

# Der Natur abgeschaut: $\beta$ -Faltblatt-Oligopeptide und Analoga organisieren Blockcopolymere

Hannah M. König und Andreas F. M. Kilbinger\*

$\beta$ -Faltblätter · Blockcopolymere · Peptide ·  
Supramolekulare Chemie · Wasserstoffbrücken

**D**ie Strukturen von Knäuel-Knäuel-Diblockcopolymeren in Lösung lassen sich durch die selektive Solvatation einzelner Blöcke erklären und sind mittlerweile gut untersucht. In den meisten Fällen verfügen diese relativ einfach aufgebauten Blockcopolymere über keinerlei spezifische attraktive Wechselwirkungen, die einen Aggregationsprozess unterstützen könnten. Demgegenüber sind in der Natur unzählige Beispiele definierter polymerer Architekturen zu finden, die hierarchisch über nichtkovalente Wechselwirkungen aufgebaut sind. Hoch definierte Strukturen, wie sie etwa die Proteine bilden, sind für synthetische Polymere bislang unbekannt. Ein relativ junges Forschungsgebiet der Polymerchemie widmet sich daher dem Ansatz, die in der Natur geltenden Prinzipien der Überstrukturbildung mit der Polymerchemie zu kombinieren, indem man Peptide mit  $\beta$ -Faltblattstruktur an synthetische Polymere konjugiert. Von besonderem Interesse ist hierbei die supramolekulare Organisation der Polymere, die ausschließlich über die attraktiven Wechselwirkungen zwischen den Peptidsträngen hervorgerufen wird. Solche Peptid-Polymer-Hybridstrukturen sind eine interessante neue Materialklasse, die es zudem ermöglicht, wichtige Einblicke in natürlich vorkommende Selbstorganisationsprozesse zu erlangen.

## 1. Einleitung

Biologisch inspirierte Blockcopolymere haben in den letzten Jahren stark an Aufmerksamkeit gewonnen. Die Bandbreite der Forschungen reicht von der Untersuchung grundlegender Aspekte der Selbstorganisation auf der Nanometerskala bis hin zu möglichen Anwendungen in der Medizin. Eine Vielzahl von Konjugaten aus natürlichen Polymeren und Oligomeren – vor allem Proteinen – mit synthetischen Polymeren wurde beschrieben.<sup>[1–4]</sup> Erste Arbeiten

über Peptid-Polymer-Konjugate stammen unter anderem von Gallot et al.,<sup>[5–7]</sup> die allerdings polydisperse Peptide einsetzen. In vorliegendem Kurzaufsatz betrachten wir dagegen ausschließlich Peptide mit  $\beta$ -Faltblattstruktur, bei denen Molekulargewicht und Aminosäuresequenz genau definiert sind. Übersichten über die Synthese von polydispersen Polypeptidblöcken oder von Polymer-Protein-Konjugaten wurden bereits an anderer Stelle veröffentlicht.<sup>[1,8,9]</sup> Zudem sollen hier nur solche Hybridmaterialien erwähnt werden, bei denen die Überstrukturbildung ausschließlich durch die selbstorganisierenden Eigenschaften des Peptidblocks hervorgerufen wird.

## 2. Copolymeren linearer Oligopeptide

Lynn und Mitarbeiter beschrieben das erste Beispiel für die Anbindung eines  $\beta$ -Faltblattpeptids an eine Polyethylen-glycol(PEG)-Kette.<sup>[10]</sup> Unter Verwendung eines PAP-Tengel-Harzes wurde durch Festphasensynthese eine Sequenz aus 26 zentralen Aminosäuren des Peptids  $\beta$ -Amyloid hergestellt. Nach Abspaltung vom Harz wurde das PEG-Peptid-Konjugat erhalten, das einzelne Fasern bildete, deren Breite (ca. 8 nm) mit den molekularen Abmessungen des Peptids gut

[\*] Dipl.-Chem. H. M. König, Dr. A. F. M. Kilbinger  
Institut für Organische Chemie  
Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
Duesbergweg 10–14, 55099 Mainz (Deutschland)  
Fax: (+49) 6131-3926138  
E-Mail: akilbing@uni-mainz.de  
Homepage: <http://www.kilbinger.net>

übereinstimmte. Die Bildung der Fasern konnte durch Konzentration, Ionenstärke und pH-Wert beeinflusst werden. Es wurde gezeigt, dass die in Faserrichtung wachsenden  $\beta$ -Faltblätter sich zu Stapeln von bis zu sechs parallelen Schichten anordnen, die vom PEG-Block umgeben sind.<sup>[11–13]</sup> Weiterhin wurde gefunden, dass die Peptidstränge vollständig gestreckt im Faltblatt vorliegen. Da die einzelnen Faltblätter leicht von der Coplanarität abweichen, kommt es zur Bildung von helicalen Fasern, die dann im Wesentlichen aus einem verdrillten Stapel von sechs  $\beta$ -Faltblättern bestehen. Es wurde vermutet, dass diese Verdrillung der entscheidende Faktor ist, der das Wachstum in Stapelrichtung einschränkt. Das native, nicht an PEG konjugierte Peptid bildet irreversibel Faserbündel, wie sie in PEG-Konjugaten oder auch in Peptid-Copolymer-Mischungen nur selten beobachtet wurden. Es wurde angenommen, dass die Oberfläche der Fasern vom PEG-Block umhüllt und dadurch die laterale Aggregation unterdrückt oder verlangsamt wird.

In Anlehnung an die faszinierende Struktur des Seidenfibroins aus *Bombyx mori* synthetisierten Sogah und Mitarbeiter segmentierte Blockcopolymere, in denen sich die Tetrapeptidsequenz Gly-Ala-Gly-Ala mit Oligo- oder Poly(ethylenglycol)-Ketten abwechselt.<sup>[14,15]</sup> Infolge der entstehenden  $\beta$ -Faltblattstrukturen konnte in dünnen Filmen des Copolymers eine Phasenseparation beobachtet werden.

