

# Wässrige Selbstorganisation von rein hydrophilen Blockcopolymeren hin zu Riesenvesikeln\*\*

Sarah M. Brosnan,\* Helmut Schlaad\* und Markus Antonietti

**Abstract:** Die Selbststrukturierung von Makromolekülen ist ein grundlegender Prozess des Lebens; historisch wurden diese Vorbilder durch die Entwicklung amphiphiler Polymere nachgebildet, deren Strukturbildung durch den hydrophoben Effekt getrieben wird. Hier zeigen wir, dass auch rein hydrophile Systeme leicht zur Selbstorganisation gebracht werden können. Dazu synthetisierten wir doppelt hydrophile Blockcopolymere aus Polysacchariden und Poly(ethylenoxid) oder Poly(sarcosin) mit hoher Molmasse durch Oximchemie. Diese hydrophilen Stoffe können sich einfach zu polymeren Vesikeln im Nanometer- (< 500 nm) oder Mikrometerbereich (> 5 µm) organisieren, in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration und der relativen Zusammensetzung. Wegen der rein hydrophilen Natur dieser Polymere erwarten wir äußerst wasser-durchlässige Mikrokompimente, die sich gut als Modelle für Zellen eignen sollten.

Selbstorganisationsprozesse sind entscheidend für das Leben. Das wohl bekannteste Beispiel dafür ist die Zellmembran, die auf der Bildung einer Phospholipid-Doppelschicht basiert. Wissenschaftler haben mit synthetischen Versionen dieser selbstorganisierten Membranen (Liposomen) über Dekaden hinweg gearbeitet; in den letzten Jahren wurden dazu „Polymersomen“ als robuste Alternative zu den Liposomen entwickelt, die dazu auch eine größere präparative Diversität aufweisen.<sup>[1–9]</sup> Üblicherweise wird angenommen, dass diese Systeme notwendigerweise amphiphil sein müssen: hergestellt aus hydrophil-hydrophoben Blockcopolymeren. In Wasser aggregieren die hydrophoben Segmente zu kleinen Mikrophasen.<sup>[10]</sup> Dieser Vorgang führt zu wohldefinierten Strukturen, aber die resultierenden Systeme sind immer beschränkt durch die Grenzen, die die Amphiphilie setzt, und die entstehende hydrophobe Membran repräsentiert eine (gewollte oder auch in diesem Umfang nicht ge-

wollte) Barriere für den Transport hydrophiler Substanzen. Eine solche Selbstorganisation von kleinen Molekülen und Polymeren zu supramolekularen Objekten ist jedoch nicht notwendigerweise auf den hydrophoben Effekt beschränkt, sondern kann von verschiedenen primären Wechselwirkungen getrieben werden (z. B. van-der-Waals- und ionische Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrücken).<sup>[11–13]</sup>

Ein interessantes Beispiel für nicht-amphiphile Phasentrennung ist die Wasser/Wasser-Entmischung, wie sie z. B. genutzt wird, um Aminosäuren, Peptide und Zellen zu reinigen und zu trennen.<sup>[13]</sup> Hochgradig wasserlösliche Makromoleküle sind unter bestimmten Umständen nicht mischbar, und dieses Prinzip wurde unseres Wissens noch nicht für die Selbstorganisation definierter Aggregatstrukturen genutzt. Die treibende thermodynamische Kraft für diese Entmischung ist die Konkurrenz um das Wasser – oder anders ausgedrückt: Das chemische Potential (oder auch der osmotische Druck) in allen kommunizierenden Subphasen muss gleich sein, und als Folge müssen bei Polymeren mit wechselnder Hydrophilie ihre Konzentrationen in den Subphasen verschieden sein. Diese Entmischung kreiert eine Wasser-in-Wasser-Emulsion (ein aktuelles Beispiel stammt von Nguyen et al.<sup>[14]</sup>), was nahelegt, dass auch Selbstorganisation eintreten kann, sofern beide Subphasen miteinander kovalent verknüpft sind. Die resultierenden „Wasser-in-Wasser-in-Wasser“-Systeme (dieser Terminus impliziert, dass die trennende Membran selbst großenteils aus Wasser besteht) würden effektiv aus getrennten, aber direkt benachbarten Wasserpools bestehen, zwischen denen ein vergleichsweise freier Transport kleinerer Moleküle möglich wäre. Man kann daher annehmen, dass der resultierende, von der Konkurrenz um Wasser getriebene Selbstorganisationsmechanismus die Möglichkeiten von Aggregatstrukturen deutlich über diejenigen typischer Seifenmicellen oder amphiphiler Strukturen hinaus erweitern kann.

