

# Selbstorganisierte Multivalenz: dynamische Ligandenanordnungen für hochaffine Bindungen

Anna Barnard und David K. Smith\*

Molekulare Erkennung · Multivalenz · Nichtkovalente Wechselwirkungen · Selbstorganisation · Supramolekulare Chemie

**Die Anwendung multivalenter Wechselwirkungen ist eine leistungsfähige Strategie biologischer Systeme, um eine hochaffine molekulare Erkennung zu erzielen. Seit kurzem richtet die Aufmerksamkeit der Synthesechemie vermehrt auf die selbstorganisierte anstelle einer kovalenten Synthese zur Anordnung von Liganden. Dieser Ansatz bietet mehrere Vorteile, z. B. eine einfache Synthese/Assemblierung, gezielt einstellbare Morphologien und Liganden, die Möglichkeit zum Einbau mehrerer aktiver Einheiten und die responsive Natur der Selbstorganisation. Wir zeigen, dass selbstorganisierte Multivalenz eine Strategie mit fundamentaler Bedeutung für den Entwurf synthetischer Nanosysteme ist, die in biologische Reaktionswege eingreifen können und potenzielle Anwendungen in der Nanomedizin finden.**

## 1. Einleitung

Das Konzept der Multivalenz oder Polyvalenz, also der gleichzeitigen Wechselwirkung mehrerer bindender Gruppen eines Moleküls mit komplementären Rezeptoren eines anderen Moleküls, wird in biologischen Systemen genutzt, um hochaffine Bindungen in kompetitiven wässrigen Umgebungen zu erzielen. Auch in der in der supramolekularen Chemie wird dieses Konzept seit einigen Jahren intensiv angewendet.<sup>[1]</sup> Nanoskalige Moleküle mit mehreren Liganden, wie z. B. Dendrimere, wurden auf ihre Fähigkeit zur multivalenten Erkennung ausführlich untersucht.<sup>[2]</sup> Bei multivalenten Wechselwirkungen zwischen Wirt und Gast kann das Binden des zweiten Liganden bevorzugt sein, da es „intramolekular“ erfolgt. Kurz gefasst wird die effektive Konzentration (oder effektive Molarität)<sup>[3]</sup> des zweiten Liganden dadurch erhöht, dass er direkt mit dem ersten verknüpft ist. Starre multivalente Anordnungen profitieren von einer höheren Vororganisation der Liganden und, damit verbunden, geringeren Entropiekosten bei der Bindung. Auf der anderen Seite können auch flexible multivalente Systeme spezifische Vor-

teile aufweisen, z. B. bessere Fähigkeiten zur enthalpischen Optimierung einzelner Wechselwirkungen und zur Abschirmung des Systems vom umgebenden Medium.<sup>[4]</sup> Das Binden des multivalenten Liganden an einen Rezeptor wird oft mit dem Binden mehrerer einzelner (monovalenter) Liganden verglichen. Die mittlere freie Wechselwirkungsenergie zwischen einem Liganden und einem Rezeptor eines multivalenten Systems kann größer, gleich oder kleiner als die freien Energien der analogen monovalenten Wechselwirkungen sein. Diese Klassen multivalenter Wechselwirkungen werden als positiv kooperativ (synergistisch), nichtkooperativ (additiv) bzw. negativ kooperativ (interferierend) bezeichnet. Positiv kooperatives multivalentes Binden ist sehr selten.<sup>[5]</sup> Multivalenz erfordert aber nicht zwangsläufig positive Kooperativität – der entscheidende Aspekt ist vielmehr, ob das multivalente System eine höhere Affinität für sein Ziel aufweist als das monovalente Analogon. Whitesides und Mitarbeiter definierten einen Bindungsverstärkungsfaktor als das Verhältnis von multivalenter zu monovalenter Bindung, um die Erhöhung der Gesamtaffinität zu beschreiben.<sup>[1a]</sup> Aufgrund der Bedeutung der Multivalenz in biologischen Systemen und der Fähigkeit multivalenter Wechselwirkungen, nanometergroße synthetische Oberflächen zu „verkleben“, ist dieses Konzept zu einem wichtigen Werkzeug in der biomolekularen Erkennung und der Nanotechnologie geworden.

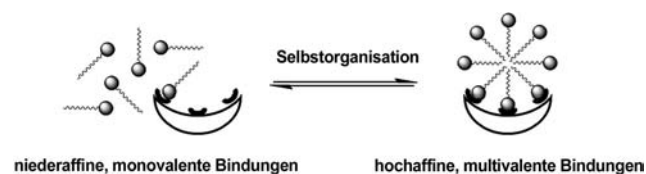
Das Prinzip der Selbstorganisation, also der spontanen Assoziation von Molekülen zu wohldefinierten Strukturen, die von nichtkovalenten Wechselwirkungen zusammengehalten werden,<sup>[6]</sup> wird in der Natur elegant am Beispiel des Tabakmosaikvirus genutzt, das aus 2000 identischen Aminosäure-Untereinheiten zusammengesetzt ist, die sich spontan in einer helicalen Struktur um einen einzelnen RNA-Strang

[\*] A. Barnard, Prof. D. K. Smith  
Department of Chemistry, University of York  
Heslington, York, YO10 5DD (Großbritannien)  
E-Mail: david.smith@york.ac.uk  
Homepage: <http://www.york.ac.uk/chemistry/staff/academic/o-s/dsmith/>

anordnen.<sup>[7]</sup> Die Anwendung der Selbstorganisation zum Aufbau von Nanostrukturen hat viele Vorteile. Die Synthese großer Moleküle, die von kovalenten Bindungen zusammengehalten werden, erfordert oft eine große Zahl an Syntheseschritten, während man für die Selbstorganisation zu meist nur kleinere Baueinheiten benötigt, die sich infolge ihrer sorgfältig entworfenen Molekülstrukturen spontan zusammenlagern. Interessanterweise nutzen biologische Systeme oftmals das Prinzip der Selbstorganisation zur Organisation molekularer Erkennungsvorgänge, z.B. in Membranen, wo sich Rezeptoren oder Liganden spontan zu multivalenten Bereichen ordnen können.<sup>[8]</sup>

Es gibt zahlreiche Beispiele von Molekülen, die zur Selbstorganisation fähig sind und an große biologische Zielstrukturen binden.<sup>[9]</sup> Ein Beispiel sind amphiphile kationische Lipide, die sich in wässriger Lösung zusammenlagern und bei der DNA-Bindung und im Gentransport<sup>[10]</sup> allgegenwärtig sind. Man könnte sagen, dass solche Systeme bestimmte Merkmale von Viren hinsichtlich Selbstorganisation und genetischer Fracht nachahmen.<sup>[11]</sup> Ferner sind mehrere Beispiele bekannt, bei denen Peptide in selbstorganisierte Materialien eingeführt wurden, um deren Anhaftung an biologische Ziele zu verbessern und damit extrazelluläre Matrizen mit potenziellen Anwendungen beim Aufbau künstlicher Gewebe nachzuahmen.<sup>[12]</sup> Bei den meisten dieser Beispiele ist aber unklar, ob die Selbstorganisation bindende Wechselwirkungen verstärkt (und wenn ja, um wieviel) oder ob sie in erster Linie als Mittel zur Materialformulierung dient. In den letzten Jahren wurde nun erkannt, dass die spontane Selbstorganisation ein wirkungsvolles und allgemeines Werkzeug zur Erzeugung synthetischer nanoskaliger Bindungsanordnungen für biomolekulare Anwendungen ist.<sup>[13]</sup> Der Ansatz der selbstorganisierten Multivalenz bietet mehrere entscheidende Vorteile (Abbildung 1):

- 1) spontane Zusammenlagerung (einfache Durchführbarkeit),
- 2) wohldefinierte niedermolekulare Baueinheiten (günstig für die klinische Zulassung),



**Abbildung 1.** Selbstorganisation kann hochaffines multivalentes Binden ermöglichen.

- 3) gezielt einstellbare Liganden (zur Bindung unterschiedlicher Partner),
- 4) gezielt einstellbare Nanostrukturmorphologien (zur Modifizierung der Bindungseigenschaften),
- 5) Fähigkeit zur Anordnung verschiedener aktiver Komponenten in einer einzigen Nanostruktur (führt zu synergistischen Effekten),
- 6) leichte oder geschaltete Desaggregation/Zersetzung (zum Abschalten von Multivalenz und/oder Einschränkung der Toxizität).

