

Sachbericht zum Verwendungsnachweis

Abschlussbericht – 13. April 2023

Teil 1



MAX-PLANCK-INSTITUT
FÜR POLYMERFORSCHUNG

MAX PLANCK INSTITUTE
FOR POLYMER RESEARCH

zum Teilvorhaben	Biogele als Rheologiemodifizierer in Kosmetikprodukten
der BMBF Bekanntmachung	Ideenwettbewerb Biologisierung der Technik
Zuwendungsempfänger:	Prof. Tanja Weil, Dr. Christopher Synatschke Max-Planck-Institut für Polymerforschung Ackermannweg 10, 55128 Mainz Tel. 06131 379 130 weil@mpip-mainz.mpg.de, synatschke@mpip-mainz.mpg.de
Förderkennzeichen:	13XP5148
Akronym	Kosmogel
Laufzeit des Vorhabens:	01.09.2021 – 31.08.2022
Berichtszeitraum:	01.09.2021 – 31.08.2022

Teil I: Kurzbericht

1. Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Das Ziel dieses Vorhabens war es, inspiriert von der gelartigen extrazellulären Matrix von Säugetierzellen, Biogele mit einstellbaren rheologischen Eigenschaften zu entwickeln und diese als Zusatzstoffe in Kosmetika als beispielhafte Anwendung zu evaluieren. Diese aus nachhaltigen Rohstoffen gewonnenen Biogele sollten aufgrund ihrer fibrillären Struktur verbesserte Eigenschaften gegenüber derzeit verwendeten Materialien aufweisen.

Kosmetikprodukte enthalten synthetische Zusatzstoffe, um die gewünschten Produkteigenschaften, wie einen hohen Feuchtigkeitsgehalt und eine gute Verstreichbarkeit, zu erreichen. Meist werden diese Zusatzstoffe aus fossilen Rohstoffen erzeugt und sind oft nur schwer biologisch abbaubar. Dem gegenüber steht eine stetig steigende Nachfrage nach natürlicheren, umweltfreundlicheren, veganen und nachhaltig erzeugten Produkten. Inzwischen werden bereits diverse biogene hydrophile Polymere, wie Hyaluronsäure, Chitosan, Dextran und deren Derivate in kosmetischen Produkten verwendet. Diese weisen eine ausgezeichnete Biokompatibilität auf und werden vielfach zur Herstellung von Hydrogelen oder als Zusatzstoff und Verdicker in der Biomedizin und kosmetischen Dermatologie angewendet. Häufig werden die Biopolymere nach entsprechender Funktionalisierung mit synthetischen Vernetzern umgesetzt. Diese Vernetzer sind Moleküle wie z.B. Cyclodextrine, Dithiole, Di-Aldehyde, Polyethylenglycol, oder Peptide. Während die überwiegend eingesetzten synthetischen Rheologiemodifizierer häufig besonders angenehme Eigenschaften in der Benutzung aufweisen und sich als konventionelle (kovalent vernetzte) Hydrogele durch eine hohe Stabilität und Viskosität auszeichnen, erzeugen Biopolymere oft eine trübe Färbung und ein unschönes, stumpfes Hautgefühl. Außerdem sind aktuell verfügbare biologische Rheologiemodifizierer weniger effizient, weshalb sie in den Produkten zumeist in wesentlich höheren Konzentrationen (z.B. 1 bis 3 % gegenüber 0,3 bis 1 % der leistungsfähigsten synthetischen Produkte) eingesetzt werden müssen, um vergleichbare Effekte zu erzielen. Durch diese Diskrepanz motiviert, wird intensiv nach natürlichen oder naturinspirierten Hydrogelen geforscht, welche den eingangs erwähnten Kriterien gerecht werden.

Im Gegensatz zu den bisher verwendeten konventionellen Materialien, wurde in diesem Vorhaben ein bioinspirierter Ansatz über nicht-kovalente Bindungen nach dem Vorbild der extrazellulären Matrix von Säugetieren verfolgt. Wir haben gut charakterisierte und nachhaltige Biopolymere mit sogenannten selbstassemblierenden Peptiden kombiniert, welche sich über nicht-kovalente Wechselwirkungen spontan aneinanderlagern und Biogele mit einstellbarer Viskosität bilden. Dieser Prozess der gezielten Anlagerung, auch Selbstassemblierung genannt, tritt in der Natur bei der Bildung komplexer Strukturen innerhalb und außerhalb von Zellen sowie zum Aufbau von Gewebe auf. In diesem Projekt erfüllen die selbstassemblierenden Peptide mehrere wichtige Funktionen. Sie dienen als supramolekulare Vernetzer, um ein dreidimensionales Polymergerüst aufzubauen, welches die rheologischen Eigenschaften des Kosmetikproduktes bestimmt. Dabei bewirken supramolekulare Vernetzer aufgrund der Verknüpfung über nicht-kovalente Bindungen häufig interessante Eigenschaften wie Scherverdünnung und Selbstheilung. Im Projekt sollten unter anderem bioabbaubare, selbstassemblierende Peptide als Vernetzer verwendet werden, die bereits in separaten Vorarbeiten als Plattform für die Gewebeanzucht und die Regeneration von peripheren Nerven etabliert wurden. Hier sollten aus diesen Komponenten neue, biogene Zusatzstoffe für eine exemplarische Anwendung als Rheologiemodifizierer entwickelt werden. So kann eine neue Materialklasse hergestellt werden, die den vielfältigen Anwendungsformen gerecht wird. Des Weiteren sollte untersucht werden, inwieweit die Peptide als Erkennungssequenzen für die Einbettung von aktiven Substanzen (Actives) dienen können, um eine gewünschte Wirkung für den Anwender bereitzustellen. Dies umfasst z.B. eine Befeuchtung, Straffung und Glättung der Haut. Die hier entwickelten Zusatzstoffe sollen reproduzierbare rheologische Eigenschaften auch in komplexen Mischungen erzeugen, auch wenn verschiedene Verhältnisse der Actives dem Kosmetikprodukt hinzugefügt werden. So können mit Hilfe eines einzigen, bioinspirierten Zusatzstoffes eine Vielzahl an möglichen Formulierungen, die leicht an den einzelnen Anwender anpassbar sind, realisiert werden.

