

Multifunktionelle Poly(ethylen glycole)

Boris Obermeier, Frederik Wurm, Christine Mangold und Holger Frey*

Biokonjugation · Epoxide · Multivalenz ·

Poly(ethylen glycol) · Polyether

Maßgeschneiderte makromolekulare Strukturen stellen auf dem sich stetig entwickelnden Feld der Polymertherapeutika die Schlüsselkomponente dar, um das Potential bioaktiver Konjugate auszuschöpfen. Die jüngsten Entwicklungen auf dem Gebiet der Wirkstoffkonjugate zur Krebsbehandlung zeigen, dass multifunktionelle Polymere als Wirkstoffträger immer bedeutender werden. Die Anwendung des vermeintlich am besten geeigneten Polymers, Poly(ethylen glycol) (PEG), ist hier jedoch durch die limitierte Zahl funktioneller Gruppen eingeschränkt. Als Resultat ziehen multifunktionelle Copolymere basierend auf Ethylenoxid (EO) und einem entsprechenden Epoxid als Comonomer (mf-PEGs) zunehmend Aufmerksamkeit auf sich. Wohldefiniert dargestellt durch lebende anionische Polymerisation in Kombination mit modernen Charakterisierungsmethoden – beispielsweise Messungen der Polymerisationskinetik über ^1H -NMR-Spektroskopie in Echtzeit –, repräsentiert diese aufkommende Klasse an Polymeren eine leistungsstarke Plattform zur Synthese von Bio- und Wirkstoffkonjugaten.

1. Einleitung

Polymertherapeutika stellen ein stetig wachsendes Feld multidisziplinärer Forschung dar, ausgehend von organischer und Polymersynthese hin zur Biomedizin einschließlich klinischer Studien. Seit Ringsdorf in den 70er Jahren seine Vision von biologisch aktiven Polymer-Wirkstoff-Konjugaten formulierte,^[1,2] sind zahlreiche Konjugate auf dem Markt erschienen. In diesem Kontext erscheint Duncans Ankündigung eines „anbrechenden Zeitalters der Polymertherapeutika“^[3,4] Anfang des Jahrtausends als symptomatische Beschreibung einer der wichtigsten Herausforderungen in der modernen makromolekularen Chemie. Damit das Potential dieser bioaktiven makromolekularen Hybridstrukturen ganz ausge-

schöpft werden kann, muss die Biomedizin eng mit der Polymerchemie zusammenarbeiten, die mit innovativen Synthese- und Analyseverfahren die Makromoleküle bereitstellt. Wegen ihres Aufbaus durch die Kombination einer synthetischen Polymerkette mit biologisch aktiven Molekülen, wie niedermolekularen Wirkstoffmolekülen oder Proteinen und gege-

benenfalls Targetfunktionen und Markermolekülen, weisen Polymertherapeutika oft eine gegenüber den niedermolekularen Verbindungen entscheidend verbesserte Pharmakokinetik auf.^[5–13] Erhöhte Plasmahalbwertszeiten und Stabilität^[14–17] oder passives Tumortargeting durch den von Maeda und Mitarbeitern erforschten EPR-Effekt („erhöhte Permeabilität und Retention“)^[18–20] gehören zu den positiven Effekten, die aus den Polymereigenschaften resultieren. Die makromolekularen Parameter wie Molekulargewicht, Topologie, Polydispersität, Zusammensetzung, Funktionalität und Löslichkeit beeinflussen also auch die Pharmakokinetik der resultierenden Konjugate.

In Anbetracht dieser Entwicklungen stellt sich die Frage: Worin besteht genau die Herausforderung für die makromolekulare Chemie? Der Erfolg der jeweiligen biomedizinischen Anwendung hängt nicht nur von den chemischen Eigenschaften des Polymers ab, sondern auch von der Toxizität und biologischen Abbaubarkeit. Weiterhin berücksichtigt werden müssen die spezifische Pathophysiologie der zu adressierenden Krankheit, die Wirksamkeit der aktiven Substanz und die bevorzugte Art der Verabreichung, sodass eine hohe Zahl an relevanten Faktoren für die Optimierung des Gesamtsystems existiert. Die sorgfältige Wahl der Polymerkomponente spielt dabei eine Schlüsselrolle.

[*] Dr. B. Obermeier, Dipl.-Chem. C. Mangold, Prof. Dr. H. Frey

Institut für Organische Chemie

Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Duesbergweg 10–14, 55099 Mainz (Deutschland)

Fax: (+49) 6131-39-24078

E-Mail: hfrey@uni-mainz.de

Homepage: <http://www.ak-frey.chemie.uni-mainz.de>

Dr. F. Wurm

Institut des Matériaux, Laboratoire des Polymères Batiment MXD

Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL)

Station 12, 1015 Lausanne (Schweiz)

Die meisten Polymer-Wirkstoff-Konjugate, die in den letzten zwei Jahrzehnten auf dem Markt erschienen sind, basieren auf Poly(ethylenglycol) (PEG).^[21–26] PEG, für Molekulargewichte über 20000 g mol⁻¹ auch als Poly(ethylenoxid) (PEO) bezeichnet, gilt derzeit als das etablierte Referenzpolymer für pharmazeutische und biomedizinische Anwendungen, aufgrund folgender Eigenschaften: 1) hervorragende Löslichkeit sowohl in wässrigen als auch in organischen Medien, 2) keine Immunogenität, Antigenität und Toxizität, 3) hohe Flexibilität und Hydratisierung des Polymerrückgrats.^[27–30] In einem breiten Spektrum an Anwendungen wird PEG in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie meist als Additiv eingesetzt.^[31] Darüber hinaus werden – basierend auf den Arbeiten von Davis und Abuchowski in den späten 70er Jahren^[32,33] – durch kovalente Verknüpfung von PEG (PEGylierung) viele Nachteile von Peptid- und Proteinwirkstoffen aufgrund der Erhöhung des Molekulargewichts und Abschirmung gegen proteolytischen Abbau und Immunreaktionen überwunden.^[21,34–37] Diese PEG-Protein-Konjugate stellen überzeugende Beispiele dar für die Anwendung und synergistischen Aspekte von Polymertherapeutika.

Funktionelle Polymere mit „definierter Copolymerzusammensetzung“^[1] und „ungewöhnlicher Bindungskapazität“^[1] erlauben es jedoch, die Eigenschaften der Konjugate über die Anbindung von löslichkeitsvermittelnden Gruppen und Targetfunktionen am Rückgrat einzustellen. Die Beladungskapazitäten sind deutlich erhöht. Dieses Konzept wurde insbesondere auf Basis von *N*-(2-Hydroxypropyl)methacrylamid-Copolymeren (PHPMA) als Wirkstoffträger umgesetzt. Poly(2-oxazoline),^[38] Poly(glycerine)^[40,65,66] und Poly(amino-säuren)^[41,42] stellen Alternativen dar. Derzeit befindet sich

ein Reihe von Konjugaten aus PHPMA und Zytostatika (z. B. Doxorubicin und Paclitaxel), die auf passives Tumortargeting abzielen, in verschiedenen Phasen der klinischen Entwicklung.^[43,44] Für die Konjugation mit solchen niedermolekularen Verbindungen ist PEG, das aufgrund der oben genannten Eigenschaften vermeintlich am besten geeignet wäre, unvoreilhaft, da lediglich zwei funktionelle Gruppen, nämlich die Endgruppen, für die Wirkstoffbeladung zur Verfügung stehen. Hohe Beladungskapazitäten und einfache Modifizierungen der polymeren Eigenschaften werden logischerweise durch eine hohe Anzahl an funktionellen Gruppen pro Makromolekül erreicht.

Die Dendronisierung von PEG^[45,46] oder die Synthese von PEGs mit Stern- oder dendritischen Strukturen^[39,47–50] repräsentieren innovative Lösungsansätze zur Überwindung der intrinsisch niedrigen Beladungskapazität. Ebenso wie bei Blockcopolymeren basierend auf PEG und anderen funktionellen Monomeren als Epoxiden (z. B. *N*-Carboxyanhydriden) ist in diesen Fällen die Polymerstruktur und/oder die chemische Zusammensetzung deutlich verschieden vom etablierten PEG-Homopolymer.^[51–56] In Anbetracht der angestrebten Eigenschaften ist es deshalb erstaunlich, dass Copolymere aus Ethylenoxid (EO) und einem entsprechenden Epoxid-Comonomer eine bislang eher vernachlässigte Klasse an Polymeren darstellen.

Obwohl bereits Mitte der 90er Jahre beschrieben,^[57,58] sind lineare, multifunktionelle PEG-Derivate erst während der letzten Jahre zunehmend in den Fokus der Aufmerksamkeit gerückt, insbesondere im Hinblick auf Polymertherapeutika. In Anbetracht der Allgegenwart von PEG – von der Food & Drug Administration zugelassen und mit hervorragender Dokumentation der biomedizinischen Anwen-



Boris Obermeier studierte Chemie an der University of Toronto (Kanada) und der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, wo er 2007 sein Diplom erhielt. Im Januar 2011 schloss er seine Promotion über multifunktionelle Poly(ether) für Biokonjugate und als lösliche (Katalysator-)Träger in der Gruppe von Prof. Holger Frey ab. Seine Arbeit wurde durch ein Stipendium des Fonds der Chemischen Industrie gefördert.