Dieser Kurzaufsatz behandelt ausgewählte aktuelle Beispiele, die demonstrieren, wie durch Selbstorganisation Systeme mit signifikant verstärkter multivalenter Bindung im Vergleich zu den monovalenten Analoga erzeugt werden können.

## 2. Bindung an Proteine

### 2.1. Kohlenhydratliganden zur Bindung an Lectin

Aufgrund ihrer vielfältigen Strukturen können Kohlenhydrate unterschiedlichste Zellsignal- und Zell-Zell-Wechselwirkungsvorgänge regulieren. Das Binden neutraler Zucker in einem wasserstoffbrückenbildenden Medium wie Wasser ist aber schwierig, weshalb biologische Systeme die Bindungsaffinität oft durch Clusterbildung der Zucker maximieren.<sup>[14]</sup> Infolgedessen hat man große Bemühungen angestellt, um Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen für synthetische multivalente Wechselwirkungen nutzbar zu machen.<sup>[15]</sup> In jüngerer Zeit hat man auch begonnen, die Selbstorganisation als einen einfachen Weg zur Erzeugung multivalenter Kohlenhydratliganden anzuwenden.

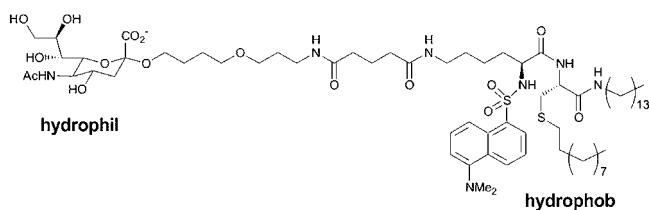
In einem frühen Beispiel beschrieben Whitesides und Mitarbeiter die Konjugation von Sialinsäure (SA) an eine Lipidkette und die Einführung des Konjugats in Liposomen auf Phosphatidylcholin- und Cholesterobasis (Abbildung 2).<sup>[16]</sup> Die Bindung der so erhaltenen SA-ummantelten Liposomen an das Protein Hämagglutinin war bis zu  $10^4$ -mal affiner als die des äquivalenten monovalenten Systems. Dies stellt eine deutliche Bindungsverstärkung dar, was darauf hinweist, dass die Selbstorganisation der Sialinsäureliganden innerhalb der liposomalen Nanostruktur zu einer wirkungsvollen Multivalenz führt. Kanie, Wong und Mitarbeiter wählten einen ähnlichen Ansatz mit lipidfunktionalisierter



David K. Smith studierte Chemie in Oxford und promovierte bei Prof. Paul Beer. Anschließend wechselte er als Royal Society European Research Fellow an die ETH Zürich zu Prof. Francois Diederich. 1999 wurde er Lecturer in York, wo er 2006 zum Professor berufen wurde. 2012 erhielt er den Corday Morgan Award der Royal Society of Chemistry. Seine Leidenschaft gilt der Kommunikation von Chemie über seinen YouTube-Kanal: <http://www.youtube.com/professordaveatork>.



Anna Barnard studierte Chemie an der Universität von Durham und ist gegenwärtig Doktorandin bei Professor David K. Smith an der University of York. Ihre Forschungsinteressen gelten der Entwicklung selbstorganisierender dendritischer Liganden für den Gentransport und die Heparinbindung. 2011 erhielt sie die Bronzemedaille für Chemie der SET for Britain und den Kathleen-Mary-Stott-Preis der University of York.



**Abbildung 2.** Struktur eines zu Liposomen selbstorganisierten lipid-modifizierten Sialinsäurederivats, das Hämagglutinin multivalent erkennt.<sup>[16]</sup>

Sialinsäure, mit dem Ziel, solche selbstorganisierten multivalenten Systeme als Inhibitoren der Virenadhäsion an Zelloberflächen zu entwickeln.<sup>[17]</sup>

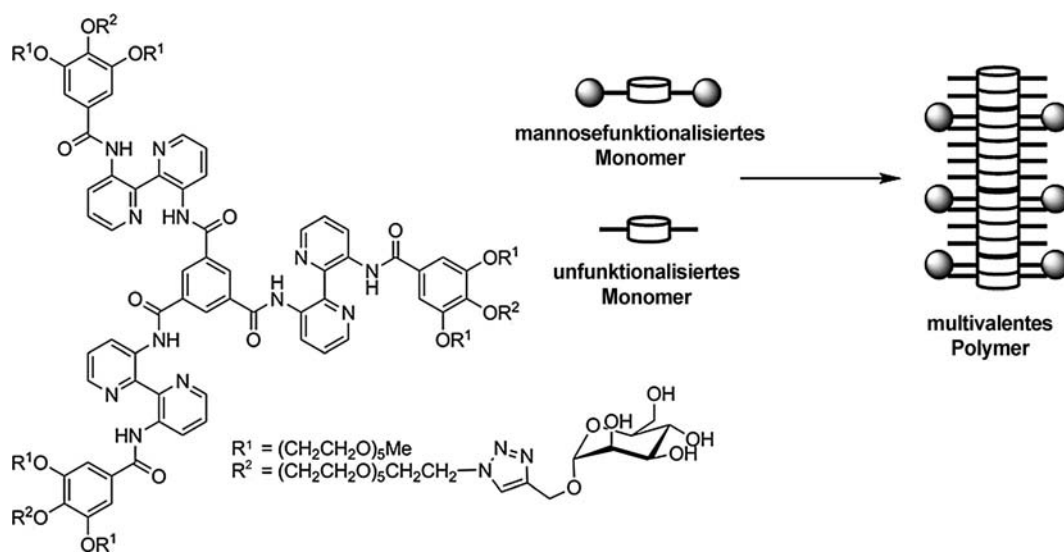
Thoma und Mitarbeiter synthetisierten eine Reihe neuer kohlenhydratfunktionalisierter Dendrone, die sich durch  $\pi$ -Stapelung und solvophobe Effekte im stark aromatischen Kern zu Nanopartikeln zusammenlagern.<sup>[18]</sup> Die Fähigkeit dieser Dendrone zur Inhibierung der Immunglobulin-Bindung wurde in vitro am Beispiel der Inhibierung von  $\alpha$ Gal-Antikörpern demonstriert, welche hyperakute Abstoßung von Schweineorganen nach Transplantation in Primaten verursachen. Als die wirkungsvollsten Inhibitoren erwiesen sich Dendrone, die große Nanopartikel bilden können. Belege für die Beteiligung einer selbstorganisierten Multivalenz – im Gegensatz zur einfachen kovalenten dendritischen Multivalenz – stammten aus der Beobachtung, dass ein Dendron ohne die Fähigkeit zur Selbstorganisation unwirksam war. Das wirkungsvollste System wurde an einem Tiermodell getestet und konnte dort die  $\alpha$ Gal-Antikörper-vermittelte Hämolyse vollständig unterbinden.

In einem eleganten Beispiel setzten Brunsveld und Mitarbeiter ein supramolekulares Polymer als selbstorganisierende Gerüststruktur zum polyvalenten Binden ein (Abbildung 3).<sup>[19]</sup> Eine Mannose-funktionalisierte diskotische Verbindung wurde erzeugt, die sich in wässriger Lösung über

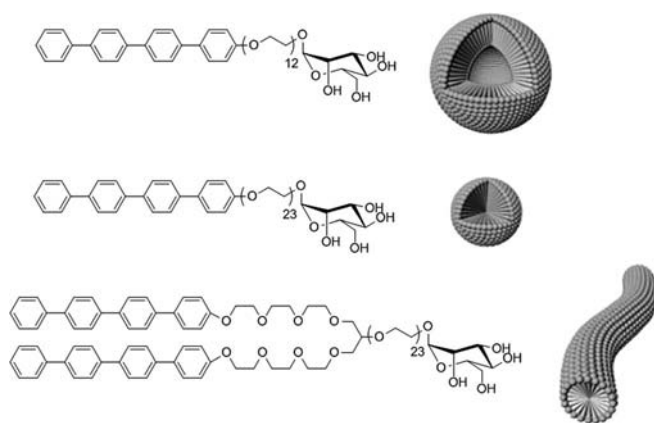
hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Kernen zu supramolekularen Polymeren zusammenlagerte.<sup>[20]</sup> Das Mannose-funktionalisierte Polymer blieb selbst in Gegenwart eines  $10^6$ -fachen Überschusses an monovalenter Mannose über Kohlenhydrat-Lectin-Wechselwirkungen an Bakterien gebunden, was ein klarer Beleg für die Vorzüge der selbstorganisierten Multivalenz ist. Der Grad der Bakterienaggregation wird durch die Dichte der Mannosegruppen auf der selbstorganisierten Struktur reguliert. Ferner erwiesen sich die supramolekularen Polymere als sehr wirkungsvolle Inhibitoren der Bindung von Concanavalin A (Con A) an Hefezellen (etwa achtmal stärker als die monovalente Referenzverbindung).