2. Ablauf des Vorhabens

Es wurden vier Arbeitspakete (APs) geplant, die von der Synthese des biologisch inspirierten Zusatzstoffes, über dessen Charakterisierung und Optimierung, bis hin zur Ermittlung der am besten geeigneten Anwendungsformen für den Anwender (Creme, Spray, Gel) reichten. Diese APs wurden nacheinander und zum Teil überlappend durchgeführt. AP1: Modifikation verschiedener pflanzlicher Polymere mit selbstassemblierenden Peptidsequenzen, die sich zu Hydrogelen zusammenlagern. AP2: Physikalisch-chemische Charakterisierung der erzeugten Materialien. Es wurden die rheologischen Eigenschaften unter anwendungsnahen Bedingungen ermittelt. AP3: Biologische Evaluation der erzeugten Hydrogele auf Verträglichkeit, Freisetzung verschiedener Actives und biologischer Abbaubarkeit. AP4: Ermittlung von geeigneten Anwendungsformen der neuartigen Zusatzstoffe für verschiedene Arten von Kosmetika und Erstellen einer Proof-of-Concept Formulierung.

3. Wesentliche Ergebnisse sowie ggfs. Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen

Die Erfolgskriterien des AP 1 Materialsynthese, AP 2 Physikalisch-chemische Charakterisierung der Gele, AP 3 Biologische Evaluierung, und AP 4 Auswahl geeigneter Applikationswege wurden vollständig erreicht. Der Halbzeitmeilenstein und das Gesamtziel wurden ebenfalls erreicht. Es wurden geeignete Hydrogel-Einzelkomponenten (Biopolymer Grundgerüst, Peptid Vernetzer) ausgewählt, nach Erarbeitung entsprechender Funktionalisierungsprotokolle synthetisiert und die Analytik mittels gängiger Methoden etabliert und angewendet. Biopolymer-Peptid Hybride unterschiedlicher Ausfertigung wurden auf ihre Eignung als supramolekulare Vernetzer bzw. hinsichtlich der Gelierfähigkeit getestet und optimiert. Durch Variation einzelner und kombinierter Parameter der Grundformulierung (z.B. verschiedene Hybride), sowie den Konzentrationen und Mischverhältnissen der Komponenten wurden die Materialeigenschaften der Hydrogele systematisch variiert, eingehend rheologisch charakterisiert und fortlaufend angepasst. Dazu fanden regelmäßige Projekttreffen zusammen mit Vertretern des Industriepaten Clariant Produkte (Deutschland) GmbH statt, in denen die Eigenschaften der Materialien mit industrierelevanten Kriterien abgeglichen wurden. Es konnten mehrere Materialien mit einer breiten Palette an mechanischen Eigenschaften hergestellt werden, die mit den industriellen Referenzpolymeren in den mechanischen Eigenschaften vergleichbar sind. Hierunter fällt neben den Hybriden auch ein reines Peptid Hydrogel. Darüber hinaus erlaubt einer der Biopolymer-Peptid Hybride als multifunktionaler Rheologiemodifizierer die Einstellung einer breiten Spanne an mechanischen Eigenschaften mittels verschiedener Formulierungen eines einzigen Grundmaterials, welches einem Kernziel des Projektes entspricht. Eine Auswahl an Gelen wurde zudem unter Variation von Parametern wie pH-Wert, Temperatur und Salz charakterisiert. Anwendungsnahe Parameter wie Transparenz, Färbung, und Dispergierbarkeit wurden ebenfalls analysiert. Die Feinjustierung der Materialien unter Beratung durch den Industriepaten erfolgte fortlaufend. Für ein Upscaling (100-fach) der Reaktionen für weitere Analysen und Optimierungen der Produkte im Rahmen des Praktikums beim Industriepaten wurde ein Hybrid ausgewählt. Ein reines Peptid Hydrogel wurde ebenfalls miteingeschlossen. Die ausgewählten Systeme wurden hinsichtlich ihrer Verträglichkeit in Zell- und Bakterienkultur untersucht, wobei keine toxischen Effekte beobachtet werden konnten. *In vitro* Enzym-Abbaustudien zeigten unter den gewählten Bedingungen keinen signifikanten Abbau des Hybriden innerhalb von 7 Tagen. Hybrid und Peptid konnten im Rahmen der Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit (OECD 301F) mit dem Industriepaten während des Praktikums als leicht biologisch abbaubar klassifiziert werden. Es fand eine erste Evaluierung eines Hybriden als Trägersystem von Actives statt, indem diese in verschiedenen Konzentrationen beigemischt und auf homogene Vermischung beurteilt wurden. Im Rahmen des Industriepraktikums erfolgte eine Einarbeitung in die entsprechenden Personal Care Formulierungsprozesse beim Industriepaten und ausgewählte Proben wurden als Proof-of-Concept für eine spätere Anwendung in der kosmetischen Industrie formuliert, rheologisch untersucht und hinsichtlich der Applizierbarkeit evaluiert. Die RCI-Wert Bestimmung wurde extern beauftragt (Curt-Engelhorn-Zentrum Archäometrie gGmbH) und überstieg für Hybrid und reines Peptid das gesetzte Ziel von mindestens 50%. Somit wurden alle ursprünglich gesteckten Ziele vollständig erreicht und zum Teil übertroffen.

