

Wir erwarten, daß diese Träger in einem geringeren Maß abflachen und die erreichbare Auflösung verbessern, wenn sie unter geeigneten Fixierbedingungen untersucht werden, z. B. im gefrorenen hydratisierten Zustand.

Die Verwendung von proteinbeschichteten Nanoröhren sollte weit über die erwähnten Anwendungen in der Strukturbiologie hinausreichen. Wahrscheinlich können Kohlenstoffnanoröhren industriell produziert werden, und Fortschritte in verwandten Gebieten werden bald die Manipulation dieser Nanostrukturen ermöglichen. Ein Schritt in diese Richtung wurde vor kurzem durch die Verwendung von Kohlenstoffnanoröhren als Probenspitzen für Rasterkraftmikroskope bezeugt.<sup>[21]</sup> Unsere Experimente zeigen, daß es möglich ist, die Nanoröhren zu funktionalisieren, um ihre Erkennungseigenschaften zu verändern. Neue Anwendungen solcher Nanomaterialien scheinen nun auf dem wachsenden Gebiet der Nanobiotechnologie möglich.

### Experimentelles

Mehrwandige Kohlenstoffnanoröhren wurden mit der Bogenentladungsmethode<sup>[2]</sup> hergestellt und in Form einer Suspension in Methanol aufbewahrt (2 mg mL<sup>-1</sup>). Für die Inkubation mit Streptavidin wurden 100 µL einer MWNT-Suspension in einem Ethangasstrom getrocknet und in 20 µL einer 40proz. wäßrigen Lösung von Ethanol resuspendiert. Die Lösung wurde in ein Ultraschallbad gestellt, um die MWNTs zu dispergieren, bevor 20 µL einer Streptavidinlösung (10 µg mL<sup>-1</sup> in einem Puffer aus 10 mM Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris), pH 8, und 50 mM NaCl) zugegeben wurden. Die Mischung wurde 45 min bei Raumtemperatur stehengelassen. Das HupR-Protein wurde in einem Puffer aus 10 mM Tris, pH 8, und 350 mM NaCl aufbewahrt. Für die Untersuchung seiner Wechselwirkung mit MWNTs wurde das gleiche Verfahren angewandt mit der Ausnahme, daß die Nanoröhren in reinem Wasser ohne Methanol resuspendiert wurden, bevor das Protein zugegeben wurde. 5 µL dieser Präparationen wurden auf einen 10 nm dicken Kohlenstofffilm gegeben, der zuvor mit einer Glimmentladung in Luft behandelt wurde. Nach einer Absorptionszeit von 2 min wurde das Trägerdrahtnetz mit einer 2proz. Uranylacetatlösung negativ angefärbt.

Die Bilder wurden bei 45000facher Vergrößerung mit einem Transmissionselektronenmikroskop (CM120, Philips) aufgenommen, das bei einer Spannung von 100 kV arbeitet. Dreifach vergrößerte Ausdrucke der elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit einem Scanner (Umax Powerlook II) bei einer Auflösung von 375 µm digitalisiert, was einer auf die Probe bezogenen Auflösung von 5 Å entspricht. Die Bilder wurden mit dem IMAGIC-Softwarepaket bearbeitet, um die Fourier-Transformierten sowie die Auto- und Kreuzkorrelationsfunktionen zu berechnen, um gemittelte Bilder der helicalen Wiederholungseinheit herzustellen und um mit einem gewichteten Rückprojektionsalgorithmus ein dreidimensionales Modell zu rekonstruieren.

Eingegangen am 30. Dezember 1998 [Z12857]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1912–1915

**Stichwörter:** Elektronenmikroskopie • Helicale Strukturen • Nanoröhren • Proteine • Selbstorganisation

[1] S. Iijima, *Nature* **1991**, 354, 56–58.

[2] T. W. Ebbesen in *Carbon Nanotubes – Preparation and Properties* (Hrsg.: T. W. Ebbesen), CRC Press, Boca Raton, FL, **1997**.

