

Peptide Engineering

Smart peptides – innovative Anwendungen in Biotechnologie und Pharmazie

DANIELA MÜLLER

FACHBEREICH LIFE SCIENCE ENGINEERING, INSTITUT FÜR BIOVERFAHRENSTECHNIK UND PHARMAZEUTISCHE TECHNOLOGIE, TH MITTELHESSEN, GIESSEN

Peptides are compounds involved in a wide variety of biological roles. Their advantages depend on the strategy applied to produce them and include biocompatibility, low cost, tunable bioactivity, chemical variety, and specific targeting. Consequently, they are able to serve an enormous range of biotechnology and pharmaceutical applications. Including topics ranging from bio-based adhesives to peptide nano-systems for active delivery of drugs to specific biological targets

DOI: 10.1007/s12268-021-1673-6
© Die Autorin 2021

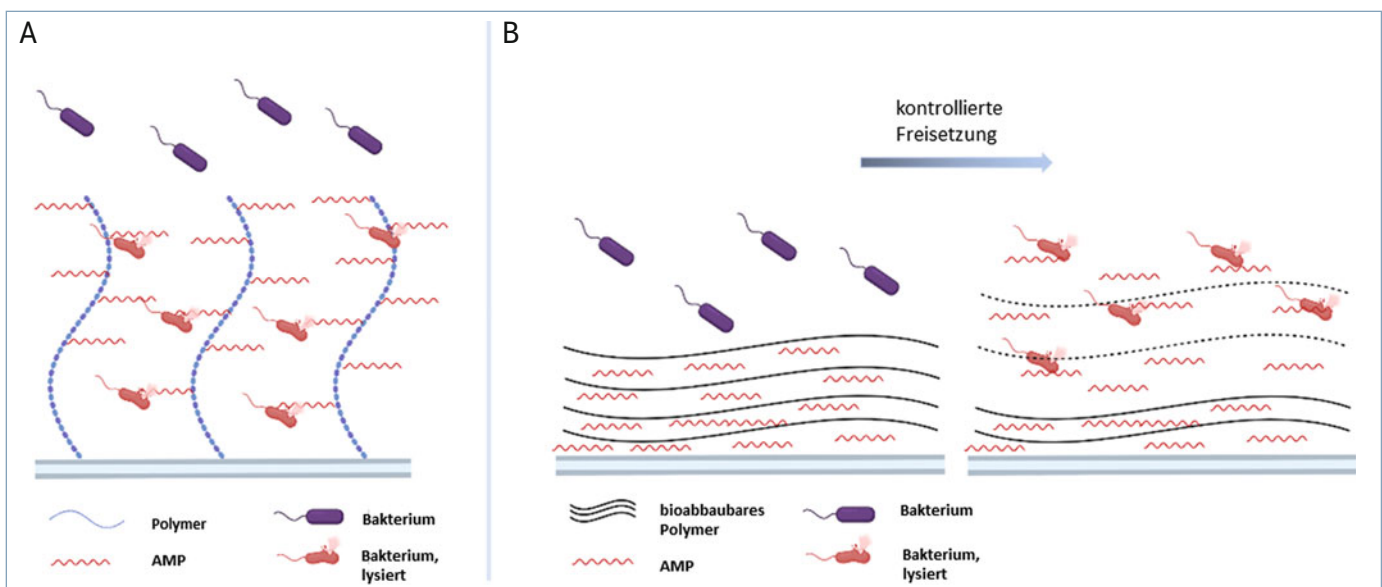
■ Peptide können eine Vielzahl von biologischen und chemischen Wechselwirkungen eingehen. In biotechnologischen Anwendungen sind sie bereits sowohl als therapeutische als auch diagnostische Hilfsmittel von großer Bedeutung. Sie lassen sich dank der Festphasen-Peptidsynthese, bei der die Aminosäuresequenz auf molekularer Ebene durch Optimierung der Basis-

elemente genau ausgewählt und optimiert werden kann, leicht synthetisieren. In jüngster Zeit konnten Peptide ebenfalls einen beachtlichen Fortschritt im Bereich innovativer Drug-Delivery-Systeme und bei intelligenten Applikationen innerhalb der Nanotechnologie erzielen. Drei mög-