Wir sind nicht die Ersten, die an dieser Idee arbeiten, und Aggregation von doppelt hydrophilen Blockcopolymeren wurde bereits beschrieben.<sup>[15–18]</sup> Taubert et al. zeigten, dass doppelt hydrophile Blockcopolymere lyotrope Mesophasen in Wasser bilden können, was die Autoren einfach mit Polarisationsmikroskopie visualisieren konnten. Sie schlugen vor, dass die Mesophasen nur aus Schichten von Wasser bestehen, die vom Diblock getrennt sind.<sup>[17]</sup> Blanazs et al. nutzten ebenfalls dieses Prinzip der Phasentrennung, bei dem ein Unterschied im osmotischen Druck nur durch Trennung der beiden Polymere ausgeglichen werden kann. Sie berichteten, dass sich die wässrigen Lösungen (oder eher viskosen Gele) aus Poly(ethylenglycol)-*block*-poly(2-(methacryloyloxy)-ethylphosphorylcholin) zu geordneten Phasen organisieren, und beobachteten die Bildung lamellarer und hexagonal ge-

[\*] Dr. S. M. Brosnan, Prof. M. Antonietti  
Abteilung Kolloidchemie  
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung  
Research Campus Golm, 14424 Potsdam (Deutschland)  
E-Mail: sarah.brosnan@mpikg.mpg.de

Prof. H. Schlaad  
Institut für Chemie, Universität Potsdam  
Karl-Liebknecht-Straße 24-25, 14476 Potsdam (Deutschland)  
E-Mail: schlaad@uni-potsdam.de

[\*\*] Diese Arbeit wurde unterstützt von der NSF (Forschungstipendium in Biologie unter der Fördernr. DBI-1308104) und der Max-Planck-Gesellschaft. Wir möchten Marlies Gräwert (GPC), Antje Völkel (AUC), Charlotte Vacogne (cryo-SEM), Heike Runge (cryo-SEM) und Ina Dambowsky (Filme) für ihre technische Hilfe danken.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201502100> zu finden.