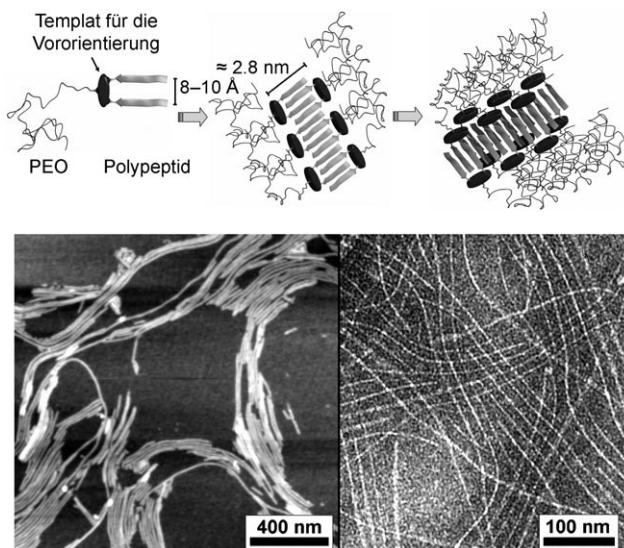
AB-Diblock- und ABA-Triblockcopolymere aus einer amphiphilen  $\beta$ -Peptidsequenz (B) und PEG (A) wurden von den Arbeitsgruppen um Klok und Hamley synthetisiert. Die Diblockcopolymere wurden an einem PAP-Tentagel-Harz hergestellt, während die Triblockcopolymere durch Konjugation des trägerfixierten Diblockcopolymers mit PEG-Monocarbonsäure erhalten wurden. FTIR- und SAXS/WAXS-Messungen (Klein- und Weitwinkelröntgenstreuung) am Festkörper belegten, dass die Blockcopolymere lamellare Überstrukturen bilden, in denen sich PEG-Schichten mit antiparallelen  $\beta$ -Faltblättern abwechseln.<sup>[16]</sup> Zahlreiche strukturell ähnliche Diblock- und Triblockcopolymere wurden von den gleichen Arbeitsgruppen in wässriger Lösung untersucht, wobei gefunden wurde, dass der Peptidstrang im PEG-Konjugat weniger empfindlich auf Änderungen des pH-Werts reagierte als das native Peptid.<sup>[17]</sup> Das Peptid-PEG-Konjugat bildete durch hierarchische Selbstorganisation größere faserartige Strukturen, bei denen es sich um verdrillte Stapel von  $\beta$ -Faltblättern handeln könnte, ähnlich wie sie Aggeli et al. bereits für native Peptide vorgeschlagen hatten.<sup>[18]</sup>



Andreas Kilbinger wurde 1971 in Mainz geboren. Er studierte Chemie an der Universität Mainz und der Freien Universität Berlin (Diplom 1996) und promovierte 1999 in Polymerchemie an der Universität Durham (Großbritannien) bei Prof. W. J. Feast. Nach einem Postdoc-Aufenthalt bei Prof. R. H. Grubbs am California Institute of Technology (Feodor Lynen-Stipendiat der Alexander von Humboldt-Stiftung) begann er 2003 seine Habilitation im Arbeitskreis von Prof. H. Frey an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

Auch Collier und Messersmith führten vergleichende Studien nativer und PEG-konjugierter Peptide aus. AB-Diblock- und ABA-Triblockcopolymere eines  $\beta$ -Faltblattpeptids (A) und einer monodispersen Undeca(ethylenglycol)(B)-Kette wurden hergestellt.<sup>[19]</sup> Ähnlich wie in den vorherigen Beispielen verhinderte auch hier die PEG-Konjugation die laterale Aggregation der faserbildenden Peptide. Es wurden Fasern von einheitlicher Breite (8 nm) beobachtet, die sich über Längen von mehreren hundert Nanometern erstreckten.

Kelly et al. konnten zeigen, dass Diaden aus Threonin und Valin ( $\text{Thr-Val}$ )<sub>2</sub> durch räumliche Vororientierung Fasern aus  $\beta$ -Faltblättern bilden.<sup>[20]</sup> Die Vororientierung wurde durch Anbinden der Tetrapeptide an die 2- und 8-Position eines Dibenzofurans erreicht. Die linearen Analoga, d.h. Peptide der Struktur ( $\text{Thr-Val}$ )<sub>x</sub>, bilden erst ab  $x = 5$  intermolekulare Assoziate.<sup>[21]</sup> Unter Verwendung einer Carbazol-anstelle der Dibenzofurangruppe konnten Börner et al. dieses Verhalten auch für das PEG-Konjugat bestätigen (Abbildung 1).<sup>[22]</sup> Geraffine Fasern, die nur wenige Nanometer ( $4 \pm 3$  nm) breit sind, sich aber über einige Mikrometer erstrecken, wurden mithilfe von Rasterkraftmikroskopie (AFM) und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) nachgewiesen.



**Abbildung 1.** Faserbildung durch „gabelartige“ Vororientierung von kurzen Peptidsträngen. Oben: Die Pfeile stellen  $\beta$ -Faltblätter aus ( $\text{Thr-Val}$ )<sub>2</sub> dar. Unten links: AFM-Bild; rechts: TEM-Bild.<sup>[22]</sup>

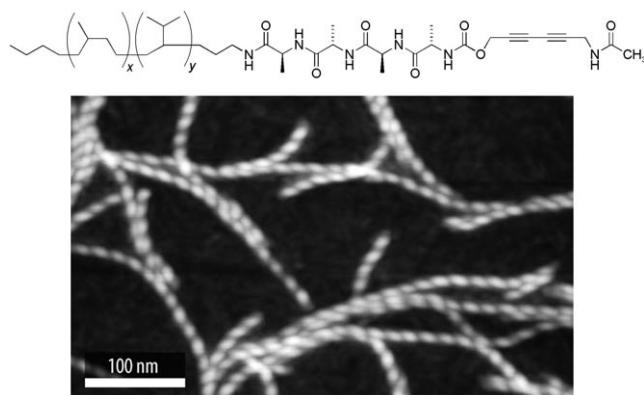


Hannah König wurde 1981 in Mannheim geboren. Sie studierte Chemie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz (Diplom 2005) und ist zurzeit Doktorandin im Arbeitskreis von A. Kilbinger. Ihr Forschungsinteresse gilt definierten Nanostrukturen auf der Grundlage von Oligoaramidcopolymeren mit Stab-Knäuel-Morphologie und deren Selbstorganisation.

