

Muschel-inspirierte dendritische Polymere als universelle multifunktionale Beschichtungen**

Qiang Wei, Katharina Achazi, Hendrik Liebe, Andrea Schulz, Paul-Ludwig Michael Noeske, Ingo Grunwald und Rainer Haag*

Professor Rolf Mühlaupt zum 60. Geburtstag gewidmet

Abstract: Ein neues Verfahren zur Herstellung multifunktionaler Materialbeschichtungen baut auf dendritischen, von Muscheln inspirierten Polymeren auf. Diese neuartigen Polymere beziehen nicht nur funktionelle Gruppen von Muschelfußproteinen (Mfps) ein, sondern weisen auch ähnliche Molekülgrößen und -strukturen wie Mfps auf. Die heteromultivalente Verankerung auf Substraten und Vernetzung in den Polymeren basieren auf einer hohen Konzentration von Brenzcatechin- und Aminogruppen. Das Molekulargewicht der Polymere liegt bei 10 kDa und ist somit vergleichbar mit demjenigen des am stärksten anhaftenden Muschelfußproteins, Mfp-5. Zudem befinden sich die funktionellen Gruppen sowohl bei den dendritischen Molekülen als auch in der Tertiärstruktur der Proteine an der Polymeroberfläche. Daher können diese bioinspirierten Polymere mit einer einfachen Tauchbeschichtung auf nahezu jedem Substrat rasch hochstabile Beschichtungsfilme bilden. Diese Methode ist genauso schnell wie die natürliche Verankerung der Muscheln.

Oberflächenmodifikationen spielen eine immer wichtigere Rolle bei modernen physikalischen, chemischen und biologischen Anwendungen sowie in den Materialwissenschaften.^[1,2] Zwar können mit üblichen Methoden, wie dem Einsatz selbstorganisierender Monoschichten (SAMs),^[3] Bestrahlung,^[4] Layer-by-Layer(LbL)-Aufbau^[5] und der Bildung von Langmuir-Blodgett-Schichten,^[6] gute Ergebnisse erzielt werden, jedoch kann nicht mit ein und demselben Verfahren eine breite Auswahl von Materialien beschichtet werden. Eine der bemerkenswertesten Methoden, diese Aufgabe zu

bewältigen, ist die von Muscheln inspirierte Oberflächenchemie. Dopamin und seine Derivate, welche die Zusammensetzung der Muschelfußproteine (Mfps) nachahmen, können auf nahezu jedem Material sehr gut anhaftende, dünne Schichten bilden.^[7-9] Muscheln können mithilfe der im Byssusplaque reich enthaltenen Mfps auf festen Oberflächen anhaften, wobei die Bildung der Haftfäden gerade einmal drei bis zehn Minuten erfordert.^[10] Die Byssusdrüsen produzieren spezialisierte Proteine wie Mfp-1, das ein Schlüsselprotein für die Bildung der Byssushaut ist und normalerweise durch Fe³⁺-Ionen vernetzt wird.^[11] Das am stärksten anhaftende Mfp-5 befindet sich nahe der Schnittstelle zwischen den Plaques und den Substraten.^[12] Diese beiden genannten Proteine tragen einen sehr großen Teil zur Verankerung und schnellen Härtung der Byssusplaques bei. Sie enthalten mit 15 bzw. 28 Mol-% hohe Konzentrationen von 3,4-Dihydroxyphenyl-L-alanin (DOPA) und jeweils einen hohen Anteil der Aminosäure Lysin.^[13] Die Brenzcatechingruppen im DOPA-Molekül gehen für die Anhaftung sowohl starke kovalente als auch nichtkovalente Wechselwirkungen mit Substraten ein.^[14] Zusätzlich können diese Gruppierungen koordinativ an Fe³⁺-Ionen gebunden werden oder kovalent mit sich selbst oder mit Aminogruppen im Lysin vernetzt werden, was zu einer Härtung der Byssusfäden führt.^[15] Da eine Beschichtung mit einer dicken und dichten Dopaminschicht sehr viel Zeit erfordert,^[7] ist es für technische Anwendungen nötig, Mfps besser nachzuhahmen, um so die Beschichtung von Substraten zu beschleunigen.