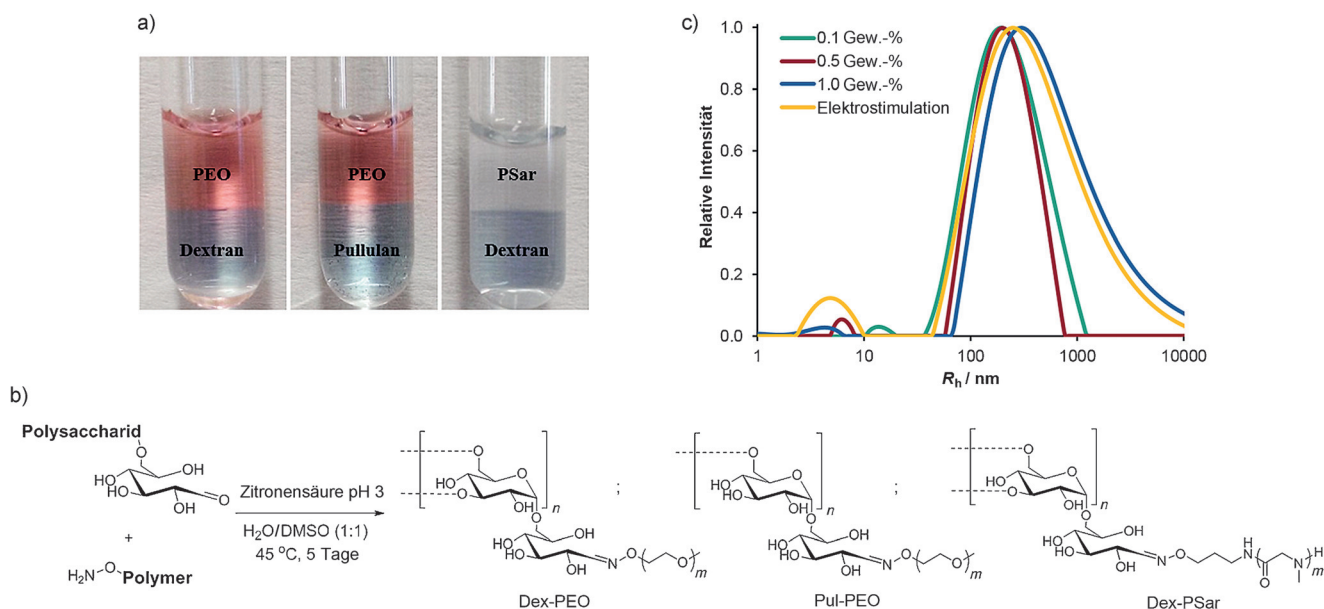
packter Strukturen im Konzentrationsbereich  $> 40\%$ . Dies wurde durch Kleinwinkel- und Weitwinkelröntgenstreuung bestätigt.<sup>[15]</sup> Diese Beispiele illustrieren, dass das Konzept rein hydrophiler Phasentrennung hin zu organisierten Strukturen tragfähig ist, aber geordnete micellare oder vesikuläre Aggregate wurden bisher nicht beschrieben.

Allerdings konnten Casse et al. in verdünnter Lösung eines Poly(ethylenglycol)-*block*-poly(2-methyl-2-oxazolin)-Copolymers die Gegenwart einiger weniger, kleiner, gequollener Aggregate bestätigen.<sup>[16]</sup> Sie kamen zum Schluss, dass nur ein kleiner Teil der Polymerlösung zur Aggregatbildung beiträgt; es gab erste Hinweise für die Bildung von Vesikeln, aber die exakte Bestimmung der Natur der Aggregate erwies sich für das gewählte System wegen ihrer sehr kleinen Zahl und Größe als außerordentlich schwierig.

Wir nahmen daher an, dass die sorgfältige Auswahl des Polymersystems erst die robuste Aggregation von hydrophilen Systemen zu vesikulären Strukturen (idealerweise nutzbar als Zellmimetika) ermöglicht. Hierzu synthetisierten wir drei verschiedene, doppelt hydrophile Blockcopolymere mit der Voraussetzung, dass beide Blöcke hydrophil, nicht ionisch und nicht mischbar sind, wenn die entsprechenden Lösungen der reinen Homopolymere gemischt werden (Abbildung 1A). Inspiriert von traditionellen zweiphasigen Wassersystemen synthetisierten wir die Blöcke Dextran-*block*-poly(ethylenoxid) (Dex-PEO), Pullulan-*block*-poly(ethylenoxid) (Pul-PEO) und Dextran-*block*-poly(sarcosin) (Dex-PSar). Die Blocklängen waren ungefähr gleich und lagen im höheren Molekulargewichtsbereich (ca.  $20 \text{ kg mol}^{-1}$ ; das ergibt Diblocke mit ungefähr  $40 \text{ kg mol}^{-1}$ ; Tabellen S1–S3 der Hintergrundinformationen), um die Nichtmischbarkeit zu erhöhen und so hoffentlich die Selbstorganisation zu fördern.<sup>[19]</sup>