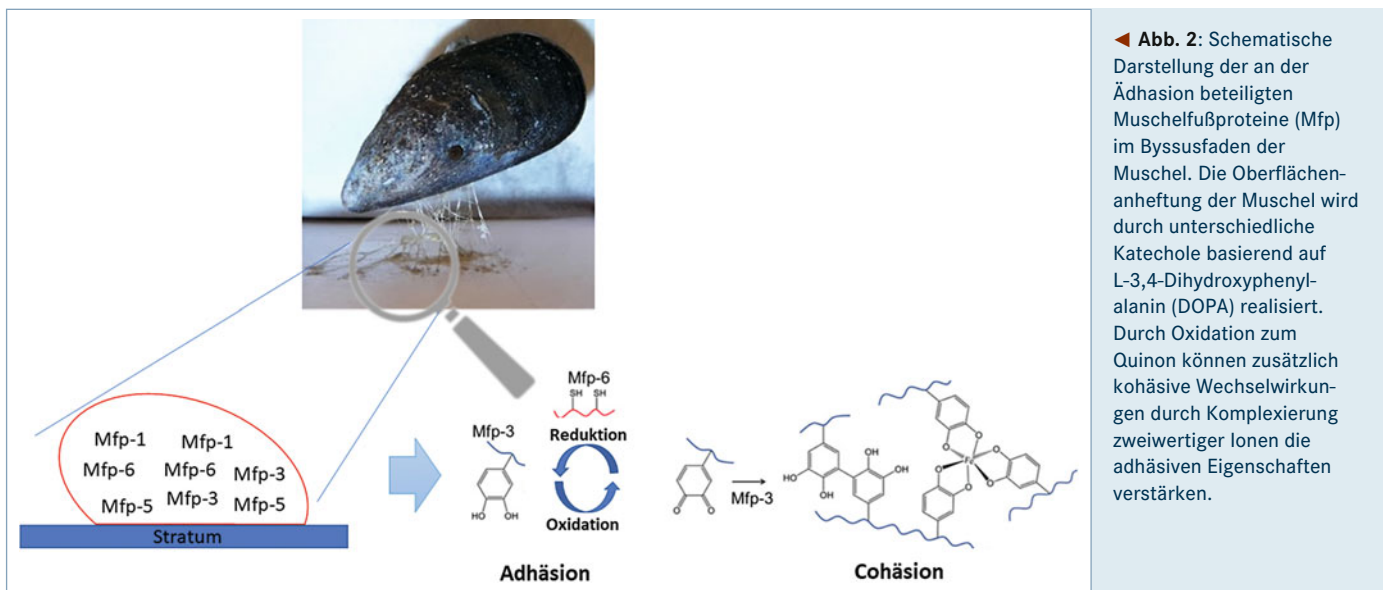
liche Einsatzgebiete werden im Folgenden genauer vorgestellt.

Peptidbasierte Antibiofilm-Coatings

Die Anhaftung von Bakterien an Biomaterialien ist nach wie vor ein großes Problem im Bereich der Medizinprodukte, stellt aber auch in den industriellen Bereichen durch mikrobiell induzierte Korrosion eine große Herausforderung dar [1]. Antimikrobielle Peptide (AMPs) sind bekannte Bestandteile des angeborenen Immunsystems, die zur Bekämpfung von biofilmassoziierten Infektionen eingesetzt werden können. Ihre Bedeutung als praktische Alternative zu herkömmlichen Antibiotika, deren Wirksamkeit nachlässt, hat zugenommen. Das jüngste Interesse an diesen Peptiden lässt sich durch eine Reihe besonderer Eigenschaften erklären, darunter ein breites Wirkungsspektrum, hohe Wirksamkeit bei sehr niedrigen Konzentrationen, Zielspezifität, Anti-Endotoxin-Aktivität, synergistische Wirkung mit klassischen Antibiotika und geringe Neigung zur Resistenzbildung. Daher wäre



