

Supramolekulare Organisation von Oligopeptiden durch Komplexierung mit Tensiden**

Sascha General und Markus Antonietti*

Oligopeptide sind nicht nur in der belebten Natur omnipräsent, sie sind auf Grund ihrer wohldefinierten molekularen Struktur, ihrer stereochemischen Eigenschaften und ihrer chemischen Funktionalität auch ideale Bausteine in der molekularen Tektonik oder supramolekularen Chemie^[1] für den Aufbau funktionalisierter Nanostrukturen. Die Organisation solcher Bausteine kann durch Form und Komplementarität funktioneller Gruppen bestimmt werden,^[2] kann aber auch durch Zugabe weiterer Spezies erreicht werden, die zusätzliche schwache und gerichtete Wechselwirkungen ermöglichen, z.B. Übergangsmetallionen.^[3] Diese Art der Chemie ist jedoch bisher auf Wasser und stark polare organische Lösungsmittel beschränkt, und ausgedehntere Strukturen sind bisher fast ausnahmslos natürlichen Ursprungs.

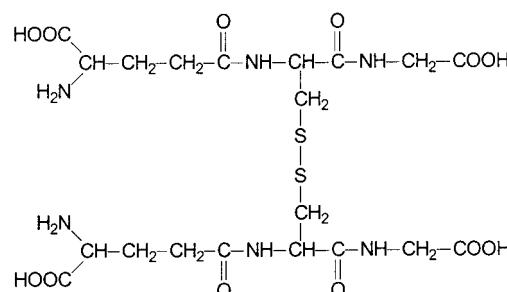
Hier soll ein dazu komplementärer Ansatz vorgestellt werden: Mehrfach geladene, wasserlösliche Oligopeptide werden durch die Komplexierung mit einfachen ionischen Tensiden und Lipiden als organischen Gegenionen hydrophob gemacht; die resultierenden Hybridstrukturen sind in der Lage, spontan zu komplexen supramolekularen Strukturen zu aggregieren. Diese Komplexierung mit organischen Gegenionen sollte sehr einfach sein, da bekanntermaßen andere organische Verbindungen wie Farbstoffe^[4] und Polyelektrolyte^[5] ebenfalls mit strenger 1:1-Stöchiometrie komplexieren und die entstehenden Produkte aus Wasser ausscheiden und isoliert werden können. Wegen des durch das Tensid eingebrachten amphiphilen Charakters ist zu erwarten, dass das polare Peptidrückgrat mit seinem Wasserstoffbrückensystem und die hydrophoben Alkylketten in separate Nanophasen entmischen. Die gleichzeitig erfolgende Minimierung der Bindungs- und Grenzflächenenergie sorgt so für strukturelle Komplexität und einen hohen Grad an supramolekularer Ordnung.

Diese Art von Selbstorganisation ist bekannt von den weniger gut definierten synthetischen Polyelektrolyten mit ihrem größeren Molekulargewicht und strukturellen Verteilungen, die trotzdem hochorganisierte Polyelektrolyt-Tensid-Komplexe^[6–8] und Polyelektrolyt-Lipid-Komplexe^[9] bilden; Ähnliches gilt für die durch Wasserstoffbrücken zusammengehaltenen supramolekularen Komplexe von polaren Polymeren mit Alkylphenolen.^[10,11] Synthetische Polypeptide aus einer einzigen Aminosäure wie Poly-L-lysin, Poly-L-histidin

und Poly-L-glutaminsäure wurden ebenfalls schon mit Tensiden komplexiert,^[12,13] im Regelfall unter Erhaltung und oft sogar Stabilisierung der typischen α -helicalen Struktur.

Anders als bei diesen einfacheren Systemen erwarten wir für die strukturell variableren und chemisch einheitlichen Oligopeptide die Realisierung neuer, ungewöhnlicher Aggregatstrukturen, wobei ihr niedrigeres Molekulargewicht eine schnellere Gleichgewichtseinstellung und höhere Perfektion der resultierenden Strukturmuster unterstützen sollte.

