

Umwickeln von Peptidröhren – Konvergenz von biologischer Selbstorganisation und Polymersynthese**

Marco A. Balbo Block und Stefan Hecht*

Stichwörter:

Bionanotechnologie · Hybridmaterialien · Peptide ·
Polymere · Selbstorganisation

Transmembrankanäle und -poren zählen zu den beeindruckendsten natürlichen Strukturen, insbesondere hinsichtlich der nahezu perfekten Selektivität, Geschwindigkeit und Schaltbarkeit der von ihnen vermittelten Transportprozesse. Ihr modulares Design basiert oftmals auf Bündeln von α -Helices, wie im Fall des Kaliumkanals,^[1] aber auch alternative Strukturen wie Proteinfässer und β -Helices, man denke nur an den Gramicidin-A-Kanal,^[2] sind im Laufe der Evolution entstanden. Außer der Modifizierung existierender biologischer Poren^[3] steht heutzutage eine Vielzahl an Wegen zu tubulären Strukturen auf der Basis synthetischer Rückgrate zur Verfügung.^[4] Insbesondere an Peptid-basierten Röhrensystemen besteht großes Interesse, und im Folgenden wollen wir sowohl Konzepte zum generellen Design als auch neueste Fortschritte auf diesem sich rasant entwickelnden Gebiet aufzeigen.

Das β -Faltblattmotiv, wie es in mehreren Varianten in α -Peptiden vorliegt,^[5] hat sich als außergewöhnlich ergiebiges Designelement für die Nachahmung natürlicher kanalbildender Strukturen erwiesen: Die parallele oder antiparallele Anordnung mehrfacher Wasserstoffbrücken zwischen Bausteinen unterschiedlicher Krümmung führt

zur Bildung stabiler tubularer Aggregate von β -Fässern über β -Helices bis hin zu gestapelten Makrocyclen (Abbildung 1).

β -Fass bildende Proteine wie das natürlich vorkommende α -Hämolsin^[6] werden aus β -Faltblattdauben zusammengesetzt. Der Designansatz von Matile et al. basiert auf der kontrollierten Aggregation steifer Octa(*para*-phenylene), die kurze α -Peptid-Seitenketten tragen, die mit Seitenketten benachbarter Dauben verzahnt sind und so anti-parallele β -Faltblätter bilden.^[7] Alternativ dazu haben Percec und Mitarbeiter Poren aus amphiphilen dendritischen α -Dipeptiden aufgebaut; diese entsprechen kurzen Dauben, die durch Selbstorganisation eine helicale Anordnung einnehmen.^[8,9] Beim ersten Ansatz lässt sich der innere Durchmesser mit der Zahl der Dauben sowie der Länge der α -Peptidseitenketten einstellen, beim zweiten erreicht man dies durch Variation der Konfiguration an den Dipeptideinheiten. Dagegen lässt sich in bei-

den Fällen die Röhrenlänge nur indirekt, nämlich durch den Aufbau der Röhre innerhalb von limitierenden Lipiddoppelschichten steuern.

Ein alternativer Weg zum Aufbau von Kanalstrukturen ist bei der Familie der Gramicidinpeptide verwirklicht:^[2] Das Verdrehen eines α -Peptidstrangs mit einer Sequenz aus alternierenden D- und L- α -Aminosäuren führt zur Bildung einer Einzelstrang- β -Helix, bei der intramolekulare Wasserstoffbrücken ähnlich wie in einem parallelen β -Faltblatt vorliegen. Zusätzliche Wechselwirkungen zwischen unterschiedlichen Strängen ermöglichen gestapelte oder ineinander verschlungene β -Helices. Die Zahl an Aminosäureeinheiten pro Windung (4.8 bis 8.2 Einheiten) ist größer als in der α -Helix, was zu breiteren Hohlräumen mit Durchmessern zwischen 2.3 und 4.7 Å führt. Während der Helixdurchmesser hauptsächlich von eingelagerten Gastkationen abhängt, wird die Länge unmittelbar von der Aminosäurekettenlänge bestimmt.