[3] J. J. Davis, M. L. H. Green, O. A. H. Hill, Y. C. Leung, P. J. Sadler, J. Sloan, A. V. Xavier, S. C. Tsang, *Inorg. Chim. Acta* **1998**, 272, 261–266.

[4] a) S. S. Tsang, Z. Guo, Y. K. Chen, M. L. H. Green, H. A. O. Hill, T. W. Hambley, P. J. Sadler, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2291–2294;

*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 2198–2200; b) Z. Guo, P. J. Sadler, S. C. Tsang, *Adv. Mater.* **1998**, 10, 701–703.

[5] M. M. J. Treacy, T. W. Ebbesen, J. M. Gibson, *Nature* **1996**, 381, 678–680.

[6] L. Chaiet, F. J. Wolf, *Arch. Biochem. Biophys.* **1964**, 106, 1–5.

[7] E. A. Bayer, H. Ben-Hur, M. Wilchek, *Methods Enzymol.* **1990**, 184, 80–89.

[8] W. D. Schwidop, P. Klossek, R. Muller, R. Claus, *J. Chromatogr.* **1990**, 520, 325–331.

[9] T. Furuno, H. Sasabe, *Biophysical J.* **1993**, 65, 1714–1717.

[10] W. A. Hendrickson, A. Pähler, J. L. Smith, Y. Satow, E. A. Merritt, R. P. Phizacker, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, 86, 2190–2194.

[11] S. A. Darst, M. Ahlers, P. H. Meller, E. W. Kubalek, R. Blankenburg, H. O. Ribi, H. Ringsdorf, R. D. Kornberg, *Biophysical J.* **1991**, 59, 387–396.

[12] a) P. Ringler, W. Müller, H. Ringsdorf, A. Brisson, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 620–625; b) E. M. Wilson-Kubalek, R. E. Brown, H. Célia, R. A. Milligan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 8040–8045.

[13] P. Richaud, A. Colbeau, B. Toussaint, P. M. Vignais, *J. Bacteriol.* **1991**, 173, 5928–5932.

[14] C. Vénien-Bryan, F. Balavoine, B. Toussaint, C. Mioskowski, E. A. Hewat, B. Helme, P. M. Vignais, *J. Mol. Biol.* **1997**, 274, 687–692.

[15] L. Lebeau, P. Schultz, H. Célia, P. Mésini, S. Nuss, C. Klinger, S. Olland, P. Oudet, C. Mioskowski in *Handbook of nonmedical applications of liposomes*, Vol. II, (Hrsg.: Y. Barenholz, D. D. Lasic), CRC Press, Boca Raton, FL, **1996**, S. 155–188.

[16] L. A. Amos, R. Henderson, P. N. T. Unwin, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1982**, 39, 183–231.

[17] D. J. DeRosier, P. B. Moore, *J. Mol. Biol.* **1970**, 52, 355–369.

[18] T. W. Jeng, R. A. Crowther, G. Stubbs, W. Chiu, *J. Mol. Biol.* **1989**, 205, 251–257.

[19] N. Unwin, *J. Mol. Biol.* **1993**, 229, 1101–1124.

[20] A. Hoenger, E. P. Sablin, R. D. Vale, R. J. Fletterick, R. A. Milligan, *Nature* **1995**, 376, 271–274.

[21] a) H. Dai, J. H. Hafner, A. G. Rinzler, D. T. Colbert, R. E. Smalley, *Nature* **1996**, 384, 147–150; b) S. S. Wong, E. Joselevich, A. T. Wooley, C. L. Cheung, C. M. Lieber, *Nature* **1998**, 394, 52–55.

[22] M. Van Heel, W. Keegstra, *Ultramicroscopy* **1981**, 7, 113–130.

