

GETARNTE TRÄGER

Maske für die Medizin:
Im Darmstädter Evonik-
Labor werden aus rPEG-
Lipiden und weiteren
Komponenten Lipid-
nanopartikel hergestellt.
Das rPEG (r.) hierfür
liefert die Uni Mainz.



Von Coronavirus-Impfstoffen bis hin zu Medikamenten gegen Krebs, Multiple Sklerose oder Alzheimer – die Anwendungsmöglichkeiten für mRNA-Therapien sind vielfältig. Doch wie gelangen die Wirkstoffe optimal in den Körper? Ein Team von Forschern der Uni Mainz und Evonik arbeitet gemeinsam am perfekten Transportsystem.

TEXT **TIM SCHRÖDER**

In der Wissenschaft gibt es Momente, da fügen sich plötzlich Dinge auf wundersame Weise zusammen. Gedanken, Ideen, die eigentlich nichts miteinander zu tun haben, ergeben gemeinsam einen Sinn. So ging es vor gut zwei Jahren einem Team um den Chemiker Professor Dr. Holger Frey von der Universität Mainz. Er beschäftigt sich seit vielen Jahren mit der Substanz Polyethylenglykol, einem nicht toxischen Tausendsassa unter den chemischen Stoffen.

Polyethylenglycol, kurz PEG, ist ein gut wasserlösliches Polymer, also eine lange Molekülkette. Ihr Grundbaustein ist Ethylenoxid (EO). Man verwendet PEG unter anderem in Zahncremes, Shampoos und vielen Kosmetika. Für solcherlei Anwendungen werden jedes Jahr weltweit viele Tausend Tonnen PEG verbraucht. Die Substanz spielt allerdings auch eine wichtige Rolle in der Medizin: Hier hilft das PEG unter anderem dabei, Wirkstoffe durch den Körper zu schleusen. →



Im Hanauer Syntheselabor wird getestet, unter welchen Bedingungen das rPEG an ein Lipid gekoppelt werden kann.

Mittels Chromatografie wird das rPEG-Lipid aufgereinigt.



Die Chemiker in Mainz suchten nach einem Weg, wie man PEGs modifizieren kann, um ihnen neue Eigenschaften zu verleihen und sie somit noch vielfältiger einsetzbar zu machen. Dabei konzentrierten sich Holger Freys Post-Doktoranden Rebecca Matthes und Philip Dreier vor allem auf ein vielversprechendes Molekül, das sehr eng mit EO verwandt ist: Glycidylmethylether, kurz GME. GME ist wie EO ein Baustein zur Herstellung von Polymeren. Beide Bausteine lassen sich auch kombinieren. Ihr auf diese Weise modifiziertes Polymer nannten die Forscher der Uni Mainz rPEG. Das r steht für „randomized“, weil sich die EO- und die GME-Bausteine bei der Herstellung zufällig in der Kette verteilen. Interessanterweise stellen alle Polymere aus den Bausteinen EO und GME Strukturisomere dar. Das rPEG hat im Vergleich zu PEG zusätzliche Molekülseitenketten, es ist aber ebenso gut wasserlöslich. Hinzu kommen weitere interessante Eigenschaften.

Medizinische Anwendungen von rPEG hatten die beiden Post-Doktoranden anfangs gar nicht im Sinn. Plötzlich aber fügte sich ein Bild zusammen: rPEG könnte einen Durchbruch in der Entwicklung neuartiger mRNA-Medikamente bedeuten. Zusammen mit einem For-

schungsteam von Evonik arbeiten Matthes und Dreier nun daran, aus ihrer Entdeckung eine für die Pharmabranche nutzbare Technologie zu entwickeln.

mRNA-Medikamente gelten als einer der größten Hoffnungsträger in der Medizin. Während der Covid-19-Pandemie kamen sie als Impfstoffe erstmals groß zum Einsatz und konnten ihre Wirksamkeit sowie ihr Potenzial unter Beweis stellen. Experten erwarten, dass sich damit noch viele andere Krankheiten behandeln lassen, die heute nur schwer therapierbar sind – etwa Multiple Sklerose oder Alzheimer. Auch seltene Krebsformen könnten mit einer mRNA-Therapie bekämpft werden.

Doch bislang gibt es eine Hürde: mRNA-Wirkstoffe werden unter anderem mit hochreinen Spezial-PEG-Lipiden umhüllt, damit sie unbeschadet ihre Zielzellen erreichen. Die Substanz PEG kann jedoch in seltenen



Die verschiedenen Fraktionen der Chromatografie werden in Reagenzgläsern aufgefangen.