Die Blöcke konnten elegant synthetisiert werden, indem man den Gleichgewichtszustand des einen Polysaccharidterminus als Aldehydendgruppe nutzte, um diese unter milden Bedingungen (eine Zitronensäurelösung bei pH 3 wird 1:1 mit Dimethylsulfoxid gemischt) mit einer Hydroxylamin-terminierten Endgruppe von entweder PEO oder PSar (beide monofunktionalisiert; Abbildung 1b) umzusetzen.<sup>[20–26]</sup> Dieser Kupplungsansatz ergibt ein doppelt hydrophiles Blockcopolymer (DHBC), das über eine hydrolytisch stabile Oximbindung verknüpft ist, deren Gegenwart zudem einfach über  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestimmt werden kann. Die scheinbare Molmasse wurde mithilfe von Größenausschlusschromatographie (SEC) bestimmt (Abbildungen S1–S10 und Graphen S1–S3). Um die Bildung von Diblocks zu bestätigen, wurde zusätzlich zu den Standardmethoden der Polymercharakterisierung auch analytische Ultrazentrifugation (AUC) genutzt (Abbildungen S11 und S12).<sup>[27]</sup> Diese Messung ist bedeutsam, weil wir zum jetzigen Zeitpunkt nur die Selbstorganisation der Blöcke alleine studieren wollen und nicht die der Mischungen mit Homopolymeren. Die Gegenwart solcher Homopolymere lässt sich wegen genereller Schwierigkeiten bei der Polysaccharidreinigung nicht vollständig ausschließen, aber auf Basis aller analytischen Methoden kann der relative Gehalt an Homopolymer insgesamt als niedrig angesehen werden ( $< 15\%$ ).

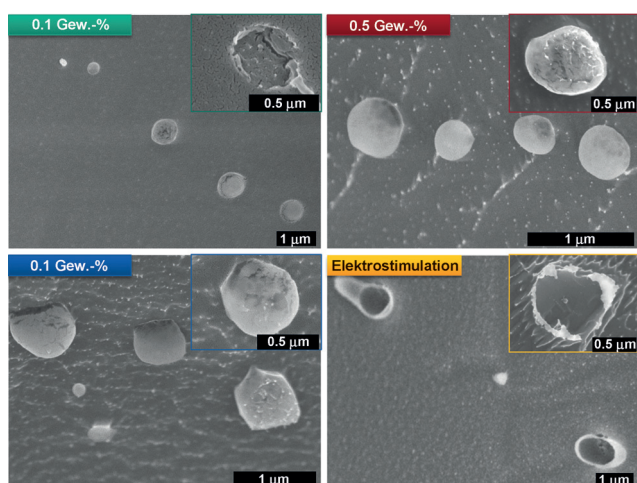
Zunächst entsprach unser Ansatz zur Selbstorganisation doppelt hydrophiler Blockcopolymere noch dem üblichen für amphiphile Systeme: Arbeiten bei nur sehr kleinen Konzentrationen, hier beispielhaft Dex-PEO-Diblockcopolymer. Es wurden sowohl direktes Auflösen bei niedrigen Konzentrationen (0.1, 0.5 und 1.0%, wie bei Seifen) als auch feldstimulierte Bildungsmethoden (wie bei Lipiden, Endkonzentration bei ca. 0.5%) angewendet,<sup>[28]</sup> um zu geordneten



**Abbildung 1.** Selbstorganisation von doppelt hydrophilen Blockcopolymeren. a) Trennung in zwei wässrige Phasen erfolgt in den Mischungen der Homopolymere Dextran, Pullulan, Poly(ethylenoxid) und Poly(sarcosin) (Farbstoffe wurden zugefügt, um die Entmischung deutlicher zu machen). b) Synthese der DHBCs durch Kupplung eines Hydroxylamin-modifizierten Poly(ethylenoxids) oder Poly(sarcosins) mit Dextran oder Pullulan. c) DLS der direkten Lösung bei verschiedenen Konzentrationen und Elektrodelamination, die definierte Aggregate zeigen (am Beispiel des Dex-PEO-Diblockcopolymers).