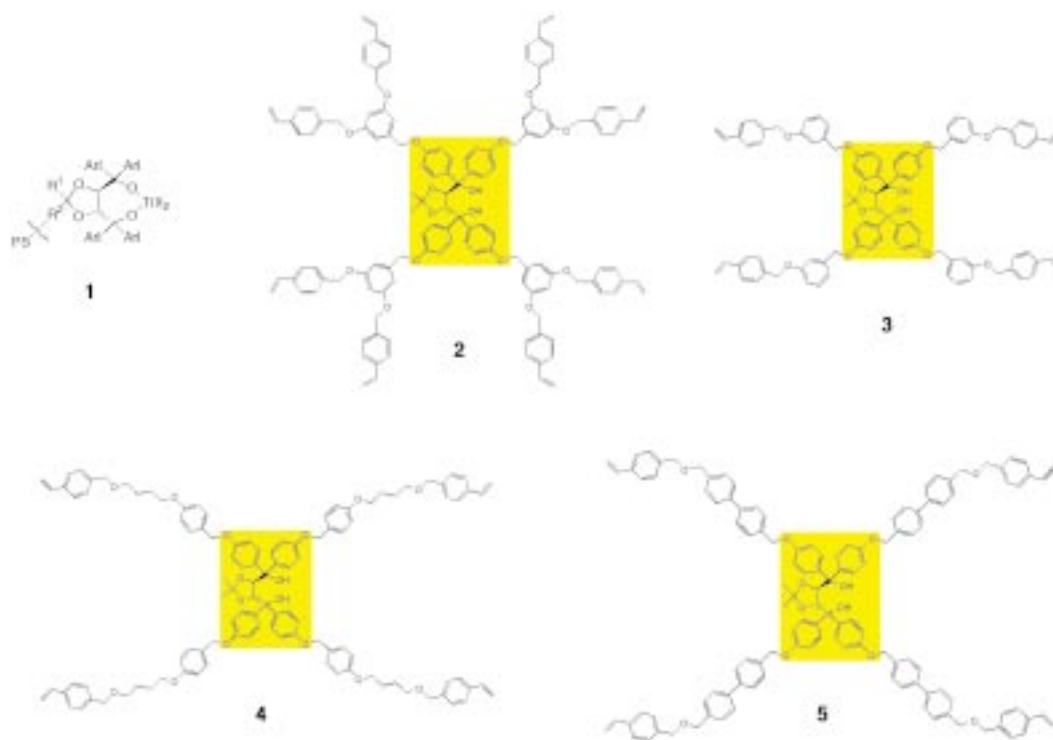
## Dendritisch quervernetzende chirale Liganden – hohe Standfestigkeit eines polystyrolgebundenen Ti-TADDOLat-Katalysators unter Diffusionskontrolle\*\*

Holger Sellner und Dieter Seebach\*

Polymergebundene Reagentien und Katalysatoren<sup>[1]</sup> haben durch die kombinatorische Synthese<sup>[2]</sup> wieder an Bedeutung gewonnen. Neben dem klassischen Vorgehen des Anheftens einer funktionellen Gruppe oder eines Liganden an ein Polymer, z. B. das Merrifield-Harz, findet man neuerdings auch Beispiele für das Einbetten der interessierenden Gruppe

[\*] Prof. Dr. D. Seebach, Dipl.-Chem. H. Sellner  
Laboratorium für Organische Chemie der Eidgenössischen  
Technischen Hochschule Zürich  
ETH-Zentrum, Universitätsstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)  
Fax: (+41)1-632-11-44  
E-mail: seebach@org.chem.ethz.ch

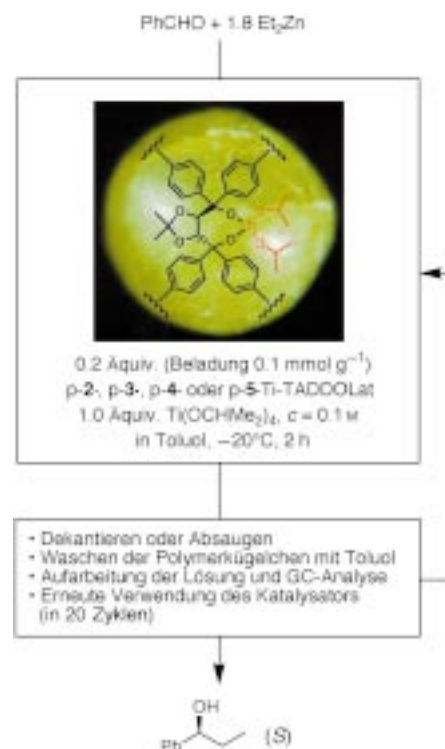
[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekte Nr. 20-50674.97 und 2027-048157) unterstützt.



