

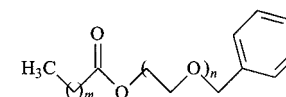
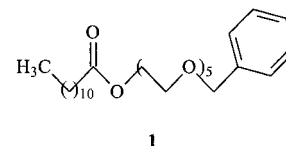
- [1] J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry*, VCH, Weinheim, **1995**.
 [2] P. Gütllich, A. Hauser, H. Spiering, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2109–2141; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2024–2054, zit. Lit.
 [3] O. Kahn, C. J. Martinez, *Science* **1998**, *279*, 44–48.
 [4] W. Fujita, K. Awaga, *Science* **1999**, *286*, 261–262.
 [5] G. S. Hanan, D. Volkmer, U. S. Schubert, J.-M. Lehn, G. Baum, D. Fenske, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1929–1931; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1842–1844.
 [6] a) K. L. V. Mann, E. Psillakis, J. C. Jeffery, L. H. Rees, N. M. Harden, J. A. McCleverty, M. D. Ward, D. Gatteschi, F. Totti, F. E. Mabbs, E. J. L. McInnes, P. C. Riedi, G. M. Smith, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1999**, 339–348; b) C. S. Campos-Fernández, R. Clérac, K. R. Dunbar, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3685–3688; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3685–3688.
 [7] A. Semenow, J. P. Spatz, M. Möller, J.-M. Lehn, B. Sell, D. Schubert, C. H. Weidl, U. S. Schubert, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2701–2705, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2547–2550.
 [8] G. S. Hanan, U. S. Schubert, D. Volkmer, E. Riviere, J.-M. Lehn, N. Kyritsakas, J. Fischer, *Can. J. Chem.* **1997**, *75*, 169–182.
 [9] I. Bertini, C. Luchinat, *NMR of Paramagnetic Molecules in Biological Systems*, Benjamin/Cummings, Sydney, **1986**.
 [10] Einkristall-Röntgenstrukturanalyse von **1**: Ein geeigneter dunkelgrüner Kristall ($0.5 \times 0.4 \times 0.2 \text{ mm}^3$) von $[\text{C}_{120}\text{H}_{80}\text{N}_{24}\text{Fe}_4] \cdot 8\text{ClO}_4 \cdot 9\text{CH}_3\text{CN} \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ wurde aus Acetonitril-Diisopropylether erhalten. Die Daten wurden bei 293.0(2) und 100.0(2) K an demselben Kristall gemessen. Beide Datensätze wurden mit einem Nonius-Kappa-CCD-Diffraktometer und einem Graphitmonochromator [$\lambda(\text{MoK}\alpha) = 0.71073 \text{ \AA}$] aufgenommen. Die Daten wurden nach Denzo behandelt.^[15] LP-Korrektur wurde durchgeführt. Die Absorptionskorrektur wurde mit SORTAV durchgeführt.^[16] Die Struktur wurde durch Direkte Methoden gelöst^[17] und gegen F^2 ^[18] verfeinert. Die Lage der Wasserstoffatome wurde nach geometrischen Gesichtspunkten mit isotropen Temperaturfaktoren (der C-Temperaturfaktor mal 1.2 oder 1.5) berechnet und unter Verwendung eines Reitermodells verfeinert. **1** bei 293 K: triklin, $P\bar{1}$, $a = 17.7037(3)$, $b = 18.4101(2)$, $c = 25.0629(4) \text{ \AA}$, $\alpha = 85.7672(9)^\circ$, $\beta = 82.2308(7)^\circ$, $\gamma = 65.3290(8)^\circ$, $V = 7353.5(2) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.473 \text{ g cm}^{-3}$, $2\theta_{\text{max}} = 55.84^\circ$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.619 \text{ mm}^{-1}$, $T_{\text{min}} = 74.7\%$, $T_{\text{max}} = 88.6\%$. 87831 beobachtete Reflexe, 34382 unabhängige Reflexe [$15895 I > 2\sigma(I)$] wurden für die Verfeinerung verwendet. Die endgültigen R-Werte waren $R = 0.102$, $wR^2 = 0.251$ [$I > 2\sigma(I)$], $R = 0.213$, $wR^2 = 0.314$ (gesamter Datensatz) für 1877 Parameter. Max. Restelektronendichte 1.02 e \AA^{-3} (in der Nähe der fehlgeordneten ClO_4^- -Ionen). **1** bei 100 K: triklin, $P\bar{1}$, $a = 17.2936(3)$, $b = 18.0917(3)$, $c = 24.7836(5) \text{ \AA}$, $\alpha = 85.1273(11)^\circ$, $\beta = 82.0435(12)^\circ$, $\gamma = 64.9006(9)^\circ$, $V = 6951.3(2) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.558 \text{ g cm}^{-3}$, $2\theta_{\text{max}} = 55.84^\circ$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.655 \text{ mm}^{-1}$, $T_{\text{min}} = 73.5\%$, $T_{\text{max}} = 88.0\%$. 91012 beobachtete Reflexe, 32258 unabhängige Reflexe [$19824 I > 2\sigma(I)$] wurden für die Verfeinerung verwendet. Die endgültigen R-Werte waren $R = 0.1150$, $wR^2 = 0.2770$ [$I > 2\sigma(I)$], $R = 0.1771$, $wR^2 = 0.3148$ (gesamter Datensatz) für 1912 Parameter. Max. Restelektronendichte 2.37 e \AA^{-3} (in der Nähe der Eisenatome, der fehlgeordneten ClO_4^- -Ionen und Acetonitrilmoleküle). Die kristallographischen Daten (ohne Strukturaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden als „supplementary publication no.“ CCDC-140266 und -140267 beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
 [11] P. Gütllich, R. Link, A. Trautwein, *Mössbauer Spectroscopy and Transition Metal Chemistry*, Springer, New York, **1974**.
 [12] Weitere Untersuchungen sind in Arbeit.
 [13] S. Decurtins, P. Gütllich, C. P. Köhler, H. Spiering, A. Hauser, *Chem. Phys. Lett.* **1984**, *105*, 1–4.
 [14] A. Desaix, O. Roubeau, J. Jetic, J. G. Haasnoot, K. Boukheddaden, E. Codjovi, J. Linares, M. Nogues, F. Varret, *Eur. Phys. J. B* **1998**, *6*, 183–193.
 [15] Z. Otwinowski, W. Minor, *Methods Enzymol.* **1997**, *276*, 307–326.
 [16] R. H. Blessing, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1995**, *51*, 33–37.
 [17] G. M. Sheldrick, SHELXS97-A Program for Automatic Solution of Crystal Structures, *Universität Göttingen*, **1997**.
 [18] G. M. Sheldrick, SHELXL97-A Program for Crystal Structure Refinement, *Universität Göttingen*, **1997**.