▲ **Abb. 1:** Schematische Darstellung zweier Strategien zur Immobilisierung antimikrobieller Peptide. **A,** kovalente Beschichtungen auf der Basis von hydrophilen Polymerbeschichtungen (passive Beschichtung). **B,** Layer-by-Layer-Integration in einen mehrschichtigen Aufbau von dünnen Polymerfilmen (aktive Beschichtung) zur anschließenden kontrollierten Freisetzung.



die Entwicklung einer antimikrobiellen Beschichtung mit solchen Eigenschaften lohnenswert. Die Immobilisierung von AMPs auf einer Biomaterialoberfläche hat weitere Vorteile, da sie auch dazu beiträgt, die potenziellen Einschränkungen von AMPs zu umgehen, wie etwa die kurze Halbwertszeit und die Zytotoxizität, die mit höheren Konzentrationen löslicher Peptide verbunden sind. Die in der aktuellen Übersichtsarbeit besprochenen Studien berichten über die Auswirkungen der kovalenten Immobilisierung von AMPs auf Oberflächen durch verschiedene chemische Kopplungsstrategien, die Länge der Spacer sowie die Peptidorientierung und -konzentration. Technisch gesehen unterscheidet man das aktive Coating und das passive Coating [2]. Während beim passiven Coating (**Abb. 1A**) die Immobilisierung der AMPs meist kovalent an der Materialoberfläche durchgeführt wird, setzt man beim passiven Coating auf eine kontrollierte Freisetzung der Moleküle, welche häufig durch eine bioabbaubare Polymerschicht realisiert wird (**Abb. 1B**). Die Gesamtergebnisse deuten darauf hin, dass immobilisierte AMPs die Bildung von Biofilmen wirksam verhindern können, indem sie das Überleben von Mikroorganismen nach dem Kontakt mit dem beschichteten Biomaterial verringern. Durch Optimierung der Immobilisierungsparameter konnten minimale Zytotoxizität und Langzeitstabilitätsprofile erzielt werden, was auf ein vielversprechendes Potenzial für den Einsatz immobilisierter AMPs in klinischen Anwendungen hindeutet, aber auch für den industriellen Einsatzbereich interessant ist.

Smarte Bioadhäsive

Die Natur macht sich die Adhäsion auf vielfältige Weise zunutze, und eine Vielzahl biologischer Arten wie Muscheln, Seepocken und einige Reptilien wie Geckos scheiden Substanzen mit potenzieller Adhäsionskraft aus [3].

Bei diesen Substanzen handelt es sich in der Regel um Proteine oder Peptide, mit deren Hilfe sie unter Wasser an Oberflächen haften. Was die Haftfähigkeit betrifft, so sind Muscheln die faszinierendste Spezies, die sich dank ihrer adhäsiven Sekrete unter Wasser an Felsen und Schiffen festhalten können, und zwar auch unter turbulenten Gezeitenbedingungen. Diese Klebefähigkeit der Muscheln hat ihre biochemische Grundlage in der Absonderung eines Gemischs von Proteinen, den Muscheladhäsionsproteinen (MAPs) [4].

Mehrere Forscher haben die Zusammensetzung dieser MAPs untersucht und das Vorhandensein von mindestens sechs verschiedenen Proteinen in den Byssusfäden der Muscheln charakterisiert, die als Muschelfußproteine Mfp-1 bis Mfp-6 bezeichnet werden. Diese MAPs sind reich an der besonderen Aminosäure 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA), die als Schlüsselfaktor für die starke Unterwasseradhäsion der Muschel angesehen wird.