Sachbericht zum Verwendungsnachweis

Abschlussbericht – 13. April 2023

Teil 2



MAX-PLANCK-INSTITUT
FÜR POLYMERFORSCHUNG

MAX PLANCK INSTITUTE
FOR POLYMER RESEARCH

zum Teilvorhaben	Biogele als Rheologiemodifizierer in Kosmetikprodukten
der BMBF Bekanntmachung	Ideenwettbewerb Biologisierung der Technik
Zuwendungsempfänger:	Prof. Tanja Weil, Dr. Christopher Synatschke Max-Planck-Institut für Polymerforschung Ackermannweg 10, 55128 Mainz Tel. 06131 379 130 weil@mpip-mainz.mpg.de, synatschke@mpip-mainz.mpg.de
Förderkennzeichen:	13XP5148
Akronym	Kosmogel
Laufzeit des Vorhabens:	01.09.2021 – 31.08.2022
Berichtszeitraum:	01.09.2021 – 31.08.2022

Teil II: Eingehende Darstellung

1. Darstellung der Verwendung der Zuwendung sowie die erzielten Ergebnisse

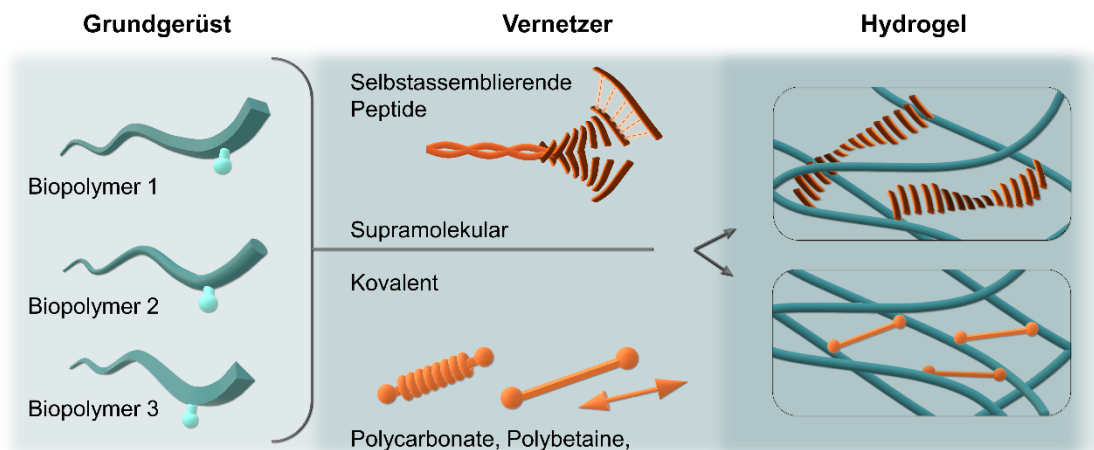
Inspiziert von der gelartigen extrazellulären Matrix von Säugetierzellen war das übergeordnete Ziel dieses Vorhabens, die Entwicklung von Biogelen mit einstellbaren rheologischen Eigenschaften und ihre Evaluierung als Zusatzstoffe in Kosmetika als beispielhafte Anwendung. Dieser Ansatz ist besonders attraktiv, da die fibrilläre Struktur der aus nachhaltigen Rohstoffen gewonnenen Biogele verbesserte Eigenschaften gegenüber derzeit verwendeten Materialien erzielt (Abbildung 1). Der Grund hierfür sind in der Natur vielfältig eingesetzte nicht-kovalente Wechselwirkungen. Diese führen durch spontane Aneinanderlagerung zur Strukturbildung – im Fall des Vorhabens zu Biogelen mit einstellbarer Viskosität, ohne den Zusatz organischer oder toxischer Lösemittel. Das für das Vorhaben entscheidende Prinzip ist die bioinspirierte Kombination von langkettigen Biopolymeren mit solchen selbstassemblierenden Peptiden, nun resultierend in spontaner und kontrollierter Strukturbildung. Dabei wird durch die Kombination von kovalenten Bindungen im Biopolymer und den nicht-kovalenten Bindungen in den fibrillären Strukturen eine Brücke geschlagen zwischen Materialien, die dynamische und regenerative Eigenschaften besitzen, zugleich aber eine ausreichende Stabilität aufweisen. Die Natur bietet dabei interessante Vorbilder für die Bildung von Polymernetzwerken mit evolutionär optimierten rheologischen Eigenschaften. So bestehen verschiedene Arten von Geweben aus langkettigen Polymeren, welche über nicht-kovalente (supramolekulare) Wechselwirkungen vernetzt sind. Solche Strukturen sind hoch dynamisch aber gleichzeitig mechanisch stabil, so dass eine große Bandbreite an mechanischen Eigenschaften (vgl. Haut, Sehnen, Knochen) erzielt werden kann. Anders als in vollständig kovalent vernetzten Gelen, können supramolekulare Netzwerke leicht wieder abgebaut werden, was für den Organismus eine hohe Energieersparnis bedeutet.

All diese Aspekte sind für das Vorhaben von zentraler Bedeutung. Ein multifunktionaler Ansatz, ähnlich körpereigenen Strukturbildnern stand dabei im Vordergrund. So sollten die selbstassemblierenden Peptide mehrere wichtige Funktionen erfüllen. Zum einen dienten sie als biologisch inspirierte Vernetzer dem Aufbau von 3D Polymergerüsten und damit der Einstellung der mechanischen Eigenschaften. Es sollte dabei eine möglichst große Spannbreite von Viskositäten mit den neuen Biogelen erreicht werden. Zum anderen sollten sie ähnlich ihrer Speicherfunktion im Körper als Erkennungssequenzen zur Einbettung aktiver Substanzen (Actives), im Kontext des Vorhabens zur Befeuchtung, Glättung oder Straffung der Haut, dienen. Ein einziger, bioinspirierter Zusatzstoff sollte im Idealfall eine Vielzahl an Formulierungen ermöglichen, die leicht an den Anwender anpassbar sind.