Wir möchten uns hier auf die Komplexierung eines einfachen Modellpeptids, oxidiertes Glutathion oder GSSG, mit Tensiden und Lipiden konzentrieren. Dieses H-förmige Hexapeptid ist aus zwei γ -GluCysGly-Trimeren zusammengesetzt, die über eine Disulfidbrücke verbunden sind. GSSG



enthält vier Carboxy- sowie zwei Aminogruppen, die je nach pH-Wert zur Komplexbildung befähigt sind, und ist dazu preiswert und in größeren Mengen erhältlich. Glutathion hat eine Reihe zellulärer Funktionen: Es ist ein wichtiger Redoxpuffer, hält den Sulfhydryl-Zustand von Proteinen aufrecht, ist wichtig für eine ganze Reihe von Entgiftungsreaktionen und bindet schnell an Xenobiotika.^[14]

Die Isolierung der Komplexe erfolgt auch hier einfach durch Fällung aus wässriger Lösung. Nach dem Waschen finden sich nur kleinste Mengen an Natrium- und Halogenidionen (< 0.02 Gew.-%), was auf die fast perfekte 1:1-Komplexierung in Bezug auf die Ladungen hinweist. Die Komplexe sind, im Gegensatz zu Peptiden, in üblichen organischen Lösungsmitteln wie THF löslich. In verdünnter Lösung finden sich verhältnismäßig große Aggregate, wie schon durch dynamische Lichtstreuung erkennbar ist. Nach dem Eintrocknen können diese Aggregate durch Rasterkraftmikroskopie (AFM) und Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) charakterisiert werden, und man erkennt eine interessante Überstruktur (Abbildung 1 und 2).

Die Komplexe von GSSG mit Lipiden und Tensiden bilden mikrometerlange, flexible Fasern, die in der Mitte gebündelt und nach außen ausgefranzt sind; in Abbildung 1 ist eine TEM-Aufnahme des GSSG-Lecithin-Komplexes gezeigt (dieser bildet auf Grund des Fehlens von Seitenkettenkristallinität besonders gut strukturierte Aggregate). Jede der Fasern ist im getrockneten Zustand ca. 35–45 nm breit und 15 nm hoch (siehe die AFM-Bilder in Abbildung 2). Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, dass die Fasern als linksgängige Spiralen mit einer Ganghöhe von 40 nm und einem Gangwinkel von 30° ausgebildet sind; die Breite des Bandes, welches die Spirale bildet, beträgt ca. 15 nm. All diese Größen liegen auch deutlich jenseits einfacher Aggregatstrukturen

[*] Prof. Dr. M. Antonietti, Dr. S. General
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung
Am Mühlenberg
14424 Potsdam-Golm (Deutschland)
Fax: (+49) 331-567-9502
E-mail: pape@mpikg-golm.mpg.de

[**] Wir danken der Max-Planck-Gesellschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung sowie Rona Pitschke, Bernd Smarsly und Ingrid Zenke für die Durchführung der SAXS-Messungen.

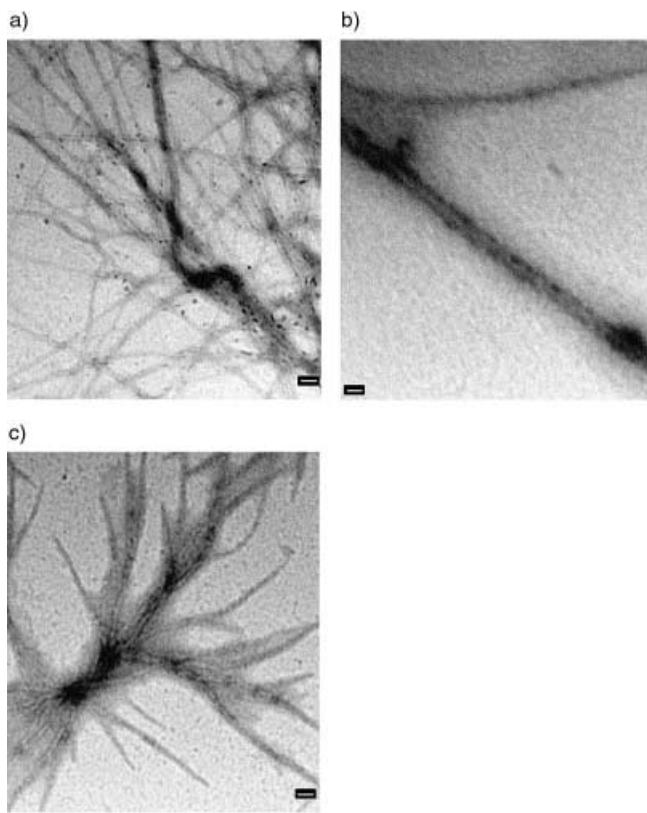


Abbildung 1. TEM-Aufnahmen des GSSG-Lecithin-Komplexes. Die Länge des weißen Strichs entspricht 100 (a), 40 (b) und 100 nm (c).

