

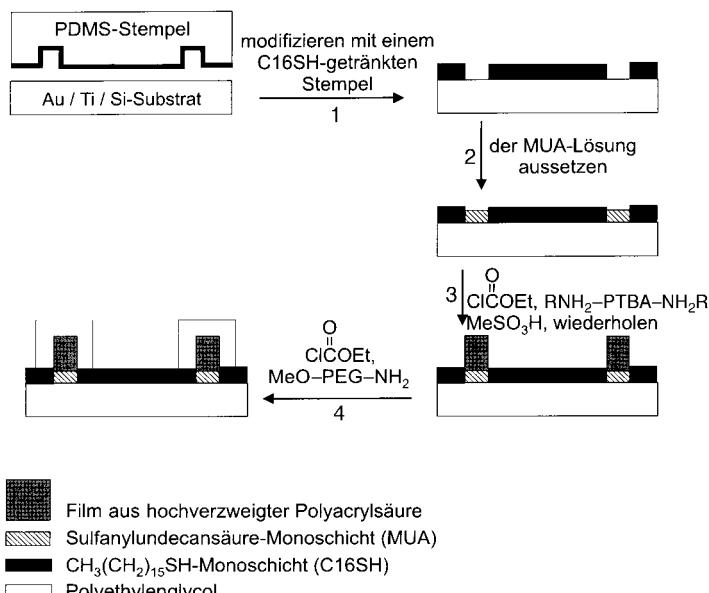
## Ein einfacher lithographischer Ansatz zur Herstellung regelmäßig angeordneter Mulden im Mikrometermaßstab zur Kontrolle des Zellwachstums\*\*

Pradyut Ghosh, Mary Lee Amirpour,  
William M. Lackowski, Michael V. Pishko und  
Richard M. Crooks\*

Wir beschreiben hier einen einfachen, dreistufigen lithographischen Prozeß, der über Mikrokontakt-Drucken (microcontact printing,  $\mu$ -CP), Auftragen eines Polymers und anschließende Polymerfunktionalisierung zu strukturierten Oberflächen mit hervorragenden Eigenschaften zur Anlagerung von Zellen in einer räumlich definierten Art und Weise führt. Die strukturierten Substrate bestehen aus Mulden mit einer lateralen Ausdehnung von  $63\text{ }\mu\text{m}$  und Wandhöhen von  $54 \pm 4\text{ nm}$ . Hydrophobe Alkanthiolate, die über ihre terminalen Methylgruppen die Zellanlagerung ermöglichen, bilden die Böden der Vertiefungen. Die Wände bestehen aus hydrophilen Dreischicht-Poly(acrylsäure)/Poly(ethylenglycol)(3-PAA/PEG)-Nanocomposit-Polymeren, die ein Übertreten der Zellen zwischen den Mulden verhindern. Peritoneale IC-21-Mausmakrophagenzellen wachsen nur innerhalb der Mulden. Dieser Ansatz bietet einen einfachen und chemisch flexiblen Zugang zur lokal definierten Anbindung von Zellen auf Oberflächen.

Die Bildung von strukturierten biologischen Geweben, z.B. Nerven und Blutgefäßen, erfordert eine morphologische Kontrolle im Mikrometermaßstab und die räumliche Anordnung von Zellen. Um dies bei künstlichen Substraten zu erreichen, wurden die Adsorption und die Anlagerung von Zellen und Proteinen auf selbstorganisierten Monoschichten (self-assembled monolayers, SAMs) aus Alkanthiolaten oder Alkylsilanen und auf dünnen Polymerfilmen untersucht.<sup>[1-5]</sup> Es gibt einer geringere Zahl von Untersuchungen, die sich auf die Anlagerung und die Mobilität von Zellen auf strukturierten Substraten konzentrieren.<sup>[6-11]</sup>

Unser Ansatz zur Kontrolle der Zellanlagerung im Mikrometermaßstab beinhaltet vier Schritte (Schema 1).<sup>[12]</sup> Nach der Herstellung eines geeigneten Poly(dimethylsiloxan)(PDMS)-



Schema 1. Aufbau von mikrometergroßen Mulden mit hydrophoben Alkanthiolat-Böden und Wänden aus einem hydrophilen Dreischicht-Poly(acrylsäure)/Poly(ethylenglycol)-Nanocomposit.