In Anlehnung an solche natürlich vorkommenden Gewebestrukturen, werden wir uns im Projekt „Biogele als Rheologiemodifizierer in Kosmetikprodukten“ die Kombination aus langkettigen Biopolymeren, welche mit supramolekularen Vernetzern aus Peptiden ausgestattet wurden, zu Nutze machen, um Biogele als supramolekulare und transparente Rheologiemodifizierer für kosmetische Produkte herzustellen. Die verwendeten Materialien werden aus nachhaltigen Rohstoffen bestehen, die sich durch eine einstellbare Viskosität, eine Gelierung auch in Gegenwart von komplexen Zusatzstoffen und Actives, sowie eine vollständige biologische Abbaubarkeit auszeichnen. Derzeit gibt es auf dem Markt keine vergleichbaren Materialien, welche diese Anforderungen erfüllen können. Dieses übergeordnete Ziel wurde anhand von vier Arbeitspaketen (APs) bearbeitet, welche die Synthese des biologisch inspirierten Zusatzstoffes, dessen Charakterisierung und Optimierung, sowie die Ermittlung geeigneter Anwendungsformen (Creme, Spray, Gel) umfassten.

Es wurden alle ursprünglich gesteckten Ziele vollständig erreicht und zum Teil sogar übertroffen. Im Einzelnen wurden die Erfolgskriterien des AP 1 Materialsynthese, AP 2 Physikalisch-chemische Charakterisierung der Gele, AP 3 Biologische Evaluierung, und AP 4 Auswahl geeigneter Applikationswege vollständig erreicht.

Projektskizze



Design – Synthese – Charakterisierung – Abbau & Zytokompatibilität – Eignungstests – Optimierung

Abbildung 1: Schema der im Projekt „Biogele als Rheologiemodifizierer in Kosmetikprodukten“ entwickelten Hydrogele.

AP1: Modifikation verschiedener pflanzlicher Polymere mit selbstassemblierenden Peptidsequenzen, die sich zu Hydrogelen zusammenlagern.

Es wurden die Hydrogel-Einzelkomponenten (Biopolymer Grundgerüst, Peptid Vernetzer) in passender Art ausgewählt, nach Erarbeitung entsprechender Funktionalisierungsprotokolle synthetisiert und die Analytik mittels gängiger Methoden etabliert und angewendet. Es gelang dabei die Herstellung verschiedener Biopolymer-Hybride mit supramolekularen (biologischen) Vernetzern als neue gelierfähige Materialklasse zur Rheologiemodifikation (Abbildung 2). Zusammenfassend wurden Biopolymer-Peptid Hybride unterschiedlicher Ausfertigung (verschiedene Peptidsequenzen und Funktionalisierungsgrade sowie Biopolymer Kettenlängen) auf ihre Eignung als supramolekulare Vernetzer bzw. hinsichtlich der Gelierfähigkeit getestet und optimiert.

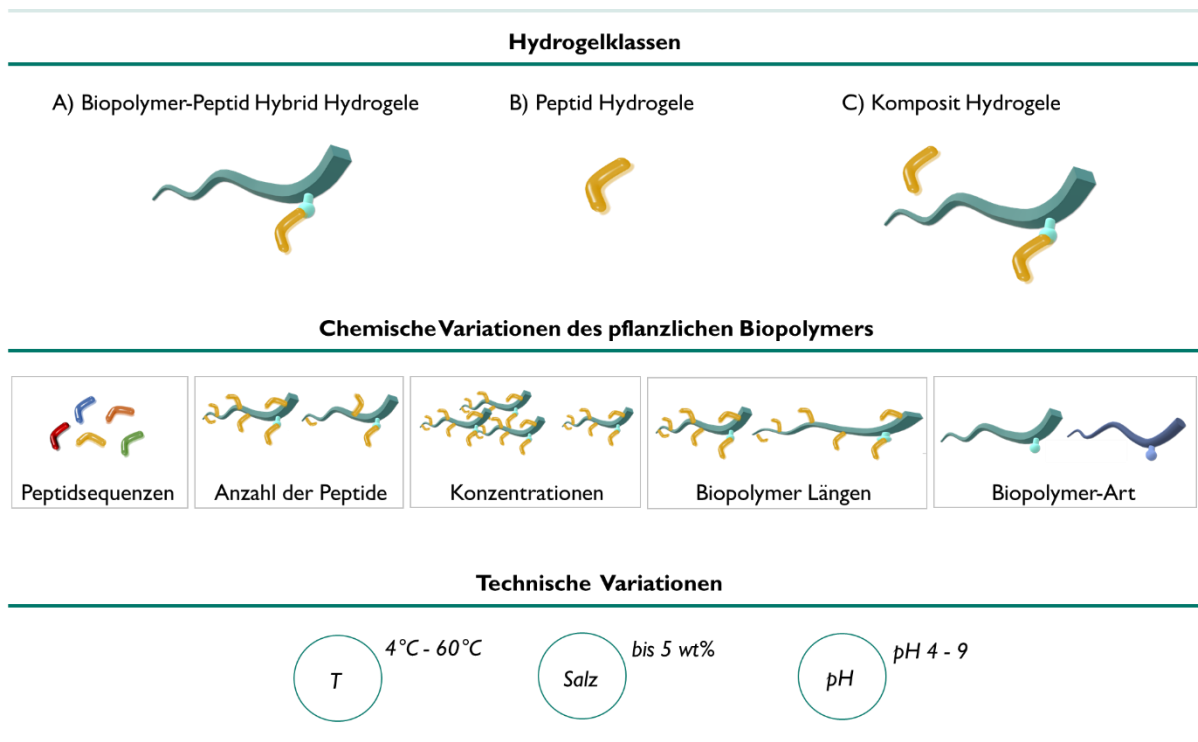


Abbildung 2: Zusammenfassung der im Projekt synthetisierten und untersuchten Hydrogelklassen, sowie der durchgeführten chemischen und technischen Variationen. (AP 1 – 3).