Christine Mangold studierte Chemie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz (Diplom 2009), einschließlich eines Forschungsaufenthaltes 2007 am Polymer Science and Engineering Department der University of Massachusetts, Amherst, bei Prof. E. Bryan Coughlin. Derzeit promoviert sie in der Gruppe von Prof. Holger Frey über die Synthese von statistischen funktionellen Poly(ethern) basierend auf Poly(ethylenglycol). Sie ist Stipendiatin der Graduate School of Excellence „Materials Science in Mainz“.



Frederik Wurm wurde 1981 in Wiesbaden geboren. Er studierte Chemie in Mainz und promovierte bei Prof. Holger Frey an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz über die Synthese von linearen und verzweigten Makromolekülen. Momentan absolviert er ein Postdoktorat an der ETH Lausanne (Schweiz) in der Gruppe von Harm-Anton Klok mit Untersuchungen neuer Biokonjugate. Er ist Feodor-Lynen-Stipendiat der Alexander von Humboldt-Stiftung.



Holger Frey, geboren 1965, studierte Chemie an der Universität Freiburg. Er absolvierte einen Forschungsaufenthalt an der Carnegie Mellon University, Pittsburgh, und promovierte dann an der Universität Twente. Nach seiner Habilitation (Freiburg, 1998) über Poly(carbosilane) ging er 2001 an die Johannes Gutenberg-Universität Mainz, wo er seit 2003 Professor für organische und makromolekulare Chemie ist. Seine Forschung richtet sich auf lineare und verzweigte funktionelle Polymere, Synthesen in Mikroreaktoren und biomedizinische Materialien.

dungen (wenngleich limitiert durch niedrige Beladungskapazität) – weisen die Copolymere großes Potential auf. Weiterhin werden z. B. multivalente Wechselwirkungen mit biologischen Oberflächen^[59–61] und Anwendungen in der kombinatorischen Therapie möglich.^[8] Multifunktionelle PEG-Copolymere sind jedoch nicht auf pharmazeutische und biomedizinische Anwendungen beschränkt, sondern beispielsweise für das Gebiet der Katalyse ebenfalls sehr interessant. Momentan stellt PEG-Monomethylether mit einem Molekulargewicht von 5000 g mol⁻¹ (MPEG-5000) den bekanntesten löslichen polymeren Träger für Katalysatoren dar. Durch quasi „PEGylierung des Katalysators“ werden die Reaktionskinetiken der homogenen niedermolekularen Katalysatoren mit den vorteilhaften Separationseigenschaften heterogener Katalysatoren kombiniert.^[62–64] Auch in diesem Fall gehen die vorteilhaften Eigenschaften von PEG mit niedrigen Beladungskapazitäten einher.

Lineare Copolymere aus EO und einem entsprechenden Comonomer stellen wohldefinierte Makromoleküle dar, die

eine genau einstellbare Anzahl an funktionellen Gruppen am Polymerrückgrat aufweisen (Übersicht in Abbildungen 1 und 2). Ihre Strukturen lassen sich beschreiben als PEG, bei dem einige Wasserstoffatome des Rückgrats durch funktionelle Seitenketten ersetzt sind (Abbildung 1). Insbesondere für niedrige Comonomeranteile ist der Term „multifunktionelle PEGs“ (*mf*-PEGs) gut geeignet zur Beschreibung dieser linearen Copolymere mit hoher Anzahl an funktionellen Gruppen aufgebaut aus EO und einem Epoxidcomonomer. Von Poly(glycerinen) sind die Polymere kategorisch abzugrenzen.^[40,65,66] Obwohl ebenfalls biokompatibel,^[67–69] ist ohne EO-Wiederholungseinheiten die chemische Beschaffenheit deutlich verschieden. Im Unterschied zu verzweigten oder linearen Poly(glycerinen), die eine funktionelle Gruppe pro Wiederholungseinheit tragen, ist bei *mf*-PEGs der Einsatz des kostenintensiven Comonomers auf das für die gewünschten Eigenschaften notwendige Minimum reduziert. Die Funktionalität lässt sich individuell für die jeweilige Anwendung maßschneidern. Dieser Kurzaufsatz fasst die Entwicklung und den aktuellen Stand von *mf*-PEGs zusammen und präsentiert ausgewählte neueste Beispiele dieser aufstrebenden Klasse von Polymeren in verschiedenen Anwendungen, mit Schwerpunkt bei den Polymertherapeutika.

2. Synthesestrategie

Das entsprechende Epoxidcomonomer für die anionische Ringöffnungspolymerisation ist der Schlüssel zur Synthese von *mf*-PEGs (Schema 1). Die statistische Copolymerisation einer Mischung von EO (Sdp. 11 °C) und dem Comonomer in einem geeigneten Lösungsmittel wird meist mit Alkalimetallalkoxiden initiiert. Die Zusammensetzung der Monomermischung bestimmt die Anzahl funktioneller Gruppen pro Polymerkette. Di- und Triblock-*mf*-PEGs werden über sequentielle Polymerisation von EO und dem jeweiligen Comonomer dargestellt oder direkt durch Einsatz von kommerziell erhältlichen PEG-Homopolymeren als Makroinitiatoren.^[70–73] Aufgrund von Kettenübertragungsreaktionen ist das Molekulargewicht des funktionellen Blocks oft begrenzt.^[74,75]

Geeignete Comonomere stellen eine inhärente funktionelle Gruppe zur Verfügung, die zugänglich ist für Postpolymerisationsmodifikationen entweder 1) über die Abspaltung einer Schutzgruppe und/oder 2) andere polymeranaloge Reaktionen. Derzeit können ausschließlich Allylgruppen direkt,

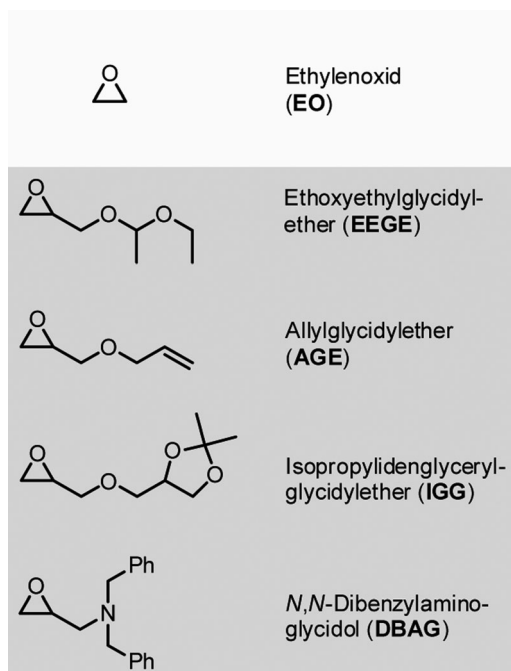
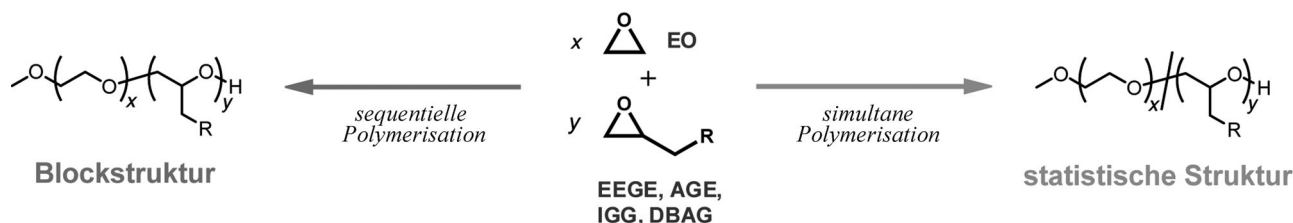


Abbildung 1. Monomerbausteine für die Herstellung von multifunktionalen Poly(ethylen glycolen) (*mf*-PEGs) mit Block- oder statistischer Struktur.