Schema 1. Polymergebundenes Ti-TADDOLat **1** und styrylsubstituierte TADDOL-Derivate **2–5**, die als Quervernetzer mit Styrol radikalisch zu p-**2**, p-**3**, p-**4** oder p-**5** suspensionscopolymerisiert wurden. Beladung:  $0.1–0.6 \text{ mmol g}^{-1}$ .<sup>[7]</sup>

durch Copolymerisation.<sup>[3]</sup> Beide Methoden wurden auch beim TADDOL, einem vielseitigen Liganden (oder Ligandenvorstufe) für die EPC-Synthese,<sup>[4]</sup> angewendet<sup>[5]</sup> (siehe **1** in Schema 1). Vor zwei Jahren haben wir erstmals ein dendritisch verlängertes TADDOL, **2**, mit copolymerisierbaren Gruppen an der Peripherie quervernetzend in Polystyrol eingebaut und mit dem resultierenden Ti-Komplex eine enantioselektive Katalyseeffizienz beobachtet, die mit homogenen Analoga vergleichbar war.<sup>[6]</sup> Bevor wir diesen überraschenden Effekt mit anderen Liganden testeten, mußte seine Ursache näher ergründet werden, und die Stabilität der nach der neuen Methode hergestellten Katalysatoren bei vielfacher Anwendung mußte überprüft werden.

Aus dem Dendrimer **2** und – zum Vergleich – aus den mit mehr oder weniger langen oder flexiblen, styrylierten Abstandshaltern versehenen TADDOLen **3–5** stellten wir durch quervernetzende Suspensionscopolymerisation mit Styrol Kügelchen von p-**2**, p-**3**, p-**4** und p-**5** her (Schema 1),<sup>[7]</sup> welche im ungequollenen Zustand ca.  $400 \mu\text{m}$  Durchmesser haben. Durch Behandeln mit  $\text{Ti}(\text{OCHMe}_2)_4$  entstehen die in Schema 2 schematisch dargestellten Diisopropoxy-Ti-TADDOLate, wobei für das p-**2**-Derivat durch Elementaranalyse nachgewiesen wurde, daß bei einer Beladung von  $0.1 \text{ mmol g}^{-1}$  ca. 85 % der chiralen Dioleneinheiten im Polymer ein Ti-Ion komplexieren. Die polymergebundenen Ti-TADDOLate wurden zur Katalyse der nucleophilen Addition von Diethylzink an Benzaldehyd<sup>[4]</sup> unter den in Schema 2 angegebenen Bedingungen jeweils 20mal hintereinander eingesetzt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 zusammengestellt.



Schema 2. Enantioselektive Addition von Diethylzink an Benzaldehyd unter dem Einfluß der polymergebundenen Ti-TADDOLate aus p-**2**–p-**5** (Schema 1) unter Standardbedingungen. Beim Einsatz von 0.20, 0.05, 0.02 Äquiv. p-**2**·Ti-TADDOLat ist die (S)/(R)-Selektivität, mit der sich 1-Phenylpropanol bildet, 98/2, 96/4 bzw. 90/10 (GC-Analyse<sup>[5a]</sup>). Ergebnisse der 20 Zyklen siehe Abbildung 1.