Strukturen zu gelangen. Dynamische Lichtstreuung (DLS) wurde als schnelle Screening-Methode genutzt, um die Gegenwart von Aggregaten sowie einen signifikanten Unterschied der Diblockcopolymere zu den Lösungen der Homopolymere und Mischungen von Homopolymeren festzustellen (Abbildung S14 und Graph S4). Direktes Auflösen bedurfte sehr langer Wartezeiten für die Bestimmung konstanter Aggregate (wohl eine Folge des hohen Molekulargewichts und der Wechselwirkungen des Systems), aber wir konnten definierte Aggregate nach sieben Tagen mit DLS beobachten (Abbildung 1c). Die Aggregate wiesen hydrodynamische Radien ( $R_h$ ) von ungefähr 250 nm für die kleinsten Konzentrationen und  $>700$  nm bei den höheren Konzentrationen auf. Bei der elektrostimulierten Bildung wurden sofort kleine Aggregate in den Lösungen gefunden. Die Analyse der äquilibrierten Lösungen nach direktem Auflösen mithilfe statischer Lichtstreuung (SLS) ließ zumindest für Einzelexperimente auf vesikuläre Strukturen schließen (Abbildung S13). Der Trägheitsradius ( $R_g$ ) dieser Strukturen lag zwischen 195 und 289 nm, und zumindest für die kleinste, 0,5-prozentige Lösung konnte das charakteristische Verhältnis  $R_g/R_h$  zu ungefähr 0,93 bestimmt werden, was einer Hohlkugelgeometrie sehr nahe kommt.<sup>[29]</sup>

Ein noch deutlicherer Beleg für den vesikulären Charakter der selbstorganisierten Aggregate konnte durch Elektronenmikroskopie erhalten werden. Üblicherweise nutzt man kryogene Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) für eine solche Bestätigung, in unserem Fall ist das System aber hauptsächlich aus Wasser aufgebaut und hat damit einen nur geringen Elektronenkontrast. Kryogene Rasterelektronenmikroskopie, wie sie oft bei biologischen Systemen eingesetzt wird, erwies sich als wesentlich geeigneter, und wir konnten unser System, hier beispielhaft Dex-PEO (Abbildung 2), einfach nach Gefrierbruch abbilden. In allen Fällen konnten wir als Hauptereignis Aggregatstrukturen mit ähnlicher Größe wie der durch DLS bestimmten finden; weitergehend konnte beobachtet werden, dass diese Strukturen tatsächlich selbstorganisierte Polymervesikel und keine festen Partikel oder kugelförmige Gelpartikel sind. Die



**Abbildung 2.** Kryogene Rasterelektronenmikroskopie nach direktem Auflösen und elektrostimulierter Dispersion von Dex-PEO. Die Einschübe zeigen Vergrößerungen der Aggregate, in allen Fällen Vesikel.

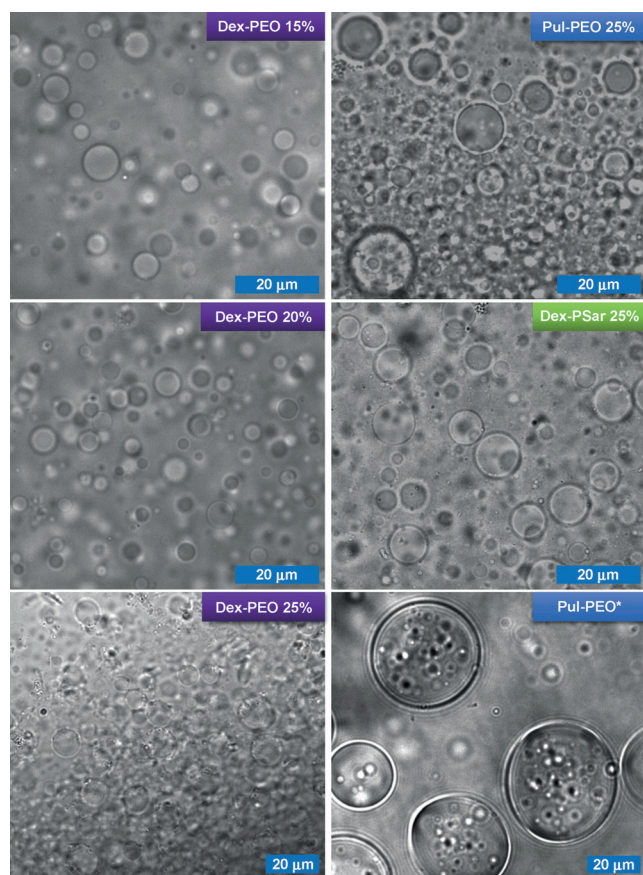
Feinstruktur der Wassermembran ist im Moment noch unbekannt, steht aber im Mittelpunkt weiterer Versuche. Die hier gezeigten Aggregate haben erwartungsgemäß zumindest eine deutlich dickere Membran (10–30 nm) als übliche liposomale oder Zellmembranen. Da die vorliegenden Vesikel aber keine amphiphile Natur haben, sollte man sie nicht als „Polymersomen“ klassifizieren. Es scheint eher passend, sie als „Aquanellen“ („kleine Wassereinheiten“) zu bezeichnen. Unser sehr stabiles und definiertes System ermöglicht es damit zu zeigen, dass sich doppelt hydrophile Strukturen zu vesikulären Strukturen selbstorganisieren können.