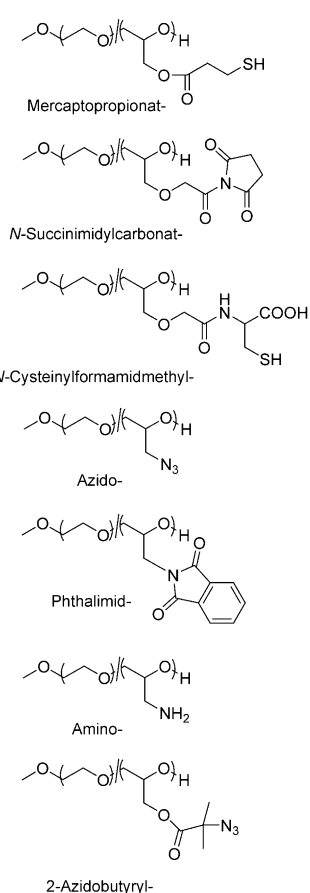
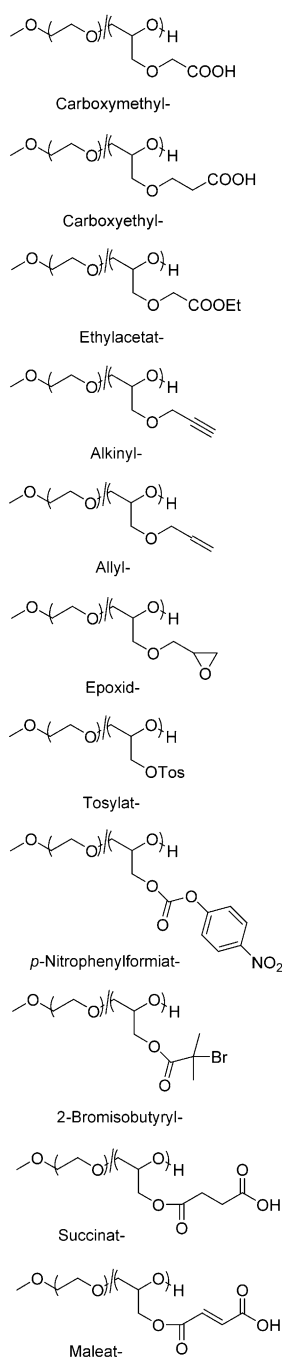
Schema 1. Syntheserouten für multifunktionelle Poly(ethylen glycolen) mit Block- oder statistischer Struktur auf der Basis von Ethylenoxid und einem entsprechenden Comonomer durch lebende Ringöffnungspolymerisation. Links: sequentielle Copolymerisation zur Herstellung von *mf*-PEG-Blockcopolymeren; rechts: gleichzeitige Copolymerisation zur Herstellung von statistischen *mf*-PEGs.

d.h. ohne Schutzgruppen, eingeführt werden.^[58,76–85] Eine geeignete Schutzgruppe muss stabil sein unter den harschen Bedingungen der anionischen Polymerisation, wenig Kettentransfer aufweisen und im Anschluss an die Polymerisation leicht abgespalten werden können.

Die von Fitton et al. eingeführte Ethoxyethylacetal-Schutzgruppe erfüllt diese Anforderungen hervorragend.^[86] So stellen Copolymere aus EO und 1-Ethoxyethylglycidyl-ether (EEGE), die durch saure Entschützung lineare Po-

ly(ethylen glycol-co-glycerine) liefern, den derzeit wichtigsten Zugang zu *mf*-PEGs dar.^[57,70,74,75,87–94] Der lebende Charakter der anionischen Copolymerisation von EO und EEGE gewährleistet eine sehr gute Molekulargewichtskontrolle und Polydispersitätsindizes (M_w/M_n) von üblicherweise unter 1.1. Hervorzuheben ist, dass die Biokompatibilität dieser Hydroxy-*mf*-PEGs, wie erwartet, kürzlich sowohl in vitro als auch in vivo bestätigt worden ist.^[95] Eine interessante Alternative zu EEGE stellt das neue Monomer 1,2-Iso-

Monofunktionelle *mf*-PEGs



Heterofunktionelle *mf*-PEGs

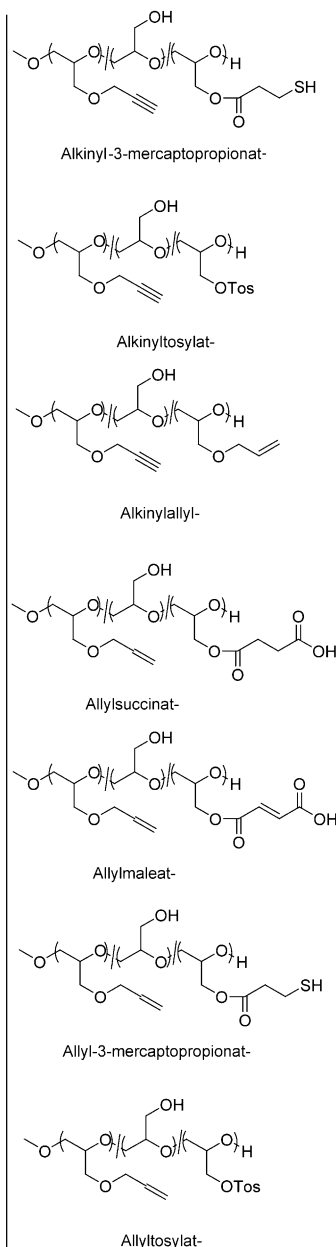
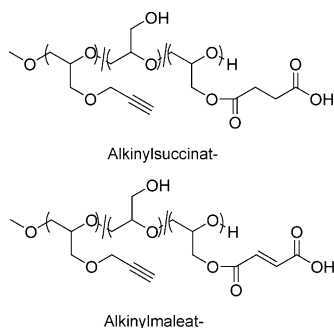


Abbildung 2. *mf*-PEGs mit verschiedenen Funktionalitäten, hergestellt durch polymeranaloge Umsetzung von statistischen Poly(ethylen glycol-co-glycerin)-Copolymeren. (Aus Lit. [101].)

propylidenglycerylglycidylether (IGG) dar, das je Monomereinheit eine primäre und eine sekundäre Hydroxygruppe zur Verfügung stellt.^[96,97]

Eine interessante Erweiterung, insbesondere im Hinblick auf Biokonjugation, ist die Verwendung eines Initiators mit einer orthogonalen Funktionalität, die selektiv adressiert werden kann.^[97–99] Neben Hydroxygruppen wurde bislang nur die Einführung von Aminogruppen durch Einsatz von geschützten Monomeren beschrieben (über *N,N*-Dibenzylaminoglycidol (DBAG)).^[100] *mf*-PEGs mit anderen funktionellen Gruppen sind über die Umwandlung von hydroxy-, amino- oder allylfunktionalisierten *mf*-PEGs zugänglich. Beispielsweise haben Li und Chau die Synthese einer Bibliothek von *mf*-PEGs mit vielfältigen Funktionalitäten beschrieben, basierend auf der Transformation von Hydroxy-*mf*-PEGs in einer oder mehreren Synthesestufen (Abbildung 2).^[101]

Derartige Polymer-Transformationen können allerdings in reduzierten Ausbeuten, unvollständigen Umsätzen und der Bildung von Nebenprodukten resultieren, wenn gewöhnliche organische Reaktionen zum Einsatz kommen. Ihr Einsatz auf makromolekularer Ebene ist oft anspruchsvoller und kann zu weniger gut definierten Strukturen führen, was sich negativ auf Toxizität und Biokompatibilität auswirken kann. Präzise definierte *mf*-PEGs werden am effektivsten erhalten, wenn simple Reaktionen mit sehr hohen Ausbeuten, hoher Selektivität und hoher Vielseitigkeit, d.h. Klickreaktionen, eingesetzt werden.^[102–109] Die Umwandlung von Copolymeren aus EO und Allylglycidylether (AGE) über Thiol-En-Kupplung (TEC)^[110–113] stellt eine effektive modulare Plattform zur Herstellung von maßgeschneiderten *mf*-PEGs dar.^[58,76–85] Über kommerzielles AGE als Comonomer wird unkompliziert eine genau einstellbare Anzahl an Allylethern am Polymerrückgrat eingeführt (als Block- oder statistische Struktur), die zugänglich für TEC sind. Da die Copolymerisation mit AGE ebenfalls lebend verläuft, ist auch hier eine exzellente Kontrolle über das Molekulargewicht mit engen Molekulargewichtsverteilungen gewährleistet.

In diesem Fall kann TEC jedoch streng genommen nicht als Klickreaktion bezeichnet werden, da ein Überschuss an Thiol erforderlich ist, um Vernetzungen zu unterdrücken.^[114] Trotzdem gewähren diese metallfreien Reaktionen hervorragenden Zugang zu *mf*-PEGs mit diversen Funktionalitäten, wenn das entsprechende, oft kostengünstige, heterodifunktionelle Thiol verfügbar ist. Die funktionelle Gruppe ist über eine Ether- und Thioetherbindung mit dem Rückgrat verknüpft.

2.1. Copolymerstruktur

Während lineare Diblockcopolymere aus EO und einem entsprechenden Comonomer unmittelbar mit einer präzise definierten Struktur erhalten werden, wirft die Synthese der statistischen Copolymere eine entscheidende Frage auf: Sind die Comonomereinheiten wirklich statistisch entlang des Polymerrückgrats verteilt oder weist das Polymer eine Gradienten- oder gar Blockstruktur auf?