Fettsäure-Oligoethylenglycolester bilden Ionenkanäle in Lipidmembranen**

Tanja Renkes, Hans J. Schäfer,* Peter M. Siemens und Eberhard Neumann*

In memoriam Eberhard Steckhan

Der selektive Transport von Alkali- und Erdalkalimetallionen durch biologische Zellmembranen wird durch Ionenkanal-Proteine vermittelt, deren Aktivität entweder elektrisch oder durch Transmittermoleküle gesteuert wird.^[1, 2] Trotz umfangreicher Kenntnisse zur Biophysik der Ionenleitung ist noch weitgehend unklar, wie der Transport auf molekularer Ebene abläuft.^[2, 3] Da die chemischen Strukturen natürlicher Ionenkanäle durch Röntgenstrukturanalysen oder NMR-Spektroskopie nur begrenzt zugänglich sind,^[4] versucht man, einzelne Strukturelemente durch Synthese und Charakterisierung künstlicher Ionenkanalbildner zu erkennen.^[5] Außer Modellen mit Peptiden als Grundmotiv sind auch unterschiedliche nichtpeptidische Verbindungen als Ionenkanalbildner beschrieben worden.^[6, 7] Besonders interessant ist hierbei der von Menger et al. hergestellte Protonenkanalbildner **1**,^[8] der gestreckt in der Lipidphase der Membran vorliegt und diese durchspannt. Die spontane Einlagerung von **1** in eine Membran wird durch den hydrophoben Fettsäurerest und durch die Wechselwirkung der Benzylgruppe mit dem positiv geladenen Cholinrest der Kopfgruppe des Lipids unterstützt. Durch diese Einbettung in die Membran kann die Oligoethylenglycolkette die Hydrophilie lokal erhöhen.^[9]



2a: $m = 12$, $n = 4$
2b: $m = 10$, $n = 4$
2c: $m = 8$, $n = 5$
2d: $m = 6$, $n = 5$

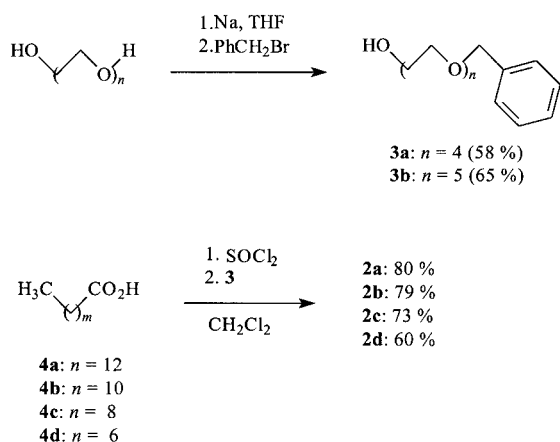
Wir beschreiben hier die Synthese und Charakterisierung der kanalbildenden Verbindungen **2a–d** mit der Struktur von **1** als Grundmotiv unter Variation der Länge der Fettsäure- und der Ethylenglycolkette. Ihre Kanalaktivität wird durch Fluoreszenzmessungen und erstmals auch durch elektrische Einzelkanal-Leitwerte charakterisiert.