Stempels unter Verwendung eines TEM-Gitters (TEM = Transmissionselektronenmikroskopie) wird ein mit Gold bedampftes Substrat durch Softlithographie mit einer Hexadecanthiol(C16SH)-SAM strukturiert.<sup>[13]</sup> Im zweiten Schritt werden die nichtmodifizierten Regionen des Goldsubstrates mit einer 11-Sulfanylundecansäure-SAM (Sulfanylundecansäure, früher Mercaptoundecansäure, MUA) gefüllt. Als nächstes werden die terminalen Säuregruppen der MUA-Bereiche der gemischten Monoschicht aktiviert und mit  $\alpha,\omega$ -Diamino-substituiertem Poly(*tert*-butylacrylat) ( $\text{RNH}_2-\text{PTBA}-\text{NH}_2\text{R}$ ) zu einer über Amidbindungen aufgepropften Polymerschicht umgesetzt. Die Hydrolyse von PTBA mit  $\text{MeSO}_3\text{H}$  führt zur ersten PAA-Schicht, und nach zwei weitere Durchläufen aus Aktivierung, Aufpropfen und Hydrolyse erhält man einen Film aus stark verzweigtem Dreischicht-PAA (3-PAA). Die Einzelheiten dieser Synthese und die Eigenschaften der erhaltenen Filme wurden bereits an anderer Stelle beschrieben.<sup>[14]</sup> Die Dichte der Säuregruppen ist in diesen Filmen sehr hoch. Sie können anschließend durch einfache Amidbildung mit Methoxypoly(ethylenglycol)amin (MeO-PEG-NH<sub>2</sub>) funktionalisiert werden.

Makroskopische Bereiche eines teilweise strukturierten Substrats wurden mit Fourier-Transform-Infrarot-Extern-Reflexionsspektroskopie (FT-IR-ERS), Ellipsometrie, Kontaktwinkel-Messungen und Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) untersucht. Den Ergebnissen dieser Untersuchungen zufolge erfolgt das Auftragen von PAA und die anschließende Funktionalisierung mit PEG nur an den MUA-modifizierten Bereichen der Goldoberfläche. Diese Untersuchungen machen auch deutlich, daß das PEG in erster Linie an der Oberfläche des 3-PAA-Films kovalent angeknüpft wird. So resultiert das FT-IR-ERS-Signal bei  $1730\text{ cm}^{-1}$  (Abbildung 1a) aus der Säure-Carbonylfunktion der 3-PAA. Nach Auftragen des PEGs auf die Oberfläche treten Banden bei  $1645$  und  $1545\text{ cm}^{-1}$  auf (Abbildung 1b); das immer noch

[\*] Prof. R. M. Crooks, Dr. P. Ghosh, Dr. W. M. Lackowski  
Department of Chemistry, Texas A&M University  
P.O. Box 30012, College Station, TX 77842 – 3012 (USA)  
Fax: (+1) 409-845-1399  
E-mail: crooks@tamu.edu

M. L. Amirpour, Prof. M. V. Pishko  
Department of Chemical Engineering  
Texas A&M University, College Station, TX 77843 – 3122 (USA)  
Fax: (+1) 409-845-6446  
E-mail: mvp9585@chennov2.tamu.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation (CHE-9313441), von der Robert A. Welch Foundation, vom Higher Education Coordinating Board des Bundesstaates Texas (Advanced Technology Program, 010366-096) und vom Advanced Research Program der Texas A&M University gefördert. Wir danken Prof. David E. Bergbreiter und seiner Forschungsgruppe an der Texas A&M University für hilfreiche Anmerkungen und für die Bereitstellung von  $\alpha,\omega$ -Diaminopoly(*tert*-butylacrylat) sowie Dr. Li Sun (Texas A&M University) für die Hilfe bei den Lithographie-Experimenten.