der GSSG-Tensid-Einheiten. Wir nehmen an, dass etwa zehn der Komplexmoleküle lateral zu einem nanoskopischen Band aggregieren, welches sich dann – wie ein Holzspan – zu der linksgängigen Spirale aufwindet (Abbildung 3).

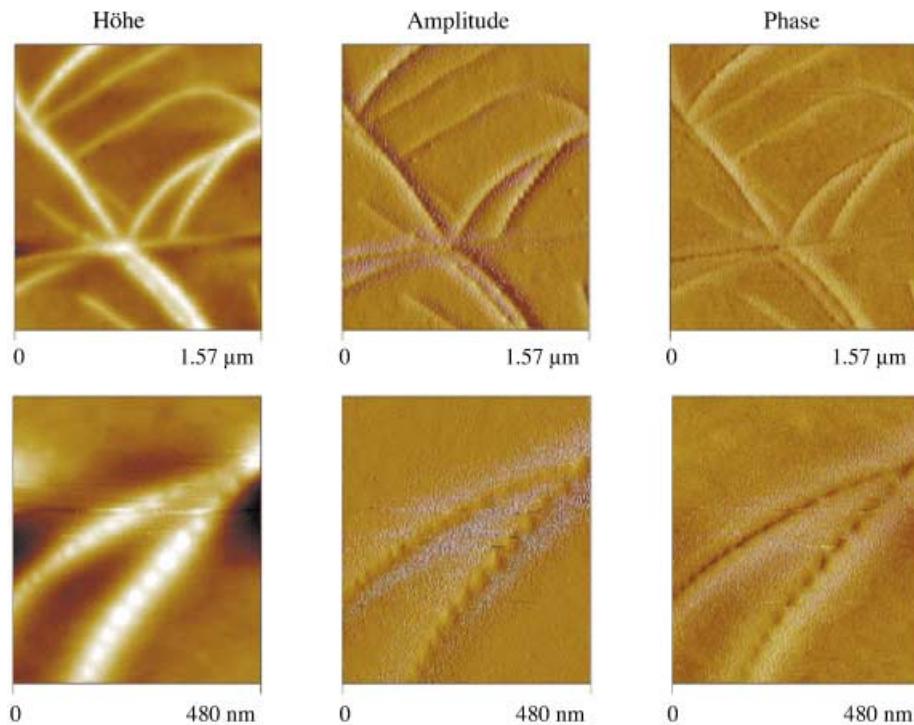


Abbildung 2. AFM-Aufnahmen des GSSG-Lecithin-Komplexes.

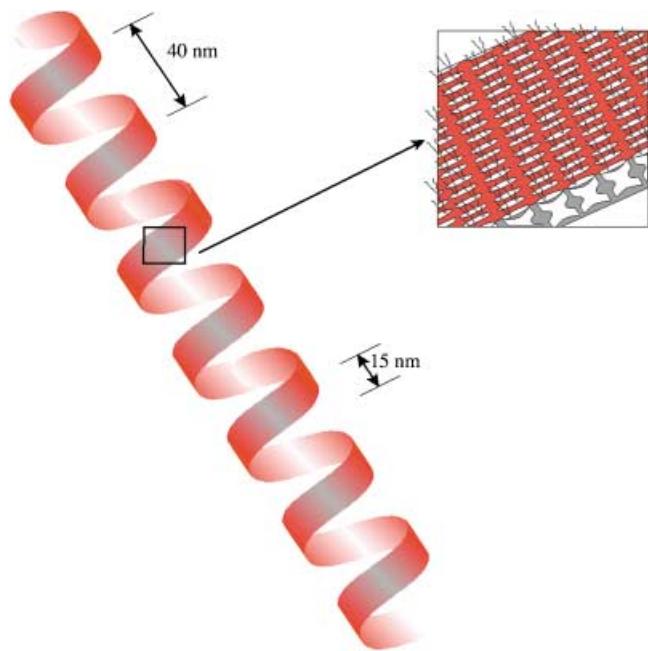


Abbildung 3. Schematische Darstellung der Aggregatbildung (Näheres siehe Text).