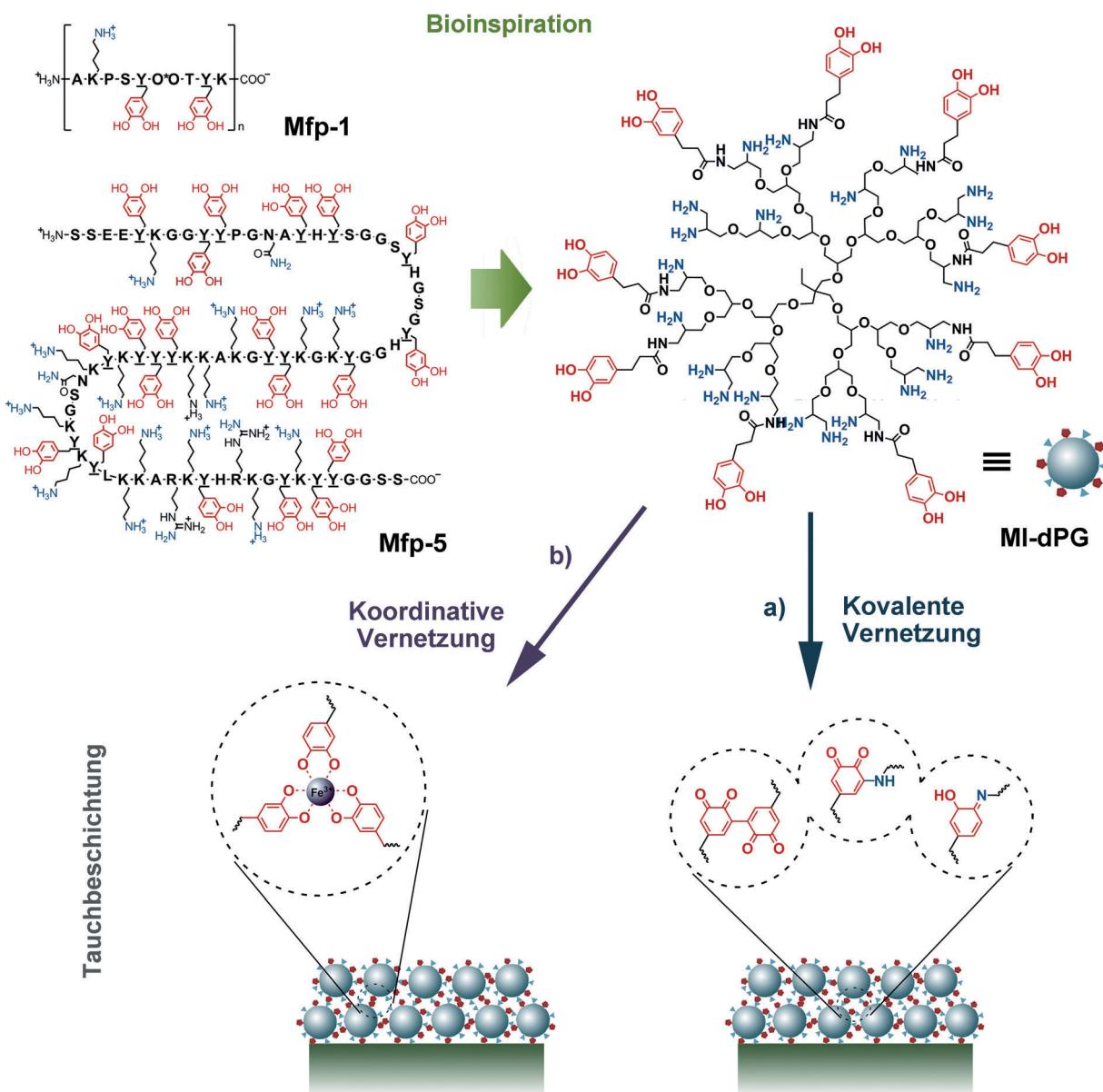
Hier wird ein dendritisches Polymer mit heteromultivalenter Brenzcatechin- und Aminfunktionalisierung vorgestellt, das nicht nur die funktionellen Gruppen von Mfp-1 und Mfp-5 nachahmt, sondern auch deren molekulare Masse und Struktur. Kovalente und koordinative Vernetzungsmöglichkeiten ermöglichen eine schnelle und universelle Beschichtung von Oberflächen (Schema 1). Zwar wurden bereits viele Brenzcatechingruppen-haltige Polymere für die Modifizierung von Substratoberflächen entwickelt, doch sind die meisten dieser Polymere linear aufgebaut und nur mit einer geringen Dichte von Brenzcatechingruppen ausgestattet.^[16] Brenzcatechin- oder Aminogruppen allein können keine signifikante oxidative Polymerisation auslösen. Nur wenn beide funktionellen Gruppen vorhanden sind, können universelle und stabile Beschichtungen erhalten werden.^[17] Des Weiteren sind Wechselwirkungen innerhalb von Beschichtungen wenig erforscht, und schnell applizierbare, stabile Beschichtungen sind noch immer schwer zu erzielen. Aus diesem Grund wurde dendritisches Polyglycerol (dPG), das

[*] Q. Wei, Dr. K. Achazi, H. Liebe, A. Schulz, Prof. Dr. R. Haag
Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin
Takustraße 3, 14195 Berlin (Deutschland)
E-Mail: haag@chemie.fu-berlin.de

Q. Wei, Prof. Dr. R. Haag
Mulfunktionale Biomaterialien für die Medizin
Helmholtz Virtuelles Institut
Kantstraße 55, 14513 Teltow-Seehof (Deutschland)
Dr. P.-L. M. Noeske, Dr. I. Grunwald
Fraunhofer-Institut für Fertigungstechnik und Angewandte Materialforschung (IFAM), Klebtechnik und Oberflächen
Wiener Straße 12, 28359 Bremen (Deutschland)

[**] Diese Arbeit wurde durch das Helmholtz Virtuelle Institut und den SFB 765 unterstützt. Wir danken Dr. Florian Paulus für die Synthese des dPG und Dr. Paul Wafula für die Unterstützung bei den Zellkulturexperimenten.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201407113> zu finden.



Schema 1. Oben links: Aminosäuresequenzen der Muschelfußproteine (Mfps) Mfp-1 und Mfp-5 mit farblich hervorgehobenen Amino- (blau) oder Brenzcatechingruppen (rot) in den Seitenketten.^[12] Oben rechts: Muschel-inspiriertes dendritisches Polyglycerol (MI-dPG) als chemische Mimikry von Proteinwirkprinzipien. Unten: Die postulierten kovalenten Strukturen und koordinative Vernetzung für zwei Varianten universeller Oberflächenbeschichtungen. a) 0.1 mM MI-dPG in mit 3-(*N*-Morpholino)propansulfonsäure (MOPS) gepufferter Methanollösung bei pH 8.5 (4v/1v); b) 0.1 mM MI-dPG in wässriger Methanolösung mit 0.54 mg mL⁻¹ FeCl₃ (4v/1v, Brenzcatechin/Fe³⁺ ca. 6:1)

eine hochverzweigte, gut definierte Architektur hat und wie gefaltete Proteine an seiner Oberfläche zahlreiche funktionelle Gruppen trägt,^[18] als Gerüst für eine multivalente Verankerung und Vernetzung eingesetzt.^[19,20] Die Hydroxygruppen im dPG wurden zu Aminogruppen umgesetzt und davon etwa 40 % mit Brenzcatechingruppen funktionalisiert. Die zahlreichen verbleibenden Aminogruppen verstärkten die Wechselwirkungen innerhalb der Schichten und standen als funktionelle Gruppen für weitere Modifikationen der Beschichtung zur Verfügung. In Polydopamin bilden die meisten Aminogruppen Indolringe oder reagieren über eine Michael-Addition oder eine Schiff-Basenreaktion mit Chinonen und werden dadurch inaktiv.^[21,22] Das durchschnittliche