Aufgrund der elektronischen und sterischen Unterschiede zwischen EO und den Epoxidcomonomeren vom Typ der

Glycidylether sind zunächst unterschiedliche Reaktivitäten zu erwarten. Unter Berücksichtigung der spezifischen Eigenschaften von *mf*-PEGs hat sich eine Kombination der folgenden Analysemethoden zur Bestimmung des Comonomereinbaus und somit der Polymerstruktur als besonders nützlich erwiesen.

Die chemische Verschiebung der Wiederholungseinheiten im ¹³C-NMR-Spektrum variiert in Abhängigkeit von den beiden benachbarten Wiederholungseinheiten in einer „Monomertriade“, d.h. einem Kettensegment aufgebaut aus drei Monomereinheiten. ¹³C-NMR-Spektroskopie ermöglicht somit die Analyse der Verteilung der Triadensequenzen und liefert damit detaillierte Informationen über die Mikrostruktur des Polyetherrückgrats.^[115–117] Ein typisches Phänomen bei einer statistischen Verteilung ist die Abnahme der Intensität des Signals der Homo-EO-Triade (EO-EO-EO, d.h. **E**) mit zunehmendem Comonomergehalt, exemplarisch illustriert in Abbildung 3 für verschiedene AGE-basierte *mf*-PEGs.

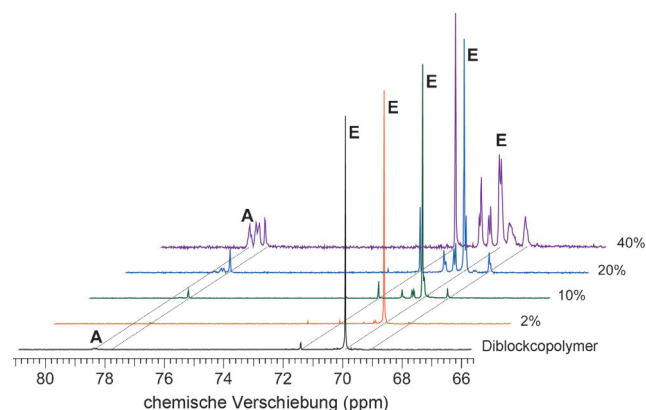


Abbildung 3. ¹³C-NMR-Region (75.5 MHz, [D₆]DMSO) der Polymer-rückgratssignale eines MPEG₁₁₃-b-PAGE₉-Diblockcopolymers und statistischen P(EO-co-AGE)-Copolymeren mit AGE-Anteilen von 2%, 10%, 20% und 40%. **E** bezeichnet die Triade EO-EO-EO, **A** die Triade AGE-AGE-AGE. (Aus Lit. [85].)

Trotz der großen Fülle an Forschungsergebnissen bezüglich PEG ist erst kürzlich eine simple experimentelle Methode beschrieben worden, die es erstmals gestattet, die Polymerisation des toxischen, gasförmigen EO durch ¹H-NMR-Spektroskopie in Echtzeit zu verfolgen (Abbildung 4).^[100] Sowohl der Umsatz als auch die Zusammensetzung der Monomermischung lassen sich zu jedem Zeitpunkt der Polymerisation und temperaturabhängig im Detail bestimmen durch Integration der isolierten Epoxidsignale jedes Monomers. Interessanterweise wurde sowohl bei AGE als auch bei IGG, und zu einem geringeren Maß auch bei DBAG, ein vollständig statistischer Einbau des Comonomers (10–20%) festgestellt. Die Polymerisationstemperatur (25–70 °C) hatte darauf keinen Einfluss (Abbildung 5).

Als Konsequenz der Kristallisation von PEG wirkt sich der Einbau von statistischen „Comonomerdefekten“ unmittelbar auf das thermische Verhalten aus, das über dynamische Differenzkalorimetrie (DSC) analysiert werden kann. Nur ein statistischer Einbau, der zu einer homogenen Segment-

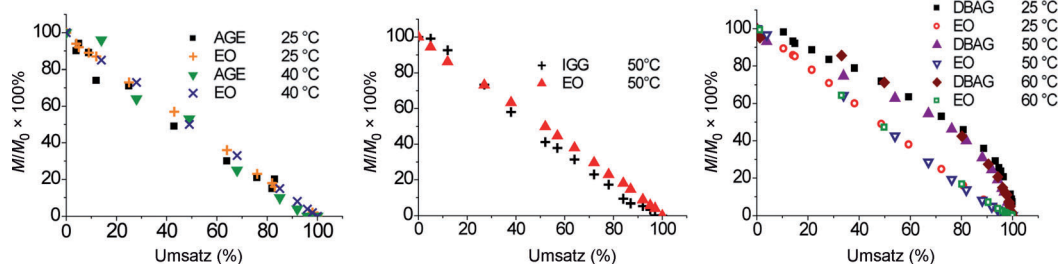


Abbildung 5. Prozent der Monomerausgangskonzentration für die Copolymerisation von Ethylenoxid, Allylglycidylether (10%), Isopropyliden-glycerylglycidylether (23%) und *N,N*-Dibenzylaminoglycidol (15%) aufgetragen gegen den Gesamtumsatz der Copolymerisation in $[D_6]$ DMSO. (Aus Lit. [85, 97, 100].)

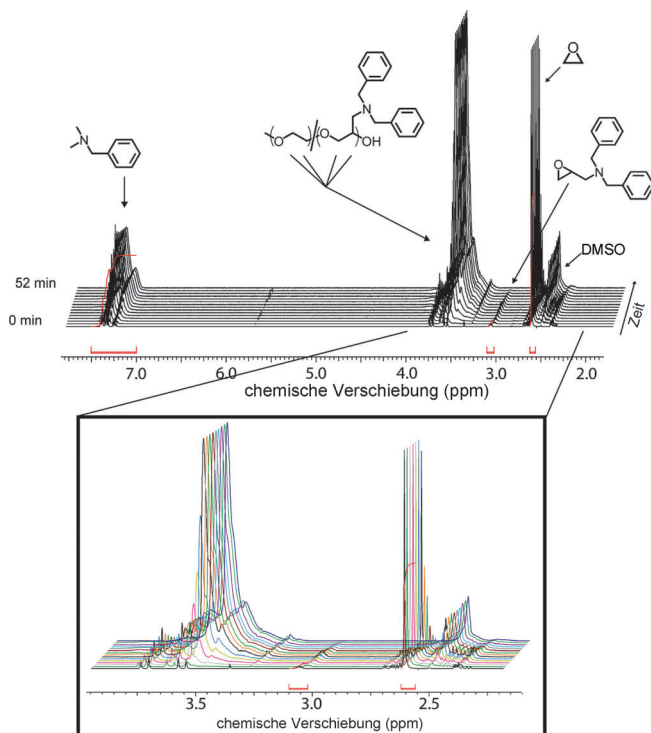


Abbildung 4. Zeitaufgelöstes ^1H -NMR-Spektrum (400 MHz) mit den Signalen von *N,N*-Dibenzylaminoglycidol ($\delta = 3.02$ ppm) und Ethylenoxid ($\delta = 2.61$ ppm) sowie den Rückgratsignalen für die Copolymerisation von Ethylenoxid und *N,N*-Dibenzylaminoglycidol (15%) bei 50 °C, gemessen in $[D_6]$ DMSO über 52 min. (Aus Lit. [100].)

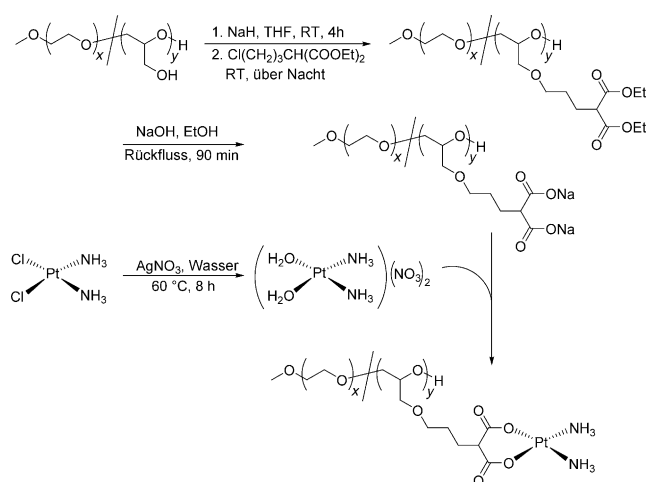
länge des PEG-Polymersegments führt, resultiert in gleichmäßigen Änderungen des thermischen Verhaltens bei Veränderung des Comonomeranteils.^[97,98,100] Wird das Comonomer mit einem starken Gradienten oder gar blockartig eingebaut, tritt Mikrophasenseparation auf, und Schmelzpunktniedrigungen sind weniger ausgeprägt.