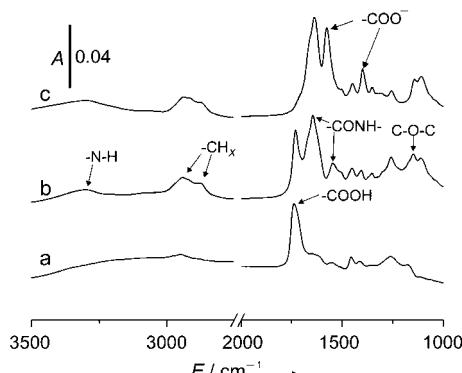


Abbildung 1. FT-IR-ER-Spektren von a) einem 3-PAA-Film, b) dem Film aus a) nach Derivatisierung mit MeO-PEG-NH<sub>2</sub>, Eintauchen in eine 0.1M Lösung von HCl in Ethanol, um Carboxylatgruppen in die Säureform zu überführen, Waschen mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und Behandeln mit Ultraschall in Ethanol, um physisorbiertes Material von der Oberfläche zu entfernen, c) dem Film aus b) nach Derivatisierung mit PEG, Eintauchen in eine wäßrige 0.1M CsOH-Lösung und Spülen mit Wasser und Ethanol.

vorliegende, allerdings weniger intensive Säure-Carbonylsignal deutet auf eine nur unvollständige Derivatisierung des 3-PAA-Films hin. Nach Umsetzung dieser Filme mit einer wäßrigen CsOH-Lösung war das Signal bei 1730 cm<sup>-1</sup> nicht mehr vorhanden, und es traten Carboxylatsignale bei 1580 und 1400 cm<sup>-1</sup> auf (Abbildung 1c), die auf nichtfunktionalisierte Säuregruppen innerhalb dieses Composites hinweisen. Abbildung 1b belegt auch, daß PEG auf die 3-PAA-Filme aufgetragen wurde: Es treten Banden für eine C-O-C-Streckschwingung bei 1145 cm<sup>-1</sup>, für die CH<sub>3</sub>- und CH<sub>2</sub>-Streckschwingungen von PEG bei 2878 und 2940 cm<sup>-1</sup> sowie für die N-H-Streckschwingung bei 3303 cm<sup>-1</sup> und eine Intensitätsschwächere, breite Bande für die OH-Streckschwingung bei etwa 3100 cm<sup>-1</sup> auf. Die Dicke des noch nicht mit PEG beschichteten 3-PAA-Films betrug laut ellipsometrischen und Kraftmikroskopie(AFM)-Messungen (Abtast-Modus) 23 ± 3 nm,<sup>[12]</sup> die Dicke des durch Auftragen von PEG erhaltenen Compositfilms wurde zu 54 ± 4 nm bestimmt. Der Wasser-Kontaktwinkel erhöht sich durch die PEG-Beschichtung von 21° auf 27°. Interessanterweise ändert sich dieser Winkel nicht, wenn der Film mit wäßriger CsOH-Lösung behandelt wird, obwohl dieser dann immer noch freie Säuregruppen enthält; ohne die PEG-Schicht sinkt der Wasser-Kontaktwinkel beim Deprotonieren der Säuregruppen mit CsOH von 21° auf <5°. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß auf der Oberfläche des 3-PAA/PEG-Nanocomposit-Films keine freien Säuregruppen mehr vorhanden sind. Dies belegen auch oberflächensensitive XPS-Untersuchungen an mit CsOH-Lösung behandelten 3-PAA/PEG-Filmen: Hier wurde kein Cs-Signal detektiert, während bei PEG-freien 3-PAA-Filmen ein Cs-3d-Dublett auftritt. Kontrollexperimente mit einer C16SH-SAM statt der reaktiven MUA-Monoschicht mit Säureendgruppen ergaben, daß auf dieser nicht mit MUA modifizierten Schicht kein PAA angebunden und kein PEG aufgepropft wurde.