Lee und Mitarbeiter entwarfen eine Reihe Mannose-funktionalisierter Amphiphile, die je nach Molekülstruktur vielfältige selbstorganisierte Architekturen bilden können. Dieses Beispiel demonstriert eindrucksvoll die Möglichkeit zur gezielten Einstellung nanoskaliger Morphologien mittels Selbstorganisation.<sup>[21]</sup> Die Fähigkeit dieser Systeme, die durch Con A vermittelte Erythrozyten-Agglutination zu hemmen, war zwischen 800- und 1800-mal höher als mit monovalenter Mannose, und die Nanostrukturen banden mit hoher Affinität an die Oberfläche von *E. coli*-Bakterien. Die Autoren synthetisierten eine Reihe von Molekülstrukturen, die sich abhängig von den relativen Größen der hydrophoben und hydrophilen Blöcke auf vorhersehbare Weise zu Vesikeln, sphärischen oder zylindrischen Micellen zusammenlagerten (Abbildung 4).<sup>[22]</sup> Damit war es möglich, den Einfluss der Aggregatgröße und -form auf die biologische Wirksamkeit der Systeme zu ermitteln. Amphiphile, die sphärische Micellen bilden, waren die wirkungsvollsten Inhibitoren, was vermuten lässt, dass in diesem Fall eine stärkere Oberflächenkrümmung zu einer wirksameren Inhibierung führt.<sup>[21b]</sup>

Ravoo und Mitarbeiter funktionalisierten selbstorganisierende amphiphile Cyclodextrinderivate mit Zuckerresten.<sup>[23]</sup> Diese Systeme zeigen bei Funktionalisierung mit Maltose eine starke Affinität für Con A und bei Funktionalisierung



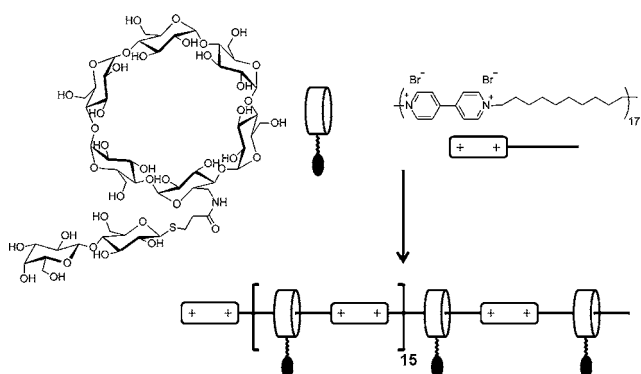
**Abbildung 3.** Struktur einer Mannose-funktionalisierten diskotischen Verbindung, die sich zu einem säulenförmigen Polymer zusammenlagert und dann multivalent an Lectin auf Bakterienoberflächen bindet.<sup>[19]</sup>



**Abbildung 4.** Struktur von Mannose-funktionalisierten Amphiphilen und ihre entsprechende Aggregatstruktur, welche die durch Con A vermittelte Erythrozyten-Agglutination hemmen kann.<sup>[21]</sup>

lisierung mit Lactose für Erdnuss-Agglutinin. Wenn die Kohlenhydratliganden nicht selbstorganisiert sind, zeigen sie keine messbare Affinität für das entsprechende Protein.

Auch Stoddart und Mitarbeiter setzten Selbstorganisation zur Anordnung von Cyclodextrinen ein, nutzten dabei aber eine Wirt-Gast-Verkapselung im Hohlraum der Cyclodextrine als Mittel zur Selbstorganisation.<sup>[24]</sup> Mit einem Polyviologen als Gast gelingt es, Cyclodextrine mit Zucker-Anhängseln entlang der Polymerkette zu einem selbstorganisierten Pseudorotaxan aufzufädeln (Abbildung 5). Siebzehn Cyclo-



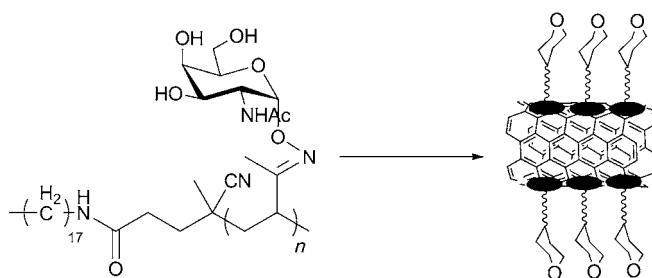
**Abbildung 5.** Struktur von Lactosid-Cyclodextrin und Polyviologen, die zu einem Pseudopolyrotaxan zusammenlagern.<sup>[24]</sup>

dextrine konnten auf das Polyviologen auffädeln, und das erhaltene Wirt-Gast-System band fast achtmal effektiver an Galectin-1 (ein typisches Mitglied der Familie der Galactosid-bindenden Lectine, die Zelladhäsion, -signalwirkung und -tod vermitteln) als nichtorganisiertes Lactosecyclodextrin und zehnmal effektiver als einfache Lactose.

In gewisser Analogie zu den Cyclodextrinen wurden auch Cucurbiturile als Baueinheiten für selbstorganisierte Saccharidanordnungen verwendet. So verwendeten Kim und Mitarbeiter ein amphiphiles Cucurbit[6]uril, das zur Selbstorganisation zu Vesikeln befähigt ist.<sup>[25]</sup> Unter Ausnutzung der starken Affinität des molekularen Hohlraums für Poly-

amine konnte ein Mannose-Spermin-Konjugat verwendet werden, um die Vesikeloberfläche mit Mannoseliganden zu funktionalisieren. Die Bindung des Vesikels an Con A war um drei Größenordnungen affiner als die des freien Mannose-Spermin-Liganden. Scherman und Mitarbeiter verwendeten Cucurbiturile in einem eleganten selbstorganisierten lectin-bindenden System, das durch einen einfachen chemischen Schalter, der den Zerfall des Assoziats auslöst, abgeschaltet werden konnte.<sup>[26]</sup> Ein Cucurbit[8]uril wurde auf eine Polymerkette gefädelt, und anschließend wurde an jedes Cucurbit[8]uril über hydrophobe Wechselwirkungen ein Mannose-Viologen-Gastmolekül koordiniert. Das selbstorganisierte Dreikomponentensystem band wirkungsvoll an Con A. Die Zugabe von Natriumdithionit, das Viologen zu einem Radikalkation reduziert, führte dann zur Zersetzung des Komplexes, und die hochaffine Lectinbindung wurde abgeschaltet.

Bertozzi und Mitarbeiter verwendeten Kohlenstoff-Nanoröhren (CNTs) als Strukturgerüst für die molekulare Selbstorganisation und die multivalente Expression von Zuckern. Ein mit aliphatischen  $C_{18}$ -Ketten und  $\alpha$ -N-Galactosaminresten funktionalisiertes Polymer wurde über hydrophobe Wechselwirkungen an die Oberfläche eines CNT angefügt (Abbildung 6). Die funktionalisierten Nanoröhren konnten spezifisch mit Zelloberflächenlectinen wechselwirken.<sup>[27]</sup>



**Abbildung 6.** Struktur eines  $C_{18}$ -terminierten Galactosamin-konjugierten Polymers, das sich auf einer CNT-Oberfläche organisieren und anschließend mit erhöhter Affinität an Zelloberflächen-Lectine binden kann.<sup>[27]</sup>

Mehrere Arbeitsgruppen setzten Gold-Nanopartikel als Oberfläche für die Anordnung thiolierter Kohlenhydrate ein.<sup>[28]</sup> So überzogen Lin und Mitarbeiter Gold-Nanopartikel mit Mannose, um Partikel mit etwa 200 adsorbierten Mannoseresten zu erhalten.<sup>[28a]</sup> Ein 2000-facher Überschuss an monovalenter Mannose war erforderlich, um die Bindungsstärke der Nanopartikel an *E. coli* zu übertreffen – ein klarer Beleg für die Affinität der selbstorganisierten multivalenten Anordnung. In einer späteren Studie nutzten Yan und Mitarbeiter einen kompetitiven Fluoreszenzassay, um eine quantitativere Analyse der Bindungsaffinität dieser Glyco-Nanopartikel an Lectin zu erhalten.<sup>[28f]</sup> Mit 1–3 Mannoseliganden funktionalisierte Nanopartikel zeigten Bindungsaffinitäten für Con A zwischen 0.013 und 0.43 nM, was einer um mehrere Größenordnungen stärkeren Bindung als die der freien Liganden ( $\mu$ M-Affinitäten) entspricht. Obwohl Gold-Nanopartikel oft als selbstorganisiert bezeichnet werden,<sup>[29]</sup> sind sie doch eher als Syntheseobjekte zu betrachten,



da sie eine Aufreinigung nach der Aggregation benötigen und ihre Bildung nicht wirklich reversibel ist; insofern werden wir im weiteren Verlauf dieses Kurzaufsatzes Gold-Nanopartikel nicht weiter im Zusammenhang mit selbstorganisierter Multivalenz behandeln.