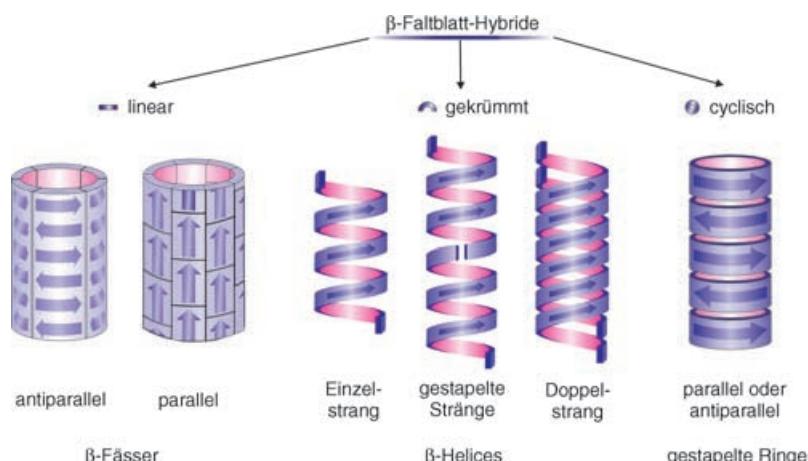


Abbildung 1. Tubuläre Strukturen, abgeleitet vom β -Faltblattmotiv, das in Form von linearen, gekrümmten oder cyclischen Peptidsträngen vorliegt.

[*] M. A. Balbo Block, Dr. S. Hecht
Max-Planck-Institut für Kohlenforschung
Kaiser-Wilhelm-Platz 1
45470 Mülheim an der Ruhr
(Deutschland)
Fax: (+49) 30-306-2979
E-mail: hecht@mpi-muelheim.mpg.de

[**] Wir danken der Max-Planck-Gesellschaft für finanzielle Unterstützung. M.A.B.B. dankt der Studienstiftung des deutschen Volkes für ein Doktorandenstipendium.

Eine elegante Erweiterung des β -Helixdesigns präsentierte Ghadiri et al. in Form von Peptidröhren aus gestapelten Makrocyclen einer geraden Zahl alternierender D- und L- α -Aminosäuren.^[10] Das hohe Seitenverhältnis und die chemische Stabilität dieser tubularen Aggregate beruhen auf den starken Wasserstoffbrücken zwischen den einzelnen Ringen, die ein kreisförmiges ausgedehntes zweidimensionales β -Faltblatt bilden. Die Zunahme der Einheiten pro Cyclus vom Cyclooctamer zum Cyclododecamer führt zur Vergrößerung des Innendurchmessers von 7 auf 13 Å bei einer konstanten Periodizität von 4.7 Å entlang der Stapelrichtung.^[11] Die Steuerung der Röhrenlänge ist wiederum nur über den Aufbau innerhalb einer Lipiddoppelschicht möglich.^[12]

Aus diesem kurzen Überblick wird ersichtlich, wie viele Ansätze zur Herstellung von Peptidröhren es bereits gibt. Allerdings bleiben noch einige Aufgaben zu lösen:

- Eine Längenkontrolle der selbstorganisierten tubulären Objekte ohne die Zuhilfenahme einer begrenzenden Doppelschicht ist noch nicht in Sicht.^[13] Ein Lösungsansatz ist die Beimischung von Terminierungsmitteln bei der supramolekularen Poly-

merisation,^[14] z.B. von Janus-Makrocyclen, die nur auf einer Seite Wasserstoffbrücken bilden können.^[15] Trotzdem kann eine breite Längenverteilung nicht vermieden werden. Die Arbeiten von Stupp et al. zur kontrollierten endlichen Aggregation mithilfe von raumfüllenden Seitenketten, wie mit seinen „Nanopilzen“ demonstriert,^[16] sind wahrscheinlich der zurzeit vielversprechendste Ansatz.