Hayashi und Kiso et al. beschrieben kürzlich eine Synthesestrategie zur Herstellung von stark aggregierenden  $\beta$ -Faltblattpeptiden.<sup>[23]</sup> Eine Aggregatbildung während der Festphasensynthese ließ sich durch O-Acylierung von Threoninresten unterdrücken, und nach der Abspaltung vom Trägerharz wurde ein intramolekularer O-N-Acyltransfer durch Erhöhung des pH-Werts eingeleitet. Börner et al. nutzten diese Strategie zur Synthese von Konjugaten des Typs H<sub>2</sub>N-Gly-Trp-(Thr-Val)<sub>5</sub>-Gly-PEG<sup>[24]</sup> und Poly(butylacrylat)-(Thr-Val)<sub>5</sub>-Phe-Gly-OH.<sup>[25]</sup> Die erhaltenen Hybridpolymere bildeten mikrometergroße faserartige Aggregate in Wasser (PEG-Konjugat)<sup>[24]</sup> bzw. in Diethylether/Methanol-Mischungen (PBA-Konjugat).<sup>[25]</sup> Das PEG-Peptid-Hybridpolymer bildete 2  $\mu\text{m}$  breite Fasern mit mehreren Millimetern Länge. Derartige Abmessungen können nicht mehr direkt mit der Molekülstruktur korreliert werden und müssen daher durch hierarchische Selbstorganisation entstanden sein. Die große Diskrepanz zwischen der Größe der aggregierten Moleküle und den Abmessungen der Fasern lässt vermuten, dass mehrere Stufen von Selbstorganisationsprozessen durchlaufen werden. Die Autoren erklären die Bildung der Fasern durch Stapelung antiparalleler  $\beta$ -Faltblätter entlang der Faserrichtung, wobei das Faserwachstum in die Breite durch das Gesamtdipolmoment der (nicht verdrillten) Fasern eingeschränkt wird. Im Unterschied dazu bildet das PBA-Peptid-Konjugat helical verdrillte Bänder aus  $\beta$ -Faltblättern. Die Autoren schlagen vor, dass hierdurch die Dipolmomente der  $\beta$ -Faltblätter ausgeglichen werden, die in organischen Lösungsmitteln mit niedrigen Dielektrizitätskonstanten an Bedeutung gewinnen. AFM-Untersuchungen belegten, dass die helicalen  $\beta$ -Faltblätter über Doppel- und Dreifachhelices makroskopische Gele bilden.

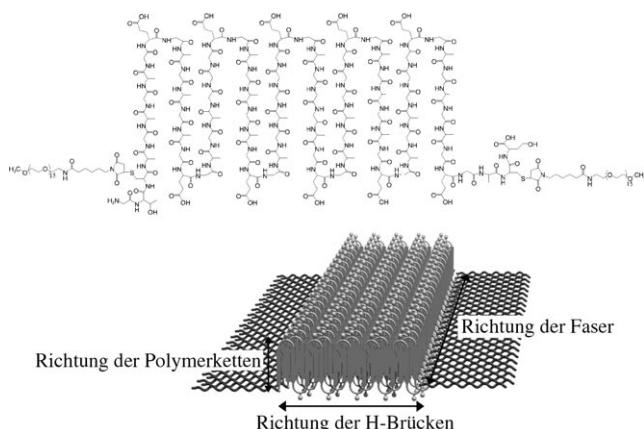
Der Ansatz, Peptidblockcopolymere mit  $\beta$ -Faltblattstruktur zur Ausrichtung funktioneller Gruppen in Lösung zu nutzen, wurde kürzlich von Frauenrath und Mitarbeitern entwickelt.<sup>[26]</sup> Zunächst wurde ein Tetra(L-alanin)-Segment stufenweise am Kettenende einer hydrierten kurzen Polyisoprenkette aufgebaut. Der N-Terminus des Peptids wurde weiter mit einer Diacetyleneinheit versehen. Es wurde beobachtet, dass das Copolymer parallel oder antiparallele  $\beta$ -Faltblattstrukturen in Dichlormethan bildet, je nachdem, ob der N-Terminus des Peptids mit einer Acetamidgruppe funktionalisiert wurde oder nicht. Nur im Falle der parallelen  $\beta$ -Faltblattstrukturen waren die Diacetylengruppen für eine topochemische Reaktion richtig ausgerichtet. In einem von den Autoren vorgeschlagenen Modell bilden zwei Bänder aus parallelen  $\beta$ -Faltblättern eine röhrenartige Doppelhelix. Im Einklang damit wurden in AFM-Untersuchungen doppelt helicale Fasern nachgewiesen, die sich über mehrere Mikrometer Länge erstrecken und einheitliche Breiten von ca. 5 nm aufweisen (Abbildung 2).