[*] Prof. Dr. H. J. Schäfer, Dipl.-Chem. T. Renkes
 Institut für Organische Chemie der Universität Münster
 Corrensstraße 40, 48149 Münster (Deutschland)
 Fax: (+49) 251-83-39772
 E-mail: schafefh@uni-muenster.de

Prof. Dr. E. Neumann, Dipl.-Chem. P. M. Siemens
 Physikalische und Biophysikalische Chemie, Fakultät für Chemie
 Universität Bielefeld
 Postfach 100131, 33501 Bielefeld (Deutschland)
 Fax: (+49) 521-106-2981
 E-mail: eberhard.neumann@uni-bielefeld.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 424: Molekulare Orientierung als Funktionskriterium in chemischen Systemen) gefördert.

Die Ionenkanalbildner **2a–d** werden durch zweistufige Synthesen erhalten: Hierfür wird zunächst Tetra- oder Pentaethylenglycol über eine Williamson-Ethersynthese in die entsprechenden Monobenzylether **3a** und **3b** überführt, und diese werden mit den Fettsäuren **4a–d** zu **2a–d** verestert (Schema 1).



Schema 1. Synthese der Ionenkanalbildner **2a–d**.

Zur Untersuchung der Ionenkanalaktivität werden **2a–d**, **1** und Gramicidin D in 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin(DPPC)-Vesikelmembranen integriert. Die Geschwindigkeit des Ionenflusses durch die Vesikelmembran wird über zeitaufgelöste Fluoreszenz bestimmt, wobei Pyranin als pH-Indikator dient, dessen Emissionsspektrum bei pH-Werten über 7.2 und einer Anregungswellenlänge von 450 nm ein Maximum bei 511 nm aufweist, das sich bei pH-Werten unter 7.2 stark vermindert.^[10] Die DPPC-Vesikel sind in einer schwach gepufferten Pyraninlösung (pH 7.7) suspendiert.^[11] Das in der äußeren wässrigen Lösung enthaltene Pyranin wurde von den Vesikeln durch zweifache Gelfiltration abgetrennt, sodass sich die fluoreszierenden Eigenschaften der Probe ausschließlich auf das im Innenraum eingeschlossene Pyranin zurückführen lassen und die Fluoreszenz als ein Maß für die Protonenkonzentration innerhalb der Vesikel gewertet werden kann. Die Absenkung des pH-Wertes außerhalb der Vesikel um eine Einheit bewirkt eine zweiphasige Fluoreszenzabnahme.^[12] Der anfänglich sprunghafte Abfall der Fluoreszenz beruht auf einer elektrisch nicht kompensierten Diffusion von Protonen in die Vesikel. Das daraus resultierende Transmembranpotential ergibt eine langsamere Diffusion von Kaliumionen nach außen. So wie Kaliumionen nach außen dringen, können weitere Protonen in die Vesikel strömen, d.h., die Poren leiten unter diesen Bedingungen sowohl Protonen- als auch Kaliumionen.^[12]

Abbildung 1 zeigt, dass die Verbindungen **2a–d** Ionenkanalbildner sind, wobei aber nicht alle im gleichen Maße den Ionendurchtritt durch die Membran fördern. Bei einem Vergleich erkennt man, dass **2a** und **2d** Protonen und Kaliumionen weniger gut transportieren als **1**; **2b** dagegen weist eine leichte, **2c** eine deutlich bessere Ionenkanalaktivität als **1** auf.^[13] Die unterschiedlichen Transporteigenschaften lassen Schlüsse auf den Zusammenhang zwischen Struktur und Aktivität der Kanalbildner zu. Haben zwei Verbindungen

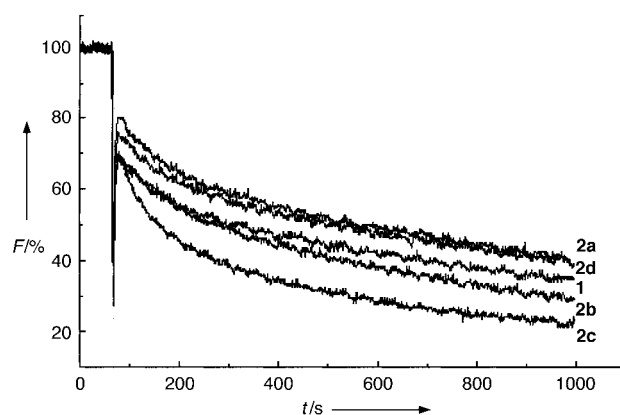


Abbildung 1. Fluoreszenzemission ($\lambda(\text{ex}) = 450$, $\lambda(\text{em}) = 511$ nm) der Pyranin enthaltenden Vesikel-Suspension (aus 0.2 g L^{-1} (0.2 mM) DPPC, $d = 100$ nm) in Phosphatpuffer (pH 7.7), die **1** oder **2a–d** mit einer Konzentration von $4 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ (ca. $8 \mu\text{M}$) enthält. Bei $t = 65$ s wird der pH-Wert von 7.7 auf 6.7 erniedrigt.