Vor den Zellimmobilisierungsversuchen wurden alle Filme mit UV-Licht sterilisiert. Ellipsometrisch und IR-spektroskopisch wurde nachgewiesen, daß die Sterilisation die Filme weder chemisch noch topographisch schädigt. Abbildung 2a

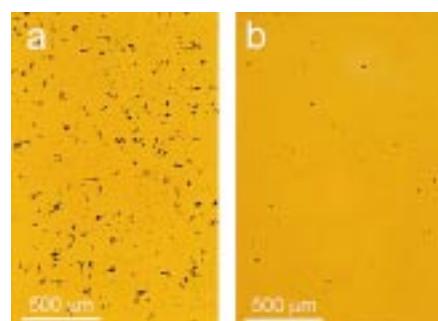


Abbildung 2. Optische Mikroaufnahmen von Makrophagenzellen, die auf eine Polymer-modifizierte Goldoberfläche aufgesetzt wurden. a) Anlage- und Wachstum auf stark verzweigten 3-PAA-Polymerfilmen, die auf eine selbstorganisierte MUA-Monoschicht aufgesetzt wurden. b) Inhibierung der Anlagerung und des Wachstums auf einem 3-PAA-Film nach Aufsetzen einer Schicht von PEG auf die 3-PAA-Oberfläche.

zeigt eine Hellfeld-Mikroaufnahme von Makrophagenzellen auf einem unstrukturierten Film aus stark verzweigtem 3-PAA. Die Zellen lagern sich an und wachsen, weil der 3-PAA-Film eine hohe Dichte an sauren funktionellen Gruppen aufweist. Von Sulfonat-, Hydroxy- und Carboxygruppen an der Oberfläche konnte gezeigt werden, daß sie das Anheften und das Wachstum von Zellen fördern.<sup>[15]</sup> Abbildung 2b zeigt eine optische Mikroaufnahme eines 3-PAA/PEG-Films, der mit Zellen in gleicher Dichte wie für Abbildung 2a belegt wurde. Es wird deutlich, daß die Zellen sich weder an 3-PAA/PEG-Filme anheften noch auf ihnen wachsen. Daß keine Zellenanlagerung an der PEG-Oberfläche auftritt, steht im Einklang damit, daß eine Protein-Adsorption nicht möglich ist, was zum Teil dem großen Ausschlußvolumen der PEG-Ketten zugeschrieben wurde.<sup>[16]</sup> Diesen Ergebnissen zufolge bedeckt die recht dicke PEG-Schicht den darunter liegenden 3-PAA-Film vollständig, der seinerseits die MUA-funktionalisierte Goldoberfläche vollständig überzieht.

Abbildung 3 zeigt eine optische Hellfeld-Mikroaufnahme eines quadratischen Gitters (unter Verwendung eines TEM-Gitters erhalten), das aus C16SH und 3-PAA/PEG auf einem



Abbildung 3. Optische Mikroaufnahmen einer Goldoberfläche, die mittels μ-CP und durch das Auftragen des Polymers strukturiert wurde. Das Gitter besteht aus einem 54 nm dicken, mit PEG-modifizierten 3-PAA-Composit; die Quadrate enthalten eine 1.8 nm dicke n-Hexadecanethiol(C16SH)-Monoschicht.

Goldsubstrat besteht. Das Gitter ist ein 3-PAA/PEG-Polymerfilm, und die Böden der Mulden bestehen aus einer C16SH-SAM (letzte Darstellung in Schema 1).

Eine Mikroaufnahme von Makrophagenzellen auf einem strukturierten 3-PAA-Film ist in Abbildung 4a wiedergegeben. Daß Makrophagenzellen sowohl auf der SAM mit ihren endständigen Methylgruppen als auch über die 3-PAA-Wände der Mulden hinweg wachsen, wird anhand von Abbildung 2a deutlich. Abbildung 4b zeigt eine optische