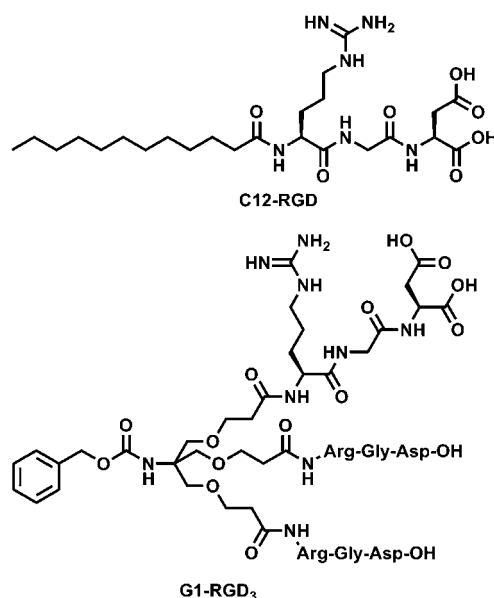
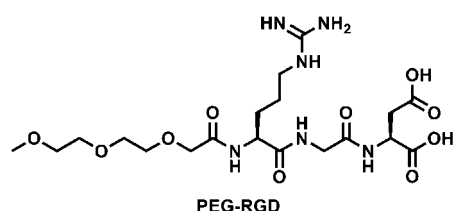
## 2.2. RGD-Peptide zur Bindung an Integrin

Integrine sind heterodimere Transmembranproteine, die wichtige biologische Rollen in zellulären Signalwegen und bei der Zelladhäsion spielen, sodass sie für Anwendungen in der Gewebezüchtung besonderes interessant sind.<sup>[30]</sup> Zudem werden Integrine an der Oberfläche von Krebszellen überexprimiert und stellen daher ein interessantes Ziel für die Krebstherapie dar.<sup>[31]</sup> Es wurde gezeigt, dass Arg-Gly-Asp-(RGD)-Peptide an Integrin binden,<sup>[32]</sup> was zu einem erheblichen Interesse an der Entwicklung RGD-funktionalisierter Liganden zur Bindung an Integrin führte. Integrin selbst weist nur eine einzige RGD-Bindungsstelle auf, sodass der einzige Nutzen einer multivalenten Ligandenbindung an freies Integrin der Effekt einer höheren Ligandenkonzentration wäre. In biologischen Systemen kommen Integrine aber in Zellmembranen vor und bilden Cluster, um eine fokale Anheftung zu erzielen – in diesen Fällen kann Multivalenz Bindungsvorteile bieten, und tatsächlich wurden mehrere Arbeiten über RGD-funktionalisierte, integrinbindende Dendrimere mit einer erhöhten Bindungsaffinität veröffentlicht.<sup>[33]</sup>

In mehreren Fällen wurde gezeigt, dass RGD enthaltende Lipopeptide eine erhöhte Bindungsaffinität für Integrine aufweisen, wenn sie in hydrophobe Vesikel eingeführt werden.<sup>[34]</sup> Weitere Studien behandeln amphiphile RGDs, die sich zu RGD-funktionalisierten Nanostrukturen organisieren.<sup>[35]</sup> Es gibt aber wesentlich weniger Beispiele, bei denen quantitativ belegt wurde, dass der Aggregationsvorgang direkt zu einer erhöhten Bindung an Integrin führt.

Arbeiten unserer Gruppe haben auf den Vergleich und die Quantifizierung von Dendrimer- und Selbstorganisationsansätzen bezüglich RGD-Multivalenz abgezielt.<sup>[36]</sup> Dabei fanden wir, dass ein einfaches amphiphiles C<sub>12</sub>-RGD (Abbildung 7), das micellenartige Strukturen bilden kann, Integrin deutlich wirkungsvoller bindet ( $EC_{50} = 200 \mu M$ ) als ein verwandtes Polyethylenglycol(PEG)-funktionalisiertes System, das nicht zur Selbstorganisation befähigt ist ( $EC_{50} > 1 mM$ ). Dabei ist bemerkenswert, dass das Selbstorganisationsähnlich effektiv wie eine dendritische multivalente Anordnung war ( $EC_{50} = 125 \mu M$ , pro RGD-Einheit  $375 \mu M$ ). Dies ist ein klarer quantitativer Beleg dafür, dass Selbstorganisation eine wirkungsvolle Strategie zur Organisation von Liganden ist und mit kovalenten Ansätzen konkurrieren kann.

In einer eleganten Arbeit verwendeten Chilkoti und Mitarbeiter ein thermisches Signal, um die Zusammenlagerung Elastin-artiger Polypeptide auszulösen, die einen inversen Phasenübergang bei einer spezifischen Temperatur zeigen.<sup>[37]</sup> Sie verwendeten ein RGD-funktionalisiertes Diblock-Copolymer aus zwei Peptiden mit unterschiedlichen Übergangstemperaturen. Bei Erhöhung der Temperatur von 23 °C auf 40 °C wurde der hydrophobe Block unlöslich, und eine



**Abbildung 7.** Struktur von selbstorganisierenden (C12-RGD) und dendritischen Molekülen (G1-RGD) sowie einer Negativkontrolle (PEG-RGD). Das lipidfunktionalisierte C12-RGD bindet genau so wirkungsvoll an Integrin wie das kovalente multivalente G1-RGD.<sup>[36]</sup>

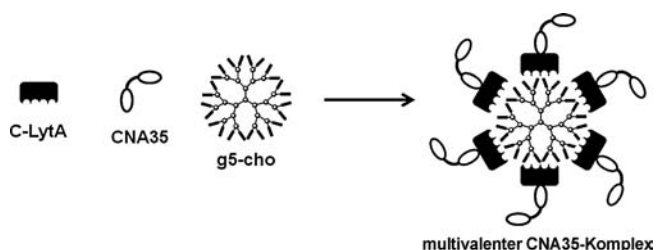
micellenartige Struktur mit dem RGD-funktionalisierten Block in der Peripherie entstand. Mit diesem System gelang es, selektiv von einem monovalenten System mit niedriger Affinität (das laut Flusszytometrie und konfokaler Mikroskopie keine Anzeichen einer Zellaufnahme zeigte) zu einem multivalenten System mit erhöhter integrinvermittelter Zellaufnahme in etwa 50 % der Zellen umzuschalten. Dieses Ergebnis illustriert deutlich die vorteilhafte Eigenschaft selbstorganisierter Multivalenz, responsives Verhalten zu zeigen.

## 2.3. Andere Liganden zur Bindung an Proteine

Auch andere Liganden wurden mittels Selbstorganisation zu Systemen mit verstärkter multivalenter Bindung an Proteine angeordnet. Zum Beispiel wurden Cucurbiturile als Liganden zur Bindung an die hydrophobe/aromatische Seitenkette von Tryptophan verwendet. Urbach und Mitarbeiter beschrieben die Anordnung von Cucurbit[8]uril an einem mit einem, zwei oder drei Viologen funktionalisierten Gerüst, das entsprechend ein, zwei bzw. drei Cucurbiturile bindet.<sup>[38]</sup> Das trivalente System band Peptide, die mehrere Tryptophanreste aufwiesen, mit einer bis zu 280-fach höheren Affinität als der monovalente Komplex.