Eine ganz andere Syntheseroute zu Peptid-Polymer-Konjugaten wurde von van Hest et al. vorgestellt,<sup>[27]</sup> die Methoden des Protein-Engineerings zur Synthese der monodispersen Peptide ([Ala-Gly]<sub>n</sub>-Glu-Gly)<sub>n</sub> ( $n = 10$  oder 20) nutzten. Die Polypeptide trugen Cysteinreste am C- oder N-Terminus, wodurch die Anbindung von Maleinsäureimid-funktionalisiertem PEG ermöglicht wurde. TEM-Aufnahmen belegten die Bildung von Fasern. Es wurde vorgeschlagen,



**Abbildung 2.** Oben: Tetrapeptid-Polyisopren-Konjugat, das die Ausrichtung topochemisch polymerisierbarer Diacetylene in Lösung ermöglicht. Unten: AFM-Bild der röhrenförmigen Doppelhelices aus  $\beta$ -Faltblättern.<sup>[26]</sup>

dass ein echtes antiparalleles  $\beta$ -Faltblatt-Copolymer entsteht, das sich senkrecht zur Richtung der Wasserstoffbrücken in Stapeln ausbreitet (Abbildung 3). Nach Schleuderbeschich-



**Abbildung 3.** Strukturelle Organisation eines PEG-Peptid-PEG-Tri-blockcopolymers in Lösung; die verwendeten 80- oder 160-meren Peptide wurden durch Protein-Engineering erhalten.<sup>[27]</sup>

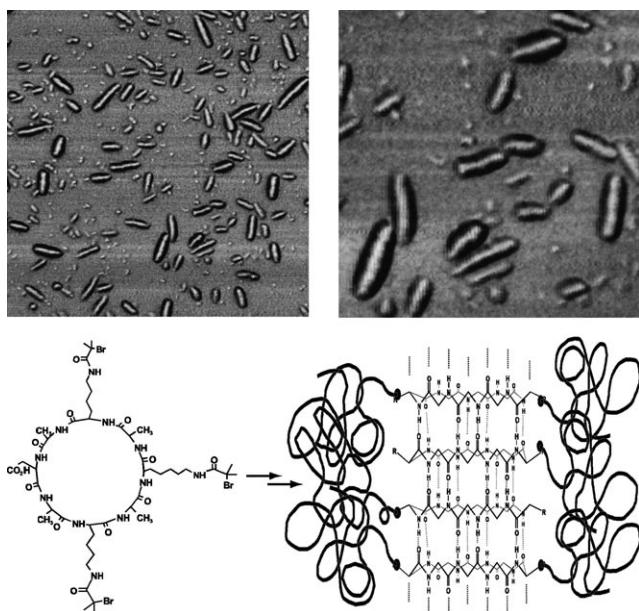
tung aus wässriger Lösung zeigten AFM-Bilder einzelne Fasern aus  $\beta$ -Faltblattpeptiden, die Höhen von 2 nm und Längen bis zu mehreren Mikrometern aufwiesen. Die Auflösung der AFM-Spitze ließ keine genaue Messung der Faserbreiten zu.

### 3. Copolymeren cyclischer Oligopeptide

Selbstorganisierte röhrenförmige Aggregate, die auf Hybirdstrukturen diverser  $\beta$ -Faltblattpeptide<sup>[28]</sup> oder kettensteifer Makrocyclen<sup>[29]</sup> beruhen, haben in jüngster Zeit starkes Interesse hervorgerufen. Die sequenzkontrollierte Synthese von cyclischen Oligopeptiden bietet eine Möglichkeit zum Aufbau solcher Röhrenstrukturen. Das erste Beispiel eines cyclischen Peptids, dass aus alternierenden D- und L-Aminosäurebausteinen aufgebaut wurde und zu ausgedehnten Röhren aggregierte, stammt von Ghadiri et al.<sup>[30-33]</sup> Die

Strukturen, die von diesen cyclischen Peptiden gebildet werden, sind eng verwandt mit den Poren der  $\beta$ -Helices, wie sie z. B. in den Tailspike-Proteinen der Bakteriophagen<sup>[34]</sup> oder in Bakterien-Proteinasen vorkommen.

In der Polymerchemie hat diese Art von Peptidstruktur erst in jüngster Zeit Beachtung gefunden. Das erste Beispiel eines cyclischen Peptid-Polymer-Konjugats wurde von Biesalski et al. beschrieben.<sup>[35]</sup> In diesem Fall dienten Lysinreste innerhalb des Peptids als Bindungsstellen für Initiatoren der kontrollierten Atomtransferradikalpolymerisation (ATRP) von *N*-Isopropylacrylamid (NIPAM). Mit AFM wurde gezeigt, dass sowohl das Peptid als auch das Peptid-Polymer-Konjugat röhrenförmige Strukturen in wässriger Lösung bilden, die im Falle des Copolymers ca. 80 nm lang und 12 nm hoch sind. Für das Peptidcopolymer konnte außerdem eine Kern-Schale-Struktur nachgewiesen werden (Abbildung 4).



**Abbildung 4.** Zylinderförmige Aggregate aus cyclischen Peptid-Polymer-Konjugaten. Oben: AFM-Phasenbild (links: Kantenlänge 2 mm, rechts: Kantenlänge 0.8 mm). Unten links: cyclischer Peptidinitiator für die ATRP; unten rechts: vorgeschlagene Anordnung im Aggregat.<sup>[35]</sup>

Es wurde vorgeschlagen, dass die Stapel der ringförmigen zweidimensionalen  $\beta$ -Faltblätter den Kern und Poly(NIPAM) die Schale der beobachteten Aggregate bilden. Es wurde beobachtet, dass die Länge der Aggregate bis zu einer kritischen Länge des umhüllenden Polymerblocks gleich blieb.<sup>[36]</sup> Sehr lange Polymerblöcke führten jedoch dazu, dass die Aggregate aufbrachen und kleinere Partikel bildeten, was wahrscheinlich auf abstoßende Wechselwirkungen zwischen den Polymerketten zurückzuführen ist. Eine weitere Aggregation der Peptidröhren wurde nicht beobachtet.