Es ist erwähnenswert, dass dieses so genannte Spirelli-Motiv eine wohlbekannte Überstruktur chiraler Tenside und Organogelatoren ist und z. B. von modifizierten Steroiden,^[15] Octylglucosiden^[16] und Dodecanoyleserinen^[17] gebildet wird. Beim vorliegenden System entstehen allerdings deutlich größere, stabilere tektonische Einheiten. Ähnliche größere Superhelices bestehend aus nichtnatürlichen Peptid-Analoga wurden auch kürzlich von Nolte et al. beschrieben;^[18,19] diese Superhelices wurden aus Isocyanpeptiden über modifizierte β -Faltblatt-Anordnungen gebildet. Der hier vorgestellte Weg ist allerdings einfacher, da die sich selbst organisierenden Einheiten wiederum durch einen primären supramolekularen Anlagerungsschritt aus zwei einfachen Edukten hergestellt werden, und der gesamte Prozess („ionische Selbstorganisation“) kann in einfacher Weise auf andere Peptid- und Tensidstrukturen übertragen werden.

Das Verdampfen des Lösungsmittels bei höheren Konzentrationen führt zu transparenten Filmen, die flexibel, aber sehr hart sind und eine ausgeprägte optische Doppelbrechung aufweisen. Die Komplexe haben damit zufrieden stellende Materialeigenschaften und sind z. B. viel härter als die reinen Tensidstrukturen oder auch entsprechende Peptidfilme. Die Nanostruktur dieser Filme wurde durch Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) charakterisiert (Abbildung 4).

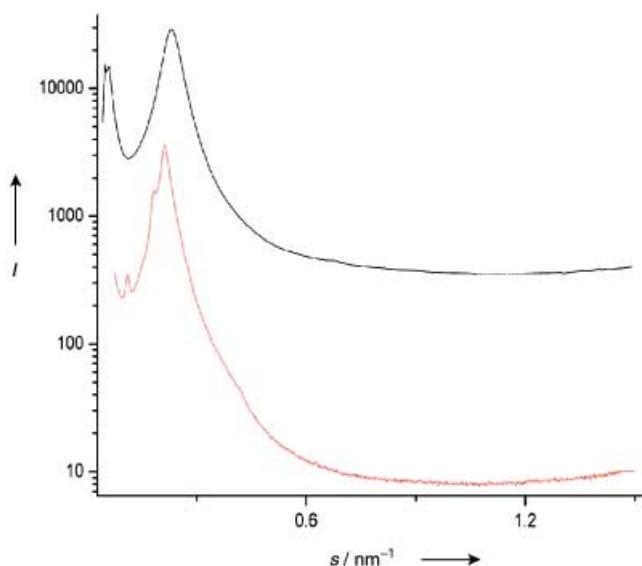


Abbildung 4. SAXS-Diffraktogramm des GSSG-Lipid-Komplexes. Schwarze Kurve: 60°C, rote Kurve: 25°C. Die κ - ι -Analyse ergab: $\kappa = 1.5$, $\iota = 1.7$.

Die Filme sind offensichtlich auf der Nanoskala hoch geordnet. Das SAXS-Diffraktogramm des GSSG-Lipid-Komplexes (zwei Lipidmoleküle pro GSSG-Einheit) ist mit einer lamellaren Struktur im Einklang, die sich aus Doppelschichtstapeln mit einem gegenseitigen Abstand von 4.76 nm zusammensetzt. Ein Satz von drei weiteren Peaks, von denen zwei sogar vor dem Hauptpeak auftreten, zeigt jedoch, dass die Elementarzelle doppelt so groß wie der lamellare Wiederholungsabstand ist. Dies muss als eine Überstruktur auf den Doppelschichtlamellen interpretiert werden. Aus Abschätzungen der molekularen Volumina und der quantitativen Bestimmung der Grenzfläche und Krümmung pro Elementarzelle aus den SAXS-Messungen (mittels des κ - ι -Ansatzes^[20]) ergibt sich, dass eine so genannte Tagliatelle-Phase (eine gestört hexagonale Anordnung von eindimensionalen Kanälen in den Lamellen mit ABA-Symmetrie, wie in Abbildung 5 gezeigt) im Einklang mit allen experimentellen Beobachtungen ist.