Hamilton und Mitarbeiter beschrieben ein selbstorganisiertes pentameres DNA-Gerüst mit Phosphocholin-Kopfgruppen,<sup>[39]</sup> das eine um drei Größenordnungen affinere Bindung an humanes C-reaktives Protein als einzelsträngiges Phosphocholin zeigte. Durch Verändern der Länge des Linkers und der Selbstorganisationsbedingungen konnte die Bindungsaffinität erheblich modifiziert werden, wobei in einem Fall eine 1000-fache Erhöhung der Bindungsaffinität beobachtet wurde.<sup>[40]</sup> Es zeigte sich allgemein, dass pentamere Aggregate wesentlich effektiver sind als die entsprechenden tetrameren Systeme und dass Linker mit Längen von weniger als 32 Å den Bindungsvorgang behindern, weil die Rezeptoren zu dicht gepackt werden, um Sättigung zu erreichen. Letzteres ist ein Hinweis auf die Bedeutung der geometrischen Optimierung der selbstorganisierten Nanostrukturen.

Merkx und Mitarbeiter funktionalisierten ein PEGyliertes Phospholipid mit CNA35, einer Collagen-bindenden Domäne eines Adhäsionsproteins, und erhielten CNA-funktionalisierte Micellen.<sup>[41]</sup> Eine hochaffine Bindung dieser Micellen an Collagen wurde erst oberhalb einer kritischen Micellkonzentration von 5 µM beobachtet, was darauf hinweist, dass die wirkungsvolle Selbstorganisation eine Vorbedingung für die Bindung an Collagen ist. Interessanterweise wurde gefunden, dass die selbstorganisierten Micellen bei der Bindung an Collagen nicht beschädigt werden, sondern sich ihre Stabilität sogar deutlich erhöht. Die gleiche Arbeitsgruppe entwickelte auch ein Cholin-funktionalisiertes Dendrimer der fünften Generation, das an mehrere Kopien eines Fusionsproteins, das aus CNA35-gebundenem C-LytA besteht, binden kann (Abbildung 8).<sup>[42]</sup> Die Bindungsaffinität des mit



**Abbildung 8.** Struktur eines multivalenten Collagen-bindenden Systems bestehend aus einem Cholin-Dendrimer der 5. Generation (g5-cho) und selbstorganisierten oberflächengebundenen C-LytA/CNA35-Fusionsproteinen.<sup>[42]</sup>

selbstorganisiertem Wildtyp-Fusionsprotein dekorierten Dendrimers zeigte eine ähnliche Collagen-bindende Affinität wie das monovalente Äquivalent. Bei Verwendung des mutierten, schwach bindenden Proteins CNA35-Y175K zeigte die Bindungsaffinität aber eine achtfache Zunahme in Gegenwart des G5-Dendrimers im Vergleich zu dessen Fehlen, da das Dendrimer die Selbstorganisation einer multivalenten Anordnung des Fusionsproteins fördert. Dies zeigt, dass Multivalenz insbesondere schwache (suboptimale) Bindungsvorgänge begünstigen kann, in diesem Fall an das mutierte Protein.

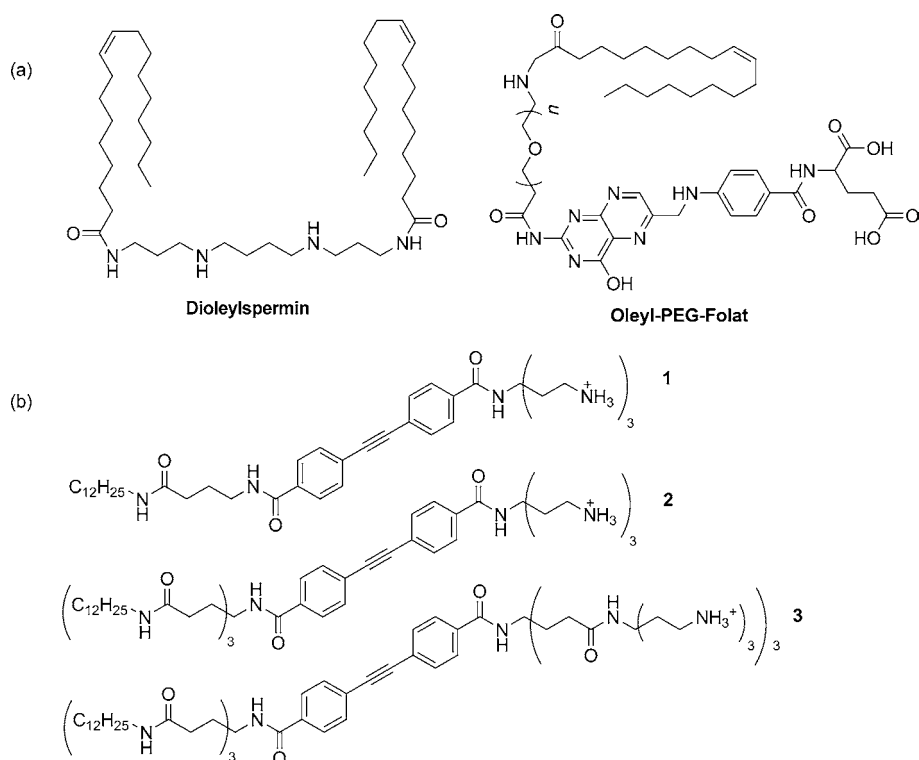
### 3. Bindung an DNA

Affines Binden an DNA hat großes Potenzial in der Gentherapie, insbesondere zur Behandlung genetischer Krankheiten wie zystischer Fibrose oder zur Entwicklung von Therapeutika für die Krebsbehandlung.<sup>[43]</sup> Um genetisches Material in Zellen zu transportieren, benötigt man einen Transportvektor.<sup>[44]</sup> Selbstorganisation und Multivalenz haben sich als sehr wirkungsvolle Strategien zum Entwurf DNA-bindender Liganden erwiesen.<sup>[10,11,45]</sup> Es gibt aber nur wenige Beispiele für die Anwendung einer Selbstorganisation zur Erzeugung multivalenter Anordnungen DNA-bindender Liganden.

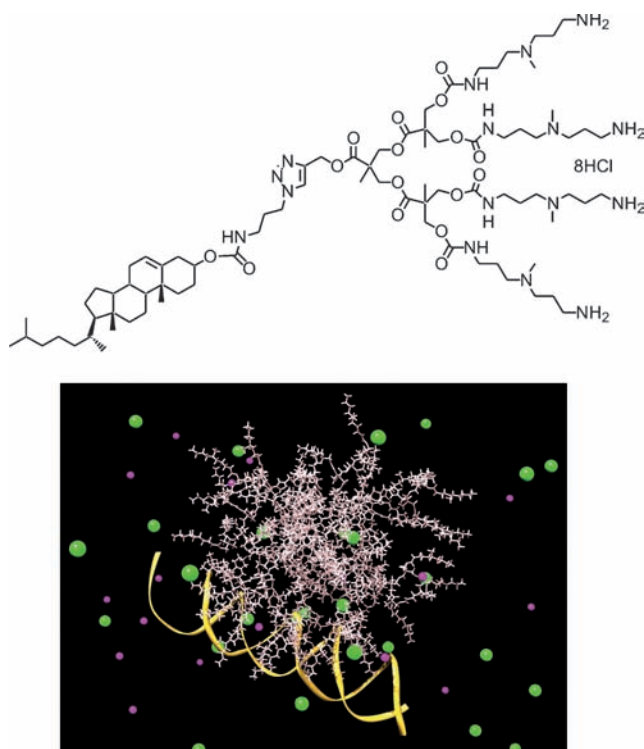
Cheng und Gabrielson beschrieben die Modifizierung von Spermin, einem bekannten, natürlich vorkommenden DNA-bindenden Liganden, mit zwei hydrophoben Oleylgruppen (Abbildung 9a).<sup>[46]</sup> Spermin selbst zeigt eine relativ schwache Bindung und keine Fähigkeit zum Gentransport. Konjugiert man jedoch lipophile Seitenketten an Spermin, so bewirkt die Zusammenlagerung zu größeren, multivalenten nanoskaligen Aggregaten eine drastisch erhöhte Affinität und Transfektionseffizienz der Verbindung. Die Funktionalisierung zellerkennender Gruppen (Folat) mit ähnlichen Oleylgruppen ermöglichte deren gemeinsame Aggregatbildung mit dem Transfektionsvektor. Dies ist ein einfacher Weg, um dem Vektor mithilfe von Selbstorganisationsmethoden eine zusätzliche/orthogonale Funktionalität zu verleihen.

Diederich und Mitarbeiter zeigten, dass die Selbstorganisationseigenschaften einer Familie verzweigter Amphiphile einen ausgeprägten Effekt auf deren DNA-Bindungsaffinität und Transfektionseffizienz hat (Abbildung 9b).<sup>[47]</sup> Insbesondere war die Balance zwischen hydrophoben und hydrophilen Molekülteilen wichtig für den Selbstorganisationsmodus und die Morphologie der erhaltenen Aggregate. Der wirkungsvollste Vektor, **2**, bildete flexible multilamellare Vesikel, während **1** und **3** nur Micellen bildete. Die Bildung der Vesikel führte zu einer erhöhten Serumstabilität und ermöglichte ein anhaltend hohes Gentransportniveau.

