R. Burgus, N. Ling, M. Butcher, J. Rivier, R. Guillemin, *Science* **1973**, *179*, 77–79.
- [207] D. J. Kwekkeboom, B. L. Kam, M. van Essen, J. J. Teunissen, C. H. van Eijck, R. Valkema, M. de Jong, W. W. de Herder, E. P. Krenning, *Endocr.-Relat. Cancer* **2010**, *17*, R53–R73.
- [208] R. P. Baum, A. Singh, C. Schuchardt, H. R. Kulkarni, I. Klette, S. Wiessalla, F. Osterkamp, U. Reineke, C. Smerling, *J. Nucl. Med.* **2018**, *59*, 809–814.
- [209] L. Battistini, K. Bugatti, A. Sartori, C. Curti, F. Zanardi, *Eur. J. Org. Chem.* **2021**, 2506–2528.

Manuskript erhalten: 16. März 2022

Akzeptierte Fassung online: 16. Mai 2022

Endgültige Fassung online: 26. Oktober 2022