wie **1** und **2b** oder **2a** und **2c** ungefähr die gleiche Länge und sind sie genügend hydrophob, um sich in die Membran einzulagern, so hat offenbar die Verbindung mit der höheren Zahl an Sauerstoffatomen die bessere Ionenkanalaktivität. Ferner weist die Länge des Kanalbildners ein Optimum auf, wie Vergleiche zwischen **2c** und **1** oder **2a** und **2b** zeigen. Unter den hier vorgestellten Verbindungen hat **2c** das günstigste Verhältnis von der Gesamtkettenlänge zur Zahl der Ethylenglycoleinheiten, da **2c** die beste Kanalaktivität zeigt. Trotz gleicher Zahl der Ethylenglycoleinheiten hat **2d** eine wesentlich geringere Ionenkanalaktivität als **2c**. Bei **2d** ist der hydrophobe Anteil sehr klein und der Kanalbildner insgesamt sehr kurz, sodass er sich dadurch weniger günstig in die Membran integriert.

Zu einer Aussage über den molekularen Aufbau eines Ionenkanals aus **2a–d** gelangt man durch einen Vergleich von **2c** mit dem natürlichen Ionenkanalbildner Gramicidin D (Abbildung 2). Gramicidin D vermag schon bei einer Konzentration von nur $2 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ ($1 \mu\text{M}$) in der Vesikellösung die Protonenkonzentration im Innenraum der Vesikel deutlich zu steigern. Allerdings erhöht sich mit steigender Konzentration bis auf $5 \mu\text{M}$ die Ionenleitung kaum noch; die

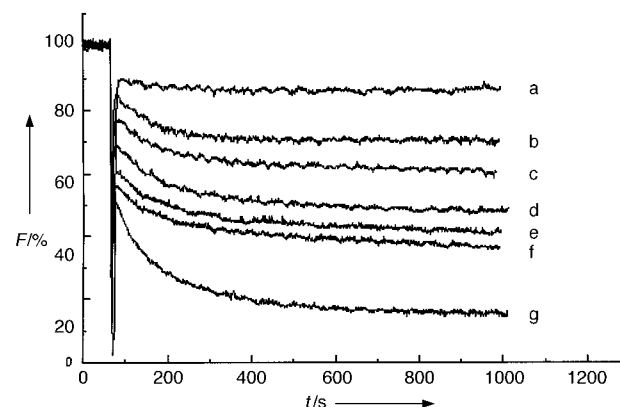


Abbildung 2. Fluoreszenzemission von Pyranin in Vesikeln ohne (a) und mit Zusatz von Gramicidin D (d: $2 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ ($1 \mu\text{M}$), e: $4 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ ($2 \mu\text{M}$), f: $1 \times 10^{-2} \text{ g L}^{-1}$ ($5 \mu\text{M}$)) oder **2c** (b: $2 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ ($4 \mu\text{M}$), c: $4 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ ($8 \mu\text{M}$), g: $1 \times 10^{-2} \text{ g L}^{-1}$ ($20 \mu\text{M}$)) zum Phosphatpuffer (pH 7.7), Messbedingungen wie bei Abbildung 1.

Ionenkanalaktivität von Gramicidin D hat folglich einen Grenzwert erreicht. **2c** dagegen bedarf deutlich höherer Konzentrationen zum Aufbau eines Ionenkanals (4–20 μM). Anders als bei Gramicidin D bewirkt eine Erhöhung der Konzentration auf 20 μM eine weitere Zunahme der Ionenkanalaktivität. Bei dieser Konzentration führt **2c** zu einem schnelleren Ionentransport als Gramicidin D. Diese Beobachtung weist darauf hin, dass zur Bildung eines Ionenkanals aus **2c** anders als bei Gramicidin D mehr als zwei Moleküle notwendig sind.^[14] Wahrscheinlich liegt eine Kopf-Schwanz-Orientierung der Moleküle innerhalb der Doppelschicht vor, da zur Bildung einer Pore der hydrophile Teil des Ionenkanalbildners die gesamte Membran durchspannen muss.

Da die Fluoreszenzemission nur ein Summenbild der Aktivität vieler Kanalbildner liefert, werden zusätzlich elektrische Messungen an planaren Lipidmembranen durchgeführt, die Aussagen zur Leitfähigkeit und Dynamik einzelner Ionenkanäle zulassen.^[15] Als geeignete Membranbestandteile werden Sojabohnenlipide mit 20-proz. Phosphatidylcholin/Cholesterin (9:1, w/w) verwendet.^[16] Die Kanalaktivität bei einem Transmembranpotential von +100 mV in Gegenwart von 1M KCl als Leitsalz ist in Abbildung 3 dokumentiert.