Molekulargewicht (M_n) des hier vorgestellten Muschel-inspirierten dPG (MI-dPG) beträgt etwa 10 kDa und ist somit mit dem Molekulargewicht von Mfp-5 (ca. 9 kDa) vergleichbar.^[23] Wegen der freiliegenden multivalenten funktionellen Gruppen und eines geeigneten anfänglichen Molekulargewichts kann das MI-dPG innerhalb von nur zehn Minuten eine beachtlich stabile Beschichtung auf praktisch beliebigen Materialien bilden. Binnen weniger Stunden kann eine mikrometerdicke Beschichtung erhalten werden, wobei eine kovalente Vernetzung wie beim Polydopamin erfolgt. Außerdem wurde basierend auf MI-dPG eine farblose Beschichtung entwickelt, die wie beim Mfp-1 durch Fe³⁺-Ionen koordinativ vernetzt wurde (Schema 1).

Kovalent vernetzte Beschichtungen wurden durch Oxidation von Brenzcatechingruppen zu Chinonen in einem schwach alkalischen, wässrigen Puffer bei einem pH-Wert um pH 8.5 hergestellt. Der Mechanismus dieser Vernetzung wird zwar noch diskutiert, jedoch sind kovalente Bindungen wahrscheinlich die vorliegenden Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken und π -Wechselwirkungen eher zweit-rangig.^[21,22,24,25] Wie UV/Vis-spektroskopische Analysen zeigten (Abbildung S1, Hintergrundinformationen), können Brenzcatechingruppen sehr schnell zu Chinonen oxidiert werden und anschließend mit sich selbst oder mit Aminen über eine Michael-Addition oder eine Schiff-Basenreaktion^[15,23] unter schwach basischen Bedingungen vernetzt werden. Der Vernetzungsprozess wurde mit Infrarotspektroskopie verfolgt (Abbildung S2, Hintergrundinformationen). Die Intensität des Signals der O-H-Deformationsschwingung bei $\tilde{\nu} \approx 1360 \text{ cm}^{-1}$ nimmt nach der kovalenten Vernetzung des MI-dPG deutlich ab. Dies lässt darauf schließen, dass die Brenzcatechingruppen zu Chinonen oxidiert werden können. Diese Annahme wird ferner dadurch gestützt, dass das Signal bei $\tilde{\nu} = 1645 \text{ cm}^{-1}$ (charakteristische Schwingung von Chinonen) verstärkt und gleichzeitig das Signal bei $\tilde{\nu} = 1602 \text{ cm}^{-1}$ (phenolische C=C-Valenzschwingung in der Brenzcatechingruppe) geschwächt wird. Die schwächer werdenden Signale des isolierten Wasserstoffatoms am Arylring bei $\tilde{\nu} = 912 \text{ cm}^{-1}$ und der *ortho*-ständigen Wasserstoffatome am Aren bei $\tilde{\nu} = 845 \text{ cm}^{-1}$ sowie der veränderte Fingerabdruckbereich zwischen $\tilde{\nu} = 729$ und 814 cm^{-1} weisen ebenfalls darauf hin, dass sich das Substitutionsmuster des Arens verändert hat, was auf eine Vernetzung schließen lässt. Angesichts der starken Vernetzung aggregierten die MI-dPG-Moleküle in der Lösung sehr schnell (Abbildung S3, Hintergrundinformationen) und setzten sich spontan auf den festen Oberflächen ab, was auch für sehr komplexe Formen der Oberflächen zutrifft (Abbildung S4, Hintergrundinformationen). Die MI-dPG-Moleküle können direkt auf der Oberfläche verankert werden, wobei sich anschließend weitere Moleküle über einen Grafting-from-Ansatz auf der ersten Schicht über Vernetzung anlagern können. Gleichzeitig besteht die Möglichkeit, dass sich bereits gebildete Aggregate mithilfe eines Grafting-to-Ansatzes auf der Oberfläche verankern. Die Dicke der MI-dPG-Schicht stieg während der Inkubation schnell an und erreichte nach zehn Minuten bereits 60 nm, und nach vier Stunden wurde auf einer Siliciumdioxidoberfläche eine maximale Dicke von 3.4 μm erreicht (Abbildung 1a). Damit ermöglicht dieses Verfahren eine schnellere Schichtbildung als die Vernetzung von Dopamin unter alkalischen oder sogar oxidierenden Bedingungen.^[7,26] Diese benötigt bei gleichen Bedingungen 24 Stunden für eine 50 nm^[7] und zwei Stunden für eine 70 nm dicke Dopaminschicht unter stark oxidierenden Bedingungen.^[26]

Im Fall koordinativ vernetzter Beschichtungen werden die MI-dPG-Moleküle durch Metallionen wie Fe^{3+} vernetzt, was eine rasche Oxidation der Brenzcatechingruppen verhindert, indem sich bei pH 10 ein Komplex der Eisenionen mit drei zweizähnigen Chelatliganden bildet.^[27,28] Daher wurden Eisen(III)-Ionen im Verhältnis 1:6 zu den Brenzcatechingruppen des MI-dPG hinzugegeben, um eine Vernetzung einzuleiten. Hierdurch kann die Hälfte der Brenzcate-