Die SEM-Analysen zeigten Partikel, die groß genug sind, um auch mit optischer Mikroskopie detektiert werden zu können, und unser Ziel war nun, noch größere Aggregate herzustellen. Für Liposomen und amphiphile Polymersomen erfolgt dies typischerweise durch elektrostimierte Dispersion, und so genannte Riesenvesikel („giant vesicles“) können als wohldefinierte Strukturen erhalten werden. Für experimentell übliche Konzentrationen konnten für DHBCs mit dieser Technik jedoch keine größeren Strukturen erhalten werden, und unsere besten Resultate ergaben nur einige wenige, fragmentierte Partikel mit einer Größe von ca. 1 µm. Eine gründliche Variation der Parameter und alternative Techniken ergaben ebenfalls weder mehr noch größere Aggregate. A posteriori ist diese Beobachtung nicht überraschend, da die elektrostimierte Bildung von Strukturen vom Aufbau eines lokalen elektrischen Feldes über den Lipid- oder Polymerfilm hinweg abhängt, was in einem leitfähigen, rein wässrigen System naturgemäß schwieriger ist.<sup>[30]</sup>

Der Weg zu organisierten Riesensystemen war aber dann einfach und direkt. Im Unterschied zu amphiphilen Systemen wird in unserem System Wasser nicht aus der Zwischenmembran ausgeschlossen, um Mikrophasentrennung und Organisation zu erzielen. Die Verwendung höherer Polymerkonzentrationen ermöglicht es jedoch, dass die osmotische Konkurrenz um das Wasser zu deutlich höheren Konzentrationen an Polymer innerhalb der Grenzschicht führt, was die Membran deutlich stabilisiert. Unter der Berücksichtigung, dass Polysaccharide pro Monomereinheit mehr als zehn Wassermoleküle stark binden,<sup>[31]</sup> während PEO nur ungefähr drei Wassereinheiten pro Wiederholungseinheit direkt koordiniert (die direkte Hydratation von PSar ist nicht bekannt, wird aber als vergleichbar mit der von PEO eingeschätzt),<sup>[32]</sup> wird die Membranschicht (in unserem Fall PEO oder PSar) durch den osmotischen Zug deutlich höher konzentriert vorliegen, als es die formale Einwaage suggeriert. Bei kleinen Konzentrationen ( $<1\%$ ), ist die Polymerkonzentration innerhalb der Membran (z. B. ca. 5 %) aber immer noch zu klein, um relevante Viskoelastizität und Stabilität zu generieren, und die Vesikel werden durch elektrischen oder mechanischen Stress zerrissen.