Der Bezug zur Lösungsstruktur ist offensichtlich: Es ist eine ähnliche bandartige Anordnung, die sich in verdünnter Lösung zu einer Spirale aufwindet und im festen Film zu einer geschichteten lytropen Phase packt. Ein ähnliches Strukturmotiv wird auch für den Komplex mit dem synthetischen Tensid gefunden. Da hier jede GSSG-Einheit vier Tensidmo-

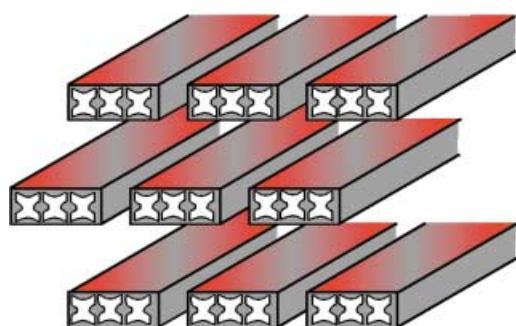


Abbildung 5. „Tagliatelle“-Phase.

leküle bindet (statt zwei Lipide), treten allerdings kleinere Unterschiede der Überstruktur auf.

DSC-Messungen ergaben, dass beide Komplexmaterialien kristalline und flüssigkristalline Übergänge aufweisen. Zum Beispiel wurde ein breiter Übergang bei ungefähr 60–80°C für den GSSG-Lecithin-Komplex gefunden, welcher anhand der Erhaltung der Doppelbrechung oberhalb dieses Temperaturbereichs als LC-Übergang identifiziert wird. Dieser Übergang entspricht, wie durch SAXS gezeigt, dem „Schmelzen“ der Anordnung der Kanäle, d.h., oberhalb dieses Bereiches sind die Kanäle statistisch auf den Lamellen verteilt. Die Proben klären erst bei ca. 250°C, was wir dem Aufbrechen der Peptid-Subphase zuordnen; gleichzeitig setzt bei dieser Temperatur jedoch die langsame Zersetzung der Probe ein.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die einfache Komplexierung eines Modellpeptids mit entsprechenden Tensiden zu Spezies führt, die in organischen Lösungsmitteln löslich sind und die – vermutlich über eine Kombination von Polaritätseffekten, Packung und die Ausbildung von Wasserstoffbrücken – zu komplizierten, doch wohldefinierten Überstrukturen und lytropen Phasen weiteraggregieren. Somit liegt es in der Hand des Chemikers, zumindest drei verschiedene Stufen eines hierarchischen Ordnungsprozesses zu kodieren, wobei auf jeder strukturellen Hierarchieebene eine unterschiedliche Art von Selbstanordnung zum Zuge kommt: ionische Selbstorganisation zur Ausbildung der eigentlichen tektonischen Einheit, Wasserstoffbrückenbindungen zum Aufbau der sekundären Bänder und amphipolare Organisation für die endgültige Nanophasen-Struktur.

Experimentelles

Synthese der GSSG-Tensid-Komplexe: GSSG (Sigma), Dimethyldioctadecylammoniumchlorid (DOAC, Fluka) und Sojalecithin „Lipopur“ (Lec, Lucas Meyer Co) wurden ohne weitere Reinigung eingesetzt. Alle Lösungen wurden mit entionisiertem Wasser ($R > 18 \text{ M}\Omega$) und THF (HPLC-Qualität, Sigma) angesetzt. Für die Herstellung der 1:1-Komplexe wurden 2 Äquiv. Lecithin der 50 mM wässrigen Stammlösungen zu 1 Äquiv. GSSG gegeben (beide Lösungen auf pH 2 eingestellt). Nach 24 h Reifung wurde der erhaltene Niederschlag abzentrifugiert und dreimal mit 30 mL Wasser (pH 2.0) gewaschen, um jegliche nicht gebundenen Spezies zu entfernen.