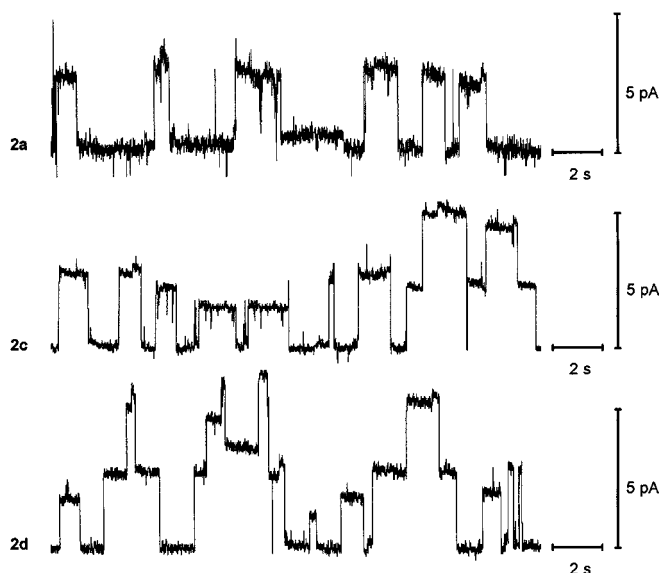


Abbildung 3. Einzelkanalereignisse (Kanäle) der Substanzen **2a**, **2c** und **2d** in planaren Lipid-Doppelschichtmembranen bei einer Transmembran-spannung von $U = +100$ mV, Strom-Zeit-Spuren (I/pA ; t/s) über jeweils 20 s. Experimentelle Bedingungen: Membran: Sojabohnenlipidextrakt mit 20-proz. Phosphatidylcholin/Cholesterin (9:1, w/w) und 2.5 μM **2a**, **2c**, **2d** im Puffer, Puffer: 1M KCl, 296 K, Filterfrequenz: 100 Hz, Abtastfrequenz: 500 Hz.

Dabei zeigt **1** keine Kanalaktivität. Bei **2b** wird lediglich eine Abnahme des Membranwiderstands gemessen; es treten keine Einzelkanalereignisse auf.

Die Substanzen **2a**, **2c** und **2d** dagegen zeigen Einzelkanalereignisse (Abbildung 3). Die Spezifität der gebildeten Ionenkanäle für Kationen wird durch weitere Messungen von **2** mit LiCl (Abbildung 4) und CsCl (Abbildung 5) belegt. Mit diesen Salzen zeigen auch nur die Verbindungen **2a**, **2c** und **2d** Einzelkanalereignisse. In allen drei

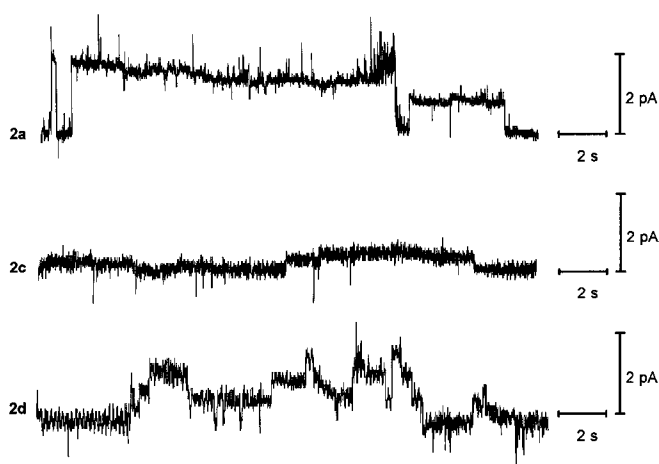


Abbildung 4. Einzelkanalereignisse (Kanäle) der Substanzen **2a**, **2c** und **2d** in planaren Lipid-Doppelschichtmembranen bei einer Transmembran-spannung von $U = +100$ mV, Puffer: 1M LiCl. Alle anderen Messbedingungen wie bei Abbildung 3.

Fällen ist der Einzelkanalstrom in Gegenwart von Cäsiumionen deutlich größer, in Gegenwart von Lithiumionen hingegen deutlich kleiner als bei den Messungen mit KCl als Leitsalz.

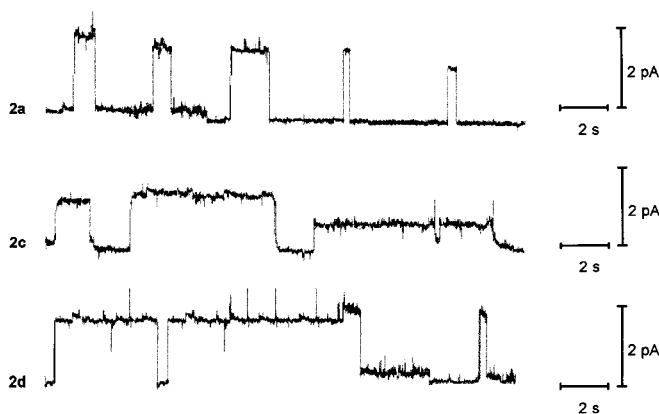


Abbildung 5. Einzelkanalereignisse (Kanäle) der Substanzen **2a**, **2c** und **2d** in planaren Lipid-Doppelschichtmembranen bei einer Transmembran-spannung von $U = +100$ mV, Puffer: 1M CsCl. Alle anderen Messbedingungen wie bei Abbildung 3.