Vor diesem Hintergrund wurde die Selbstorganisation bei höheren Konzentrationen untersucht (Abbildung 3). Allein durch Steigern der Konzentration auf über 10 Gew.-% konnten auf einfache Weise Riesenvesikel im Größenbereich von 2 bis 20 µm hergestellt werden. Für die hier besprochenen doppelt hydrophilen Blockcopolymere konnten wir ein oberes Konzentrationslimit von ca. 25 Gew.-% bestimmen; danach wurden die Lösungen zu viskos, um sie mit den





**Abbildung 3.** Aufnahmen von DHBC-Riesenvesikeln oder „Aquanellen“ mit optischer Mikroskopie. Die linke Spalte zeigt Strukturen, die aus Dex-PEO bei verschiedenen Konzentrationen entstehen (25–15%). Die rechte Spalte zeigt, dass diese Aquanellen auch aus Pul-PEO (oben) und Dex-PSar (Mitte) gebildet werden können. Diese Riesenvesikel können auch eingefroren werden und bilden sich beim Auftauen wieder zurück (unten, Pul-PEO\*).

vorgestellten Methoden zu verarbeiten. Unterhalb von 10 Gew.-% wiederum ergaben sich die schon beschriebenen kleineren Fragmente. Die benötigte Polymer-Gesamtkonzentration ist aus der Biologie bekannt und entspricht im Größenbereich derjenigen des „macromolecular crowding“ (und Organisation), das man im Zellplasma biologischer Zellen beobachtet.<sup>[33]</sup> Die Resultate waren nicht spezifisch für das Dex-PEO-System, und ähnliche komplexe Riesenkompimente konnten auch aus Pul-PEO und Dex-PSar gebildet werden. Diese Riesenvesikel waren mehr als sieben Tage lang stabil und konnten sogar eingefroren und wiedergebildet werden (wenngleich es unwahrscheinlich ist, dass die individuellen Vesikel als solche den Prozess „überleben“; wahrscheinlicher ist eine Wiederherstellung beim Erwärmen). Bei den Experimenten konnten wir weiterhin Prozesse wie Fusion, Aufbrechen und Verkapselung beobachten, die typisch für Vesikel sind, aber nicht bei Gelpartikeln beobachtet werden (siehe Filme 1 und 2 sowie Abbildungen S15–16).

Hier wurde erstmals die stabile Selbstorganisation von rein doppelt hydrophilen Blockcopolymeren hin zu vesikulären Aggregaten beschrieben. Wählt man für die Blockbildung Polymere, die miteinander in Wasser nicht mischbar

sind (hier: Polysaccharide, Poly(ethylenoxid) und Poly(sarcosin)), können Polymervesikel im Bereich von 100 nm bis 1 µm oder „biomimetische“, komplexe Strukturen in rein wässriger Lösung erhalten werden. Wir nennen diese Systeme „Aquanellen“, da alle sich bildenden Subphasen wässrig sind. Wir erwarten, dass die so erhaltenen Aggregatstrukturen ein neues Hilfsmittel für eine ganze Reihe interessanter Experimente sein werden, besonders dort, wo Trennung in verschiedene wässrige Kompartimente auf der Skala von Mikroz- zu Nanometern relevant ist, z. B. für gezielten Transport, als Nanoreaktoren oder zum Aufbau von Enzymkaskaden miteinander unverträglicher oder inhibierender Systeme. Aquanellen sind wohl auch geeignet, um als Modellzellen und -organellen zu fungieren, da sie nicht nur praktisch barrierefreie Membranen für niedermolekulare Substanzen aufweisen, sondern auch funktionell stark durch ihre innere Kompartimentierung kontrolliert sind, ein Effekt, der in biologischen Zellen als „macromolecular crowding effect“ bekannt ist.