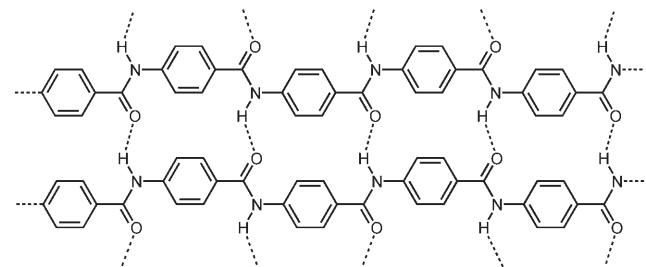
Aufbauend auf Arbeiten über lineare Peptidcopolymeren als Peptidinitiatoren für die ATRP und RAFT-Polymerisation (reversibler Kettentransfer durch Addition und Fragmentierung)<sup>[37,38]</sup> entwickelten Börner et al. eine Syntheseroute zur Herstellung eines cyclischen Peptid-Polymer-Kon-

jugats in Mengen von mehreren Gramm.<sup>[39]</sup> Durch AFM und TEM wurden röhrenartige Strukturen mit Breiten von ca. 4.8 nm nachgewiesen, die Netzwerke bildeten. Im Unterschied zu den von Biesalski et al. beschriebenen Systemen<sup>[35,36]</sup> wurde eine laterale Aggregation der Peptidröhren festgestellt. Dies wurde durch Verschlaufungen der umgebenden Polymerketten und durch die Bildung von Wasserstoffbrücken der L-Glutamin-Seitenketten zwischen einzelnen Röhren erklärt.

Cyclische Peptide stapeln sich typischerweise in einer antiparallelen, dem  $\beta$ -Faltblatt ähnelnden Struktur. Für das Stapeln der Ringe gibt es mehrere Anordnungsmöglichkeiten, was dazu führen könnte, dass sich die umhüllenden Polymerketten auf beliebige Weise entlang des Aggregats ordnen. Sicher ist jedoch, dass jeder Ring völlig parallel mit dem vorherigen überlappt. Die weitere Selbstorganisation zu höheren hierarchischen Aggregaten kann daher nur über nichtkovalente Wechselwirkungen zwischen den umhüllenden Polymerketten bzw. zwischen den Peptidresten erfolgen.

#### 4. Oligoaramid-Copolymere

Ein sehr vielversprechender Syntheseansatz ist die Verwendung von  $\beta$ -Faltblattpeptiden aus  $\alpha$ -Aminosäuren als strukturdirezierende Organisationsmotive. Für die synthetische Polymerchemie ergibt sich daraus die Aufgabe, nichtbiologische Verbindungen zu finden, die in der Lage sind, natürliche  $\beta$ -Faltblattstrukturen nachzuahmen. Von besonderem Interesse sind Oligo(*p*-benzamide) (OPBAs), die formtreue, kettensteife, lineare molekulare Stäbe bilden, bei denen Wasserstoffbrückendonoren und -akzeptoren – ähnlich wie bei  $\beta$ -Strängen – abwechselnd zu beiden Seiten des flachen Oligomers ausgerichtet sind (Abbildung 5). Die Formtreue

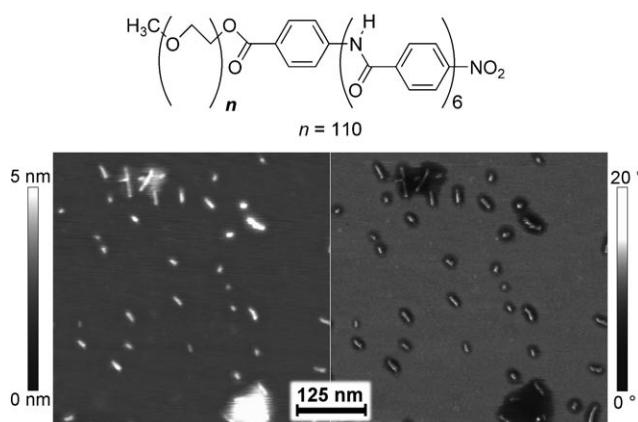


**Abbildung 5.** Lineare Oligo(*p*-benzamide) ähneln  $\beta$ -Strängen in  $\beta$ -Faltblättern (Wasserstoffbrücken sind durch gestrichelte Linien dargestellt).

des linearen Oligomers (d. h. dessen eingeschränkte konformative Freiheit) ermöglicht eine recht sichere Vorhersage der Molekülgeometrie und vereinfacht so die Korrelation zwischen Molekülform und Überstruktur. Da Oligomere, die länger als das Trimer sind, praktisch unlöslich in den meisten organischen Lösungsmitteln sind, wurden zunächst mehrere Synthesewege zu geschützten, löslichen höheren Oligomeren oder löslichen Vorstufenverbindungen entwickelt.

Die erste Syntheseroute nutzte den Umstand, dass aromatische Amide in stabile Imidoylchloride überführt werden

können. Bei diesen fehlt nicht nur der Wasserstoffbrücken-donor, die benachbarten Phenylringe sind zudem stark gegeneinander verdrillt. Beide Effekte verbessern deutlich die Löslichkeit dieser Verbindungen, sodass Imidoylchlorid-Vorstufen bis zum Tetramer hergestellt werden konnten.<sup>[40]</sup> OPBA-PEG-Copolymere (Abbildung 6 oben) aggregieren

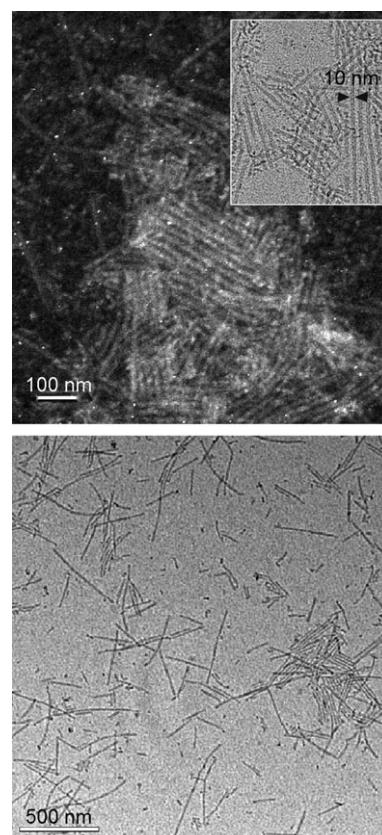


**Abbildung 6.** Oben: Ein über die Imidoylchlorid-Route synthetisiertes Blockcopolymer. Unten: AFM-Höhenbild (links) und AFM-Phasenbild (rechts). Das Polymer wurde aus einer Chloroformlösung aufgebracht.<sup>[42]</sup>