Da der Einzelkanalstrom von Lithium über Kalium nach Cäsium zunimmt – also mit zunehmendem Ionenradius (Li^+ 78, K^+ 133, Cs^+ 169 pm),^[17] aber abnehmendem Radius des hydratisierten Ions (Li^+ 382, K^+ 331, Cs^+ 329 pm)^[17] –, ist anzunehmen, dass die Ionen zumindest teilweise ihre Hydrathülle abstreifen müssen, um durch den Ionenkanal zu wandern. Der Porendurchmesser eines solchen Ionenkanals muss somit zwischen 340 und 660 pm liegen.

Die Substanzen **2c** und **2d** führen bei gegebener Spannung zu Einzelkanalereignissen unterschiedlicher Stromstärke (Abbildung 6). Dagegen ergibt **2a** bei gegebener Spannung

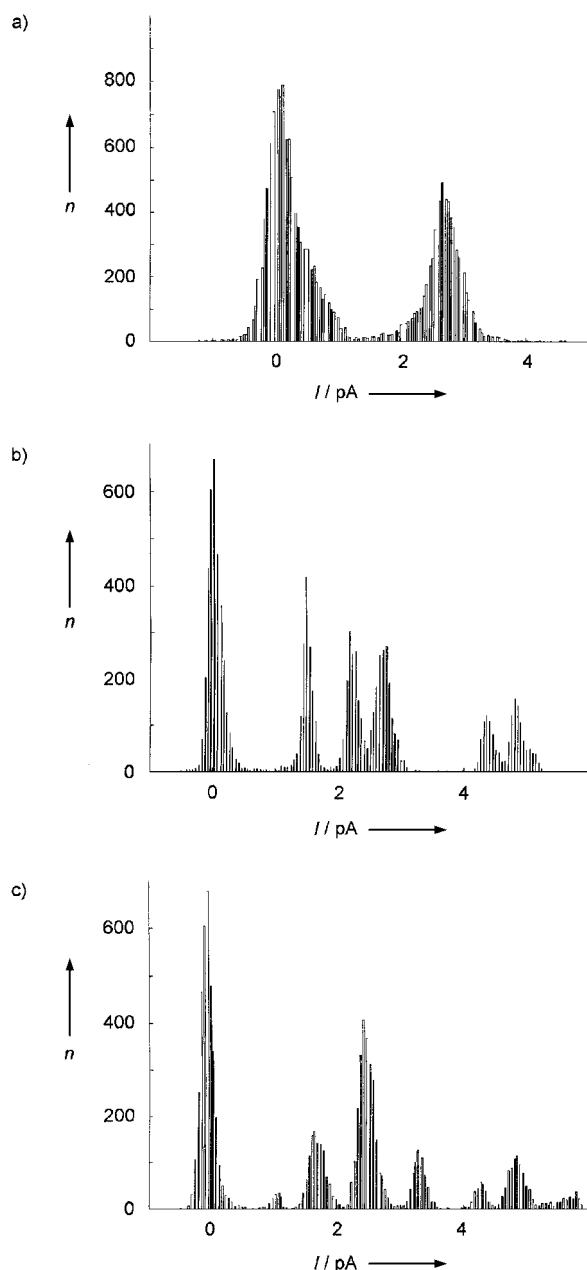


Abbildung 6. Amplituden-Histogramm der Kanalspuren aus Abbildung 3 (**2a** (a), **2c** (b) und **2d** (c)). Häufigkeit der Kanalstromwerte n als Funktion der Stromwerte (I/pA).

Einzelkanalströme einer definierten Stromstärke; die Stromstärke-Spannungs-Abhängigkeit ist hier linear und ergibt einen Leitwert von $26 \pm 1.5 \text{ pS}$ (Abbildung 7).

Dieser Unterschied kennzeichnet verschieden aufgebaute Ionenkanäle. **2a** bildet offensichtlich Poren mit einem einheitlichen Durchmesser, **2c** und **2d** hingegen mehrere Porentypen mit unterschiedlichen Durchmessern. Wahrscheinlich lagert sich eine unterschiedliche Zahl von Kanalbildnern zu verschiedenen Assoziaten zusammen.

Aufbauend auf dem Motiv von **1** haben wir Ionenkanalbildner hergestellt, die gegenüber anderen künstlichen Kanalbildnern mehrere Vorteile haben: Sie sind wahrscheinlich membrandurchspannend, präparativ einfach zugänglich und