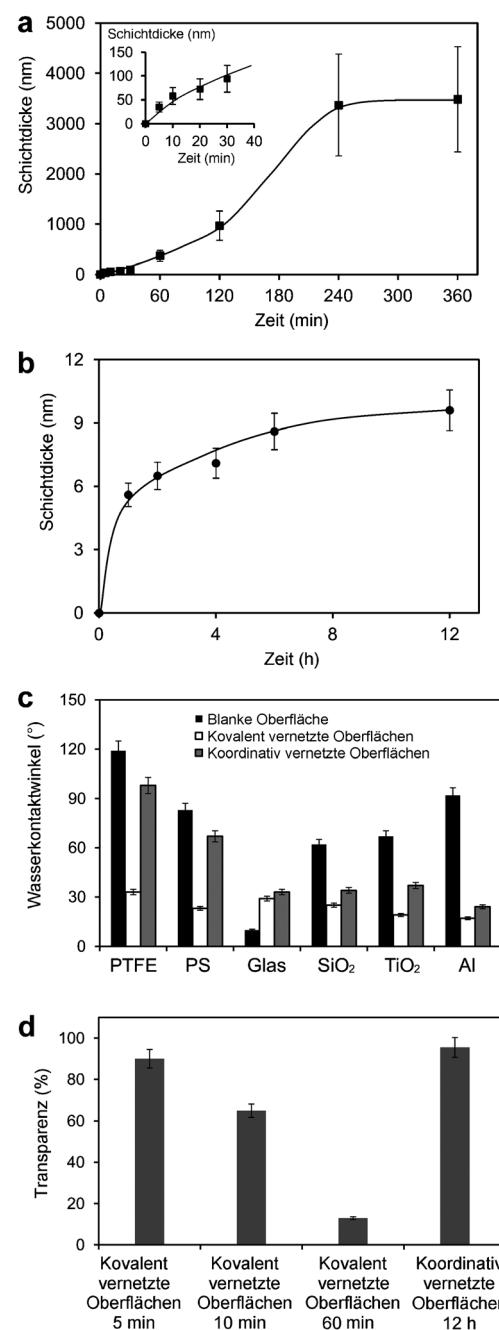


Abbildung 1. Zeitabhängiger Verlauf der Schichtdicke a) kovalent und b) koordinativ vernetzter MI-dPG-Beschichtungen auf einer Siliciumdioxidoberfläche. c) Durchschnittlicher statischer Wasserkontaktwinkel kovalent (4 h) und koordinativ (12 h) vernetzter MI-dPG-Beschichtungen. d) Optische Transparenz ($\lambda = 350\text{--}1000 \text{ nm}$) der MI-dPG-Beschichtungen.

chingruppen mit den Metallionen Komplexe bilden, während die andere Hälfte weiterhin für die Verankerung zur Verfügung steht. Wegen der geringeren Konzentration der zur Vernetzung eingesetzten Gruppen und der schwächeren Bindung wurde für die koordinativ vernetzte Beschichtung nach zwölf Stunden Inkubationszeit eine Dicke von nur 10 nm erhalten (Abbildung 1b). Dies ermöglichte es, die Brenzcatechingruppen innerhalb der Beschichtung langsam

zu oxidieren und hierdurch eine kovalente Vernetzung zu bilden. Durch dieses Vorgehen konnten koordinativ vernetzte Beschichtungen, die selbst in Gegenwart von Ethylenamintetraessigsäure(EDTA)-Lösung stabil blieben (siehe Abbildung S5, Hintergrundinformationen), erhalten werden. Im Unterschied dazu kann EDTA gelöste, freie Brenzcatechin-Eisen(III)-Komplexe zersetzen.^[27]

Der statische Wasserkontaktwinkel verringerte sich mit steigender Inkubationszeit sowohl für die kovalenten als auch für die koordinativ vernetzten MI-dPG-Beschichtungen auf flachen Siliciumdioxidoberflächen, was für die Dicke der Beschichtung von Bedeutung ist (siehe Abbildung S6, Hintergrundinformationen). Sowohl die Dicke der Beschichtung als auch der Wasserkontaktwinkel erreichten im Gleichgewicht einen zeitlich konstanten Wert. Unterschiedliche Substrate wie oxidierte Metalloberflächen (Aluminium- und Titanoxid), anorganische Nichtmetalle (SiO_2 und Glas) und Polymere [Polytetrafluorethylen (PTFE), Polystyrol (PS)] wurden in Beschichtungsexperimenten getestet (Abbildung 1c). Unter Gleichgewichtsbedingungen erreichte der Wasserkontaktwinkel Werte zwischen 20° und 30° für die kovalent vernetzten Beschichtungen, und auch für die koordinativ vernetzten Beschichtungen wurden deutliche Veränderungen festgestellt. Dies lässt darauf schließen, dass die ursprünglichen Benetzungseigenschaften dieser Substratoberflächen mit Wasser vollständig durch die Beschichtung mit MI-dPG verändert wurden. Ferner konnte gezeigt werden, dass kovalent und koordinativ vernetzte MI-dPG-Beschichtungen auf PTFE durch die Inkubation mit Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS) selbst nach einem Monat kaum veränderte Wasserkontaktwinkel aufwiesen (siehe Abbildung S7, Hintergrundinformationen). Dies bestätigt die hohe Stabilität der Beschichtungen unter physiologischen Bedingungen.

Bei einer Röntgenphotoelektronenspektroskopie(XPS)-Analyse von vier unterschiedlichen Substratoberflächen (PS, PTFE, Glas, TiO_2), die zehn Minuten mit kovalent vernetztem MI-dPG behandelt wurden, konnte eine starke Veränderung charakteristischer Signale gegenüber den unbehandelten Oberflächen beobachtet werden (siehe Tabelle S1, Hintergrundinformationen). Die Kohlenstoff-, Stickstoff- und Sauerstoffkonzentrationen der beschichteten Oberflächen näherten sich den Werten des reinen MI-dPG-Polymers. Dies lässt darauf schließen, dass die Zusammensetzung der MI-dPG-Beschichtungen unabhängig von der Natur der Substratoberfläche ist. Die Signaländerungen auf den mit koordinativ vernetztem MI-dPG beschichteten Polystyroloberflächen ergaben sehr ähnliche Werte wie auf den kovalent vernetzten Beschichtungen, wobei ein zusätzliches Signal für Eisenionen detektiert wurde.