DIE FORSCHUNGSGRUPPE FREY

Polymere sind Holger Freys Spezialgebiet: Seine Forschungsgruppe an der Universität Mainz, wo er seit 2002 Organische und Makromolekulare Chemie lehrt, beschäftigt sich mit Synthese, Charakterisierung und Anwendungen neuer funktionaler Polymere. Seit Herbst 2018 ist Professor Frey (im Bild links) Mitherausgeber der Zeitschrift „Polymer Chemistry“. Dr. Rebecca Matthes und Dr. Philip Dreier haben sich bei Frey promoviert und sind als Post-Doktoranden in seiner Arbeitsgruppe tätig. Dort treiben sie die Entwicklung von rPEGs für eine Vielfalt pharmazeutischer Anwendungen voran.



Fällen die Bildung von Anti-PEG-Antikörpern hervorrufen. Für künftige Anwendungen über einen längeren Zeitraum, zum Beispiel im Rahmen einer Krebstherapie, sollte dies ausgeschlossen werden. Die Pharmabranche sucht deshalb seit Längerem nach PEG-Alternativen.

Genau solch eine Variante entdeckten Rebecca Matthes und Philip Dreier vor gut zwei Jahren mit rPEG. Während die beiden an der Entwicklung von rPEG arbeiteten, erschienen in Fachzeitschriften gleich mehrere Artikel, die beschrieben, wie Antikörper an das PEG andocken und wie das Immunsystem PEG erkennt. „Uns war sofort klar, dass unser rPEG das Potenzial hat, diese Immunreaktion zu verhindern“, sagt Matthes. „Wir dachten uns, dass wir das Andocken der Antikörper durch die zusätzlichen Moleküläste im rPEG verhindern könnten“, so die Forscherin. „Damit müsste das modifizierte PEG für das Immunsystem unsichtbar werden.“

EIN DURCHBRUCH FÜR DIE PHARMABRANCHE

Es folgten umfangreiche Experimente. Über mehrere Wochen synthetisierten die beiden im Labor aus GME- und EO-Bausteinen verschiedene neuartige rPEG-Polymerstrukturen. Das Forschungsduo brachte dann das neue Polymer mit Antikörpern in Kontakt. Und tatsächlich: Die Wechselwirkung mit dem Antikörper bei vergleichbaren Konzentrationen blieb aus. Die zufällig →

»Als ich den Evonik-Forschern von unserem rPEG erzählte, waren sie sofort begeistert.«

HOLGER FREY, CHEMIEPROFESSOR AN DER UNI MAINZ



verteilten GME-Molekülseitenketten verhinderten das Andocken der Antikörper. Die Entdeckung der Mainzer Forscher könnte für die Pharmabranche von großer Bedeutung sein. PEG-Lipide gehören zu den wichtigsten Zutaten für die sogenannten Lipidnanopartikel (LNP), mit denen mRNA-Wirkstoffe umhüllt werden. LNPs sind kugelförmige, winzige Fähren, die den Wirkstoff durch den Körper bis in die Zellen transportieren. Denn mRNA ist äußerst instabil. Sie benötigt eine Schutzhülle.

LNPs ähneln Fetttropfen im Wasser: Die Fetttropfen im Nanometerbereich bestehen aus einer sorgfältig designten Kombination verschiedener Lipide. Dabei stabilisieren die nach außen ragenden rPEG-Ketten das Gebilde und machen es für das Immunsystem unsichtbar. Nach innen ragen die Wasser abweisenden Fettsäureketten des Lipids. Die mRNA selbst befindet sich im Innern der LNPs.

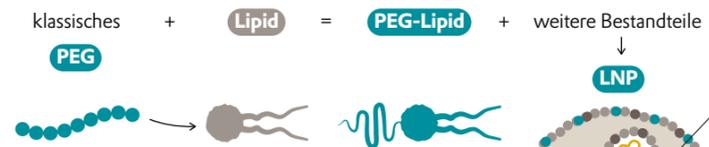
„Als wir erkannt hatten, dass sich mit rPEGs die Bildung von Anti-PEG-Antikörpern vermeiden lässt, wandten wir uns an die Industrie“, berichtet Frey. Und so meldete er sich bei Evonik. Er wusste, dass es dort Forschern in der heißen Phase der Covid-19-Pandemie gelungen war, wichtige Bestandteile für die Impfstoffe von BioNTech herzustellen – unter anderem maßgeschneiderte Speziallipide. „Als ich ihnen von unserem rPEG erzählte, waren sie sofort begeistert“, sagt Frey.