Es wurde postuliert, dass jeder einzelne Mfp-Typ seinen eigenen Zweck und einen unterschiedlichen Beitrag zum Gesamtphänomen der Muscheladhäsion hat. Die Proteine Mfp-3, Mfp-5 und Mfp-6 kommen vor allem an der Adhäsionsfläche vor und tragen bekanntermaßen zur extremen Nassadhä-

sion bei. Die genauen Mechanismen der Nassadhäsion von Muscheln sind noch nicht vollständig geklärt; es wurde jedoch festgestellt, dass DOPA eine entscheidende Rolle bei der Grenzflächenanhaftung und Aushärtung der Klebproteine spielt [4].

DOPA-Moleküle sind zu vielseitigen chemischen Prozessen fähig, die es ihnen ermöglichen, an vielen verschiedenen organischen oder anorganischen Oberflächen zu haften, indem sie reversible nicht kovalente und irreversible kovalente Bindungen eingehen, wie in **Abbildung 2** dargestellt.

DOPA kann über seine Dihydroxyfunktionalität starke Wasserstoffbrückenbindungen bilden, die seine Absorption auf hydrophilen Oberflächen fördern. Catecholhaltige Polymere haben aufgrund des Benzolrings von Catechol, der mit anderen aromatischen Ringen über π - π -Wechselwirkungen interagieren kann, verbesserte Kohäsionseigenschaften. Darüber hinaus kann der Benzolring mit positiv geladenen Ionen über Kationen- π -Wechselwirkungen interagieren, die bekanntermaßen zu den stabileren nicht kovalenten Wechselwirkungen in Wasser gehören, wodurch sie sich an positiv geladene Oberflächen und an Substrate mit vielen kationischen funktionellen Gruppen binden können [3, 4].

Außerdem kann Catechol robuste reversible Bindungen mit Metallionen wie Cu^{2+} und Zn^{2+} sowie Grenzflächenbindungen mit Metalloxoberflächen eingehen. Darüber hinaus kann die hochreaktive oxidierte Form von Catechol an intermolekularen kovalenten Vernetzungen beteiligt sein, die zur Aushärtung von DOPA-haltigen Klebstoffen füh-

ren. Catechol wird in der Regel durch enzymatische oder chemische (Periodat) Oxidation mit einem oder zwei Elektronen oder in Gegenwart von molekularem Sauerstoff zu Semichinon oder Chinon oxidiert. Chinon ist in der Lage, mit verschiedenen nukleophilen funktionellen Gruppen in Geweben ($-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, Imidazol) zu reagieren und kovalente Grenzflächenbindungen zu bilden, die bspw. Gewebefixierung fördern können [4].

Obwohl DOPA der Hauptverantwortliche für die Adhäsion von Mfps ist, gibt es noch andere Mechanismen des Zusammenspiels zwischen DOPA und Mfps, wie z. B. die Oxidationsstufe von DOPA, der Koazervierungszustand oder auch die dem DOPA angrenzenden Aminosäuren [3, 4]. Auf Basis dieser Untersuchungen lassen sich intelligente und materialspezifisch Bioklebstoffe entwickeln.

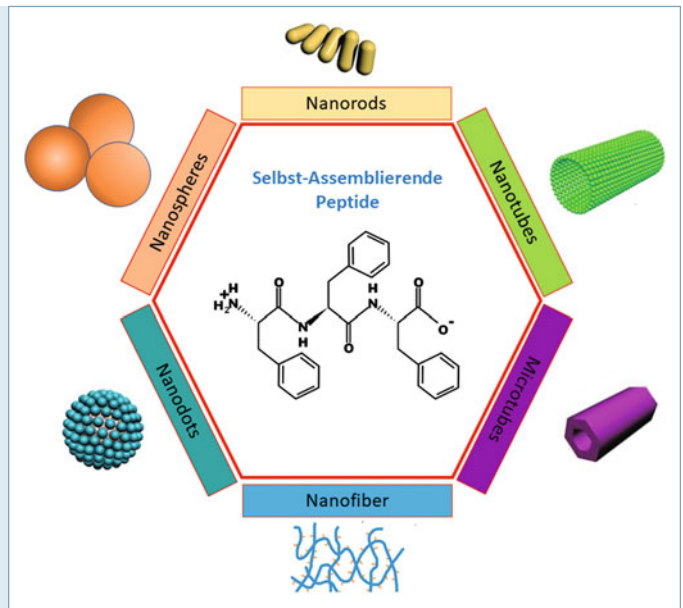
Selbstassemblierende Peptidnanostrukturen