Zur Komplexierung der anionischen Stellen des GSSG mit DOAC wurden 4 Äquiv. DOAC zu 1 Äquiv. GSSG-Stammlösung gegeben, beides auf pH 10.0 eingestellt. Der direkt erhaltene Niederschlag wurde zentrifugiert und dreimal mit 30 mL Wasser (pH 10.0) zur Entfernung der nicht gebundenen Spezies gewaschen. Beide Komplexe wurden dann in THF gelöst; aus dieser Lösung konnten direkt Filme gegossen werden. Die Filme wurden abschließend unter Vakuum getrocknet.

Röntgenkleinwinkelstreuung wurde mit einem Gerät der Firma Nonius mit einer rotierenden Anode ($P = 4 \text{ kW}$, $\text{Cu}_{\text{K}\alpha}$) und mit Punktfocus aufgenommen. Digitale Bildplatten wurden in einem Probenabstand von 40 cm montiert, was einen Bereich des Streuvektors zwischen $s = 0.05$ und 1.6 nm^{-1} ($s = 2 \sin \theta / \lambda$, Streuwinkel 2θ , $\lambda = 0.15418 \text{ nm}$) zugänglich macht. Die Streudiagramme wurden 24 h aufsummiert, um den Rauschpegel niedrig zu halten und genügend hohe Streuintensitäten auch in den Peakzwischenräumen zu erhalten, was für die quantitative Auswertung nötig ist. Die zweidimensionalen Streubilder wurden eindimensional radial gemittelt.

Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) wurde mit einem Zeiss-912-Omega-Gerät bei 120 kV durchgeführt. Die verdünnten kolloidalen Lösungen wurden auf Kupfergitter (400 mesh) mit Kohlenstofffilm auf-

gebracht und getrocknet; es wurde keine weitere Kontrastierung vorgenommen. DSC-Messungen wurden mit einem Netzsch-DSC-200-Gerät bei 10 K min^{-1} unter Anwendung zweier Heizläufe und eines Kühlungslaufs durchgeführt. Rasterkraftmikroskopie (AFM) wurde mit einem NanoScope-IIIa-Gerät (Digital Instruments, Santa Barbara, USA) im Klopftmodus durchgeführt. Das Gerät war mit einem $10 \times 10\text{-}\mu\text{m}$ -E-Scanner und käuflichen Silicium-Spitzen (Typ TESP, Kraftkonstante 50 N m^{-1} , Resonanzfrequenz 300 kHz , Spitzenradius $<20\text{ nm}$) ausgestattet. Die Proben wurde präpariert, indem man ein Tröpfchen einer THF-Lösung (0.01% w/w) auf einer frisch präparierten Goldoberfläche trocknen ließ.

Eingegangen am 27. Januar 2002 [Z18985]

- [1] J. D. Hartgerink, T. D. Clark, M. R. Ghadiri, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1367.
- [2] D. T. Bong, M. R. Ghadiri, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2221; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2163.
- [3] M. R. Ghadiri, C. Soares, C. Choi, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 825.
- [4] P. Mukerjee, K. J. Mysels, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 2937.
- [5] K. Hayagawa, J. P. Santerre, J. C. T. Kwak, *Macromolecules* **1983**, *16*, 1642.
- [6] M. Antonietti, J. Conrad, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1927; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1869.
- [7] M. Antonietti, J. Conrad, A. Thünemann, *Macromolecules* **1994**, *27*, 6007.
- [8] M. Antonietti, C. Burger, J. Effing, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 751.
- [9] M. Antonietti, A. Wenzel, A. Thünemann, *Langmuir* **1996**, *12*, 2111.
- [10] J. Ruokolainen, M. Torkkeli, R. Serimaa, S. Vahvaselkä, M. Saariaho, G. ten Brinke, O. Ikkala, *Macromolecules* **1996**, *29*, 6621.
- [11] J. Ruokolainen, G. ten Brinke, O. Ikkala, *Macromolecules* **1996**, *29*, 3409.
- [12] K. Seki, D. A. Tirrell, C. Brand, M. Vert, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1984**, *5*, 187.
- [13] S. General, A. F. Thünemann, *Int. J. Pharm.* **2001**, *230*, 11.
- [14] *Functions of Glutathione* (Hrsg.: A. Larssen et al.), Raven Press, New York, **1983**.
- [15] P. Terech, R. H. Wade, *J. Colloid Interface Sci.* **1988**, *125*, 542.
- [16] J. König, C. Boettcher, H. Winkler, E. Zeitler, Y. Talmon, J. H. Fuhrhop, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 693.
- [17] C. Boettcher, B. Schade, J. H. Fuhrhop, *Langmuir* **2001**, *17*, 873.
- [18] J. J. L. M. Cornelissen, M. Fischer, N. A. J. M. Sommerdijk, R. J. M. Nolte, *Science* **1998**, *280*, 1427.
- [19] J. J. L. M. Cornelissen, J. J. J. M. Donners, R. de Gelder, W. S. Graswinckel, G. A. Metselaar, A. E. Rowan, N. A. J. M. Sommerdijk, R. J. M. Nolte, *Science* **2001**, *293*, 676.
- [20] M. A. Micha, C. Burger, M. Antonietti, *Macromolecules* **1998**, *31*, 5930.