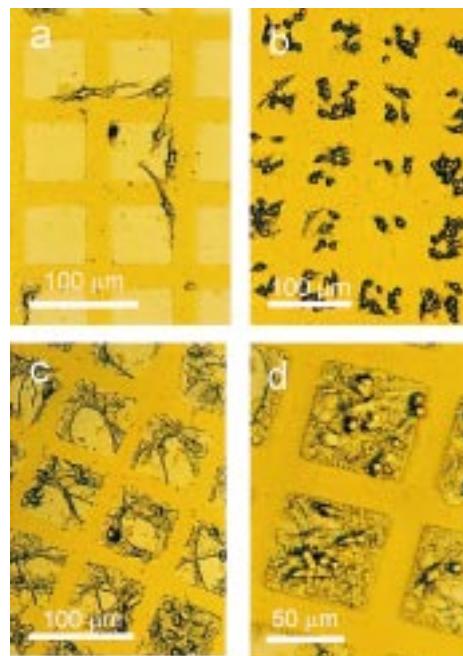


Abbildung 4. Optische Mikroaufnahmen von a) Zellen, die auf einem strukturierten Film mit 3-PAA-Wänden (kein PEG) und C16SH-Böden gewachsen sind: Die Zellen lagern sich an die 3-PAA-Wände an und wachsen über sie hinweg. b) Makrophagenzellenmuster auf dem PEG-modifizierten Substrat, das in Abbildung 3 gezeigt ist: Die Zellen sind innerhalb der Mulden gebunden, und es gibt keine Hinweise auf Wechselwirkungen zwischen den Zellen benachbarter Mulden. c, d) Mikroaufnahmen mit höherer Auflösung von Regionen der Oberfläche mit strukturiert angeordneten Makrophagen.

Mikroaufnahme einer strukturierten Oberfläche, bei der die Muldenwände mit PEG modifiziert wurden. Man sieht, daß PEG die Zelllagerung und das Zellwachstum inhibiert und daß die Zellen ausschließlich an die SAM-Oberfläche mit ihren endständigen Methylgruppen gebunden sind. Diese Ergebnisse belegen eindeutig, daß man mit einfacher Polymerchemie das Zellwachstums kontrollieren kann; man beachte insbesondere, daß kein Teil der Zellkörper aus den Mulden herausragt. Die Abbildungen 4c und 4d sind Mikroaufnahmen mit höherer Auflösung von Regionen der Oberfläche mit strukturiert angeordneten Makrophagen. In diesen Bildern weisen die Makrophagenzellen die korrekte Morphologie auf. So sind der periphere Saum des Cytoplasmas und der Oberflächenrücken der Zelle gut zu erkennen. Zudem zeigt sich, daß aufgrund der klar definierten Prozesse die Zellen gut verteilt sind. Betrachtet man die Makrophage in Abbildung 4d genauer, wird deutlich, daß sie nur am Rand der 3-PAA/PEG-Muldenwand wächst, obwohl die Dicke der

Wand viel kleiner ist als die Größe der Zelle. Das Zellwachstum der Makrophagen ist von der Verankerung abhängig; die Zellen wachsen so lange, wie noch freie Oberfläche vorhanden ist. Ist die Fläche begrenzt, so ist das Überleben der Zelle eine Funktion der Zelldichte. Bei geringen Dichten ist eine größere Oberfläche für die Zellproliferation verfügbar. Bei einer Dichte von  $1.0 \times 10^4$  Zellen pro mL konnten wir das Zellwachstum über mehr als drei Tage aufrechterhalten.

Durch eine einfache Softlithographie-Technik und kovalente Anbindung von geeigneten Polymeren gelang es uns, mikrometergroße Mulden für die Anlagerung und das Wachstum von Zellen herzustellen. Die strikte Kontrolle der Zellposition und -funktion ist ein wesentlicher Schwerpunkt in der Entwicklung von Anwendungen, die von Zell- bis Gewebe-Engineering<sup>[17]</sup> reichen, sowie von Biosensoren. Durch aufeinanderfolgendes Aufbringen von polymeren Bausteinen konnten die Muldenwände schnell und leicht errichtet werden. Die PEG-Beschichtung der Wände ist so vollständig, daß ein Zellwachstum außerhalb der Mulden nicht nachgewiesen werden kann. Weil die Muldenwände im Innern freie Carbonsäuregruppen enthalten, können sie selektiv Metallionen binden und organische Moleküle, Medikamente sowie Enzyme einschließen,<sup>[18]</sup> oder sie können chemisch modifiziert werden, um das Durchdringen von wässrigen Lösungen zwischen den Mulden zu verhindern.<sup>[19]</sup> Somit bieten diese für Zellen geeigneten Mulden die Möglichkeit neuer Plattformen für chemische Sensoren und für Polymeroberflächen mit maßgeschneiderten Eigenschaften<sup>[20]</sup> für eine Vielzahl von biomedizinischen Anwendungen. Überdies könnte diese einfache Strategie der Musterbildung zu komplexeren Strukturen führen wie vollständig organisiertem Gewebe, Nerven und Blutgefäße eingeschlossen.