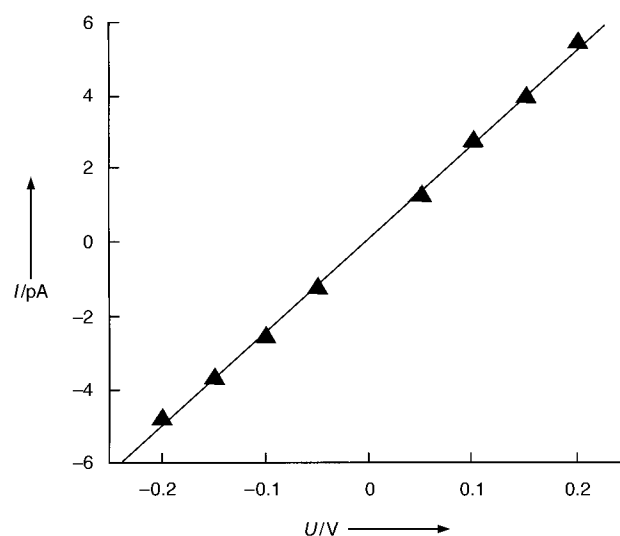


Abbildung 7. Symmetrische Spannungsabhängigkeit des Einzelkanalstroms von **2a**. Lineare Regression ergibt einen Leitwert von $G = 26 \pm 1.5 \text{ pS}$. Experimentelle Bedingungen: Membran: Sojabohnenlipidextrakt mit 20-proz. Phosphatidylcholin/Cholesterin (9:1, w/w) und $2.5 \mu\text{M}$ **2a** im Puffer, Puffer: 1 M KCl , 296 K ; Filterfrequenz: 100 Hz ; Abtastfrequenz: 500 Hz .

modular aufgebaut mit Variationsmöglichkeiten für die Kopfgruppe, die Länge der Ethylenglycolkette und das Verhältnis von hydrophilem zu hydrophobem Kettenanteil. Die leitfähigen Poren bestehen aus mehreren Ionenkanalbildnern und benötigen keine starren Elemente für die Ionenleitung.

Experimentelles

A) Synthese von 2 und 3: Reinheit ($>99\%$) und Struktur aller neuen Verbindungen wurden durch Gaschromatographie, ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie sowie Elementaranalyse oder hochauflösende Massenspektrometrie gesichert.

3: Man gibt 1 Äquiv. des Ethylenglycols langsam unter Argon zu einer Suspension von 1 Äquiv. Natrium in 5 mL wasserfreiem THF und rührt das Gemisch solange unter Rückfluss, bis das Natrium vollständig gelöst ist. Die Lösung wird bei 296 K mit 1 Äquiv. Benzylbromid versetzt und 5 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend gibt man 10 mL Wasser zu und trennt die Phasen. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 5 mL Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingedunstet. Flashchromatographische Reinigung mit Ethylacetat ergibt das Produkt als farbloses Öl.

2: Zu 1.25 Äquiv. der Fettsäure **4a–d** in 10 mL wasserfreiem Dichlormethan wird unter Argon ein leichter Überschuss Thionylchlorid gegeben und die Lösung solange unter Rückfluss erhitzt, bis die Gasentwicklung beendet ist. Das Lösungsmittel wird zusammen mit dem überschüssigen Thionylchlorid im Vakuum entfernt. Anschließend gibt man das Säurechlorid vorsichtig unter Kühlung mit Eiswasser zu einer Lösung von 1 Äquiv. **3a** oder **3b** in 10 mL wasserfreiem Dichlormethan und 1 mL Triethylamin und rührt die Lösung 24 h bei 296 K . Die Lösung wird mit 20 mL Wasser versetzt und mit verdünnter Salzsäure neutralisiert. Die Phasen werden getrennt, und die wässrige Phase wird dreimal mit je 15 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet, das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt und das Produkt flashchromatographisch gereinigt.

B) Fluoreszenzemission Pyranin-haltiger Vesikel: Aus 1 mg DPPC und 1 mL eines Phosphatpuffers ($\text{pH } 7.7$, 20°C), der 0.1 M KCl und $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ Pyranin enthält, werden die Vesikel hergestellt.^[11] Das in der äußeren wässrigen Lösung enthaltene Pyranin wird durch zweifache Gelfiltration

über eine Sephadex-G-25 Säule mit Phosphatpuffer (pH 7.7, 0.1 M KCl) als Eluent entfernt. Für die Fluoreszenzmessungen (Digital Spectrofluorometer R-510, Fa. Shimadzu) werden von der so hergestellten Vesikellösung (1 mL) jeweils 200 µL abgenommen und mit Phosphatpuffer (pH 7.7, 0.1 M KCl) auf 1 mL verdünnt (0.2 mM DPPC). Dazu werden 2–10 µL, entsprechend 2×10^{-3} – 1×10^{-2} g L⁻¹ (ca. 4 bis 20 µM **1** bzw. **2a–d** und 1–5 µM Gramicidin D) in der Vesikellösung, einer Lösung der Kanalbildner **1**, **2a–d** oder Gramicidin D in Methanol gegeben; es wird 5 min gerührt. Danach wird durch HCl-Zugabe der pH-Wert der äußeren Lösung auf 6.7 abgesenkt und der Abfall der Fluoreszenz verfolgt. Wie Lichtstreuexperimente zeigen, werden die DPPC-Vesikel durch Konzentrationen bis zu 30 Mol-% an **1** oder **2a–d**, d. h. durch Konzentrationen, die über den in den Fluoreszenz- und Leitfähigkeitsmessungen angewandten liegen, nicht solubilisiert. Zudem wurde bei Raumtemperatur die kritische Micellkonzentration von **2c** über die Konzentrationsabhängigkeit der Oberflächenspannung zu 1.4×10^{-2} g L⁻¹ bestimmt.