Die Oberflächenmorphologie für die beiden unterschiedlichen Beschichtungstypen wurde mithilfe eines Rasterelektronenmikroskops (SEM) beobachtet. Wie in Abbildung 2 zu sehen ist, wurde die Morphologie der Siliciumdioxidoberfläche vollständig durch die MI-dPG-Beschichtung zu einer rauen Struktur verändert. Dies bestätigt die Hypothese, dass die Muschel-inspirierten Beschichtungen durch vernetzte Aggregate gebildet werden. Es konnten bis zu mikrometergroße Aggregate auf der kovalent vernetzten Be-

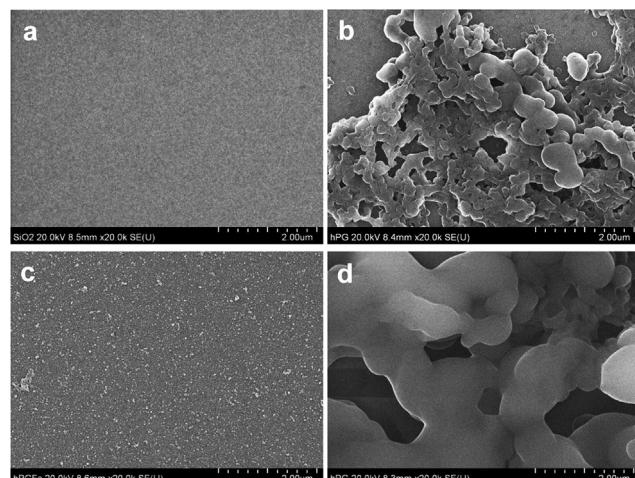


Abbildung 2. SEM-Aufnahmen einer a) reinen Siliciumdioxidoberfläche sowie einer mit MI-dPG beschichteten Oberfläche nach b) 10 min, d) 60 min und c) mit koordinativ vernetztem MI-dPG nach 12 h (bei 20000-facher Vergrößerung).

schichtung beobachtet werden; dagegen wurden deutlich kleinere Aggregate für die koordinativ vernetzten Beschichtungen gefunden (hochauflöste Rasterkraftmikroskopie-(AFM)-Bilder siehe Abbildung S8, Hintergrundinformationen). Nach zwölf Stunden Beschichtungszeit konnte ihre Größe nur im Nanometerbereich beobachtet werden. Wir möchten hervorheben, dass mithilfe der koordinativen Vernetzung (vgl. Abbildung 1d) wegen der schwachen Aggregation und der geringen Dicke eine farblose Beschichtung erhalten wurde. Bisher sind nur wenige materialunabhängige farblose, transparente Beschichtungen (wie Polyphenole und eine Mischung aus 2-Bromisobutyryl-substituiertem Dopamin und Dopamin) bekannt.^[29,30] Der Durchlässigkeitsgrad der koordinativ vernetzten Beschichtungen erreichte nach zwölf Stunden Beschichtungszeit etwa 97%. Demgegenüber verringerte sich die optische Transparenz der kovalenten Beschichtung bereits binnen fünf Minuten auf 90% und innerhalb von zehn Minuten auf 68%. Nach einer Stunde Beschichtungszeit konnte nur noch ein Wert von 12% gemessen werden.

MI-dPG-Beschichtungen können als universell modifizierbare Plattform für vielerlei Anwendungen genutzt werden. Funktionale Moleküle können sowohl auf die Beschichtung als auch direkt an das MI-dPG gekuppelt werden. Dieses ermöglicht eine Beschichtung innerhalb eines Schrittes (siehe Abbildung S9, Hintergrundinformationen). Thiol- und Aminogruppen anderer Moleküle können mit den Brenzcatechingruppen verknüpft werden,^[7,31] und gleichzeitig kann eine Vielzahl funktioneller Gruppen mit der großen Zahl verbleibender Aminogruppen der Beschichtung umgesetzt werden. Zusätzlich können die physikalischen Eigenschaften der Beschichtung durch deren Morphologie angepasst werden, die durch die Größe der kovalent vernetzten Aggregate kontrolliert werden kann.

Es wurde berichtet, dass eine hierarchische Struktur mit zwei Ebenen der Rauheit (mikro und nano), z.B. die Mikromorphologie eines Lotusblattes, abhängig von der Art der Oberflächenfunktionalität superhydrophile oder superhy-

drophobe Eigenschaften aufweist.^[32] Während Polydopaminbeschichtungen mit Mikro- und Nanometallpartikeln kombiniert werden müssen, um diese Eigenschaften zu erhalten,^[33] kann die kovalent vernetzte MI-dPG-Beschichtung direkt eine Lotus-analoge hierarchische Rauheit erzeugen. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde eine reine Glasoberfläche zehn und sechzig Minuten mit einer MI-dPG-Lösung inkubiert. Anfangs bildeten sich auf der Oberfläche einige mikrometergroße aggregierte Strukturen (vgl. Abbildung 2d). In den darauf folgenden zehn Minuten bildeten sich auf den mikrometergroßen Aggregaten viele aggregierte Partikel im Nanometerbereich, was zu einer hierarchischen rauen Struktur der Oberfläche führte (Abbildung 3). Der messbare Wasserkontaktwinkel verringerte sich auf 0°, was einer superhydrophilen Oberfläche entspricht. Nach einer kovalenten Perfluoralkyl-Funktionalisierung veränderte sich die Oberflächenmorphologie nicht, doch der Wasserkontaktwinkel erhöhte sich signifikant auf 166.5°, und die Oberflächenenergie erreichte etwa 0.5 mNm⁻¹. Dies liegt innerhalb der Werte einer superhydrophoben Oberfläche (siehe Abbildung 3 und Tabelle S2, Hintergrundinformationen).^[34] Weiterhin betrug die Kontaktwinkelhysterese lediglich 6.6°.