Im ersten Arbeitspaket wurden die Einzelkomponenten für Hydrogele als Rheologiemodifizierer synthetisiert. Es wurden hierfür die verschiedenen Bausteine, Biopolymere und Vernetzer, in passender Art hergestellt, sodass verschiedene Hydrogele aus ihnen hervorgehen. Aufbauend auf einer von uns entwickelten Strategie zur Herstellung von multifunktionalen, biokompatiblen Hydrogelen wurde das pflanzliche Biopolymer 1 (BP-1) als erster Vertreter dieser Polymerklasse zunächst mit reaktiven Gruppen modifiziert. Dies ermöglicht im nächsten Schritt, anhand der kontrolliert eingebrachten Funktionalitäten, eine Erweiterung des Biopolymers mit entsprechend funktionalisierten Peptid-Vernetzern. In wässriger Umgebung und unter physiologischen Bedingungen findet dann eine Gelbildung unter Ausbildung supramolekularer Wechselwirkungen statt. Um die aufgeführten Anforderungen bestmöglich zu erfüllen, wurde zunächst BP-1 mit verschiedenen Funktionalisierungsgraden hinsichtlich des Peptidanteils hergestellt.

Es fand eine systematische Variation des Beladungsgrades der Biopolymere mit reaktiven Gruppen und der Vernetzer (supramolekular, Anzahl, Peptid Sequenz) statt. Weiterhin wurde der Einfluss der Konzentration und Mischungsverhältnisse der Komponenten auf die Materialeigenschaften untersucht. So konnte ein Verständnis über das Zusammenspiel verschiedener Parameter des Systems erlangt werden, was eine Optimierung der Materialeigenschaften ermöglichte. Es wurden verschiedene Hybride rheologisch zur ersten Einschätzung des Gelbildungsverhaltens (Gelbildungszeit, Gelhärten, Stabilität, Elastizität) untersucht. Dabei wurden fortwährend die Sequenzen und der Funktionalisierungsgrad angepasst, um Biopolymer-Hybrid Gele mit möglichst geringer Materialmenge (w%) herstellen zu können und eine Probenauswahl für weiterführende Tests zu treffen. Das „Proof of Principle“ hinsichtlich einer Gelierung wurde in diesem AP erbracht. Die geeignetsten Hybride aus AP1 wurden in AP2 detailliert physikalisch-chemisch charakterisiert. Die Materialien wurden so systematisch hinsichtlich der anwendungsrelevanten Materialeigenschaften untersucht und die mechanischen Eigenschaften wie im AP gefordert anhand der aufgeführten Stellschrauben gezielt eingestellt.

Entscheidend für die saubere Aufarbeitung der Materialien und eine einfache Handhabung erwies sich dabei die Synthese der Peptidsequenzen als Depsi-Version. Depsi Peptide sind in marinen Organismen zu finden und weisen eine Esterbindung in dem Peptidrückgrat auf. Überträgt man diese Strategie auf gängige selbstassemblierende Peptide, wird durch diese Esterbindung die Löslichkeit derartig erhöht, dass die Assemblierung in saurem Milieu ausbleibt. Hierdurch wird die Assemblierung über die Einstellung des pH-Werts extern kontrollierbar. Diese Kontrolle ist ausschlaggebend für die Darstellung präziser und hochdefinierter Materialien und wurde in diesem Projekt ausgenutzt. So können die Synthesen und Aufreinigungen problemlos unter saurem pH-Wert erfolgen, während eine Aggregation und damit Vernetzung der supramolekularen Peptidgelatoren erst durch eine Erhöhung des pH-Wertes erfolgt. Die Depsi-Peptide ermöglichten so eine kontrollierte und pH-induzierbare Assemblierung. Die nach Konjugation an ein Biopolymer erhaltenen Depsi Hybride resultierten schließlich in homogenen Produkten.

Allerdings eignen sich nicht alle Peptidsequenzen gleichermaßen als supramolekulare Quervernetzer. Ein Screening verschiedener Sequenzen identifizierte zwei besonders gut geeignete Kandidaten, da sie die Einstellung der mechanischen Eigenschaften der Hybriden über einen sehr breiten, relevanten Bereich ermöglichen. Dabei ist einerseits die Einstellung über die Anzahl der Peptidkonjugate als Vernetzer pro Biomolekül möglich, andererseits ist diese über den verwendeten Gewichtsanteil des Hybriden im Gel möglich. Letzteres ist aufgrund der Multifunktionalität des erzeugten Materials besonders attraktiv und stellte ein Kernziel des Vorhabens dar. Hierbei ist zu betonen, dass auf diese Weise Peptid-Biopolymer Konjugate als Plattform zur Darstellung supramolekularer Rheologiemodifizierer etabliert wurden.