Die Evonik-Forscher übernahmen die Aufgabe, das rPEG aus Mainz zu Lipiden zu verknüpfen und daraus funktionelle LNPs zu entwickeln. „Wir hatten den großen Vorteil, dass wir auf unsere Kompetenzen bei der Herstellung und Charakterisierung maßgeschneiderter Speziallipide in Hanau und Dossenheim zurückgreifen konnten“, sagt Dr. Thomas Andres, der das Projekt bei Evonik leitet. Er holte Experten aus mehreren Bereichen in einem Projektteam zusammen – vor allem aus dem Syntheselabor in Hanau sowie aus dem Formulierungslabor und dem Zellkulturlabor in Darmstadt.

Eingebaute Abwehr

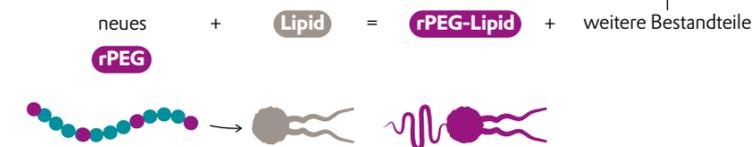
Wie Lipidnanopartikel (LNP) für Antikörper unangreifbar werden

1 LNP mit herkömmlichem PEG-Lipid

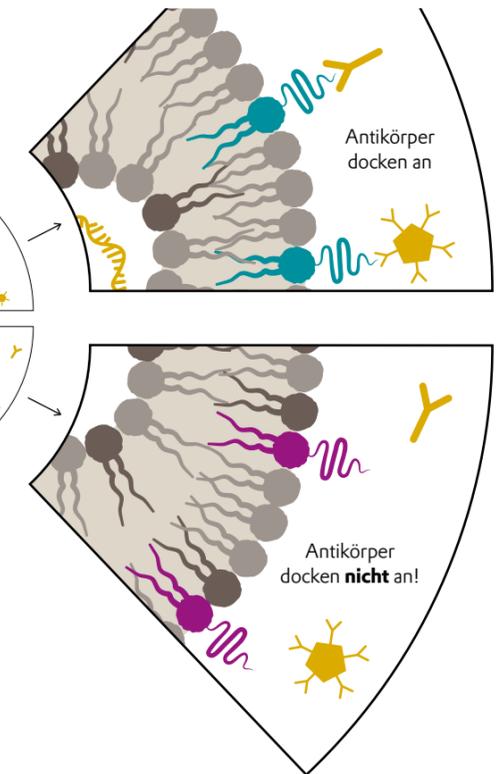


Polyethylenglykol (PEG)-Lipide sind ein wichtiger Bestandteil von Lipidnanopartikeln. Sie können von Antikörpern erkannt werden.

2 LNP mit neuartigem rPEG-Lipid



rPEG-Lipide sind für das Immunsystem quasi unsichtbar.



Durch Gefriertrocknung wird aus der Reaktionslösung rPEG-Lipid in Pulverform gewonnen.

Zunächst galt es, das rPEG aus Mainz mit fettlöslichen Molekülsegmenten zu einem Lipid zu koppeln, das einer der Komponenten der Covid-19-Impfstoffe ähnelt (siehe Infografik oben). In kleinen Glaskolben testete Labormitarbeiter Erich Kraus in Hanau verschiedene Bedingungen: Er variierte die Reaktionstemperatur, die Konzentration der einzelnen Reagenzien und die Lösungsmittel, trennte unerwünschte Nebenprodukte ab und isolierte das Produkt.

INDUSTRIEPRODUKTION IM MINIMASSTAB

„Die ersten Versuche waren mit einer Ausbeute von nur etwa 30 Prozent des gewünschten rPEG-Lipids ernüchternd“, berichtet Dr. Ulrich Klöckner, der die Arbeit in Hanau leitet. Schnell wurde klar, dass das funktionale Ende des rPEG-Moleküls modifiziert werden musste, um eine bessere Umsetzung zu ermöglichen. „Das ist den Kollegen in Mainz sehr schnell gelungen“, so Klöck-

ner. Mit dem veränderten Molekül erreicht das Team in Hanau inzwischen Ausbeuten von mehr als 70 Prozent. Das ist auch für eine mögliche industrielle Produktion von Bedeutung, weil ein chemischer Prozess nur dann rentabel und nachhaltig ist, wenn der Großteil der Rohstoffe tatsächlich zum gewünschten Endprodukt umgesetzt wird. Im Moment arbeiten die Forscher in Hanau daran, den Prozess zur Herstellung des rPEG-Lipids noch effizienter zu gestalten.