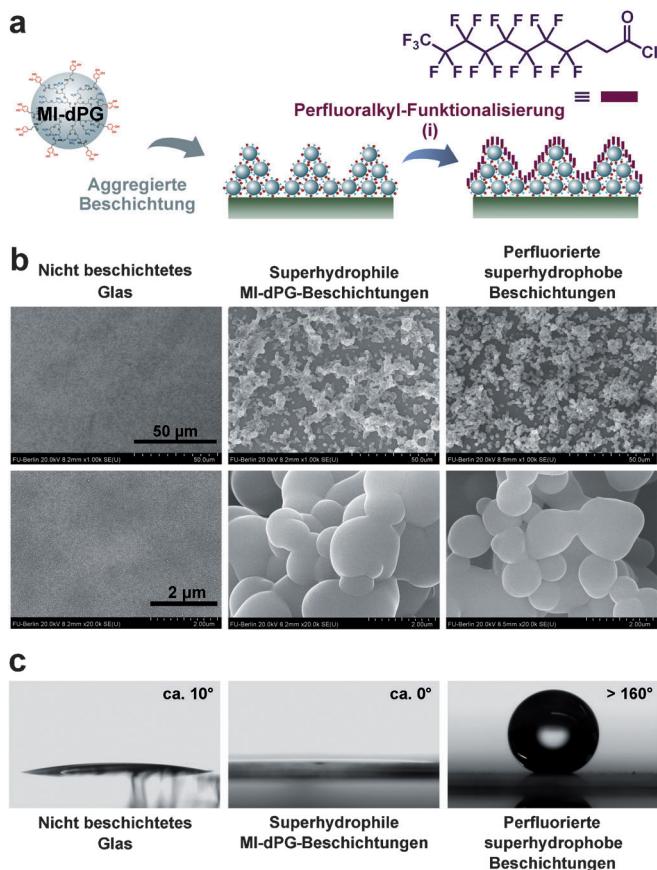


Abbildung 3. a) Schema der durch MI-dPG gebildeten superhydrophilen oder Perfluoralkyl-funktionalisierten superhydrophoben Beschichtungen. (i) 1 mg mL⁻¹ Heptadecafluorundecanoylchlorid mit 10 Äquiv. Triethylamin in Diethylether gelöst. b) Die Oberflächenmorphologie von nicht beschichtetem Glas und den superhydrophilen oder superhydrophoben Glasbeschichtungen; oben: tausendfache Vergrößerung; unten: zwanzigtausendfache Vergrößerung. c) Der zugehörige statische Wasserkontaktwinkel zu den oben gezeigten Oberflächen.

Aufgrund dieser Eigenschaften kann diese Beschichtung, die sowohl durch die wasserabweisenden Lotusblätter als auch durch die starke Anhaftung von Muschelproteinen inspiriert wurde, verwendet werden, um innovative, sich selbst reinigende Oberflächen zu entwickeln.

Kollagen A, das die Verankerung von Epithelzellen auf Oberflächen verstärkt,^[35] kann kovalent an das MI-dPG mithilfe einer Amid- oder Amin-Brenzatechinbindung gekuppelt werden. Zum Nachweis wurde eine Quarzkristallmikrowaage (QCM-D) mit einer Dissipationsanzeige verwendet, um die Menge an Kollagen A zu bestimmen, die auf der MI-dPG-Beschichtung immobilisiert werden konnte. Nach dem Waschen der Beschichtungen mit einer wässrigen 1-proz. Natriumdodecylsulfat(SDS)-Lösung konnten etwa 6.9 µg cm⁻² (auf der kovalenten Beschichtung) und 7.0 µg cm⁻² (auf der koordinativen Beschichtung) Kollagen A immobilisiert werden (siehe Abbildung S10, Hintergrundinformationen). Die Kupplungsschemikalien *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) könnten einen gewissen Grad an Vernetzung zwischen den Proteinen auslösen, doch durch die Befunde des Experiments konnte nachgewiesen werden, dass die Funktionalität der Proteine dadurch nicht beeinträchtigt wurde. Im Vergleich dazu konnte auf einer nicht beschichteten PS-Oberfläche nach dem Waschen mit 1-proz. SDS-Lösung lediglich 0.1 µg cm⁻² Kollagen A nachgewiesen werden. Nach dreitägiger Kultivierung von menschlichen Nabelvenen-Endothelzellen (HUVECs) konnten nur wenige Zellen ((11.2 ± 4.8) Zellen mm⁻²) auf der nicht beschichteten Polystyrol-Zellkultur-Oberfläche (TCPS) beobachtet werden (siehe Abbildung 4 und Abbildung S11, Hintergrundinformationen). Demgegenüber wurde eine sehr große Zahl an Zellen ((101.2 ± 22.8) bzw. (62.0 ± 17.2) Zellen mm⁻²) auf der mit Kollagen A immobilisierten, kovalent bzw. koordinativ vernetzten, MI-dPG-beschichteten TCPS-Oberfläche detektiert werden. Standard-HUVEC-Kulturschalen mit Kollagen A belegter TCPS-Oberfläche wurden als Vergleich genutzt. Nach dreitägiger Kultivierung konnten nur (45.6 ± 13.2) Zellen mm⁻² auf einer mit adsorbiertem Kollagen A belegten TCPS-Schale gefunden werden, weil das Protein unter den Zellkulturbedingungen nicht stabil auf der Oberfläche immobilisiert war und vom Puffer weggespült werden konnte. Lediglich (12.0 ± 6.4) Zellen mm⁻² konnten nach dem Spülen mit Puffer beobachtet werden. Damit ist kein Unterschied in der Anhaftung des Proteins gegenüber nicht behandelten TCPSs messbar. MI-dPG-Beschichtungen ohne immobilisierte Kollagen A verbesserten geringfügig, aber nicht signifikant die Anlagerung der HUVECs mit (33.2 ± 7.2) bzw. (30.0 ± 9.6) Zellen mm⁻² für die kovalenten bzw. koordinativen Beschichtungen. Dies zeigt, dass die MI-dPG-Beschichtungen eine gute Zytokompatibilität aufweisen, was bereits für Beschichtungen mit Polydopamin nachgewiesen werden konnte.^[36]