Eine dieser Sequenzen zeichnet sich durch hohe Löslichkeit bei saurem pH aus und bietet so als klassisches Oligopeptid eine günstigere und synthetisch deutlich leichter umsetzbare Alternative zu Depsi-Peptiden. Darüber hinaus eignet sich diese Peptidsequenz nicht nur zur Gelierung in Form eines Hybriden, sondern bildet darüber hinaus auch selbst ohne weitere zusätzliche Biopolymer-Komponenten attraktive Gele und wurde daher in die Untersuchungen miteingeschlossen. Damit konnte eine weitere, strukturell unterschiedliche Gelart als vielversprechender supramolekularer und nachhaltiger Rheologiemodifizierer identifiziert und optimiert werden.

Zusätzlich wurden die Hybride auch hinsichtlich der Kettenlänge des verwendeten Biopolymers variiert und der Effekt auf die mechanischen Eigenschaften untersucht. Motiviert wurde dieser Ansatz durch Beispiele aus der Natur, wo Biopolymere unterschiedlicher Kettenlängen und Funktionalisierungen beispielsweise in Geweben gezielt unterschiedliche Strukturen ausbilden und Funktionen erfüllen, aber auf ein einheitliches chemisches Bauprinzip des Biopolymers als Ausgangsmaterial oder Schablone zurückgegriffen wird. Insgesamt konnten dabei ähnliche Eigenschaften erzielt werden und gleichzeitig aber der prozentuale Peptid-Anteil im Gel gesenkt werden, was eine deutliche Kostenersparnis bedeutet und das Produkt insgesamt für eine breiteren Anwenderkreis erreichbar macht.

Das Erfolgskriterium für das AP 1 mindestens zwei verschiedene Rückgrate mit geeigneten Vernetzern zu identifizieren, welche eine Untersuchung der Geleigenschaften im AP2 ermöglichen, wurde deutlich übertroffen. Es konnten mehrere Materialien mit einer breiten Palette an mechanischen Eigenschaften hergestellt werden, die mit den industriellen Referenzpolymeren in den mechanischen Eigenschaften vergleichbar sind. Damit konnte der Beweis erbracht werden, dass biologisch inspirierte Vernetzungskonzepte, abgeleitet aus der extrazellulären Matrix, auch für industrielle Anwendungen als Rheologiemodifizierer vielversprechend sind. Um eine tiefgehende rheologische Charakterisierung der Materialien in AP2 zu erlauben, wurde die Auswahl auf zwei strukturell unterschiedliche Favoriten-Gele beschränkt die im Folgenden als Peptid-Hybrid-Gel und Peptid-Gel bezeichnet werden.

Für die weiterführenden Tests war es notwendig die Synthese der Materialien in größerem Maßstab durchführen zu können. Auch diese Optimierung, welche einem Upscaling um einen Faktor 100 im

Reaktionsmaßstab entspricht, konnte erfolgreich und mit guter Reproduzierbarkeit abgeschlossen werden. Dies ermöglichte die Durchführung der Arbeiten der folgenden APs.

AP2: Physikalisch-chemische Charakterisierung der erzeugten Materialien. Es werden die rheologischen Eigenschaften unter anwendungsnahen Bedingungen ermittelt.

Die Viskosität und das Quellverhalten wurden erwartungsgemäß durch verschiedene Parameter beeinflusst: Diese umfassen das Molekulargewicht des Rückgrates, die Art der Quervernetzung, sowie die Konzentrationen und Mischverhältnisse von Biopolymer und Peptid. Sie erlauben es die Materialeigenschaften gezielt und über einen breiten Bereich einzustellen. Es wurde eine systematische Variation der Parameter durchgeführt und die erhaltenen rheologischen Ergebnisse mit dem Industriepaten abgeglichen, um ein Material mit industrierelevanten Eigenschaften zu erhalten. Dabei fand ein Vergleich mit einem kommerziellen Referenzpolymer statt, um einen direkten Vergleich der Leistungsfähigkeit der neu entwickelten Materialien zu ermöglichen. Sowohl das Hybrid-Hydrogel als auch das Peptid-Hydrogel konnten vergleichbare mechanische Eigenschaften im Vergleich zum Referenzpolymer erzielen. Darüber hinaus erlaubt einer der Biopolymer-Peptid Hybride als multifunktionaler Rheologiemodifizierer die Einstellung einer breiten Spanne an mechanischen Eigenschaften via verschiedener Formulierungen eines einzigen Grundmaterials. Ein solches Material wurde im Projektantrag als besonders attraktiv eingestuft: Solche Hydrogele können als multifunktionales System dienen, indem die etablierte chemische Struktur unverändert bleibt aber durch gezielte Anpassung von Mischverhältnissen unterschiedliche Gelparameter erreicht werden können. Dies ermöglicht vielfältige Anwendungen in unterschiedlichen Formulierungen, bspw. In dem individuellen Hauttyp angepassten Cremes und anderen persönlichen Pflegeprodukten.

Die für Gele maßgeblichen mechanischen Parameter wie Speicher- und Verlustmodul, Gel-Sol Übergang bei mechanischer Belastung sowie Regenerationsfähigkeit nach selbiger, und Fließgrenzen wurden in AP 2 in Abhängigkeit der Materialzusammensetzung bestimmt. Angestrebt wurde eine möglichst geringe Veränderung der Viskositäten einer gegebenen Zusammensetzung, welche vergleichbar mit kommerziellen Polymeren sein sollte. Eine Auswahl an Gelen wurde daraufhin zusätzlich unter Variation von Parametern wie Lösemittel, pH-Wert, Temperatur und Salz charakterisiert. Hierbei wurden die mechanischen Eigenschaften der Gele unter pH-Werten zwischen pH 4 und pH 9 untersucht. Ebenfalls wurden die Gele auf ihre Temperaturstabilität hin untersucht. Zudem wurden weitere anwendungsnahe Parameter wie Transparenz, Färbung, und Dispergierbarkeit analysiert und optimiert.

Das Erfolgskriterium in AP2 zwei Hydrogelformulierungen bei verschiedenen Temperaturen und Salzkonzentrationen rheologisch zu charakterisieren, wurde erreicht.