Die statistische Copolymerisation ist ein Schlüsselement für die Synthese von maßgeschneiderten *mf*-PEGs, und sie ist von essentieller Bedeutung für die Herstellung wohldefinierter Konjugate. Eine statistische Comonomerverteilung, d.h. gleiche Abstände zwischen den funktionellen Gruppen entlang des Polymerrückgrats, liefert die Voraussetzung für systematische Untersuchungen von Struktur-Wirkungs-Beziehungen und garantiert, dass Einflüsse struktureller Inhomogenitäten ausgeschlossen sind.

3. Biomedizinische Anwendungen

3.1. Statistische Cisplatin-(mf-PEG)-Konjugate

Cisplatin (*cis*-Diammindichloroplatin oder CDDP) ist ein etabliertes Therapeutikum zur Behandlung diverser Krebsarten wie Eierstock-, Blasen- und Lungenkrebs.^[118] Viele der Nachteile wie akute Nieren- oder chronische Neurotoxizität, schnelle Desaktivierung im Plasma und schlechte Wasserlöslichkeit können durch Konjugation mit Polymeren überwunden oder reduziert werden.^[119,120] Zhou und Chau beschrieben 2010 die Herstellung eines Polymer-Wirkstoff-Konjugats zur Krebstherapie, das erstmals auf einem Hydroxy-*mf*-PEG (P-(EO-*co*-G)) basiert.^[95] Dieses wurde durch Copolymerisation von EO und EEGL und anschließende Entschützung synthetisiert. Über Modifikation der Hydroxygruppen mit Malonsäurederivaten wurden chelatartige Dicarboxylatbindungsstellen für die reversible Konjugation mit Cisplatin eingeführt (Schema 2). Die Beladungskapazitäten betrugen das vier- bis achtfache der vergleichbaren monofunktionellen PEGs, und die Löslichkeit war gegenüber nicht trägergebundenem Cisplatin deutlich verbessert.



Schema 2. Synthese von Poly(ethylen glycol-*co*-glycerin)-Konjugaten basierend auf statistischen Hydroxy-*mf*-PEGs, die mittels anionischer Copolymerisation von Ethylenoxid und Ethoxyethylglycidylether plus anschließender Entschützung hergestellt wurden. (Aus Lit. [95].)

In Bezug auf Polymertherapeutika spielt die Tatsache, dass PEG nicht bioabbaubar ist, bei der Wahl des Molekulargewichts eine besondere Rolle. Für die intravenöse Injektion muss das Molekulargewicht einerseits unterhalb der Nierenschwelle von ca. $40\,000\text{ g mol}^{-1}$ ^[121] liegen, sodass die renale Ausscheidung gewährleistet ist. Andererseits muss das Molekulargewicht so hoch sein, dass die Vorteile, die sich aus den makromolekularen Eigenschaften ergeben (z.B. EPR-Effekt^[18–20]), und die Multifunktionalität zum Tragen kommen.

Aus diesem Grund ist es wichtig, dass erhöhte Tumorkumulation bereits für PEGs mit Molekulargewichten oberhalb von $10\,000\text{ g mol}^{-1}$ nachgewiesen wurde.^[122] Zhou und Chau stellten das Molekulargewicht der Konjugate auf $12\,300\text{--}22\,400\text{ g mol}^{-1}$ ein und beobachteten bei Nacktmäusen, die menschliche Nasopharynxkarzinom-Xenotransplantate (HONE-1) trugen, eine Antitumoraktivität auf dem Niveau von Cisplatin, jedoch mit verminderter Reduktion des Körpergewichts (Abbildung 6). In-vitro-Antitumoraktivität wurde festgestellt für HONE-1 und menschliche Brustkrebs-Zelllinien, jedoch eine Potenz niedriger als bei freiem Cisplatin. Dies steht vermutlich im Zusammenhang mit einer anderen Aufnahmeroute der Konjugate und damit, dass aufgrund der relativ schwachen koordinativen Bindung bereits extrazellulär freigesetztes Platin nicht aufgenommen werden kann. Zusammenfassend liefert diese Untersuchung den ersten, essentiellen Beleg für die Tauglichkeit von *mf*-PEGs als hoch beladbare Träger für niedermolekulare (Antitumor-)Wirkstoffe.

3.2. pH-abhängige Doxorubicin-(*mf*-PEG-Blockcopolymer)-Konjugate

Die kovalente Anbindung von Doxorubicin, einem der vielversprechendsten Zytostatika, an *mf*-PEG-Diblockcopolymer, aufgebaut aus AGE und EO, wurde von Vetvicka et al. beschrieben. Mittels Thiol-En-Kupplung wurde eine pH-empfindliche Verknüpfung eingeführt (Schema 3).^[76,77] Im Blutplasma aggregieren die amphiphilen Diblockcopolymer zu Micellen, die in der sauren Umgebung des Tumorgewebes langsam zerfallen, da die Verknüpfung gespalten wird. Es wurde eine systemische Toxizität festgestellt, die gegenüber freiem Doxorubicin um das zwanzigfache verringert war, sowie lange Plasmahalbwertszeiten mit halber Dosis nach 24 h. Mittels Ganzkörper-Fluoreszenzbildgebung wurde bei Mäusen mit EL-4-T-Zell-Lymphomen signifikante Tumorkumulation nachgewiesen. 75 % waren vollständig geheilt, und die Behandlung induzierte eine tumorspezifische Resistenz (Abbildung 7). Anfang 2011 beschrieben Zhong und Mitarbeiter das analoge System basierend auf statistischen *mf*-PEGs.^[123]

3.3. Nichtvirale Transfektion in vivo und in vitro

Der Erfolg nichtviraler Transfektion mittels ternärer DNA/Polykation/Polyanion-Systeme kann entscheidend vom Polyanion abhängen, das den DNA-Polykation-Komplex

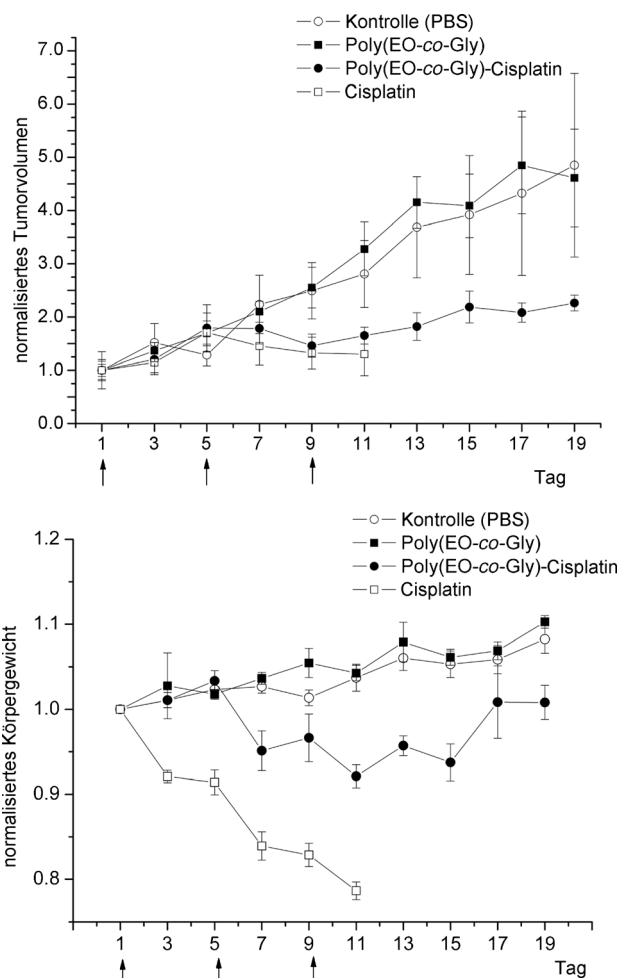
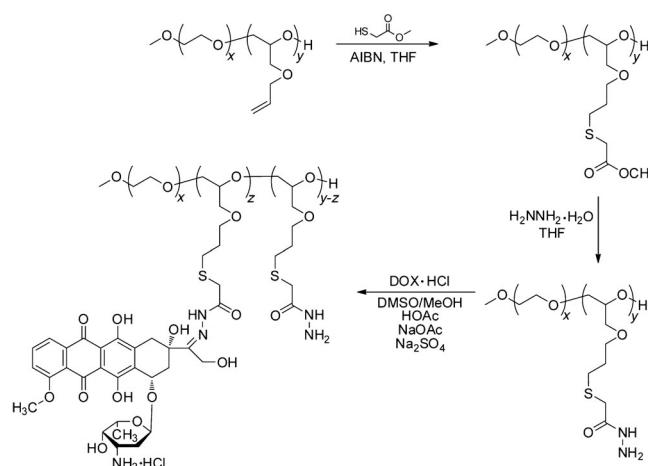


Abbildung 6. In-vivo-Antitumoraktivität (oben) in Nacktmäusen, die menschliche Nasopharynxkarzinom-Xenotransplantate tragen, und die Veränderung des normalisierten Körpergewichts (unten) bei dreimaliger intravenöser Injektion von Poly(ethylenglycol-co-glycerin), Poly(ethylenglycol-co-glycerin)-Cisplatin-Konjugaten und freiem Cisplatin im Abstand von 4 Tagen (Pfeile). Die mit freiem Cisplatin behandelten Mäuse wurden an Tag 11 aufgrund zu starker Gewichtsverluste getötet. (Aus Lit. [95].)