Selbstorganisierte Strukturen aus organischen Molekülen haben ein großes Potenzial für Anwendungen in einer Vielzahl von Bereichen gezeigt. In diesem Zusammenhang erweisen sich kurze Peptide als eine besonders vielseitige Klasse von organischen Bausteinen für selbstorganisierte Materialien. Sie bieten die Biokompatibilität und den polymorphen Reichtum, die für Proteine typisch sind, und ermöglichen gleichzeitig die für kleinere Moleküle typische synthetische Verfügbarkeit und Robustheit. Im Nanobereich weisen die aus Peptideinheiten gewonnenen Architekturen Stabilität und eine große Vielfalt an Morphologien auf, von denen die häufigsten Nanotubes, Nanorods und Nanofibers sind. Diese Übersicht beschreibt die Bildung von selbstorganisierten Strukturen auf Peptidbasis, die durch verschiedene Stimuli (z. B. Ionenstärke, pH-Wert und Polarität) ausgelöst werden, sowie die Wechselwirkungen, die die Assemblierungsprozesse antreiben. Es wird untersucht, wie durch gezieltes molekulares Design günstige Assemblierungseigenschaften erreicht werden können, um Systeme mit den gewünschten Eigenschaften zu erhalten.

Obwohl mehrere Selbstassemblierungsplattformen für biomedizinische Anwendungen eingeführt wurden, bleiben selbstassemblierende Peptide aus mehreren Gründen die attraktivste Option für flexible Biomaterialien [5, 6]:

1. Eine zusätzliche Peptidfunktionalisierung kann leicht durch Einbringen von Mole-

► **Abb. 3:** Schematische Darstellung selbstassemblierender Nanostrukturen auf Peptidbasis zur Entwicklung smarter Nanomaterialien für den gezielten Wirkstofftransport und die Wirkstofffreisetzung.



külen wie Antikörpern, Enzymen, magnetischen Partikeln oder fluoreszierenden Verbindungen in die Peptidstruktur durchgeführt werden.

2. Maßgeschneiderte supramolekulare Strukturen können durch das Engineering von selbstorganisierten Peptidbausteinen entworfen werden.
3. Natürlich vorkommende Selbstorganisationsmotive in Proteinen wie Helices, Sheets und Coiled Coils können zur Steuerung des Selbstorganisationsprozesses verwendet werden.
4. Die Selbstorganisation ist wichtig für die Mechanismen der zellpenetrierenden Peptide (CPP), die eine wichtige Rolle bei der Einführung von Arzneimitteln in die Zellmembranen spielen.

Eine der größten Herausforderungen in der Medizin besteht darin, therapeutische Wirkstoffe zu entwickeln, die ihre Wirkung nur in dem spezifischen Bereich/Gewebe entfalten, in dem ihre Wirkung benötigt wird. Eine große Zahl von Wirkstoffen profitiert davon, in zielgerichtete Transportsysteme eingebaut zu werden: Dies sind die therapeutischen Wirkstoffe, die entweder nach einem bestimmten Applikationsweg instabil sind oder toxische Wirkungen aufweisen. So erreichen beispielsweise oral verabreichte Proteine und Peptide selten die gewünschte Bioverfügbarkeit, da sie gegenüber den proteolytischen Enzymen des Magen-Darm-Trakts anfällig sind und kaum in der Lage sind, das Darmepithel und die vaskulären Endothelbarrieren zu überwinden: In diesem Fall kann die Verwendung eines Drug-

Delivery-Systems die Stabilität des Medikaments oder seine Fähigkeit, die Barrieren zu überwinden und den Blutkreislauf zu erreichen, verbessern. Gezielte Wirkstoffabgabesysteme können helfen, indem sie gezielt auf erkrankte Gewebe und Zellen abzielen und so die Dosierung von Medikamenten dank einer verbesserten Wirksamkeit verringern und die Wahrscheinlichkeit von Nebenwirkungen auf gesundes Gewebe minimieren.