AP3: Biologische Evaluation der erzeugten Hydrogele auf Verträglichkeit, Freisetzung verschiedener Actives und biologischer Abbaubarkeit.

Die entwickelten Rheologiemodifizierer sollten eine gute Verträglichkeit und Bioabbaubarkeit aufweisen. Beide Eigenschaften konnten für die entwickelten vielversprechendsten Hydrogele mittels Evaluation durch geeignete Testsysteme erfolgreich gezeigt werden. Zusätzlich wurde die allgemeine Hydrogelstabilität bei verschiedenen Temperaturen geprüft. Weiterhin war es von Interesse, die Hydrogele als Reservoir für Wirkstoffe, sogenannte „Actives“, zu evaluieren, um Wirkstoffe gezielt auf der Hautoberfläche freizusetzen. Hier kommen beispielsweise Vitamine, hautstraffende Peptide, oder Anti-Schuppen Mittel, z. B. Piroctone Olamine (1-Hydroxy-4-methyl-6-(2,4,4-trimethylpentyl)-2(1H)-pyridon monoethanolaminsalz) in Frage. Vorbild sind hierbei natürliche Systeme wo für die Stabilisierung oder Speicherung verschiedenster Substanzen zur Vermeidung von makroskopischer Phasenseparierung ein Zusammenspiel und Kompartimentierung aus hydrophoben und hydrophilen Abschnitten in Biomolekülen eingesetzt wird. Die homogene Einbringung von Actives konnte erfolgreich demonstriert werden, allerdings konnte deren Freisetzung aus Zeitgründen nicht mehr getestet werden.

Das Erfolgskriterium in AP3 konnte vollständig erreicht werden, *in vitro* Abbau- und Verträglichkeitstests von mindestens einem Hydrogel sowie nach OECD-Norm wurden gemacht.

AP4: Ermittlung der geeignetsten Anwendungsform der neuartigen Zusatzstoffe für verschiedene Arten von Kosmetika und Erstellen einer Proof-of-Concept Formulierung.

Nach Einarbeitung in die entsprechenden Personal Care Formulierungs Prozesse beim Industriepaten wurden die in den vorausgehenden APs identifizierten, vielversprechendsten Hydrogel Kandidaten im Rahmen des Industriepraktikums als Proof of Concept für eine spätere Anwendung in der kosmetischen Industrie formuliert. Die hergestellten Formulierungen wurden rheologisch untersucht und mit dem Industriepaten hinsichtlich verschiedener Applikationsformen evaluiert (topische Anwendung Creme, Lotion, und viele mehr). Ein hoher RCI-Wert war ausdrückliches Ziel für die im Vorhaben entwickelten Materialien und wurde ebenfalls (extern) bestimmt. Insgesamt wurde das Erfolgskriterium für AP4 vollständig erfüllt, es wurde mindestens eine Formulierung als Proof of Concept für eine spätere Anwendung in der kosmetischen Industrie etabliert

Gesamtziel des Vorhabens sowie Erreichung der Erfolgskriterien und Meilensteine.

Der Halbzeitmeilenstein des Vorhabens sah dabei die Herstellung und Charakterisierung von zwei supramolekularen Biogelen vor, welche unterschiedliche mechanische Eigenschaften aufweisen und von denen sich mindestens ein Biogel für eine weitere Entwicklung als Rheologiemodifizierer eignet und weiterentwickelt werden kann. Hierfür sollte anhand von oszillatorisch-rheologischen Messungen bewertet werden, ob Speichermoduli zwischen 400 Pa (unteres Limit) und 40 kPa (oberes Limit) sowie ein Gewichtprozentanteil von unter 5w% und eine Regeneration nach Scherbelastung von mindestens 70% realisiert werden können. Der Halbzeitmeilenstein, das Gesamtziel des Vorhabens und die einzelnen Teilziele wurden in der Gesamtheit vollständig erreicht oder übertroffen. Im Einzelnen beinhaltete das Gesamtziel die Synthese von mindestens zwei Hydrogelen und die umfangreiche Charakterisierung. Dabei wurde wie vorgesehen eine detaillierte rheologische Charakterisierung der zwei Hydrogelformulierungen bei verschiedenen Temperaturen und Salzkonzentrationen durchgeführt. Zuletzt wurden Abbau- und Verträglichkeitstests (*in vitro*) von mindestens einem Biogel nach OECD-Norm durchgeführt und der entsprechende RCI-Wert bestimmt.

Zusammenfassend konnte das übergeordnete Ziel der Förderung, inspiriert von der gelartigen extrazellulären Matrix von Säugetierzellen, Biogele mit einstellbaren rheologischen Eigenschaften zu entwickeln und diese als Zusatzstoffe in Kosmetika als beispielhafte Anwendung zu evaluieren erfolgreich erreicht werden. Diese aus nachhaltigen Rohstoffen gewonnenen Biogele wiesen wie erwartet aufgrund ihrer fibrillären Struktur verbesserte Eigenschaften gegenüber derzeit verwendeten Materialien auf. Die entwickelten Gele waren in ihren mechanischen Eigenschaften einstellbar und dabei vergleichbar oder besser als kommerzielle synthetische oder biologische Polymere. Sie erlaubten den Einsatz geringer Materialmengen, wiesen selbstheilende Eigenschaften sowie gute pH- und Salzstabilität auf. Die Gele wiesen eine gewisse Temperaturstabilität und -Regeneration auf, die den klassischen Rheologiemodifizierern weit überlegen war. Die Gele zeichneten sich darüber hinaus durch leichte Bioabbaubarkeit und einen hohen RCI-Wert aus. Zu den vorteilhaften Eigenschaften gehörten darüber hinaus Biokompatibilität sowie Langzeitstabilität bei unterschiedlichen Temperaturen. Zudem ließen sich die Gele ungleich vieler anderer postulierter supramolekularer Systeme gut skalieren (Gramm). Die Formulierung zur stabilen, weißen Creme konnte ebenfalls demonstriert werden.