Schema 3. Synthese von Doxorubicin-Konjugaten basierend auf Poly(ethylenglycol-block-allylglycidylethern). AIBN = Azobisisobutyronitril. (Aus Lit. [76].)

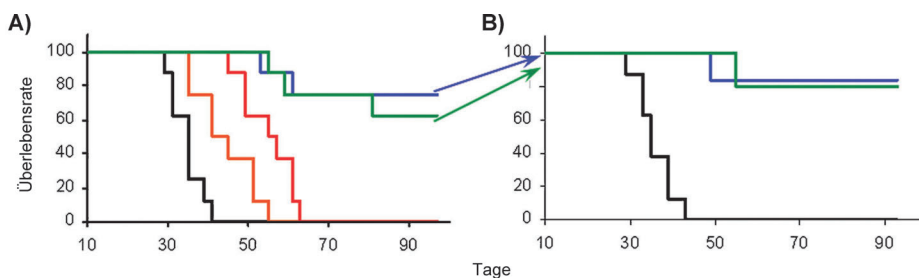
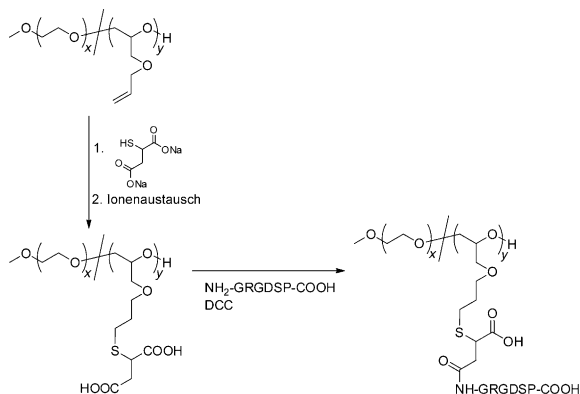


Abbildung 7. A) Überlebensrate von Mäusen mit EL-4-T-Zell-Lymphomen nach Behandlung mit Diblock-*mf*-PEG-Doxorubicin-Konjugaten (schwarz: Kontrolle; orange: 2×5 mg (DOX) kg^{-1} ; rot: 1×75 mg (DOX equiv) kg^{-1} ; blau: 2×75 mg (DOX equiv) kg^{-1} ; grün: 1×150 mg (DOX equiv) kg^{-1}). B) Überlebensrate von geheilten Mäusen, denen eine letale Dosis der gleichen Zellen implantiert und keine Behandlung gegeben wurde. (Aus Lit. [76].)

umhüllt und somit die Stabilität und die Löslichkeit bestimmt. Sakae et al. beschrieben die Synthese von *mf*-PEGs mit hoher negativer Ladungsdichte zur Beschichtung von DNA-Polykation-Komplexen, um unspezifische Wechselwirkungen mit Proteinen oder Zellen zu unterdrücken. Die Synthese erfolgte ausgehend von statistischen P(EO-*co*-AGEs) durch Modifikation mittels Thiol-En-Kupplung (Schema 4).^[81] Zusätzlich wurde die Multifunktionalität genutzt zur Anbindung von mehreren RGD-Peptid-Seitenketten, um ein aktives Tumortargeting der Komplexe zu erreichen. Die mit dem funktionalisierten *mf*-PEG umhüllten Plasmid-PEI-Komplexe zeigten eine mehr als dreifach erhöhte Reporterproteinaktivität in vitro bei B16-Zellen sowie, nach Injektion in Mäuse, hohe Genexpression im Tumor, der Lunge und Leber (Abbildung 8).

3.4. Hoch beladene Peptidkonjugate

Die Kombination von Peptiden und synthetischen Polymeren resultiert in Hybridstrukturen, in denen die Eigenschaften der biologischen und der synthetischen Komponente vereint sind.^[124–129] Für biologische Anwendungen ist die große Ähnlichkeit von *mf*-PEGs zu PEG-Homopolymeren



Schema 4. Synthese von Carboxy-*mf*-PEGs zur Beschichtung von DNA-Poly(ethylenimin)-Komplexen ausgehend von statistischen Poly(ethyleneglycol-*co*-allylglycidylethern) durch Anbindung von Mercaptobernsteinsäure und RGD-Peptid-Seitenketten. (Aus Lit. [81].)

ein zusätzlicher Vorteil. Frey und Obermeier haben kürzlich eine effiziente Route zu PEG-basierten Biokonjugaten beschrieben, bei denen die Peptide homogen entlang des Polymerrückgrats angebunden sind.^[85] Statistische P(EO-*co*-AGEs) wurden ohne weitere Modifizierung direkt mit dem Tripeptid Glutathion konjugiert, indem die freie Thiolgruppe des Cysteins zur Thiol-En-Kupplung

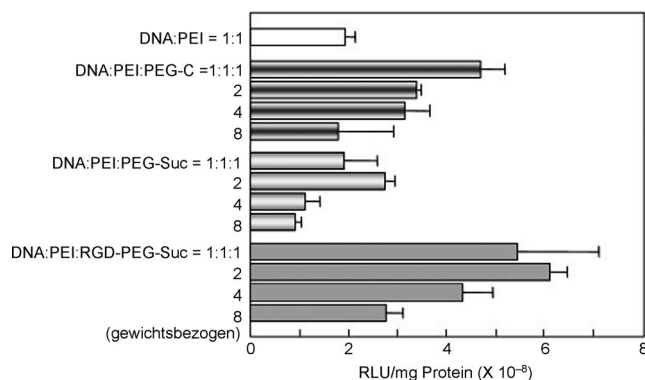
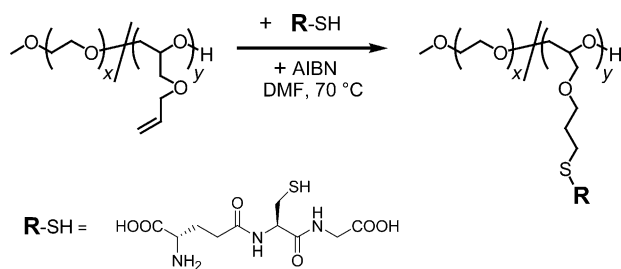


Abbildung 8. Genexpression in B16-Zellkultur von DNA-Poly(ethylenimin)-Komplexen umhüllt mit Poly(ethyleneglycol-*co*-allylglycidylethern), die mit Bernsteinsäure- und RGD-Peptid-Seitenketten modifiziert wurden. (Aus Lit. [81].)

genutzt wurde (Schema 5). Testreaktionen mit *N*-Acetyl-L-cysteinmethylester belegten enge Molekulargewichtsverteilungen (M_w/M_n unterhalb von 1.2). Detaillierte 1D- und 2D-NMR-spektroskopische Untersuchungen demonstrierten praktisch vollständigen Umsatz der Allylether-Seitenketten. Der Comonomeranteil betrug ungefähr 10%. Mit 11 Glutathioneinheiten pro Polymerkette wiesen diese präzise definierten PEG-basierten Peptidkonjugate sehr hohe Beladungskapazitäten auf, und sie lassen sich betrachten als Beispiel einer polyfunktionellen PEGylierung („high-capacity PEGylation“).

4. Zusammenfassung und Ausblick

Angetrieben durch die Entwicklung auf dem multidisziplinären Feld der Polymertherapeutika und dem Status von PEG, dessen (Sicherheits-)Profil über Jahrzehnte dokumentiert ist, ziehen *mf*-PEGs zunehmend Aufmerksamkeit auf sich. Die intrinsisch niedrige Beladungskapazität von PEG wird durch Einführung von funktionellen Gruppen am Polymerrückgrat überwunden. Basierend auf EO und einem entsprechenden Comonomer sind diese linearen Copolymere PEG strukturell sehr ähnlich und stellen eine vielseitige Plattform für die Herstellung von Konjugaten dar. Mit EO als



Schema 5. Thiol-En-Kupplung des Tripeptids Glutathion an statistische Poly(ethylenglycol-co-allylglycidylether). (Aus Lit. [85].)