- Eine gesteuerte Funktionalisierung der Innen- und Außenflächen ist entscheidend für die praktische Anwendung solcher tubularer Strukturen. Während die innere Funktionalisierung sowohl Effizienz als auch Selektivität der Transportprozesse beeinflusst, wirken sich funktionelle Gruppen an der Peripherie auf die Integration in Doppelschichten oder in andere hierarchisch organisierte Konstrukte aus. Insbesondere die äußere Modifizierung mit Polymeren bietet eine attraktive Möglichkeit zum Einstellen von Materialeigenschaften und zur Steuerung von Musterbildungen auf der Nanometerskala.^[17] Peptid-Polymer-Hybride^[18] sind mit kontrollierten radikalischen Polymerisationstechniken,^[19] die entweder eine Graft-from-/At-

tach-to-Postfunktionalisierung oder eine Polymerisation geeigneter Makromonomere einbeziehen, leicht zugänglich.^[20]

- Die Isolierung der tubularen Bausteine und ihre Integration in hierarchisch organisierte Strukturen sind Grundvoraussetzungen für den Aufbau und die Nutzung von Hybridelementen mit gewünschten Eigenschaften.

Vor kurzem berichtete die Arbeitsgruppe von Biesalski von einem interessanten Ansatz zur Bewältigung einiger der oben genannten Probleme.^[21] Dabei nutzten Sie die Graft-from-Polymerisation an der äußeren Oberfläche von selbstorganisierten Peptidnanoröhren, um die Eigenschaften der Nanoröhren zu verändern (Abbildung 2). Dazu wurden octamere D,L-alternierende Cyclo- α -peptide, die Bromisobutyramid-Initiatorgruppen an Lysin-Seitenketten trugen, zu Peptidnanoröhren zusammengesetzt. Die Autoren gaben N-Isopropylacrylamid-Monomer sowie die Polymerisationskatalysatormischung zu und nutzten die kontrollierte Atomtransferpolymerisation (ATRP), um eine Hülle aus Poly(*N*-isopropylacrylamid) (PNIPAM) von homogener Schichtdicke um den intakten zylindri-