### Experimentelles

Methoxypoly(ethyleneglycol)amin ( $\text{MeO-PEG}_{5000}\text{-NH}_2$ ) wird auf 3-PAA durch Eintauchen des 3-PAA-Films in 10 mL wasserfreies DMF aufgetragen, zu dem unter Rühren 200  $\mu\text{L}$  *N*-Methylmorpholin und 200  $\mu\text{L}$  Ethylchlorformiat gegeben wurden. Nach 10 min wurde das Substrat entfernt, mit Ethylacetat gespült, mit  $\text{N}_2$  getrocknet und dann 1 h in eine Lösung von  $\text{MeO-PEG}_{5000}\text{-NH}_2$  in  $\text{DMF}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (9/1) (0.1 g  $\text{MeO-PEG}_{5000}\text{-NH}_2$  in 9 mL DMF und 1 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) getautcht. Das Substrat wurde dann 10 min in eine 0.1M Lösung von HCl in Ethanol getautcht, um freie Carboxylatgruppen zu protonieren und Salze zu entfernen, anschließend 1 h in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  getautcht, 10 min in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  mit Ultraschall behandelt, danach mit EtOH gewaschen, um physisorbierte Materialien von der Oberfläche zu entfernen, und schließlich im  $\text{N}_2$ -Strom getrocknet.

Durch 2 h Bestrahen der Substrate mit 245-nm-UV-Licht wurden die Polymeroberflächen sterilisiert. SV-40-transformierte peritoneale IC-21-Mausmakrophagen wurden in RPMI-1640-Medium mit fötalem Rinderseum und einer antibiotischen/antimykotischen Lösung bei 37 °C kultiviert. Für alle Experimente wurden dünne Trägerfilme mit Zellen in einer Dichte von  $1.0 \times 10^5$  Zellen pro mL beschichtet, mit Ausnahme der 3-PAA-strukturierten Filme ( $1.0 \times 10^4$  Zellen pro mL). Nach 24 h Inkubation bei 37 °C in einem 5%-CO<sub>2</sub>-Inkubator wurden die auf dem Substrat gebundenen Zellen 24 h in 10proz. Formaldehydlösung aufbewahrt. Dann wurden sie durch mehrmaliges Waschen mit Ethanol dehydratisiert, mit Hexamethyldisilazan umgesetzt und durch optische Mikroskopie abgebildet.

Ein eingegangen am 19. November 1998 [Z12685]  
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1592–1595