Hauptkomponente kann der Comonomeranteil auf das für die gewünschte Funktionalität nötige Minimum reduziert werden, was ökonomisch von Vorteil ist. Die lebende anionische Polymerisation verbunden mit modernen Charakterisierungsmethoden, wie z.B. der Analyse der EO-Copolymerisation durch ^1H -NMR-Spektroskopie in Echtzeit, liefert außerordentlich präzise definierte makromolekulare Strukturen. Interessant sind *mf*-PEGs deshalb ebenfalls für Anwendungen in der Katalyse, in neuartigen Hybridmaterialien, multifunktionelle Vernetzer oder allgemein als polyvalente Strukturen. Die in den letzten Jahren erschienenen ersten Untersuchungen beweisen die Vielseitigkeit von *mf*-PEGs und ihre Eignung für Polymertherapeutika, zusammen mit dem Beleg der erwarteten Biokompatibilität der statistischen Hydroxy-*mf*-PEGs (P(EO-co-G)). Grundsätzlich ist aufgrund ihrer Struktur für *mf*-PEGs mit diversen Funktionalitäten eine gute Biokompatibilität zu erwarten. Eine individuelle Bewertung für die jeweilige funktionelle Gruppe, den entsprechenden Linker und das Gesamtkonjugat ist jedoch unerlässlich. In Erweiterung zu den hier vorgestellten Polymeren sind *mf*-PEGs mit unterschiedlichen (orthogonalen) Gruppen realisierbar durch statistische Polymerisation von EO zusammen mit mehr als zwei Monomeren. In diesem Zusammenhang können weitere Schutzgruppenmonomere eine wichtige Rolle spielen. Das Konzept α - ω -heterotelecheler Polymere, d.h. mit definierten funktionellen Gruppen an den Kettenenden, die verschieden sind von den Funktionalitäten innerhalb der Kette, ist für die weitere Entwicklung von *mf*-PEGs ebenfalls von Bedeutung. Zusammenfassend repräsentieren *mf*-PEGs eine herausragende Plattform für polyvalente Konjugation im Allgemeinen und sind speziell ideale Kandidaten für Polymertherapeutika. Darüber hinaus werden funktionelle PEG-Strukturen mit Sicherheit eine Rolle in der Koordinationschemie, der Katalyse, Oberflächenmodifikation und für polymerfixierte Reagentien spielen.

Die Autoren danken der Graduate School of Excellence „Materials Science in Mainz“ (MAINZ), unterstützt durch die DFG, für wertvolle Unterstützung. B.O. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie (FCI) für ein Stipendium.

Eingegangen am 3. Januar 2011
Online veröffentlicht am 12. Juli 2011

- [1] H. Ringsdorf, *J. Polym. Sci. Polym. Symp.* **1975**, 51, 135.
- [2] L. Gros, H. Ringsdorf, H. Schupp, *Angew. Chem.* **1981**, 93, 311; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, 20, 305.
- [3] R. Duncan, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, 2, 347.
- [4] R. Duncan, S. Dimitrijevic, E. G. Evagorou, *STP Pharma Sci.* **1996**, 6, 237.
- [5] Ein ausgezeichnete Überblick über Polymertherapeutika: *Adv. Drug. Del. Rev.* **2009**, 61, 1117 (Hrsg.: M. J. Vicent, R. Duncan).
- [6] M. J. Vicent, H. Ringsdorf, R. Duncan, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, 61, 1117.
- [7] R. Gaspar, R. Duncan, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, 61, 1220.
- [8] F. Greco, M. J. Vicent, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, 61, 1203.
- [9] R. Duncan, *Nat. Rev. Cancer* **2006**, 6, 688.
- [10] F. Greco, M. J. Vicent, *Front. Biosci.* **2008**, 13, 2744.
- [11] R. Satchi-Fainaro, R. Duncan, C. M. Barnes in *Polymer Therapeutics II: Polymers as Drugs, Conjugates and Gene Delivery Systems*, Vol. 193, Springer, Berlin, **2006**, S. 1.
- [12] R. Duncan, H. Ringsdorf, R. Satchi-Fainaro in *Polymer Therapeutics I: Polymers as Drugs, Conjugates and Gene Delivery Systems*, Vol. 192, Springer, Berlin, **2006**, S. 1.
- [13] R. Haag, F. Kratz, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1218; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1198.
- [14] A. P. Chapman, P. Antoniw, M. Spitali, S. West, S. Stephens, D. J. King, *Nat. Biotechnol.* **1999**, 17, 780.
- [15] H. F. Gaertner, R. E. Offord, *Bioconjugate Chem.* **1996**, 7, 38.
- [16] M. S. Hershfield, S. Chaffee, L. Koro-Johnson, A. Mary, A. A. Smith, S. A. Short, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, 88, 7185.
- [17] Y. Tsutsumi, M. Onda, S. Nagata, B. Lee, R. J. Kreitman, I. Pastan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 8548.
- [18] Y. Matsumura, H. Maeda, *Cancer Res.* **1986**, 46, 6387.
- [19] L. W. Seymour, K. Ulbrich, P. S. Steyger, M. Brereton, V. Subr, J. Strohalm, R. Duncan, *Br. J. Cancer* **1994**, 70, 636.
- [20] E. Gianasi, M. Wasil, E. G. Evagorou, A. Keddle, G. Wilson, R. Duncan, *Eur. J. Cancer* **1999**, 35, 994.
- [21] G. Pasut, F. M. Veronese, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, 61, 1177.
- [22] Y. Levy, M. S. Hershfield, C. Fernandezmeija, S. H. Polmar, D. Scudieri, M. Berger, R. U. Sorensen, *J. Pediatr.* **1988**, 113, 312.
- [23] M. L. Graham, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2003**, 55, 1293.
- [24] O. Kinstler, G. Molineux, M. Treuheit, D. Ladd, C. Gegg, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, 54, 477.
- [25] K. Rajender Reddy, M. W. Modi, S. Pedder, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, 54, 571.
- [26] Y.-S. Wang, S. Youngster, M. Grace, J. Bausch, R. Bordens, D. F. Wyss, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, 54, 547.
- [27] K. Knop, R. Hoogenboom, D. Fischer, U. Schubert, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 6430; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6288.
- [28] *Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications* (Hrsg.: J. M. Harris), Plenum, New York, **1992**.
- [29] F. E. J. Bailey, J. V. Koleske, *Alkylene Oxides and Their Polymers*, Marcel Dekker, New York, **1991**.
- [30] F. E. J. Bailey, J. V. Koleske, *Poly(ethylene oxide)*, Academic Press, New York, **1976**.
- [31] C. Fruijtier-Pöloth, *Toxicology* **2005**, 214, 1.
- [32] A. Abuchowski, J. R. McCoy, N. C. Palczuk, T. Vanes, F. F. Davis, *J. Biol. Chem.* **1977**, 252, 3582.
- [33] A. Abuchowski, T. Vanes, N. C. Palczuk, F. F. Davis, *J. Biol. Chem.* **1977**, 252, 3578.
- [34] H.-A. Klok, *Macromolecules* **2009**, 42, 7990.
- [35] *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, 60, 1 (Hrsg.: F. M. Veronese, J. M. Harris).
- [36] *Adv. Drug Delivery Rev.* **2003**, 55, 1259 (Hrsg.: F. M. Veronese, J. M. Harris).
- [37] *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, 54, 453 (Hrsg.: F. M. Veronese, J. M. Harris).