Aufgrund ihrer Biokompatibilität und der Möglichkeit, eine Vielzahl von Strukturen – von Nanomikroben und Nanopartikeln bis hin zu injizierbaren Hydrogelen – zu erzeugen, sind selbstorganisierte Peptide als Ausgangsmaterial für die Herstellung von Wirkstofftransportsystemen auf großes Interesse gestoßen.

Das selbstorganisierte Dipeptid Diphenylalanin (FF) wurde ausgiebig als Ausgangsmaterial für die Herstellung von Wirkstofftransportsystemen untersucht: Es wurden zahlreiche Studien zur Selbstorganisation von FF-Dipeptiden für verschiedene Nanostrukturen durchgeführt, darunter Nanopartikel, Nanotubes, Nanovesikel und Nanofibers (**Abb. 3**, [7]). Mikroröhrchen, die aus der Selbstassemblierung von FF gewonnen wurden, wurden in einem *in vitro*-Test erfolgreich als Transportmittel für den biologischen Marker Rhodamin getestet, wobei auch die geringe Toxizität des Dipeptids nachgewiesen wurde [8].

Eine umfangreiche Literatur liefert die experimentellen und *in silico*-Daten zur Vorhersage der Selbstorganisation in einem gegebenen Peptidsystem und zum Erhalt

verschiedener supramolekularer Organisationen für Anwendungen in einem breiten Spektrum von Bereichen, vom Transport bis zur Sensorik, von der Katalyse bis zur Medikamentenverabreichung und Geweberegeneration. Gerade der Bereich Nanostrukturen spiegelt das weitreichende Einsatzgebiet von Peptiden in der Biotechnologie und Pharmazie wider. ■

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Literatur

- [1] Alves D, Olívia Pereira M (2014) Mini-review: antimicrobial peptides and enzymes as promising candidates to functionalize biomaterial surfaces. *Biofouling* 30: 483–499
- [2] Andrea A, Molchanova N, Jønsen H (2018) Antibiofilm peptides and peptidomimetics with focus on surface immobilization. *Biomolecules* 8: 27
- [3] Pandey N, Soto-García LF, Liao J et al. (2020) Mussel-inspired bioadhesives in healthcare: design parameters, current trends, and future perspectives. *Biomater Sci* 8: 1240–1255
- [4] Kord Forooshani P, Lee BP (2017) Recent approaches in designing bioadhesive materials inspired by mussel adhesive protein. *J Polym Sci A Polym Chem* 55: 9–33
- [5] Fan T, Yu X, Shen B, Sun L (2017) Peptide self-assembled nanostructures for drug delivery applications. *J Nanomater* 2017: 1–16
- [6] Sun L, Zheng C, Webster TJ (2017) Self-assembled peptide nanomaterials for biomedical applications: promises and pitfalls. *Int J Nanomed* 12: 73–86
- [7] Nguyen V, Zhu R, Jenkins K, Yang R (2016) Self-assembly of diphenylalanine peptide with controlled polarization for power generation. *Nat Commun* 7: 13566
- [8] Silva RF, Araújo DR, Silva ER et al. (2013) L-diphenylalanine microtubes as a potential drug-delivery system: characterization, release kinetics, and cytotoxicity. *Langmuir* 29: 10205–10212



Korrespondenzadresse:

Dr. rer. nat. Daniela Müller
 Fachbereich Life Science Engineering,
 Institut für Bioverfahrenstechnik und
 Pharmazeutische Technologie (IBPT)
 Technische Hochschule Mittelhessen, Gießen
 Wiesenstraße 14
 D-35390 Gießen
daniela.mueller@lse.thm.de

Hier steht eine Anzeige.

 Springer