Viele chemische Produkte werden im Tonnenmaßstab hergestellt. Bei der Produktion von LNPs und mRNA-basierten Impfstoffen oder Medikamenten dagegen läuft alles miniaturisiert ab. Der Covid-19-Impfstoff Comirnaty von BioNTech/Pfizer enthält gerade einmal 30 Mikrogramm mRNA. Gespritzt werden 0,3 Milliliter. Ein 300-Liter-Fass würde reichen, um Impfdosen für Millionen Menschen zu lagern. →



Labormitarbeiterin
Melanie Liefke belädt in
Darmstadt kleine Gefäße
mit Lipidnanopartikeln.

»Die rPEG-Technologie hat das Potenzial, zukünftige mRNA-Medikamente sicherer und besser zu machen.«

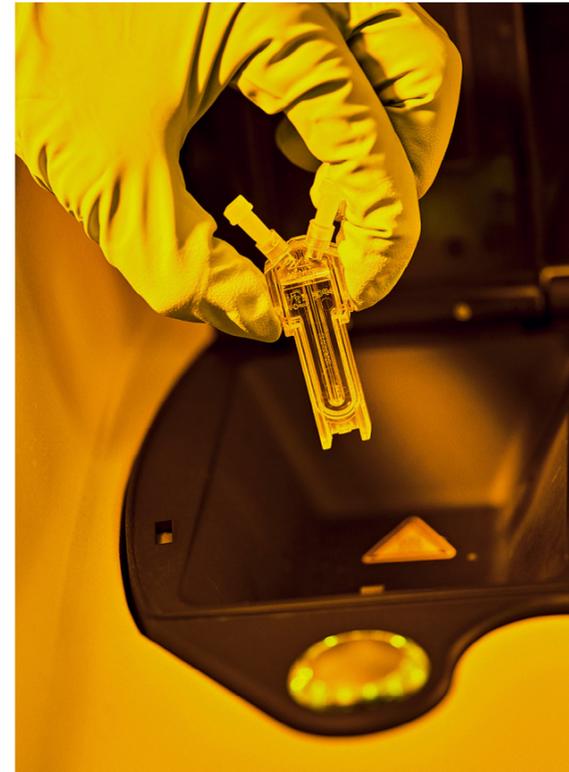
THOMAS ENDRES,
PROJEKTLEITER BEI EVONIK



Melanie Liefke stellt im Darmstädter Labor von Evonik aus den rPEG-Lipiden und weiteren Komponenten die für weitere Tests benötigten LNPs her. Am Laborabzug sitzend dosiert sie mit Pipetten verschiedene Flüssigkeiten präzise in ein fingerhutgroßes Plastikgefäß – rPEG-Lipide, drei weitere Lipide und mRNA. Ihre Erfahrung und Geschicklichkeit ermöglichen es ihr, funktionsfähige LNPs in den gewünschten Größen herzustellen. „Man muss zügig und kontrolliert mischen, weil die mRNA sehr empfindlich ist“, erklärt sie.

Dass sich bereits beim kontrollierten Mischen wohlstrukturierte LNPs bilden, liege auch daran, dass sich die mRNA, das rPEG-Lipid und die anderen Komponenten von allein zusammenfinden, erklärt Molekularbiologin Dr. Anne Benedikt, die das Zellkulturlabor in Darmstadt leitet. „Das hat mit der Selbstorganisation der Materie zu tun. Die Fettsäuren zum Beispiel orientieren sich vom Wasser weg, und über die elektrische Ladung der Komponenten können wir vorgeben, wie sie sich zusammenlagern.“ Die eigentliche Herausforderung beim Handtieren mit mRNA bestehe darin, dass diese abgebaut werden könne, wenn man nicht sauber arbeitet. „Das liegt daran, dass wir Menschen auf unserer Haut Enzyme

Die Lipidnanopartikel werden zuerst auf physikalische Parameter wie Größe und Ladung untersucht.



tragen, die körperfremde mRNA schnell abbauen – das ist unser natürlicher Schutz“, so Benedikt. Wer im Labor mit mRNA arbeitet, muss deshalb für eine absolut reine Umgebung, frei von diesen Enzymen, sorgen.