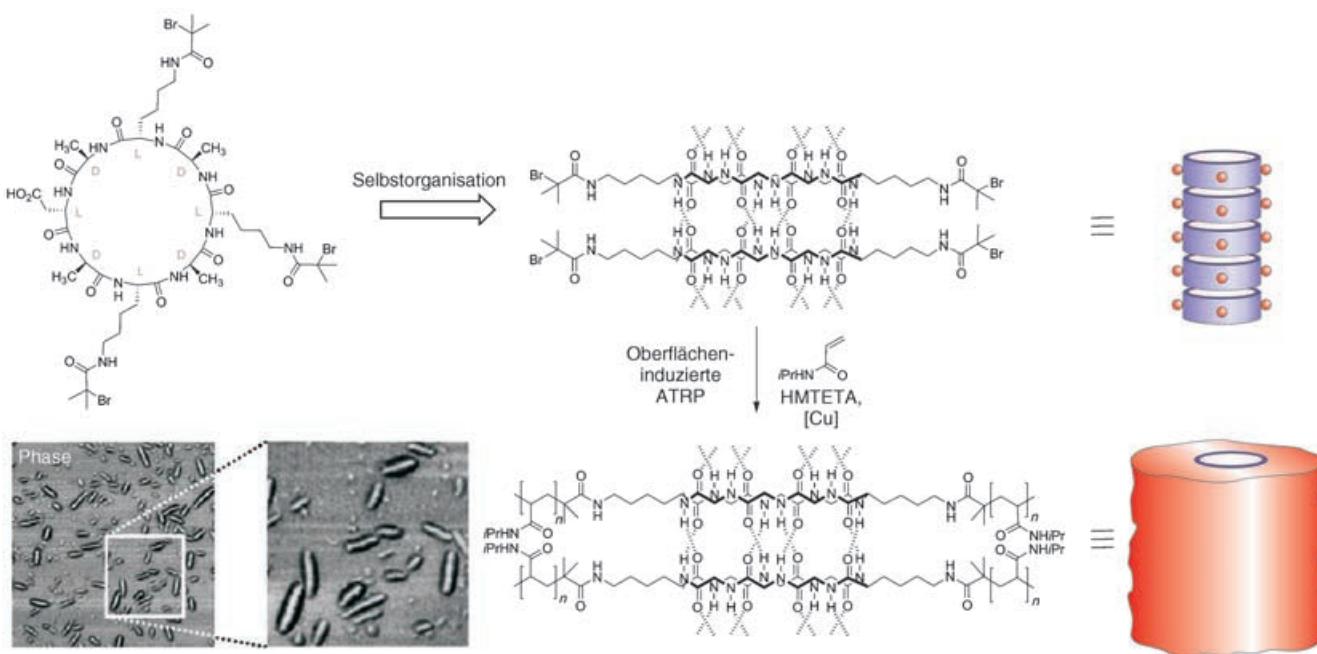


Abbildung 2. Aufbau einer Polymerhülle an vororganisierten Peptidröhren:^[21] D,L-Cyclo- α -peptide mit Initiatorgruppen stapeln sich unter Bildung zylindrischer Strukturen, an deren Oberfläche PNIPAM mittels ATRP wächst; HMTETA = 1,1,4,7,10,10-Hexamethyltriethylentetramin. Unten links werden AFM-Bilder von Peptid-PNIPAM-Hybriden gezeigt (Skalen: 2 μ m und 800 nm). Teilweise wiedergegeben aus Lit. [21].

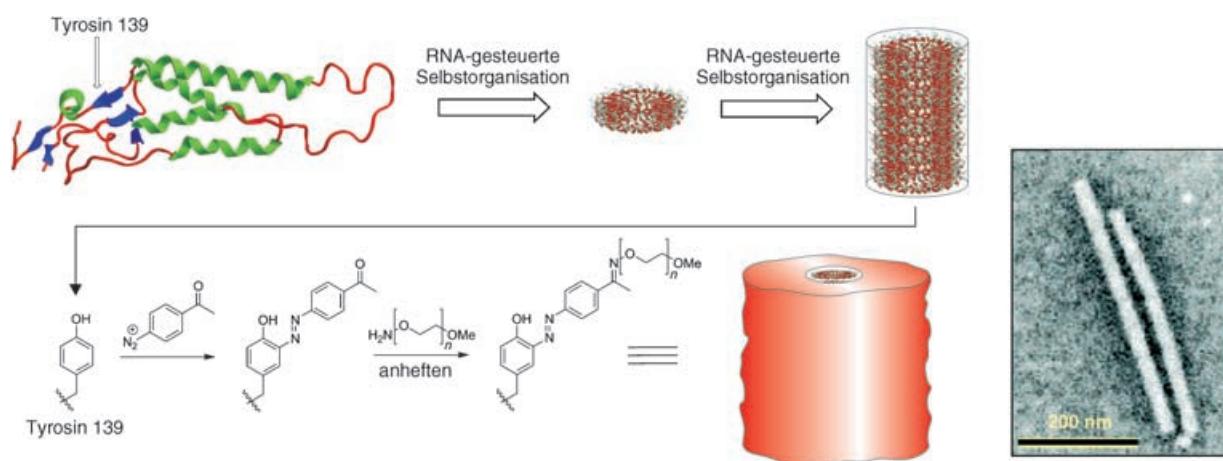


Abbildung 3. Anbringen einer Polymerhülle an vororganisierte TMV-Röhren.^[23] Peripheres Tyr 139 des TMV-Hüllenproteins (PDB-Code: 1ei7) wird über eine Diazoniumkupplung zum Ketointermediat funktionalisiert, an das dann PEG-basierte Hydroxylamine geknüpft werden. Rechts ist ein TEM-Bild des PEG-TMV-Hybrids nach dem Transfer in CHCl₃ gezeigt. Teilweise wiedergegeben aus Lit. [23].

schen Peptidkern zu wickeln. Mit Rasterkraftmikroskopie(AFM)-Aufnahmen vor und nach der Postpolymerisation konnte gezeigt werden, dass Bündel aus Peptidröhren mit Längen zwischen 100 und 500 nm zu einzelnen, stabförmigen Strukturen mit Dimensionen von 80 ± 20 nm Länge und 12 ± 3 nm Höhe aufgebrochen wurden. Diese Beobachtungen zeigen, dass durch die Steuerung des Molekulargewichts der Polymerseitenketten das Ausmaß der lokalen sterischen Hinderung und damit die Länge des tubulären Hybridgerüsts beeinflusst werden können.