In unserer Arbeitsgruppe verwendeten wir Oligoamin-Liganden wie Spermin an der Oberfläche hydrophob modifizierter Dendrone, um wohldefinierte selbstorganisierte multivalente Systeme zu erzeugen (Abbildung 10).<sup>[48]</sup> Durch multiskalige Modellierung konnten wir nachweisen, dass die Art der Selbstorganisation eine entscheidende Rolle spielt. Die Wahl der hydrophoben Einheit bestimmt die Oberflächenladungsdichte der erhaltenen Nanostruktur, die direkt mit der DNA-Bindungsaffinität korreliert werden kann.<sup>[48c]</sup> Ferner bestimmt die Größe der hydrophoben Einheit die Morphologie der Aggregate mit direkten Auswirkungen auf die Fähigkeit zur Gentransfektion.<sup>[48b]</sup> In aktuellen Studien setzten wir abbaubare Dendrone auf Esterbasis<sup>[49]</sup> ein und zeigten, dass die Liganden bei hydrolytischem Abbau in Wasser bei pH 7.4 von der hydrophoben Einheit abgetrennt werden und die Nanostruktur zerfällt, sodass sie nicht mehr an DNA binden kann. Die nun einzeln vorliegenden Dendrone haben ihre gesamte selbstorganisierte Multivalenz verloren und weisen keine ausreichende Affinität mehr auf. Dieses responsive Verhalten selbstorganisierter Multivalenz ist einer der wichtigsten Vorteile gegenüber statischen mul-



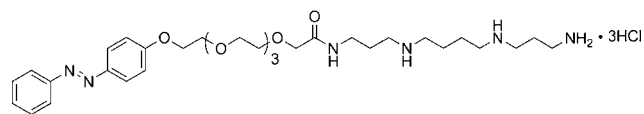
**Abbildung 9.** a) Struktur von DNA-bindendem Dioleylspermin und zellbindendem Oleyl-PEG-Folat.<sup>[46]</sup> b) Strukturen der verzweigten Amphiphile 1–3, die zur Gentransfektion entworfen und auf der Grundlage selbstorganisierter Morphologien optimiert wurden.<sup>[47]</sup>



**Abbildung 10.** Struktur eines Cholesterol-modifizierten selbstorganisierenden Dendrons und multiskalige Modellierung der Bindung selbstorganisierter nanometergroßer Micellen an DNA.<sup>[49b]</sup>

tivalenten Anordnungen. Nach der Bindung an DNA ist der hydrolytische Abbau der Dendrone, der durch intramolekulare Katalyse der Oberflächenliganden vermittelt wird, inhibiert.<sup>[49b]</sup> Versuche sind im Gange, diesen Mechanismus einer abschaltbaren selbstorganisierten Multivalenz beim Zelltransport einzusetzen.

Ravoo und Mitarbeiter beschrieben kürzlich monovalente, mit einem Azobenzolderivat funktionalisierte Sperminliganden in einem selbstorganisierenden System (Abbildung 11).<sup>[50]</sup> Die Azobenzolgruppe kann eine reversible



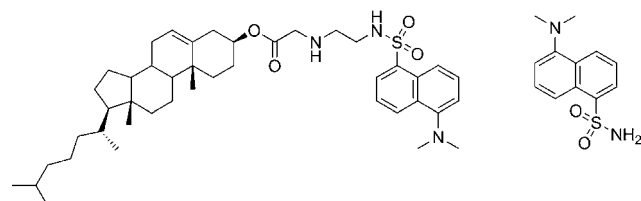
**Abbildung 11.** Struktur eines *trans*-Azobenzol-Spermin-Konjugats mit schaltbarem Selbstorganisations- und Multivalenzverhalten.<sup>[50]</sup>

photoinduzierte Isomerisierung vom *trans*- zum *cis*-Isomer eingehen. Das *trans*-Isomer bildete mit einem Vesikel-artigen Cyclodextrinaggregat einen Komplex, der zu hochaffiner, multivalenter Bindung an DNA fähig ist. Nach Umwandlung des Azobenzols in das entsprechende *cis*-Isomer zerfiel der Komplex zwischen dem Sperminderivat und dem Cyclodextrinaggregat zu einem niederaffinen monovalenten System. Dieses elegante System ist über mehrere Zyklen zwischen hoch- und niederaffinen Zuständen vollständig reversibel. Diese Studie belegt das Potenzial selbstorganisierter multi-

valenter Systeme, auf verschiedenste Stimuli reagieren zu können.

#### 4. Andere Zielstrukturen

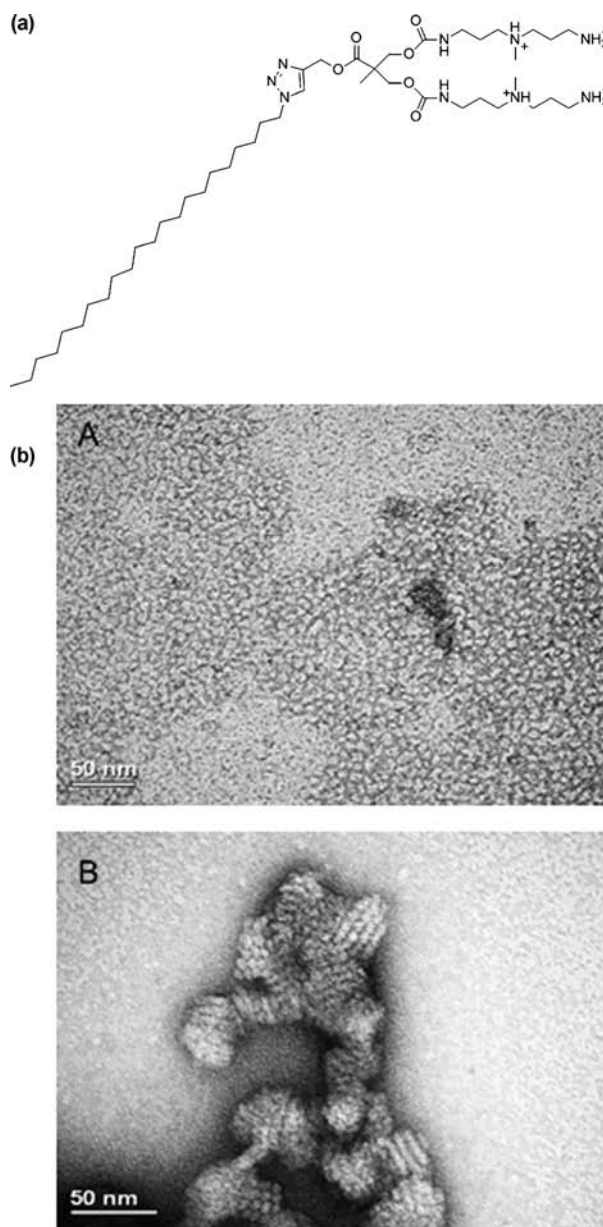
Das Konzept der selbstorganisierten Multivalenz kann außer auf Proteine und DNA noch auf viele weitere chemische und biologische Ziele angewendet werden. So entwickelten Williams, Hunter und Mitarbeiter ein Cholesterol-funktionalisiertes Dansylamin, das an Kupfer(II) binden kann (Abbildung 12). Das Dansylamin allein zeigte eine sehr geringe Affinität für  $\text{Cu}^{2+}$ , bei Zusammenlagerung zu unimo-



**Abbildung 12.** Struktur eines Dansylamin-funktionalisierten Cholesterols, das bei Selbstorganisation erhöhte Affinität für  $\text{Cu}^{\text{II}}$  zeigt (links), und des monovalenten Dansylaminliganden (rechts).<sup>[47]</sup>

lekularen Micellen aufgrund der Hydrophobie der Cholesterolgruppe stieg die Bindungsaffinität aber um zwei Größenordnungen an. Assemblierte man den Cholesterol-modifizierten Liganden innerhalb einer Lipid-Doppelschicht, so änderte sich die Bindungsstöchiometrie zwischen Ligand und Metallion erheblich.<sup>[51]</sup> Diese Studie zeigt, dass die Strategie der selbstorganisierten Multivalenz nicht auf große biologische Bindungspartner beschränkt sein muss. In verwandten Arbeiten fügten Webb und Mitarbeiter metallgebundene Liganden in Vesikel ein. Nur wenn die Liganden innerhalb der Membran Cluster bildeten, konnte das Vesikel an ein anderes ligandenbedecktes Vesikel adhären.<sup>[52]</sup> Diese gezielte nanoskalige Adhäsion durch selbstorganisationsinduzierte Clusterung ahmt bestimmte Aspekte von Zelladhäsionsprozessen nach.