**Stichwörter:** Biosensoren • Immobilisierung • Nanostrukturen • Polymere

- [1] K. L. Prime, G. M. Whitesides, *Science* **1991**, *252*, 1164–1167.
- [2] C. D. Tidwell, S. I. Ertel, B. D. Ratner, B. J. Tarasevich, S. Atre, D. L. Allara, *Langmuir* **1997**, *13*, 3404–3413.
- [3] D. A. Stenger, J. H. Georger, C. S. Dulcey, J. J. Hickman, A. S. Rudolph, T. B. Nielsen, S. M. McCort, J. M. Calvert, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8436–8442.
- [4] J. G. Steele, G. Johnson, P. A. Underwood, *J. Biomed. Mater. Res.* **1992**, *26*, 861–884.
- [5] M. Böltau, S. Walheim, J. Mlynka, G. Krausch, U. Steiner, *Nature* **1998**, *361*, 877–879.
- [6] S. B. Carter, *Nature* **1965**, *208*, 1183–1187.
- [7] N. B. Maroudas, *Nature* **1973**, *244*, 353–354.
- [8] G. P. López, M. W. Albers, S. L. Schreiber, R. Carroll, E. Peralta, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5877–5878.
- [9] R. Singhvi, A. Kumar, G. P. López, G. N. Stephanopoulos, D. I. C. Wang, G. M. Whitesides, D. E. Ingber, *Science* **1994**, *264*, 696–698.
- [10] C. S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, G. M. Whitesides, D. E. Ingber, *Science* **1997**, *276*, 1425–1428.
- [11] D. W. Branch, J. M. Corey, J. A. Weyhenmeyer, G. J. Brewer, B. C. Wheeler, *Med. Bio. Eng. Comput.* **1998**, *36*, 135–141.
- [12] W. M. Lackowski, P. Ghosh, R. M. Crooks, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1419–1420.
- [13] Y. Xai, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 568–594; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 550–575.
- [14] Y. Zhou, M. L. Bruening, D. E. Bergbreiter, R. M. Crooks, M. Wells, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3773–3774.
- [15] A. S. G. Curtis, J. V. Forrester, F. Lawrie, *J. Cell Biol.* **1983**, *97*, 1500–1506.
- [16] S. R. Sheth, D. Leckband, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 8399–8404.
- [17] C. S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, G. M. Whitesides, D. E. Ingber, *Biotechnol. Prog.* **1998**, *14*, 356–363.
- [18] J. G. Franchina, W. M. Lackowski, D. L. Dermody, R. M. Crooks, D. E. Bergbreiter, K. Sirkar, R. J. Russell, M. V. Pishko, *Anal. Chem.*, eingereicht.
- [19] M. Zhao, Y. Zhou, M. L. Bruening, D. E. Bergbreiter, R. M. Crooks, *Langmuir* **1997**, *13*, 1388–1391.
- [20] M. L. Bruening, Y. Zhou, G. Aguilar, R. Agee, D. E. Bergbreiter, R. M. Crooks, *Langmuir* **1997**, *13*, 770–778.

Sekundärstrukturen, auch wenn ihr Rückgrat *nicht* durch Einbau cyclischer Bausteine konformativ fixiert ist. So liegen  $\beta$ -Peptide mit proteinogenen Seitenketten aus mehr als fünf homochiralen  $\beta^2$ - oder  $\beta^3$ - oder aus *like*-konfigurierten  $\beta^{2,3}$ -Aminosäuren<sup>[5]</sup> in Methanol als  $3_{14}$ -Helix vor, in der alle Seitenketten laterale Positionen einnehmen;<sup>[3]</sup> für Ketten mit (*R*)- $\beta^2$ (*S*)- $\beta^3$ - oder *unlike*- $\beta^{2,3}$ -Sequenzen konnte man andererseits eine gestreckte Anordnung und damit die Bildung von Faltblättern voraussagen (Abbildung 1a); in Sequenzen

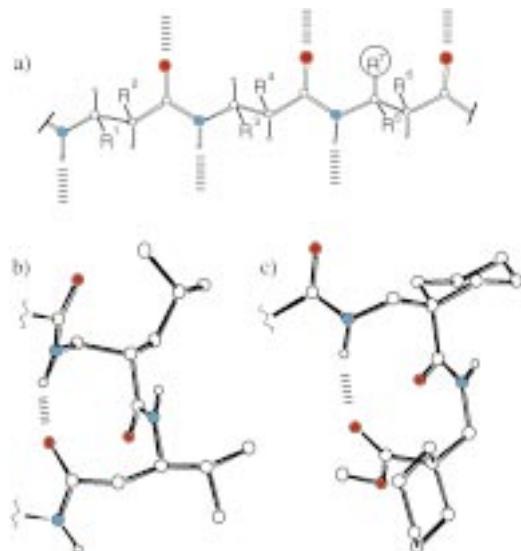
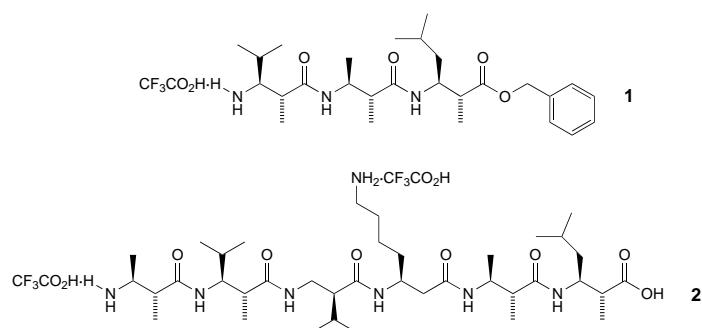