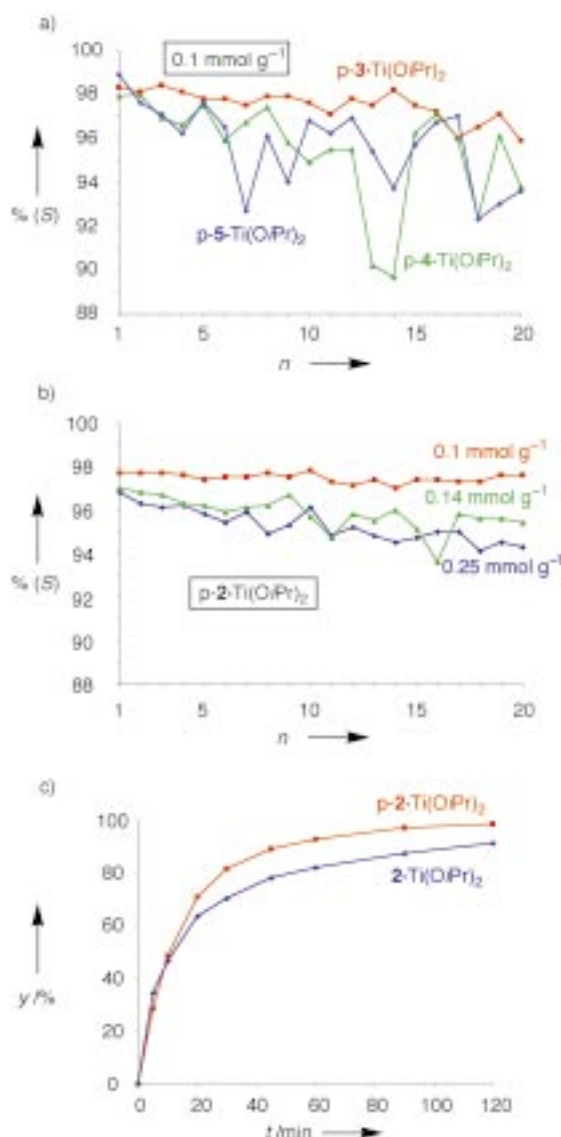


Abbildung 1. Enantioselektivitäten bei der Bildung von (S)-1-Phenylpropanol in  $n$  Katalysezyklen a) mit p-3-, p-4- und p-5-Ti-TADDOLat unter Standardbedingungen (Schema 2) und b) mit p-2-Ti-TADDOLat bei Beladungen von 0.1, 0.14 und 0.25 mmol g<sup>-1</sup>; c) Vergleich der Reaktionsgeschwindigkeiten mit polymergebundenem (rot) und mit homogenem (blau) dendritischem Ti-TADDOLat ( $y$  = Umsatz).<sup>[9]</sup>

Folgende Beobachtungen sind bemerkenswert:

- 1) Obwohl bei niedriger Beladung von 0.1 mmol TADDOL pro g Polymer die Enantioselektivität nie unter 9:1 fällt, ist festzuhalten, daß sie nur mit dem dendritischen Polymer über 20 Zyklen praktisch konstant bei 98:2 liegt (Abbildung 1 a, b).
- 2) Die Leistung der Katalysatoren nimmt mit Verlängerung der nicht verzweigten Kette zwischen TADDOL-Einheit und Polymerrückgrat von p-3 zu p-4 und p-5 ab. Neben einem Abwärtstrend beobachtet man Schwankungen von Selektivität (und Geschwindigkeit/Umsatz;<sup>[8]</sup> Abbildung 1 a).
- 3) Dieselben nachteiligen Effekte treten auch bei höherer Beladung auf (Abbildung 1 b).
- 4) Die niedrig beladenen dendritischen p-2-Perlen behalten auch nach 20 Zyklen ihre hohe Quellfähigkeit (ca.

2.5fach), während alle anderen nach vielfacher Verwendung in Toluol immer weniger quellen.