Wir entwickelten kürzlich multivalente, selbstorganisierende kationische Systeme zur Bindung an polyanionisches Heparin.<sup>[53]</sup> Dieser gerinnungshemmende Wirkstoff spielt eine wichtige Rolle in der Chirurgie. Nach chirurgischen Eingriffen muss ein Gegenmittel gegen Heparin verabreicht werden, nämlich Protamin, das jedoch beträchtliche Nebenwirkungen verursacht. Wir überlegten, dass selbstorganisierte Nanostrukturen Protamin (ein kovalent gebundenes Protein) hinsichtlich Größe und Ladung nachahmen und dabei bessere klinische Eigenschaften haben könnten. Wir fanden, dass unser selbstorganisiertes System Heparin mit einer ähnlichen Affinität wie Protamin bindet, und wir konnten die Heparin-Nanostruktur-Bindung elektronenmikroskopisch sichtbar machen (Abbildung 13). Die Aufnahmen belegen, dass die Micellen in Gegenwart von Heparin intakt bleiben und sich tatsächlich an der Oberfläche des Heparins zu organisieren scheinen. Es scheint, dass die Bindung an Heparin weder einen Verlust an Stabilität noch morphologische Veränderun-



**Abbildung 13.** a) Struktur eines selbstorganisierenden Heparin-bindenden Liganden. b) Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)-Bilder des selbstorganisierenden Liganden, aufgenommen A) ohne Heparin, B) in Gegenwart von Heparin.<sup>[53]</sup>

gen der nanometergroßen Aggregate verursacht. In einer späteren Studie konnten wir zeigen, dass äquivalente nicht-aggregierende Verbindungen eine begrenzte Affinität für die Bindung an Heparin haben und die Selbstorganisation offenbar eine entscheidende Rolle bei der hochaffinen Erkennung unter biologisch relevanten Bedingungen spielt.<sup>[54]</sup>

#### 5. Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Kurzaufsatz wurden Beispiele für den Gebrauch der Selbstorganisation als wirkungsvolle Methode zum Erzielen hochaffiner Bindungen durch Multivalenz vor-



gestellt. Das Konzept kann auf verschiedene bindende Wechselwirkungen angewendet werden, um zahlreiche biologische Vorgänge nachzuahmen und in biologische Signalwege einzugreifen. Insbesondere sind solche selbstorganisierten Systeme ideal für Grenzflächenwechselwirkungen mit großen biologischen Oberflächen, z. B. von Proteinen, Nucleinsäuren, Viren und bakteriellen und humanen Zellen. Der Ansatz der selbstorganisierten Multivalenz könnte verschiedene Anwendungen finden, z. B. bei der Inhibierung von Protein-Protein-Wechselwirkungen, in der Gentherapie, zur Vorbeugung von Infektionen und in der Gewebezucht. Es steht zu erwarten, dass das Konzept der selbstorganisierten Multivalenz in dem aufkommenden Gebiet der Nanomedizin eine grundlegende Bedeutung erlangen wird.

Der rasche Fortschritt der supramolekularen Chemie und die zunehmende Ausrichtung auf die Nanoskala ermöglichen die Entwicklung selbstorganisierter nanometergroßer Objekte mit gut einstellbaren Größen und Formen – Eigenschaften, die sich direkt auf die Beschaffenheit der erzeugten Multivalenz auswirken können. Des Weiteren sind die selbstorganisierten Systeme hochgradig dynamisch und responsiv, was Möglichkeiten für die Erzeugung von Systemen bietet, die ihre Multivalenz auf verschiedene chemische oder physikalische Stimuli hin ein- und ausschalten können. Damit könnten sich wiederum intelligente Erkennungs- und Transportsysteme entwerfen lassen. Zum Beispiel sollte es möglich sein, Systeme zu erzeugen, die mittels Multivalenz hochaffin an ein Ziel binden (beispielsweise an therapeutische Proteine oder Nucleinsäuren) und dann auf einen Stimulus hin zerfallen und ihre Bindungsaffinität effektiv abschalten, um so die kontrollierte Freisetzung des Wirkstoffs zu bewirken.

Bedeutsam ist, dass selbstorganisierte multivalente Systeme aus wohldefinierten Baueinheiten mit vergleichsweise niedrigem Molekulargewicht aufgebaut sind, was eine ideale Bedingung für medizinische Anwendungen ist, und dass ihr Verhalten auf der molekularen Ebene eindeutig definiert und verstanden werden kann. Letzteres bietet klare Vorteile für medizinische Zulassungsverfahren.

Zusammengefasst ist der Gebrauch der Selbstorganisation zur Erzeugung dynamischer Multivalenz eine wirkungsvolle Strategie mit wesentlichen Vorteilen gegenüber statischen multivalenten Anordnungen. Insbesondere ahmt dieses Konzept Vorgänge nach, die in der Natur in Zellmembranen auftreten, und hat damit vielfältige potenzielle Anwendungen in den Nanomaterialwissenschaften und der Nanomedizin.

Eingegangen am 4. Januar 2012

Online veröffentlicht am 11. Juni 2012

Übersetzt von Dr. Thomas Steiner, Neu-Ulm

- [1] a) M. Mammen, S. K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754; b) A. Mulder, J. Huskens, D. N. Reinhoudt, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3409; c) J. D. Badjić, A. Nelson, S. J. Cantrill, W. B. Turnbull, J. F. Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 723; d) V. Martos, P. Castreño, J. Valero, J. de Mendoza, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 698.
- [2] a) S. Svenson, D. A. Tomalia, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2005**, *57*, 2106; b) S. E. Stiriba, H. Frey, R. Haag, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1385; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1329.
- [3] L. Mandolini, *Adv. Phys. Org. Chem.* **1986**, *22*, 1.
- [4] a) G. M. Pavan, A. Danani, S. Prich, D. K. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9686; b) S. P. Jones, G. M. Pavan, A. Danani, S. Prich, D. K. Smith, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 4519.
- [5] J. Huskens, A. Mulder, T. Auletta, C. A. Nijhuis, M. J. W. Luden, D. N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6784.
- [6] a) G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, *Science* **1991**, *254*, 1312; b) J. M. Lehn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4763; c) J. M. Lehn, *Science* **2002**, *295*, 2400; d) G. M. Whitesides, *Small* **2005**, *1*, 172.
- [7] D. Philp, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1242; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1154.
- [8] S. Miyamoto, S. K. Akiyama, K. M. Yamada, *Science* **1995**, *267*, 883.
- [9] D. A. Uhlenheuer, K. Petkau, L. Brunsveld, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2817.
- [10] P. P. Karmali, A. Chaudhuri, *Med. Res. Rev.* **2007**, *27*, 696.
- [11] B. Lamarre, M. G. Ryadnov, *Macromol. Biosci.* **2011**, *11*, 503.
- [12] a) J. B. Matson, S. I. Stupp, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 26; b) M. Zelzer, R. V. Ulijn, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3351.
- [13] Y. B. Lim, K. S. Moon, M. Lee, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 925.
- [14] C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* **2001**, *291*, 2357.
- [15] R. J. Pieters, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2013.
- [16] J. E. Kingery-Wood, K. W. Williams, G. B. Sigal, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7303.
- [17] X.-L. Sun, Y. Kanie, C.-T. Guo, O. Kanie, Y. Suzuki, C.-H. Wong, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2643.
- [18] G. Thoma, A. G. Katopodis, N. Voelcker, R. O. Duthaler, M. B. Streiff, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3327; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3195.
- [19] M. K. Müller, L. Brunsveld, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2965; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2921.
- [20] L. Brunsveld, B. G. G. Lohmeijer, J. Vekemans, E. W. Meijer, *Chem. Commun.* **2000**, 2305.
- [21] a) B. S. Kim, W. Y. Yang, J. H. Ryu, Y. S. Yoo, M. Lee, *Chem. Commun.* **2005**, 2035; b) B. S. Kim, D. J. Hong, J. Bae, M. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16333; c) J.-H. Ryu, E. Lee, Y.-B. Lim, M. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4808.
- [22] Allgemeine Regeln zur Vorhersage der Selbstorganisation von Tensiden, siehe: J. N. Israelachvili, D. J. Mitchell, B. W. Ninham, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1976**, *72*, 1525.
- [23] a) J. Voskuhl, M. C. A. Stuart, B. J. Ravoo, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2790; b) R. V. Vico, J. Voskuhl, B. J. Ravoo, *Langmuir* **2011**, *27*, 1391.
- [24] A. Nelson, J. M. Belitsky, S. Vidal, C. S. Joiner, L. G. Baum, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11914.
- [25] H. K. Lee, K. M. Park, Y. J. Jeon, D. Kim, D. H. Oh, H. S. Kim, C. K. Park, K. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5006.
- [26] J. Geng, F. Biedermann, J. M. Zayed, F. Tian, O. A. Scherman, *Macromolecules* **2011**, *44*, 4276.
- [27] X. Chen, U. C. Tam, J. L. Czapinski, G. S. Lee, D. Rabuka, A. Zettl, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6292.
- [28] a) C. C. Lin, Y. C. Yeh, C. Y. Yang, C. L. Chen, G. F. Chen, C. C. Chen, Y. C. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3508; b) J. M. de La Fuente, A. G. Barrientos, T. C. Rojas, J. Rojo, J. Canada, A. Fernandez, S. Penades, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2317; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2257; c) A. G. Barrientos, J. M. de La Fuente, T. C. Rojas, A. Fernandez, S. Penades, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1909; d) J. Rojo, V. Diaz, J. M. de La Fuente, I. Segura, A. G. Barrientos, H. H. Riese, A. Bernade, S. Penades, *Chem-BioChem* **2004**, *5*, 291; e) C. L. Schofield, R. A. Field, D. A. Russell, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 1356; f) X. Wang, O. Ramstrom, M. D. Yan, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 9082.
- [29] Y. Lim, M. Lee, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 401.