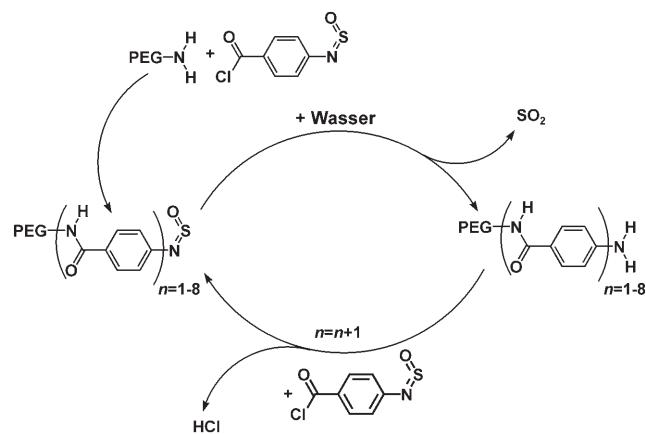
sehr stark in unpolaren Lösungsmitteln.<sup>[41]</sup> In den AFM-Bildern wurden Micellen mit stark anisotropen, stabförmigen Kernen beobachtet, die von einer Schale aus PEG umgeben sind (Abbildung 6 unten).<sup>[42]</sup> Im vorgeschlagenen Strukturmodell bilden wasserstoffverbrückte parallele OPBA-Ketten den Kern der Micellen und ahnen somit ein  $\beta$ -Faltblatt nach. Der kristalline Micellkern wird von den knäuelartigen PEG-Blöcken umhüllt. Die Breiten der micellaren Kerne korrelieren mit den Längen der stabartigen Oligomere. Das mit AFM beobachtete Aggregationsverhalten wurde durch TEM-Messungen an OPBA-Copolymeren, die über eine konvergente Syntheseroute hergestellt wurden, bestätigt.<sup>[43]</sup>

Unter Verwendung von Amidschutzgruppen, die eine Aggregation verhinderten, konnte die Synthese auch an der Festphase durchgeführt werden.<sup>[44,45]</sup> OPBA-7-mere wurden vollautomatisch an einem Festphasenträger synthetisiert und mit PEG konjugiert. TEM-Aufnahmen zeigten kettensteife Aggregate mit Breiten von ca. 10 nm, die sich bis zu 1  $\mu\text{m}$  Länge ausdehnten. Praktisch die gleichen Strukturen wurden aus Lösungen in Chloroform, Toluol (Abbildung 7) und Wasser (nicht gezeigt) erhalten. Aus den bisher vorliegenden Daten kann man schließen, dass OPBA-Blockcopolymere einzelne definierte Aggregate bilden, die sich nicht zu höher geordneten Strukturen in Lösung zusammenlagern.

Kürzlich wurde eine vollautomatisierte Synthese entwickelt, die es ermöglicht, OPBA schrittweise am nucleophilen Ende einer Polymerkette aufzubauen.<sup>[46]</sup> Durch abwechselnde Zugabe von 4-N-Sulfinylaminobenzoylchlorid und Wasser zu einem PEG mit Amin-Endgruppe wurden auf diese Weise OPBA-PEG-Copolymere in größerem Maßstab (150 g) hergestellt (Schema 1). Die in TEM-Aufnahmen beobachteten



**Abbildung 7.** TEM-Bilder von OPBA-PEG-Copolymeren. Links: Raster-TEM-Aufnahme (aus Chloroformlösung); rechts: TEM-Aufnahme (aus Toluol). In beiden Aufnahmen werden stäbchenartige Micellen beobachtet.<sup>[45]</sup>



**Schema 1.** Synthese von OPBA-Copolymeren im größeren Maßstab über eine automatisierte Syntheseroute.

Aggregate gleichen denjenigen, die definiert in Lösung oder an einem Trägerharz hergestellt wurden.<sup>[43,45]</sup> Wie schon zuvor beobachtet, entsprach die Breite der Aggregate den molekularen Abmessungen der Oligomere. Der leichte Zugang zu größeren Mengen an OPBA-Copolymeren wird es zukünftig ermöglichen, Materialeigenschaften genauer zu untersuchen.

Das Aggregationsmotiv der OPBA-Blockcopolymere ähnelt dem der  $\beta$ -Faltblattpeptide. Letztere bilden typischer-

weise Fasern durch zweidimensionale Aggregation (Wasserstoffbrücken und Stapel der Faltblätter) und zeigen oft weitere Aggregation zu größeren Aggregaten oder Netzwerken. OPBA-Copolymere bilden außergewöhnlich lineare und kettensteife Aggregate, was wohl eine Folge der partiellen  $\pi$ -Konjugation und des Fehlens von chiralen Substituenten ist. Wasserstoffbrücken sind für die Aggregation parallel zur Faserrichtung verantwortlich, während AFM-Aufnahmen den Schluss nahelegen, dass mehrere lineare Aggregate, wahrscheinlich über  $\pi$ -Wechselwirkungen, aufeinander stapeln.<sup>[42]</sup> Die Bildung von Netzwerken sowie die weitere Aggregation der einzelnen Fasern wurde bisher nicht beobachtet.