Francis und Mitarbeiter demonstrierten die Polymerfunktionalisierung des Tabakmosaikvirus (TMV), einer wohldefinierten tubularen selbstorganisierten Einheit. Mithilfe neuartiger Methoden zur Biokonjugation^[22] dekorierten die Autoren die äußere und innere Oberfläche des TMV-Hüllenproteins.^[23] So konnten durch die chemo- und regioselektive Modifizierung des peripher sitzenden Tyr 139 mittels elektrophiler aromatischer Substitution Ketofunktionen eingeführt werden,^[24] die wiederum mit verschiedenen Hydroxylaminen einschließlich Poly(ethylenglycol)(PEG)-Derivaten umgesetzt wurden (Abbildung 3). Dieses „Anheften“ liefert intakte Röhren mit hervorragendem Lösungsverhalten in verschiedensten organischen Lösungsmitteln und ermöglicht somit die konventionelle Weiterverarbeitung dieser PEG-TMV-Hybride zu den gewünschten Endmaterialien. Es soll noch erwähnt werden, dass dieses

Röhrensystem einer perfekten Längenkontrolle unterliegt, da ein diskreter RNA-Strang im Inneren der entstehenden Röhre als Schablone fungiert und die Selbstorganisation des TMV-Hüllenproteins steuert.

Die vorgestellten Arbeiten zeigen den fortschreitenden Trend zur Verschmelzung klassischer Disziplinen wie der Biologie, der organischen Synthese und der Polymerchemie. Indem man die charakteristischen Eigenschaften dieser sich oft ergänzenden Felder kombiniert, kann man gegenwärtige Einschränkungen überwinden und die Möglichkeiten zum Design maßgeschneidelter Hybridmaterialien enorm erweitern. Die kontrollierte Modifizierung von Peptiden und Peptid-basierten Objekten mithilfe moderner Polymerisationstechniken wird ein aktives Forschungsgebiet bleiben, und durch die Manipulation der Eigenschaften von Peptidröhren können interessante neue Anwendungen auf dem aufstrebenden Gebiet der Biotechnologie erschlossen werden.

1016–1041; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 988–1011; b) M. A. Balbo Block, C. Kaiser, A. Khan, S. Hecht, *Top. Curr. Chem.* **2005**, *245*, 89–150.

- [5] a) N. Sewald, H.-D. Jakubke, *Peptides: Chemistry and Biology*, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**; für alternative Peptidstrukturen auf der Basis homologer Aminosäuren siehe: b) *Pseudo-Peptides in Drug Discovery* (Hrsg.: P. Nielsen), Wiley-VCH, Weinheim, **2004**; c) D. Seebach, A. K. Beck, D. J. Bierbaum, *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 1111–1239.
- [6] L. Song, M. R. Hobough, C. Shustak, S. Cheley, H. Bayley, J. E. Gouaux, *Science* **1996**, *274*, 1859–1866.
- [7] N. Sakai, J. Mareda, S. Matile, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 79–87.
- [8] V. Percec, A. E. Dulcey, V. S. K. Balagurusamy, Y. Miura, J. Smidrkal, M. Peterca, S. Nummelin, U. Edlund, S. D. Hudson, P. A. Heiney, H. Duan, S. N. Magonov, S. A. Vinogradov, *Nature* **2004**, *430*, 764–768.
- [9] Für ein weiteres exzellentes Beispiel zum Aufbau von Diphenylalanin-Peptidröhren als Schablonen für die Generierung von Silbernanodrähten siehe: M. Reches, E. Gazit, *Science* **2003**, *300*, 625–627.
- [10] M. R. Ghadiri, J. R. Granja, R. A. Milligan, D. E. McRee, N. Khazanovich, *Nature* **1993**, *366*, 324–327.
- [11] J. D. Hartgerink, T. D. Clark, M. R. Ghadiri, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1367–1372.
- [12] a) S. Fernandez-Lopez, H.-S. Kim, E. C. Chol, M. Delgado, J. R. Granja, A. Khasanov, K. Kraehenbuehl, G. Long, D. A. Weinberger, K. M. Wilcoxen, M. R. Ghadiri, *Nature* **2001**, *412*, 452–455; b) M. R. Ghadiri, J. R. Granja, L. K. Buehler, *Nature* **1994**, *369*, 301–304.