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die auf dem Projekt beschäftigten Personen waren Frau Dr. Jasmina Gacanin (Postdoktorandin, wissenschaftliches Personal), Frau Ha-Chi Nguyen (technische Angestellte) und Herr Jan Hartenfels (hilfswissenschaftlicher Mitarbeiter). Frau Dr. Gacanin hat die wissenschaftlichen Arbeiten auf dem

Projekt ausgeführt und wurde dabei von Frau Nguyen bei der biologischen Evaluierung der von ihr hergestellten Materialien unterstützt. Herr Hartenfels hat Frau Gacanin bei der Herstellung verschiedener Peptidsequenzen und einiger Hybride unterstützt, allerdings ohne den vollen Umfang an beantragten Mitteln aufzuwenden. Aufgrund der anhaltenden Corona-Situation war eine Teilnahme an wissenschaftlichen Tagungen leider nur eingeschränkt möglich, weshalb die Reisemittel nicht vollständig verwendet wurden. Ein signifikanter Teil der Verbrauchsmittel wurde für die Synthese bzw. den Kauf von Peptiden verwendet (ca. 12.000 EUR für Peptide von kommerziellen Herstellern). Die restlichen Verbrauchsmaterialien wurden für die Synthese der Hybride und deren Charakterisierung aufgewendet. Dabei entstanden Mehrkosten von ca. 4.200 EUR gegenüber der ursprünglichen Finanzplanung, welche durch eine Umwidmung von nicht verausgabten Mittel in Reisen, HiWi und externe Aufträge, aufgefangen wurden. Insgesamt wurde der ursprünglich erstellte Finanzplan mit Ausnahme von geringfügigen Umwidmungen vollständig eingehalten. Das Projekt konnte mit den beantragten Mitteln erfolgreich durchgeführt werden.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten

Im Projekt konnte ein ambitionierter Arbeitsplan vor Allem dank des Einsatzes von Frau Dr. Gacanin, aber auch der anderen auf dem Projekt tätigen Mitarbeiter/innen, innerhalb der ursprünglich geplanten Laufzeit und innerhalb des beantragten Budgets erfolgreich durchgeführt werden. Dies war nur möglich, da mit Frau Dr. Gacanin eine erfahrene und hoch motivierte Mitarbeiterin für das Projekt gewonnen werden konnte. Dank der verfügbaren Verbrauchsmittel konnte insbesondere bei der Beschaffung optimierter Peptidsequenzen auf kommerzielle Quellen zurückgegriffen werden, was eine deutliche Zeitersparnis bedeutet hat. So war es möglich die Projektziele im recht kurzen Zeitraum von 12 Monaten zu erreichen. Es gilt herauszuheben, dass alle im Antrag gesetzten Ziele vollständig erreicht und zum Teil sogar übertroffen wurden.

4. Voraussichtlicher Nutzen und Fortschreibung des Verwertungsplans

Die im Rahmen des Projektes erzielten Ergebnisse konnten das vorgeschlagene Konzept bioinspirierter Hydrogele als Rheologiemodifizierer erfolgreich etablieren. Es konnten außerdem erste Formulierungen hergestellt werden, die unter anderem für eine Anwendung in kosmetischen Produkten von Interesse sind. Zusammen mit dem Industriepaten werden daher derzeit Material-, Formulierungs-, oder Anwendungspatente angestrebt. Weiterhin ist geplant die gewonnenen Erkenntnisse nach Abschluss des Patentierungsprozesses in ein oder mehreren Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Journalen zu publizieren. Eine direkte Überführung der Erkenntnisse in ein kommerzielles Produkt, z.B. beim Industriepaten, ist derzeit nicht geplant, da weitere Optimierungen notwendig sind, bevor ein solcher Schritt wirtschaftlich sinnvoll erscheint. Allerdings stellen die gewonnenen Erkenntnisse eine wichtige Basis für weitere Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten auf dem Weg zu einer kommerziellen Verwendung dieser Materialklasse dar. Wir bemühen uns derzeit aktiv um Fördermöglichkeiten für Folgeprojekte, um diese Arbeiten fortzusetzen. Neben der Verwendung als Rheologiemodifizierer und die daraus resultierenden Verwertungsmöglichkeiten, konnten in diesem Projekt auch wichtige Erkenntnisse in der Grundlagenforschung erzielt werden. Wir planen weitere Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der Peptid-Hybrid-Materialien als eine neue Klasse an weicher Materie durchzuführen. Diese sind zum Beispiel als künstliche extrazelluläre Matrixmaterialien in der Biologie und Biotechnologie von Interesse.

5. Darstellung des während der Durchführung des Vorhabens dem Zuwendungsempfänger bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Uns sind keine relevanten Fortschritte Dritter auf diesem Gebiet bekannt, welche innerhalb der Laufzeit des Projektes erzielt wurden.

6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr. 5 der NABF/NKBF

Mit Ausnahme einer Präsentation auf dem Statusseminar BMBF- Ideenwettbewerb „Biologisierung der Technik“ in Düsseldorf vom 17. – 18. Mai 2022 wurden bisher keine Veröffentlichungen getätigt, um das

Patentierungsverfahren nicht zu gefährden. Wie unter Punkt 4 erwähnt, planen wir allerdings mindestens eine Veröffentlichung in einem wissenschaftlichen Journal zu den im Projekt gewonnenen Erkenntnissen durchzuführen.