- [38] R. Hoogenboom, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 8122; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7978.
- [39] D. Wilms, M. Schömer, F. Wurm, M. I. Hermanns, C. J. Kirkpatrick, H. Frey, *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1811.
- [40] M. Calderón, M. A. Quadir, S. K. Sharma, R. Haag, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 190.
- [41] L. S. Nair, C. T. Laurencin, *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 762.
- [42] C. Li, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 695.
- [43] R. Duncan, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, *61*, 1131.
- [44] J. Kopeček, P. Kopecková, T. Minko, Z.-R. Lu, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2000**, *50*, 61.
- [45] G. Pasut, S. Scaramuzza, O. Schiavon, R. Mendichi, F. M. Veronese, *J. Bioact. Compat. Polym.* **2005**, *20*, 213.
- [46] Y. H. Choe, C. D. Conover, D. Wu, M. Royzen, Y. Gervacio, V. Borowski, M. Mehlig, R. B. Greenwald, *J. Controlled Release* **2002**, *79*, 55.
- [47] O. Schiavon, G. Pasut, S. Moro, P. Orsolini, A. Guiotto, F. M. Veronese, *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 123.
- [48] M. Berna, D. Dalzoppo, G. Pasut, M. Manunta, L. Izzo, A. T. Jones, R. Duncan, F. M. Veronese, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 146.
- [49] D. Taton, M. Saule, J. Logan, R. Duran, S. Hou, E. L. Chaikof, Y. Gnanou, *J. Polym. Sci. Part A* **2003**, *41*, 1669.
- [50] C. J. Hawker, F. Chu, P. J. Pomery, D. J. T. Hill, *Macromolecules* **1996**, *29*, 3831.
- [51] M. Lee, S. W. Kim, *Pharm. Res.* **2005**, *22*, 1.
- [52] A. Lavasanifar, J. Samuel, G. S. Kwon, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 169.
- [53] K. Kataoka, A. Harada, Y. Nagasaki, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *47*, 113.
- [54] N. Kumar, M. N. V. Ravikumar, A. J. Domb, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *53*, 23.
- [55] H. Otsuka, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6*, 3.
- [56] A. Nathan, S. Zalipsky, S. I. Ertel, S. N. Agathos, M. L. Yarmush, J. Kohn, *Bioconjugate Chem.* **1993**, *4*, 54.
- [57] D. Taton, A. Le Borgne, M. Sepulchre, N. Spassky, *Macromol. Chem. Phys.* **1994**, *195*, 139.
- [58] Y. Koyama, M. Umehara, A. Mizuno, M. Itaba, T. Yasukouchi, K. Natsume, A. Suganaka, K. Watanabe, *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 298.
- [59] J. M. Stukel, R. C. Li, H. D. Maynard, M. R. Caplan, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 160.
- [60] M. Martinelli, M. Calderón, C. I. Alvarez, M. C. Strumia, *React. Funct. Polym.* **2007**, *67*, 1018.
- [61] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754.
- [62] D. E. Bergbreiter, J. H. Tian, C. Hongfa, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 530.
- [63] D. E. Bergbreiter, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3345.
- [64] T. J. Dickerson, N. N. Reed, K. D. Janda, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3325.
- [65] D. Wilms, S.-E. Stiriba, H. Frey, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 129.
- [66] A. Sunder, R. Hanselmann, H. Frey, R. Mülhaupt, *Macromolecules* **1999**, *32*, 4240.
- [67] R. K. Kainthan, J. Janzen, E. Levin, D. V. Devine, D. E. Brooks, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 703.
- [68] R. K. Kainthan, S. R. Hester, E. Levin, D. V. Devine, D. E. Brooks, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4581.
- [69] R. K. Kainthan, D. E. Brooks, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4779.
- [70] A. Dworak, G. Baran, B. Trzebicka, W. Walach, *React. Funct. Polym.* **1999**, *42*, 31.
- [71] S. Penczek, J. Pretula, K. Kaluzynski, *J. Polym. Sci. Part A* **2004**, *42*, 432.
- [72] P. Dimitrov, A. Utrata-Wesolek, S. Rangelov, W. Walach, B. Trzebicka, A. Dworak, *Polymer* **2006**, *47*, 4905.
- [73] P. Dimitrov, A. Porjazoska, C. P. Novakov, M. Cvetkovska, C. B. Tsvetanov, *Polymer* **2005**, *46*, 6820.
- [74] M. Hans, H. Keul, M. Möller, *Polymer* **2009**, *50*, 1103.
- [75] H. Keul, M. Möller, *J. Polym. Sci. Part A* **2009**, *47*, 3209.
- [76] D. Vetvicka, M. Hruby, O. Hovorka, T. Etrych, M. Vetrik, L. Kovar, M. Kovar, K. Ulbrich, B. Rihova, *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 2090.
- [77] M. Hruby, C. Konak, K. Ulbrich, *J. Appl. Polym. Sci.* **2005**, *95*, 201.
- [78] M. Hruby, C. Konak, K. Ulbrich, *J. Controlled Release* **2005**, *103*, 137.
- [79] C. Yoshihara, C. Shew, T. Ito, Y. Koyama, *Biophys. J.* **2010**, *98*, 1257.
- [80] M. Hashimoto, Y. Koyama, T. Sato, *Chem. Lett.* **2008**, *37*, 266.
- [81] M. Sakae, T. Ito, C. Yoshihara, N. Iida-Tanaka, H. Yanagie, M. Eriguchi, Y. Koyama, *Biomed. Pharmacother.* **2008**, *62*, 448.
- [82] Y. Koyama, M. Yamashita, N. Iida-Tanaka, T. Ito, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1274.
- [83] Y. Koyama, T. Ito, H. Matsumoto, A. Tanioka, T. Okuda, N. Yamaura, H. Aoyagi, T. Niidome, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2003**, *14*, 515.
- [84] K. Yoshikawa, Y. Yoshikawa, Y. Koyama, T. Kanbe, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6473.
- [85] B. Obermeier, H. Frey, *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 436.
- [86] A. Fitton, J. Hill, D. Jane, R. Miller, *Synthesis* **1987**, 1140.
- [87] C. Mangold, F. Wurm, B. Obermeier, H. Frey, *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 258.
- [88] X. Pang, R. Jing, J. Huang, *Polymer* **2008**, *49*, 893.
- [89] M. Erberich, H. Keul, M. Moeller, *Macromolecules* **2007**, *40*, 3070.
- [90] S. Halacheva, S. Rangelov, C. Tsvetanov, *Macromolecules* **2006**, *39*, 6845.
- [91] Z. Li, P. Li, J. Huang, *J. Polym. Sci. Part A* **2006**, *44*, 4361.
- [92] P. Dimitrov, E. Hasan, S. Rangelov, B. Trzebicka, A. Dworak, C. B. Tsvetanov, *Polymer* **2002**, *43*, 7171.
- [93] A. Dworak, I. Panchev, B. Trzebicka, W. Walach, *Macromol. Symp.* **2000**, *153*, 233.
- [94] M. Gervais, A.-L. Brocas, G. Cendejas, A. Deffieux, S. Carlotti, *Macromolecules* **2010**, *43*, 1778.
- [95] P. Zhou, Z. Li, Y. Chau, *Eur. J. Pharm. Sci.* **2010**, *41*, 464.
- [96] F. Wurm, J. Nieberle, H. Frey, *Macromolecules* **2008**, *41*, 1909.
- [97] C. Mangold, F. Wurm, B. Obermeier, H. Frey, *Macromolecules* **2010**, *43*, 8511.
- [98] Lit. [87].
- [99] J. Raynaud, C. Absalon, Y. Gnanou, D. Taton, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3201.
- [100] B. Obermeier, F. Wurm, H. Frey, *Macromolecules* **2010**, *43*, 2244.
- [101] Z. Li, Y. Chau, *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 780.
- [102] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.
- [103] Lit. [102].
- [104] M. A. Gauthier, M. I. Gibson, H.-A. Klok, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 50; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 48.
- [105] Lit. [104].
- [106] C. R. Becer, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4998; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4900.
- [107] B. S. Sumerlin, A. P. Vogt, *Macromolecules* **2010**, *43*, 1.
- [108] J.-F. Lutz, H. Schlaad, *Polymer* **2008**, *49*, 817.
- [109] W. H. Binder, R. Sachsenhofer, *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 15.
- [110] A. Dondoni, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 9133; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8995.
- [111] C. E. Hoyle, T. Y. Lee, T. Roper, *J. Polym. Sci. Part A* **2004**, *42*, 5301.
- [112] K. Griesbaum, *Angew. Chem.* **1970**, *82*, 276; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1970**, *9*, 273.

- [113] T. Posner, *Chem. Ber.* **1905**, 38, 646.
- [114] C. Barner-Kowollik, F. E. Du Prez, P. Espeel, C. J. Hawker, T. Junkers, H. Schlaad, W. Van Camp, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 61; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 60.
- [115] V. Rejsek, D. Sauvanier, C. Billouard, P. Desbois, A. Deffieux, S. Carlotti, *Macromolecules* **2007**, 40, 6510.
- [116] T. Hamaide, A. Goux, M.-F. Llauro, R. Spitz, A. Guyot, *Angew. Makromol. Chem.* **1996**, 237, 55.
- [117] F. Heatley, G. Yu, C. Booth, T. G. Blease, *Eur. Polym. J.* **1991**, 27, 573.
- [118] B. Rosenberg, *Interdiscip. Sci. Rev.* **1978**, 3, 134.
- [119] V. Pinzani, F. Bressolle, I. J. Haug, M. Galtier, J. P. Blayac, P. Balmès, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1994**, 35, 1.
- [120] B. Schechter, M. A. Rosing, M. Wilchek, R. Arnon, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1989**, 24, 161.
- [121] L. W. Seymour, Y. Miyamoto, H. Maeda, M. Brereton, J. Strohalm, K. Ulbrich, R. Duncan, *Eur. J. Cancer* **1995**, 31, 766.
- [122] Y. Murakami, Y. Tabata, Y. Ikada, *Drug Deliv.* **1997**, 4, 23.
- [123] L. Zhou, R. Cheng, H. Tao, S. Ma, W. Guo, F. Meng, H. Liu, Z. Liu, Z. Zhong, *Biomacromolecules* **2011**, 12, 1460.
- [124] H. Kühnle, H. G. Börner, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 6552; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 6431.
- [125] J.-F. Lutz, H. G. Börner, *Prog. Polym. Sci.* **2008**, 33, 1.
- [126] J. C. M. van Hest, *Polym. Rev.* **2007**, 47, 63.
- [127] H.-A. Klok, *J. Polym. Sci. Part A* **2005**, 43, 1.
- [128] K. L. Heredia, G. N. Grover, L. Tao, H. D. Maynard, *Macromolecules* **2009**, 42, 2360.
- [129] Y. Geng, D. E. Discher, J. Justynska, H. Schlaad, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 7740; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 7578.
-