- [13] Sonderausgabe „Supramolecular Chemistry & Self-Assembly“: *Science* **2002**, *295*, 2395–2421.
- [14] L. Brunsved, B. J. B. Folmer, E. W. Meijer, R. P. Sijbesma, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 4071–4097.
- [15] J. Sanchez-Quesada, M. P. Isler, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10004–10005.
- [16] S. I. Stupp, V. LeBonheur, K. Walker, L. S. Li, K. E. Huggins, M. Keser, A. Amstutz, *Science* **1997**, *276*, 384–389.
- [17] In einer Pionierarbeit haben Höger und Mitarbeiter an stapelnde Phenylennethylen-Makrocyclen Polystyrolsegmente angebracht, um so eine Polymerhülle um das selbstorganisierte Nanorohr zu wickeln: S. Rosselli, A.-D. Ramminger, T. Wagner, B. Silier, S. Wiegand, W. Haussler, G. Lieser, V. Scheumann, S. Höger, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3233–3237; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3138–3141.
- [18] H.-A. Klok, *J. Polym. Sci. Part A* **2005**, *43*, 1–17.
- [19] Übersichtsartikel zur kontrollierten radikalischen Polymerisation: ATRP: a) K. Matyjaszewski, J. Xia, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2921–2990; b) M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3689–3745; NMP: c) C. J. Hawker, A. W. Bosman, E. Harth, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3661–3688; RAFT: d) G. Moad, J. Chiefari, Y. K. Chong, J. Krstina, R. T. A. Mayadunne, A. Postma, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Polym. Int.* **2000**, *49*, 993–1001.
- [20] a) M. L. Becker, J. Liu, K. L. Wooley, *Chem. Commun.* **2003**, 180–181; b) H. Rettig, E. Krause, H. G. Börner, *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25*, 1251–1256; c) Y. Mei, K. L. Beers, H. C. Michelle Byrd, D. L. van der Hart, N. R. Washburn, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3472–3476.
- [21] J. Couet, J. D. Jeyaprakash, S. Samuel, A. Kopyshev, S. Santer, M. Biesalski, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 3361–3365; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3297–3301.
- [22] a) J. M. Antos, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10256–10257; b) J. M. Hooker, E. W. Kovacs, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3718–3719; c) N. S. Joshi, L. R. Whittaker, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15942–15943.
- [23] T. L. Schlick, Z. Ding, E. W. Kovacs, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3718–3723.
- [24] Die Ketofunktion hat sich als außergewöhnlich vielseitig in der Biokonjugation erwiesen, so z.B. in der selektiven Funktionalisierung von Zelloberflächen: L. K. Mahal, K. J. Yarema, C. R. Bertozzi, *Science* **1997**, *276*, 1125–1128.

Don't bet on the wrong horse!



1324407-BU

Zeit ist ein knappes Gut. Sparen Sie sich langes Suchen und registrieren Sie sich jetzt für den kostenlosen Wiley-VCH Alerting Service.

www.wiley-vch.de/publish/dt/pas/

 **WILEY-VCH**



18 000 organische Chemikalien, Ein Anruf genügt !

TCI Europe, unser europäisches Vertriebszentrum in Antwerpen, Belgien, garantiert eine schnelle Auslieferung aller TCI Produkten in Europa, von Universitätslaboratorien bis zu Forschungs- und Entwicklungszentren.



**TCI 2005
Eurokatalog**

Gratis

Fordern Sie jetzt Ihr exemplar an !

TCI EUROPE N.V.

+800 46 73 86 67 • +32 (0)3 735 07 00

Fax +32 (0)3 735 07 01

sales@tcieurope.be • www.tcieurope.be

<Head Office> **TOKYO KASEI KOGYO CO., LTD.**

www.tokyokasei.co.jp

TCI hat über 50 Jahre Erfahrung in der Synthese der organischen Feinchemikalien.