Ein Modellnucleosid für die Elektroneninjektion in die DNA: 5-Pyrenyl-2'-desoxyribose**

Nicole Amann, Evgeni Pandurski, Torsten Fiebig* und Hans-Achim Wagenknecht*

Ladungstransferreaktionen durch die DNA wurden in den vergangenen 15 Jahren intensiv untersucht.^[1] Es ist wichtig hervorzuheben, dass in den meisten dieser Experimente der oxidative Lochtransfer beobachtet wurde. Der reduktive Elektronentransfer (ET) wiederum findet gegenwärtig eine breite Anwendung in der DNA-Chip-^[2] und Nanotechnologie,^[3] ohne dass der zugrundeliegende Mechanismus dieser Art des Ladungstransfers verstanden wird. Kürzlich beschrieben Carell et al. die Reparatur von Thymin-Thymin-Dimeren durch ein räumlich entferntes Flavinderivat, das als artifizielle Base in die DNA eingebaut war.^[4] Spektroskopische Messungen mit diesem System wurden nicht publiziert. Trotzdem wurde die Spaltung des Thymin-Thymin-Dimers als chemische Folgereaktion eines reduktiven ET durch den DNA-Basenstapel interpretiert. Bis heute gibt es keine brauchbaren DNA-Systeme für die zeitaufgelöste spektroskopische Untersuchung des reduktiven ET durch die DNA.

In dieser Zuschrift wollen wir die Synthese und die pH-abhängige spektroskopische Untersuchung des ET in dem Nucleosid 5-Pyrenyl-2'-desoxyuridin (PydU, **1**) als Modellsystem vorstellen. Pyrenderivate wurden bereits zuvor von Kool et al. als artifizielle DNA-Basen verwendet.^[5] Wir wählten einen anderen strukturellen Ansatz, bei dem der Pyrenylsubstituent mit der Nucleobase Uracil (bzw. Thymin) kovalent verknüpft ist. Die Anregung der Pyreneinheit bei 340 nm führt zu einem intramolekularen ET, bei dem das entsprechende Uracil-Radikal anion und das Pyrenyl-Radikalkation entstehen (Py^+/dU^-). Dieser Ladungstransfer wurde bereits zuvor von Netzel et al. nachgewiesen.^[6] Unter Berücksichtigung des Reduktionspotentials von 1.52 V (vs. Normalwasserstoffelektrode) für das Py^+/Py -Redoxpaar^[7] und $E_{00} = 3.25\text{ eV}$ ^[6] ist die Triebkraft ΔG dieses ET-Prozesses maximal -0.5 eV , wenn man ein Potential von -1.2 V für das dU/dU^- -Redoxpaar^[8] zugrunde legt. Der Betrag $|\Delta G|$ erscheint jedoch zu hoch, wenn man neuere Femtosekun-

[*] Dr. T. Fiebig, E. Pandurski

Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Technische Universität München
Lichtenbergstraße 4, 85747 Garching (Deutschland)
Fax: (+49) 89-289-13244
E-mail: fiebig@ch.tum.de

Dr. H.-A. Wagenknecht, N. Amann
Institut für Organische Chemie und Biochemie
Technische Universität München
Lichtenbergstraße 4, 85747 Garching (Deutschland)
Fax: (+49) 89-289-13210
E-mail: wagenknecht@ch.tum.de

[**] Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Wa 1386/7-1, Fi 721/3-1,3-4) und den Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. N.A. und H.A.W. danken Herrn Professor Horst Kessler, Technische Universität München, für die großzügige Unterstützung.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.