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Copolymere von  $\beta$ -Faltblattpeptiden sowie ihre Lösungs- und Festkörpereigenschaften rufen seit einigen Jahren ein großes Interesse hervor. Mehrere Synthesewege, die zu solchen Materialien führen, wurden untersucht. Die konvergente Synthese, bei der das Peptid an der Festphase hergestellt wird, gewährleistet den höchsten Grad an struktureller Perfektion des Blockcopolymers, insbesondere bei schwer synthetisierbaren oder langen Peptidsequenzen. PAP-Tentagle wurde ebenfalls erfolgreich für die Blockcopolymersynthese eingesetzt. Um die vollständige Kupplung jeder Aminosäure sicherzustellen, muss sich allerdings jedem Kupplungsschritt eine genaue Analyse der trägerfixierten Spezies anschließen. Dieser Syntheseansatz ist besonders dann günstig, wenn kurze Peptidketten, insbesondere solche mit C-terminaler PEG-Konjugation gewünscht werden. Peptid-ATRP- und RAFT-Initiatoren sind ebenfalls gut geeignet, um Fehlsequenzen zu vermeiden, da diese typischerweise vor der kontrollierten radikalischen Polymerisation aufgereinigt werden können.

Aus den bisher vorliegenden Ergebnissen über Blockcopolymere von linearen  $\beta$ -Faltblattpeptiden kann man schließen, dass die Hybridpolymere ein den nativen Peptiden sehr ähnliches Aggregationsverhalten aufweisen. Typischerweise bilden sich zunächst Bänder aus  $\beta$ -Faltblattpeptiden, bei denen die Breite des Aggregats mit den molekularen Abmessungen des Peptidstrangs korreliert. Diese flachen Bänder können sich unbegrenzt stapeln, wie das Beispiel von van Hest et al. zeigt.<sup>[27]</sup> Durch Verdrillung kann die Zahl der Aggregate im Stapel begrenzt sein, wie etwa Lynn et al. fanden.<sup>[10–13,18]</sup> Die Umhüllung des Aggregats mit einem synthetischen Polymerblock ist ein Weg, um die weitere Aggregation der so gebildeten Fasern zu unterdrücken und die Löslichkeit und somit die Charakterisierbarkeit des Aggregats zu verbessern. Die meisten Daten liegen bisher für wässrige Systeme vor. Jüngste Ergebnisse, die in organischen Lösungsmitteln mit niedriger Dielektrizitätskonstante erhalten wurden, legen nahe, dass die im Faltblatt vorhandenen Dipolmomente genutzt werden können, um weitere Aggregationsstrukturen zugänglich zu machen.<sup>[25]</sup>

Beispiele, in denen die Lösungsstruktur der Peptide genutzt wird, um funktionelle Gruppen auszurichten, sind immer noch selten. Cyclische Peptide können sowohl am inne-

ren wie auch am äußeren Rand des röhrenartigen Aggregats funktionelle Gruppen tragen, was z.B. zum Aufbau von künstlichen Ionenkanälen genutzt werden könnte.

Oligoaramide ( $\delta$ -Peptide) lassen sich leicht derivatisieren und bieten so die Möglichkeit, kettensteife Gerüste zu bilden, mit deren Hilfe funktionelle Gruppe in genau festgelegten Abständen positioniert werden können. Außerdem kann die definierte Kernstruktur von Copolymeraggregaten als anisotropes Templat fungieren. Nach dem Vernetzen der umhüllenden Polymerschale wird das Templat entfernt, und man erhält poröse Polymernetzwerke mit festgelegten Porengrößen.

Alle oben beschriebenen Aggregationsprozesse können als nichtkovalente Polymerisationen aufgefasst werden. Im Bereich der kovalenten Polymere gibt es eine Vielzahl von Methoden, um das Molekulargewicht und die Molekulargewichtsverteilung zu steuern, wohingegen nichtkovalente Polymere sehr viel weniger erforscht sind. Zwar korreliert bei vielen der oben beschriebenen Beispiele die Breite der beobachteten Aggregate mit den molekularen Abmessungen des Peptidbausteins, es fehlt aber an Methoden, die Länge der Aggregate zu steuern. Dies ist zurzeit eine der größten Herausforderungen auf diesem Gebiet.

Im Bereich der Polymerchemie werden formtreue stäbchenartige Makromoleküle wie Polymerbürsten oder dendronisierte Polymere intensiv erforscht. Ähnlich komplexe und funktionelle makromolekulare Architekturen sind auch durch reversible nichtkovalente Selbstorganisation von Peptid-Polymer-Hybriden zugänglich.

Copolymere von  $\beta$ -Faltblattpeptiden sind ein sehr junges Forschungsgebiet der makromolekularen Chemie, das den Bogen von der synthetischen organischen Chemie über die Polymerchemie bis zu den Materialwissenschaften spannt. Die grundlegenden Prinzipien der Bildung von  $\beta$ -Faltblatt-Sekundärstrukturen von Peptidcopolymeren sind von der Natur erfolgreich abgeschaut worden. Jetzt gilt es, das komplexe Regelwerk hinter den höheren hierarchischen Ordnungen zu entschlüsseln und zu nutzen.

*A.F.M.K. dankt Prof. Holger Frey für seine Unterstützung und viele anregende Diskussionen. Die Autoren danken Markus Biesalski, Hans G. Börner, Holger Frauenrath und Jan van Hest für die Bereitstellung von hochauflöstem Bildmaterial.*

Eingegangen am 16. März 2007,  
veränderte Fassung am 13. Juni 2007  
Online veröffentlicht am 2. Oktober 2007

- 
- [1] H. A. Klok, *J. Polym. Sci. Part A* **2005**, *43*, 1–17.
  - [2] G. W. M. Vandermeulen, H. A. Klok, *Macromol. Biosci.* **2004**, *4*, 383–398.
  - [3] J. M. Smeenk, D. W. P. M. Lowik, J. C. M. van Hest, *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 1115–1125.
  - [4] H. G. Börner, *Macromol. Chem. Phys.* **2007**, *208*, 124–130.
  - [5] B. Perly, A. Douy, B. Gallot, *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 2569–2589.
  - [6] J.-P. Billot, A. Douy, B. Gallot, *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 1889–1893.
  - [7] J.-P. Billot, A. Douy, B. Gallot, *Makromol. Chem.* **1977**, *178*, 1641–1650.