- [30] a) R. O. Hynes, *Cell* **1992**, 69, 11; b) L. Perlin, S. MacNeil, S. Rimmer, *Soft Matter* **2008**, 4, 2331.
- [31] a) P. C. Brooks, A. M. P. Montgomery, M. Rosenfeld, R. A. Reisfeld, T. H. Hu, G. Klier, D. A. Cheresh, *Cell* **1994**, 79, 1157; b) P. C. Brooks, R. A. F. Clark, D. A. Cheresh, *Science* **1994**, 264, 569.
- [32] M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, *Nature* **1984**, 309, 30.
- [33] a) D. T. S. Rijkers, G. W. van Esse, R. Merkx, A. J. Brouwer, H. J. F. Jacobs, R. J. Pieters, R. M. J. Liskamp, *Chem. Commun.* **2005**, 4581; b) I. Dijkgraaf, A. Y. Rijnders, A. Soede, A. C. Dechesne, G. W. van Esse, A. J. Brouwer, F. H. M. Corstens, O. C. Boerman, D. T. S. Rijkers, R. M. J. Liskamp, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 935; c) E. Garanger, D. Boturyn, Z. H. Jin, P. Dumy, M. C. Favrot, J. L. Coll, *Mol. Ther.* **2005**, 12, 1168; d) E. Garanger, D. Boturyn, J. L. Coll, M. C. Favrot, P. Dumy, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 1958.
- [34] a) B. Hu, D. Finsinger, K. Peter, Z. Guttenberg, M. Barmann, I. Kessler, A. Escherich, L. Moroder, J. Bohm, W. Baumeister, S. F. Sui, E. Sackmann, *Biochemistry* **2000**, 39, 12284; b) V. Marchi-Artzner, B. Lorz, U. Hellerer, M. Kantlehner, H. Kessler, E. Sackmann, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 1095; c) V. Marchi-Artzner, B. Lorz, C. Gosse, L. Jullien, R. Merkel, H. Kessler, E. Sackmann, *Langmuir* **2003**, 19, 835.
- [35] a) J. A. Zupancich, F. S. Bates, M. A. Hillmyer, *Biomacromolecules* **2009**, 10, 1554; b) Y.-B. Lim, E. Lee, M. Lee, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 3545; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 3475; c) Y.-B. Lim, O.-J. Kwon, E. Lee, P.-H. Kim, C.-O. Yun, M. Lee, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 1944; d) M. O. Guler, L. Hsu, S. Soukasene, D. A. Harrington, J. F. Hulvat, S. I. Stupp, *Biomacromolecules* **2006**, 7, 1855; e) Z. Huang, T. D. Sargeant, J. F. Hulvat, A. Mata, P. Bringas, C.-Y. Koh, S. I. Stupp, M. L. Snead, *J. Bone Miner. Res.* **2008**, 23, 1995; f) M. Zhou, A. M. Smith, A. K. Das, N. W. Hodgson, R. F. Collins, R. V. Ulijn, J. E. Gough, *Biomaterials* **2009**, 30, 2523.
- [36] D. J. Welsh, D. K. Smith, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 4795.
- [37] a) M. R. Dreher, A. J. Simnick, K. Fischer, R. J. Smith, A. Patel, M. Schmidt, A. Chilkoti, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 687; b) A. J. Simnick, C. A. Valencia, R. H. Liu, A. Chilkoti, *ACS Nano* **2010**, 4, 2217.
- [38] J. J. Reczek, A. A. Kennedy, B. T. Halbert, A. R. Urbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 2408.
- [39] B. A. Rosenzweig, N. T. Ross, D. M. Tagore, J. Jayawickramarajah, I. Saraogi, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 5020.
- [40] B. A. Rosenzweig, N. T. Ross, M. J. Adler, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 6749.
- [41] S. W. A. Reulen, P. Y. W. Dankers, P. H. H. Bomans, E. W. Meijer, M. Merkx, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 7304.
- [42] V. M. Hernández-Rocamora, S. W. A. Reulen, B. de Waal, E. W. Meijer, J. M. Sanz, M. Merkx, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 5997.
- [43] a) U. Griesenbach, D. M. Geddes, E. Alton, *Gene Ther.* **2006**, 13, 1061; b) B. L. Fang, J. A. Roth, *Cancer Biol. Ther.* **2003**, 2, S115.
- [44] D. K. Smith, *Curr. Top. Med. Chem.* **2008**, 8, 1187.
- [45] M. Guillot-Nieckowski, S. Eisler, F. Diederich, *New J. Chem.* **2007**, 31, 1111.
- [46] N. P. Gabrielson, J. J. Cheng, *Biomaterials* **2010**, 31, 9117.
- [47] a) D. Joester, M. Losson, R. Pugin, H. Heinzelmann, E. Walter, H. P. Merkle, F. Diederich, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 1524; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 1486; b) M. Guillot, S. Eisler, K. Weller, H. P. Merkle, J. L. Gallani, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 766; c) M. Guillot-Nieckowski, D. Joester, M. Stohr, M. Losson, M. Adrian, B. Wagner, M. Kansy, H. Heinzelmann, R. Pugin, F. Diederich, J. L. Gallani, *Langmuir* **2007**, 23, 737.
- [48] a) S. P. Jones, N. P. Gabrielson, D. W. Pack, D. K. Smith, *Chem. Commun.* **2008**, 4700; b) P. Posocco, S. Pricl, S. Jones, A. Barnard, D. K. Smith, *Chem. Sci.* **2010**, 1, 393; c) S. P. Jones, N. P. Gabrielson, C. H. Wong, H. F. Chow, D. W. Pack, P. Posocco, M. Fermeiglia, S. Pricl, D. K. Smith, *Mol. Pharm.* **2011**, 8, 416.
- [49] a) D. J. Welsh, S. P. Jones, D. K. Smith, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 4107; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 4047; b) A. Barnard, P. Posocco, S. Pricl, M. Calderon, R. Haag, M. E. Hwang, V. W. T. Shum, D. W. Pack, D. K. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 20288.
- [50] S. K. M. Nalluri, J. Voskuhl, J. B. Bultema, E. J. Boekema, B. J. Ravoo, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 9921; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 9747.
- [51] E. L. Doyle, C. A. Hunter, H. C. Phillips, S. J. Webb, N. H. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 4593.
- [52] R. J. Mart, K. P. Liem, X. Wang, S. J. Webb, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 14462–14463.
- [53] A. C. Rodrigo, A. Barnard, J. Cooper, D. K. Smith, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 4771; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 4675.
- [54] A. Barnard, S. M. Bromfield, D. K. Smith, unveröffentlichte Ergebnisse.