Zusammenfassend konnten wir ein Muschel-inspiriertes dendritisches Polyglycerol (MI-dPG) entwickeln, das effektiv die Muschelfußproteine in Bezug auf ihre funktionellen Gruppen, ihr Molekulargewicht und ihre molekulare Struktur nachahmt. Verglichen mit der ersten Generation der von Muscheln inspirierten Materialbeschichtungen (Polydopami-

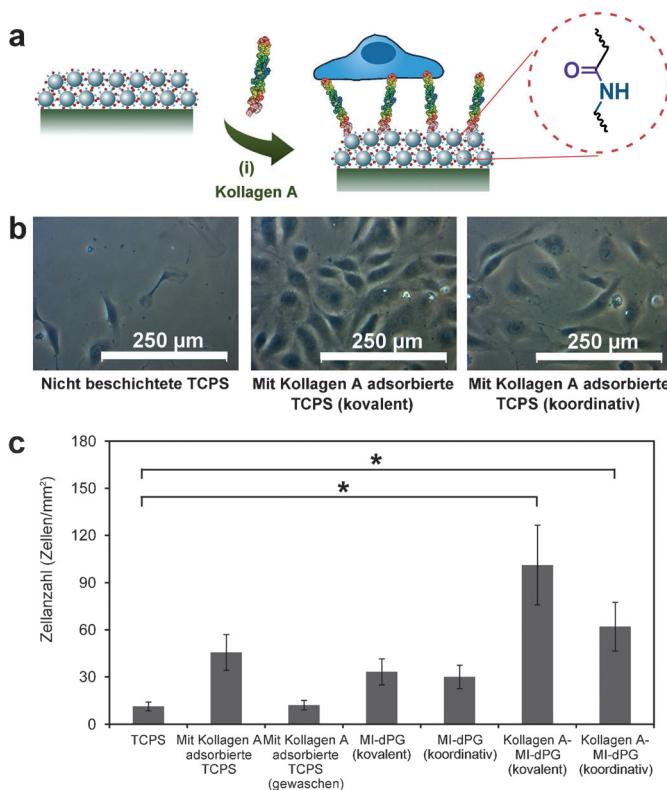


Abbildung 4. a) Schematische Skizze der über Amidbindungen mit Kollagen A postfunktionalisierten MI-dPG-Beschichtungen. (i) 0.1 mg mL⁻¹ Kollagen A, 0.01 mg mL⁻¹ *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) und 0.01 mg mL⁻¹ 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) in PBS für vier Stunden. b) Mikroskopische Bilder nach Anlage rung von menschlichen HUVECs auf reinen oder mit Kollagen A modifizierten Polystyrol-Gewebekultivierungsschalen (TCPS) nach dreitägiger Kultivierung. c) Zahl der HUVECs auf reinen und unterschiedlich funktionalisierten TCPS-Oberflächen nach dreitägiger Kultivierung (*: $p < 0.0001$).

ne) profitiert die hier erstmals vorgestellte MI-dPG-Beschichtung von ihrem heteromultivalenten Charakter und ihrem hohen Molekulargewicht (nach Aggregation), was sie zu einem sehr stark anhaftenden Polymer macht. MI-dPG kann sich sehr schnell auf jedem beliebigen Material verankern und mithilfe einer kovalenten Vernetzung erstaunlich dicke Schichten innerhalb von nur zehn Minuten bilden, womit dieses Verfahren so schnell ist, wie die Bildung und Härtung der Byssusplaques von Muscheln in der Natur. Außerdem konnte eine Ionen-basierte koordinative Vernetzung der MI-dPG-Moleküle erhalten werden, die dünne und farblose Beschichtungen ermöglicht. Bis jetzt sind lediglich Polyphenol-basierte Tannine, die ähnliche Beschichtungseigenschaften aufweisen, bekannt.^[37] Weiterhin könnten wegen der mannigfaltigen aktiven Gruppen in der Beschichtung und wegen der kontrollierbaren Morphologie der Oberfläche verschiedenartigste weiterführende Modifikationen für unterschiedlichste Anwendungen durchgeführt werden.

Außer der auf Brenzcatechingruppen basierenden Oberflächenchemie nutzen Muscheln auch Mfp-6, das Chinone zurück zu Brenzcatechingruppen reduziert, um so die Bindung und Vernetzung in Haftsichten anzupassen.^[38] Des

Weiteren verwenden sie so genannte „langsame“ Muschel-fußproteine, Mfp-3s, um die hydrophoben Wechselwirkungen zu verstärken und so die Verankerung zu verbessern, weil die Autoxidation der Brenzcatechingruppen einfach vonstatten geht und deshalb die Adhäsion nachlassen würde.^[39] Die Verankerung der Muschel mithilfe des Byssusapparates hingegen ist sehr viel komplexer als ein einfaches Konzept auf Brenzcatechinbasis. Somit wird die Mimikry der Muschelproteine auch weiterhin eine Quelle der Inspiration bleiben, um innovative Biomaterialien zu entwickeln.