- [8] D. W. P. M. Löwik, L. Ayres, J. M. Smeenk, J. C. M. van Hest in *Peptide Hybrid Polymers*, Vol. 202 (Hrsg.: H. A. Klok, H. Schlaad), Springer, Berlin, **2006**, S. 19–52.
- [9] T. J. Deming in *Peptide Hybrid Polymers*, Vol. 202 (Hrsg.: H. A. Klok, H. Schlaad), Springer, Berlin, **2006**, S. 1–18.
- [10] T. S. Burkoth, T. L. S. Benzinger, D. N. M. Jones, K. Hallenga, S. C. Meredith, D. G. Lynn, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7655–7656.
- [11] P. Thiyagarajan, T. S. Burkoth, V. Urban, S. Seifert, T. L. S. Benzinger, D. M. Morgan, D. Gordon, S. C. Meredith, D. G. Lynn, *J. Appl. Crystallogr.* **2000**, *33*, 535–539.
- [12] T. S. Burkoth, T. L. S. Benzinger, V. Urban, D. G. Lynn, S. C. Meredith, P. Thiyagarajan, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7429–7430.
- [13] T. S. Burkoth, T. L. S. Benzinger, V. Urban, D. M. Morgan, D. M. Gregory, P. Thiyagarajan, R. E. Botto, S. C. Meredith, D. G. Lynn, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7883–7889.
- [14] O. Rathore, D. Y. Sogah, *Macromolecules* **2001**, *34*, 1477–1486.
- [15] O. Rathore, M. J. Waddingham, D. Y. Sogah, *J. Polym. Sci. Part A* **2000**, *38*, 352–366.
- [16] A. Rosler, H. A. Klok, I. W. Hamley, V. Castelletto, O. O. Mykhaylyk, *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 859–863.
- [17] I. W. Hamley, A. Ansari, V. Castelletto, H. Nuhn, A. Rosler, H. A. Klok, *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1310–1315.
- [18] A. Aggeli, I. A. Nyrkova, M. Bell, R. Harding, L. Carrick, T. C. B. McLeish, A. N. Semenov, N. Boden, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 11857–11862.
- [19] J. H. Collier, P. B. Messersmith, *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 907–910.
- [20] H. A. Lashuel, S. R. LaBrenz, L. Woo, L. C. Serpell, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5262–5277.
- [21] K. Janek, J. Behlke, J. Zipper, H. Fabian, Y. Georgalis, M. Beyermann, M. Bienert, E. Krause, *Biochemistry* **1999**, *38*, 8246–8252.
- [22] D. Eckhardt, M. Groenewolt, E. Krause, H. G. Börner, *Chem. Commun.* **2005**, 2814–2816.
- [23] Y. Sohma, M. Sasaki, Y. Hayashi, T. Kimura, Y. Kiso, *Chem. Commun.* **2004**, 124–125.
- [24] J. Hentschel, E. Krause, H. G. Börner, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7722–7723.
- [25] J. Hentschel, H. G. Börner, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14142–14149.
- [26] E. Jahnke, I. Lieberwirth, N. Severin, J. P. Rabe, H. Frauenrath, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5510–5513; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5383–5386.
- [27] J. M. Smeenk, M. B. J. Otten, J. Thies, D. A. Tirrell, H. G. Stunnenberg, J. C. M. van Hest, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2004; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1968–1971.
- [28] M. A. Balbo Block, S. Hecht, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7146–7149; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6986–6989.
- [29] J. Couet, M. Biesalski, *Soft Matter* **2006**, *2*, 1005–1014.
- [30] M. R. Ghadiri, J. R. Granja, R. A. Milligan, D. E. Mcree, N. Khazanovich, *Nature* **1993**, *366*, 324–327.
- [31] J. D. Hartgerink, J. R. Granja, R. A. Milligan, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 43–50.
- [32] M. R. Ghadiri, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 675–677.
- [33] M. R. Ghadiri, K. Kobayashi, J. R. Granja, R. K. Chadha, D. E. Mcree, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 76–78; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 93–95.
- [34] S. Steinbacher, R. Seckler, S. Miller, B. Steipe, R. Huber, P. Reinemer, *Science* **1994**, *265*, 383–386.
- [35] 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.
- [36] J. Couet, M. Biesalski, *Macromolecules* **2006**, *39*, 7258–7268.
- [37] H. Rettig, E. Krause, H. G. Börner, *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25*, 1251–1256.
- [38] M. G. J. tenCate, H. Rettig, K. Bernhardt, H. G. Börner, *Macromolecules* **2005**, *38*, 10643–10649.
- [39] M. G. J. tenCate, N. Severin, H. G. Börner, *Macromolecules* **2006**, *39*, 7831–7838.
- [40] R. Abbel, H. Frey, D. Schollmeyer, A. F. M. Kilbinger, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 2170–2176.
- [41] R. Abbel, T. W. Schleuss, H. Frey, A. F. M. Kilbinger, *Macromol. Chem. Phys.* **2005**, *206*, 2067–2074.
- [42] T. W. Schleuss, R. Abbel, M. Gross, D. Schollmeyer, H. Frey, M. Maskos, R. Berger, A. F. M. Kilbinger, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 3036–3042; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2969–2975.
- [43] H. Seyler, E. Berger-Nicoletti, A. F. M. Kilbinger, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 1954–1957.
- [44] H. M. König, R. Abbel, D. Schollmeyer, A. F. M. Kilbinger, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1819–1822.
- [45] H. M. König, T. Gorelik, U. Kolb, A. F. M. Kilbinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 704–708.
- [46] J. Klos, F. Wurm, H. M. König, A. F. M. Kilbinger, *Macromolecules* **2007**, im Druck.