**Stichwörter:** Blockcopolymere · Polymersomen · Polysaccharide · Selbstorganisation · Vesikel

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 9715–9718  
*Angew. Chem.* **2015**, 127, 9851–9855

- [1] B. M. Discher, Y.-Y. Won, D. S. Ege, J. C.-M. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, D. A. Hammer, *Science* **1999**, 284, 1143–1146.
- [2] D. E. Discher, F. Ahmed, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2006**, 8, 323–341.
- [3] K. Letchford, H. Burt, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2007**, 65, 259–269.
- [4] D. M. Vriezema, M. Comellas Aragonès, J. A. A. W. Elemans, J. J. L. M. Cornelissen, A. E. Rowan, R. J. M. Nolte, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 1445–1489.
- [5] G. N. Grover, H. D. Maynard, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, 14, 818–827.
- [6] J. Sun, X. Chen, C. Deng, H. Yu, Z. Xie, X. Jing, *Langmuir* **2007**, 23, 8308–8315.
- [7] L. Zhang, A. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 3168–3181.
- [8] L. Zhang, A. Eisenberg, *Science* **1995**, 268, 1728–1731.
- [9] L. Luo, A. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 1012–1013.
- [10] M. Antonietti, S. Förster, *Adv. Mater.* **2003**, 15, 1323–1333.
- [11] C. F. J. Faul, M. Antonietti, *Adv. Mater.* **2003**, 15, 673–683.
- [12] P. J. Flory, *J. Chem. Phys.* **1942**, 10, 51.
- [13] *Partitioning in Aqueous Two-Phase System: Theory, Methods, Uses, And Applications To Biotechnology* (Hrsg.: H. Walter, D. E. Brooks, D. Fisher), Academic Press, San Diego, **1985**.
- [14] B. T. Nguyen, W. Wang, B. R. Saunders, L. Benyahia, T. Nicolai, *Langmuir* **2015**, 31, 3605–3611.
- [15] A. Blanz, N. J. Warren, A. L. Lewis, S. P. Armes, A. J. Ryan, *Soft Matter* **2011**, 7, 6399.
- [16] O. Casse et al., *Macromolecules* **2012**, 45, 4772–4777.
- [17] A. Taubert, E. Furrer, W. Meier, *Chem. Commun.* **2004**, 2170–2171.
- [18] C. Valverde Serrano, Dissertation, Universität Potsdam, **2011**.
- [19] S. Jain, F. S. Bates, *Science* **2003**, 300, 460–464.
- [20] R. Novoa-Carballal, A. H. E. Müller, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 3781–3783.
- [21] T. L. Schlick, Z. Ding, E. W. Kovacs, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 3718–3723.

- [22] J. Aggen, P. Fatheree, M. S. Linsell, D. D. Long, D. Marquess, E. J. Moran, M. B. Nodwell, S. D. Turner, *Cross-Linked Glycopeptide-Cephalosporin Antibiotics*, **2003**, WO2003031449A2.
- [23] Z. Miao, J. Liu, T. Norman, R. Driver, Compositions Containing, Methods Involving, and Uses of Non-Natural Amino Acids and Polypeptides, **2006**, WO2006069246A3.
- [24] J. W. Robinson, C. Secker, S. Weidner, H. Schlaad, *Macromolecules* **2013**, *46*, 580–587.
- [25] L. Ilić, K. Jeremić, S. Jovanović, *Eur. Polym. J.* **1991**, *27*, 1227–1229.
- [26] K. Jeremić, L. Ilić, S. Jovanović, *Eur. Polym. J.* **1985**, *21*, 537–540.
- [27] P. Schuck, *Biophys. J.* **2000**, *78*, 1606–1619.
- [28] Y. Li, R. Lipowsky, R. Dimova, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 4731–4736.
- [29] J. P. Patterson, M. P. Robin, C. Chassenieux, O. Colombani, R. K. O'Reilly, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 2412–2425.
- [30] M. I. Angelova, D. S. Dimitrov, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1986**, *81*, 303–308.
- [31] J. Hunger, A. Bernecker, H. J. Bakker, M. Bonn, R. P. Richter, *Biophys. J.* **2012**, *103*, L10–L12.
- [32] T. P. Smart, O. O. Mykhaylyk, A. J. Ryan, G. Battaglia, *Soft Matter* **2009**, *5*, 3607–3610.
- [33] G. J. Pielak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 5901–5902.

Eingegangen am 5. März 2015,  
veränderte Fassung am 21. Mai 2015  
Online veröffentlicht am 3. Juli 2015