Eingegangen am 11. Juli 2014
Online veröffentlicht am 8. September 2014

Stichwörter: Bioinspirierte Materialien · Dendrimere · Multifunktionalisierung · Polymere · Oberflächenchemie

- [1] S. R. Meyers, M. W. Grinstaff, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 1615–1632.
- [2] Q. Wei, T. Becherer, S. Angioletti-Uberti, J. Dzubiella, C. Wischke, A. Neffe, A. Lendlein, M. Ballauff, R. Haag, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 8004–8031; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 8138–8169.
- [3] C. D. Bain, G. M. Whitesides, *Science* **1988**, *240*, 62–63.
- [4] M. Ulbricht, M. Riedel, U. Marx, *J. Membr. Sci.* **1996**, *120*, 239–259.
- [5] G. Decher, *Science* **1997**, *277*, 1232–1237.
- [6] G. L. Gaines, R. W. Roberts, *Nature* **1963**, *197*, 787–788.
- [7] H. Lee, S. M. Dellatore, W. M. Miller, P. B. Messersmith, *Science* **2007**, *318*, 426–430.
- [8] S. M. Kang, J. Rho, I. S. Choi, P. B. Messersmith, H. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13224–13225.
- [9] D. R. Dreyer, D. J. Miller, B. D. Freeman, D. R. Paul, C. W. Bielawski, *Chem. Sci.* **2012**, *4*, 3796–3802.
- [10] J. H. Waite, *Results Probl. Cell Differ.* **1992**, *19*, 27–54.
- [11] M. J. Harrington, A. Masic, N. Holten-Andersen, J. H. Waite, P. Fratzl, *Science* **2010**, *328*, 216–220.
- [12] E. W. Danner, Y. J. Kan, M. U. Hammer, J. N. Israelachvili, J. H. Waite, *Biochemistry* **2012**, *51*, 6511–6518.
- [13] B. P. Lee, P. B. Messersmith, J. N. Israelachvili, J. H. Waite, *Annu. Rev. Mater. Res.* **2011**, *41*, 99–132.
- [14] H. Lee, N. F. Scherer, P. B. Messersmith, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 12999–13003.
- [15] L. A. Burzio, J. H. Waite, *Biochemistry* **2000**, *39*, 11147–11153.
- [16] E. Faure, C. Falentin-Daudré, C. Jérôme, J. Lyskawa, D. Fourrier, P. Woisel, C. Detrembleur, *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 236–270.
- [17] J. R. Jeon, J. H. Kim, Y. S. Chang, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 6501–6509.
- [18] M. Calderón, M. A. Quadir, S. K. Sharma, R. Haag, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 190–218.
- [19] C. Fasting, C. A. Schalley, M. Weber, O. Seitz, S. Hecht, B. Koksch, J. Dernedde, C. Graf, E. W. Knapp, R. Haag, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10472–10498; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 10622–10650.
- [20] Q. Wei, T. Becherer, P.-L. M. Noeske, I. Grunwald, R. Haag, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 2688–2693.
- [21] N. F. Della Vecchia, R. Avolio, M. Alfè, M. E. Errico, A. Napolitano, M. d'Ischia, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 1331–1340.
- [22] J. Liebscher, R. Mrówczyński, H. A. Scheidt, C. Filip, N. D. Hädade, R. Turcu, A. Bende, S. Beck, *Langmuir* **2013**, *29*, 10539–10548.
- [23] M. J. LaVoie, B. L. Ostaszewski, A. Weihofen, M. G. Schlossmacher, D. J. Selkoe, *Nat. Med.* **2005**, *11*, 1214–1221.

- [24] D. R. Dreyer, D. J. Miller, B. D. Freeman, D. R. Paul, C. W. Bielawski, *Langmuir* **2012**, *28*, 6428–6435.
- [25] S. Hong, Y. S. Na, S. Choi, I. T. Song, W. Y. Kim, H. Lee, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 4711–4717.
- [26] Q. Wei, F. L. Zhang, J. Li, B. J. Li, C. S. Zhao, *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 1430–1433.
- [27] N. Holten-Andersen, M. J. Harrington, H. Birkedal, B. P. Lee, P. B. Messersmith, K. Y. C. Lee, J. H. Waite, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 2651–2655.
- [28] H. Xu, J. Nishida, W. Ma, H. Wu, M. Kobayashi, H. Otsuka, A. Takahara, *ACS Macro Lett.* **2012**, *1*, 457–460.
- [29] M. Kohri, H. Kohma, Y. Shinoda, M. Yamauchi, S. Yagai, T. Kojima, T. Taniguchi, K. Kishikawa, *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 2696–2702.
- [30] T. S. Sileika, D. G. Barrett, R. Zhang, K. H. A. Lau, P. B. Messersmith, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 10766–10770; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 10966–10970.
- [31] Q. Wei, B. J. Li, N. Yi, B. H. Su, Z. H. Yin, F. L. Zhang, J. Li, C. S. Zhao, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2011**, *96*, 38–45.
- [32] X. J. Feng, L. Jiang, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 3063–3078.
- [33] L. Zhang, J. J. Wu, Y. X. Wang, Y. H. Long, N. Zhao, J. Xu, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 9879–9881.
- [34] X. Zhang, F. Shi, J. Niu, Y. Jiang, Z. Wang, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 621–633.
- [35] G. A. Di Lullo, S. M. Sweeney, J. Korkko, L. Ala-Kokko, J. D. San Antonio, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 4223–4231.
- [36] K. Kang, I. S. Choi, Y. Nam, *Biomaterials* **2011**, *32*, 6374–6380.
- [37] H. Ejima, J. J. Richardson, K. Liang, J. P. Best, M. P. van Koeverden, G. K. Such, J. W. Cui, F. Caruso, *Science* **2013**, *341*, 154–157.
- [38] J. Yu, W. Wei, E. Danner, R. K. Ashley, J. N. Israelachvili, J. H. Waite, *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 588–590.
- [39] W. Wei, J. Yu, C. Broomell, J. N. Israelachvili, J. H. Waite, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 377–383.