Abbildung 1. a) Modell einer gestreckten  $\beta$ -Peptidkette. Bei  $\beta$ -Aminosäuresequenzen mit  $R^1$  bis  $R^6 \neq H$ ,  $R^7 = H$  (*unlike*- $\beta^{2,3}$ , Typ I) oder, z. B.,  $R^1, R^4, R^5 \neq H$ ,  $R^2, R^3, R^6, R^7 = H$  ((*S*)- $\beta^2$ /*R*)- $\beta^3$ , Typ II) kann ein  $\beta$ -Peptid nicht die  $3_{14}$ -helicale Sekundärstruktur annehmen; die lineare Anordnung sollte erzwungen werden.<sup>[2, 3, 6]</sup> Geminale Disubstitution, z. B.  $R^5$  und  $R^7 \neq H$ , verhindert sowohl Bildung der Helix als auch Aggregation zum Faltblatt (siehe 14gliedrige H-Brückenringe in Abbildung 2 und Diskussion in Lit. [3]). b, c) Zehngliedrige H-Brückenringe, wie sie in der  $\beta^2$ - $\beta^3$ -Sequenz der 12/10/12-Helix<sup>[3, 7]</sup> oder bei geminal disubstituierten  $\beta$ -Peptiden vorkommen.<sup>[8]</sup>

mit den (*S*)- $\beta^2$ / $\beta^3$ - oder mit *geminal* disubstituierten  $\beta^{2,3}$ -Bausteinen haben wir die Bildung von zehngliedrigen H-Brücken-Ringen beobachtet (Abbildung 1b,c). Aufgrund dieser Überlegungen und Informationen haben wir auf der Suche nach parallelen und antiparallelen Faltblättern und nach Schleifen mit den von uns schon früher ausführlich beschriebenen Methoden<sup>[3, 9]</sup> die *unlike*- $\beta^{2,3}$ -Aminosäuren enthaltenden  $\beta$ -Peptide **1** (in Lösung) und **2** (auf der Festphase) hergestellt, deren Strukturen wir hier beschreiben.



## Faltblätter und Schleifen von $\beta$ -Peptiden mit proteinogenen Seitenketten

Dieter Seebach,\* Stefan Abele, Karl Gademann und Bernhard Jaun

Die Eigenschaften von Peptiden und Proteinen hängen von deren dreidimensionaler Struktur ab, die von der Reihenfolge der Aminosäuren, der Primärstruktur, bestimmt wird. Bildungsmechanismen und Stabilitätsparameter für die Sekundärstrukturen von Proteinen, zu denen wir außer der Helix, dem Faltblatt und der Schleife wohl auch die ungeordnete (random-coiled) Region zählen sollten, sind noch nicht völlig aufgeklärt.<sup>[1]</sup> Dagegen bilden  $\beta$ -Peptide (Oligomere von  $\beta$ -Aminosäuren<sup>[2]</sup>) vorhersagbare,<sup>[3]</sup> ja vorausberechenbare<sup>[4]</sup>

[\*] Prof. Dr. D. Seebach, Dipl.-Chem. S. Abele, Dipl.-Chem. K. Gademann, Prof. Dr. B. Jaun  
Laboratorium für Organische Chemie  
der Eidgenössischen Technischen Hochschule, ETH-Zentrum  
Universitätstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)  
Fax: (+41) 1-632-11-44  
E-mail: seebach@org.chem.ethz.ch