BIOLOGIE UND CHEMIE TÜR AN TÜR

In Darmstadt werden die LNPs nicht nur hergestellt, sondern auch getestet. Das Team untersucht ihre Interaktion mit lebenden Zellen. Katrin Häfner, Senior Scientist im Zellkulturlabor, deutet auf eine durchsichtige Kunststoffplatte unter dem Laborabzug, deren Vertiefungen mit Flüssigkeit gefüllt sind. In manchen ist die Flüssigkeit eher orange, in anderen violett. „In diesem Test prüfen wir, bis zu welcher LNP-Konzentration die Zellen diese gut vertragen“, sagt sie.

Einen Raum weiter wird geprüft, ob die LNPs ihren Job erledigen und die mRNA in die Zielzellen einschleusen. Dies wird an speziellen Testsystemen untersucht, die bei erfolgreicher Übertragung der mRNA und nachfolgender Produktion der Zielsubstanz ein schwaches Licht aussenden, das von einem Sensor gemessen wird. Dieses Licht ist umso stärker, je besser das Trägersystem funktioniert. →



»EIN INNOVATIVES GEBIET, DAS SICH SEHR SCHNELL ENTWICKELT«

Dr. Andrea Engel, zuständig für Wachstumsprojekte der Business Line Health Care von Evonik, über die Bedeutung von Lipidnanopartikeln (LNPs) für die mRNA-Wirkstoffe der Zukunft

Frau Engel, Lipidnanopartikel sind vielen Menschen während der Covid-19-Pandemie bekannt geworden. Warum haben sie für die Medizin eine so große Bedeutung?

LNPs gelten schon länger als große Hoffnung für die Medizin, weil sie einen Weg zu individuell auf den Patienten zugeschnittenen Medikamenten ebnet. Vor Covid-19 wurden sie bereits für Wirkstoffe gegen Krebserkrankungen genutzt, um sie besser verträglich zu machen. Als Partner der pharmazeutischen Industrie sind wir permanent auf der Suche nach Innovationen, um Therapie-möglichkeiten weiter zu verbessern. Wie die neuen rPEG-Lipide zeigen, sind LNPs ein besonders innovatives Gebiet, das sich sehr schnell entwickeln dürfte.

Wie bereiten Sie sich auf diesen Boom vor?

Wir entwickeln neue maßgeschneiderte Lipide, können Wirkstoffe wie mRNA in LNPs formulieren und beherrschen die Prozessentwicklung. Wir haben sehr erfahrene Engineering-Teams, die die Herstellung von wenigen Millilitern im Labor in einen stabilen Industrieprozess umsetzen, der viele Liter des Produkts in Pharmaqualität liefert. Unsere Kunden können alles aus einer Hand bekommen. Das beschleunigt die Entwicklung neuer Medikamente.

Wo sind Ihre Lipidaktivitäten angesiedelt?

Pharmakunden ist es wichtig, dass die Lieferfähigkeit kritischer Ausgangsmaterialien sichergestellt ist, damit lebenswichtige Medikamente immer produziert werden können. Wir haben die Entwicklung und Produktion von Lipiden und LNPs deshalb global verteilt. In Hanau werden Lipide entwickelt und in kleinen Mengen hergestellt. An unserem Standort in Lafayette (Indiana, USA) haben wir gerade in eine große Anlage zur Lipidproduktion für mRNA-Wirkstoffe investiert. In Vancouver (Kanada) und Darmstadt finden die frühe Formulierungsentwicklung für LNPs und die ersten Tests damit statt. In Vancouver entwickeln wir darüber hinaus die Prozesse zur Bereitstellung von neuen Produkten für klinische Studien.

Wer unterstützt Sie bei der Entwicklung?

Wir arbeiten mit mehreren Hochschulen zusammen. So sind wir seit Januar 2023 Partner in einem vom Bundeswirtschaftsministerium geförderten Projekt, in dem Hochschulen und Unternehmen gemeinsam neue Speziallipide für mRNA-Medikamente entwickeln. Mit der Stanford University in Kalifornien arbeiten wir an einer Hülle für mRNA, die aus Polymeren besteht. Diese Polymerpartikel sollen künftig unser Portfolio an lipidbasierten Produkten ergänzen. Und im Projekt mit der Uni Mainz stehen die neuartigen rPEG-Lipide im Mittelpunkt.