- 5) Mit den p-2-Perlen, die unter Standardbedingungen das gesamte Reaktionsvolumen erfüllen, ist die Reaktionsgeschwindigkeit mit und ohne Rühren gleich (keine Behinderung der Diffusion von Reaktanten und Produkt zum aktiven Zentrum).
- 6) Das monomere, lösliche dendritische Diisopropoxy-2-Ti-TADDOLat und das davon abgeleitete polymere p-2-Ti-TADDOLat ergeben praktisch gleiche Reaktionsgeschwindigkeiten, es scheint sogar, daß das polymere etwas schneller ist (Abbildung 1 c).<sup>[9]</sup>

Schlußfolgerung: Es lohnt sich, auch andere *erfolgreiche* homogene Liganden dendritisch zu verlängern, sie quervernetzend in Polymere einzubauen und die Leistung der resultierenden immobilisierten Katalysatoren zu studieren.

Eingegangen am 1. Februar 1999 [Z 12980]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1918–1920

**Stichwörter:** Asymmetrische Katalyse • Dendrimere • Immobilisierungen • Polymere • Titan

- [1] Früher Übersichtsartikel: A. Patschornik in *Modern Synthetic Methods*, Vol. 1 (Hrsg.: R. Scheffold), Sauerländer, Aarau, **1976**, S. 113–168.
- [2] Übersicht: S. R. Wilson, A. W. Czarnik, *Combinatorial Chemistry, Synthesis and Application*, Wiley, New York, **1997**.
- [3] a) S. Itsuno, Y. Sakurai, K. Ito, T. Maruyama, S. Nakahama, J. M. J. Fréchet, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 304–310; b) K. Kamahori, S. Tada, K. Ito, S. Itsuno, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, 6, 2547–2555; c) S. Itsuno, K. Kamahori, K. Watanabe, K. Ito, *Macromol. Symp.* **1996**, 105, 155–159; d) A. Petri, D. Pini, S. Rapaccini, P. Salvadori, *Chirality* **1995**, 7, 580–585; e) F. Minutolo, D. Pini, P. Salvadori, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 3375–3378; f) A. Mandoli, D. Pini, S. Orlandi, F. Mazzini, P. Salvadori, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 1479–1482; g) K. Nozaki, Y. Itoi, F. Shibahara, E. Shirakawa, T. Ohta, H. Takaya, T. Hiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 4051–4052.
- [4] R. Dahinden, A. K. Beck, D. Seebach in *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, Vol. 3 (Hrsg.: L. Paquette), Wiley, Chichester, **1995**, S. 2167–2170, zit. Lit.
- [5] a) D. Seebach, R. Marti, T. Hintermann, *Helv. Chim. Acta* **1996**, 79, 1710–1740; b) P. J. Comina, A. K. Beck, D. Seebach, *Org. Proc. Res. Dev.* **1998**, 2, 18–26; c) B. Altava, M. I. Burguete, B. Escuder, S. V. Luis, R. V. Salvador, J. M. Fraile, J. A. Mayoral, A. J. Royo, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 3126–3134; d) J. Irurre, A. Fernandez-Serrat, F. Rosanas, *Chirality* **1997**, 9, 191–197; e) J. Irurre, A. Fernandez-Serrat, M. Altayo, *Enantiomer* **1998**, 3(2), 103–120.
- [6] P. B. Rheiner, H. Sellner, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 2027–2032.
- [7] Die zentrale TADDOL-Einheit wurde als Hexahydroxy-Derivat eingesetzt und mit dem jeweiligen Benzylbromid verethert.<sup>[6]</sup> Zur Copolymerisation siehe Lit. [5a, b, 6].
- [8] Auch unsere Polymere aus den früher untersuchten einfachen TADDOL-Styrylderivaten zeigten derartige Ermüdungserscheinungen.<sup>[5a, b]</sup>
- [9] Obwohl die Kurven in Abbildung 1 c mehrmals reproduziert wurden, wählen wir diese vorsichtige Formulierung: Die Messungen sind heikel, vor allem weil auch die Ti(OCHMe<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-Konzentration die Geschwindigkeit stark beeinflusst und Dosierung und Probenentnahme bei den im 0.5 mmol-Maßstab durchgeführten kinetischen Messungen nicht einfach sind.