C) Einzelkanalereignisse der Ionenkanalbildner in planaren Lipidmembranen: Die Präparation der planaren Lipidmembranen erfolgt nach der Lösungsmittelmethode.^[18] Hierbei wird in jedes der beiden Kompartimente der Messzelle 0.7 mL der Pufferlösung (1 M KCl, 1 M LiCl oder 1 M CsCl, jeweils steril filtriert, $T = 296$ K) gegeben. Auf diese Lösung tropft man jeweils 10 µL einer Lipidlösung (Sojabohnenlipidextrakt mit 20-proz. Phosphatidylcholin/Cholesterin (9:1, w/w; Avanti Polar Lipids Inc., Alabater, USA), 4 mg mL⁻¹ in *n*-Pentan) auf. Anschließend wartet man 10 min, bis das Lösungsmittel verdampft ist. Durch Anheben und Absenken des Flüssigkeitsspiegels in der Messzelle bildet sich über der Öffnung des Teflonseptums spontan eine planare Lipidmembran mit einem Durchmesser von ca. 100 µm.

Die jeweiligen Kanalbildner werden in Form einer 0.5 mM Lösung in Ethanol in die beiden Kompartimente der Messzelle gegeben. Die Endkonzentration liegt bei 2.5–5 µM. Ungefähr 2–3 min nach der Zugabe der Kanalbildner können die ersten Einzelkanalereignisse detektiert werden.

Bei allen Versuchen beziehen sich die Spannungsangaben bezüglich des Vorzeichens auf die Seite der Membran, die über die Ag/AgCl-Elektrode mit der Spannungsquelle verbunden ist. Diese Seite wird als *cis*-Seite bezeichnet, die andere Seite der Membran entsprechend als *trans*-Seite. Ein positiver Strom entspricht einem Kationen-Transfer von der *cis*- zur *trans*-Seite und wird in der Datenaufzeichnung als Ablenkung „nach oben“ registriert.

Eingegangen am 25. Oktober 1999,
veränderte Fassung am 28. März 2000 [Z14178]

Wagner, K. Harms, U. Koert, S. Meder, G. Boheim, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2836–2839; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2643–2646; h) J. de Mendoza, F. Cuevas, P. Prados, E. S. Meadows, G. W. Gokel, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1650–1653; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1534–1537; i) Y. Kobuke, K. Morita, *Inorg. Chim. Acta* **1998**, *283*, 167–174.

- [8] a) F. M. Menger, D. S. Davis, R. A. Persichetti, J.-J. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2451–2452; b) F. M. Menger, *Bol. Soc. Chil. Quim.* **1990**, *35*(1), 33–38.
- [9] F. M. Menger, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1104–1118; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1086–1100.
- [10] K. Kano, J. H. Fendler, *Biochim. Biophys. Acta* **1978**, *509*, 289–299.
- [11] Zunächst wurden multilamellare Vesikel aus DPPC-Filmen gebildet: R. R. C. New, *Liposomes: A Practical Approach*, IRL Press, Oxford, **1990**; aus den multilamellaren Vesikeln wurden dann die unilamellaren Vesikel mit Hilfe des Membranextrusionsverfahrens hergestellt: R. C. MacDonald, R. I. MacDonald, B. P. M. Menco, K. Takeshita, N. K. Subbaro, L.-R. Hu, *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, *1061*, 297–303.
- [12] F. M. Menger, P. Aikens, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 919–921; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *32*, 898–900.
- [13] Die relative Aktivität der Ionenkanalbildner **1**, **2a–d** und Gramicidin D wurde in mehreren Messungen gut reproduziert.
- [14] P. Läger, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 939–956; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 905–922.
- [15] H. Schindler, *Methods Enzymol.* **1989**, *171*, 225–253.
- [16] An einer Membran aus Sojabohnenlecithin ohne Cholesterinzusatz wurden keine Kanalaktivitäten beobachtet. Ursache könnte eine höhere Beweglichkeit der Ionenkanalbildner in der Cholesterin enthaltenden Membran sein: P. L. Yeagle, *Biochem. Biophys. Acta* **1985**, *822*, 267–287. Möglich ist auch wie bei Amphotericin B eine spezifische Wechselwirkung von **2a**, **2c** und **2d** mit Cholesterin: D. E. Mickus, D. G. Levitt, S. D. Rychnosvsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 359–360.
- [17] P. K. Mandal, B. K. Seal, A. S. Basu, *Z. Phys. Chem. (NF)* **1973**, *87*, 295–307.
- [18] M. Montal, P. Müller, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1972**, *69*, 3561–3566.

Aluminiumfluorid als Speicher für atomaren Wasserstoff**

Gudrun Scholz,* Reinhard Stöber, Jan Alam Momand, Andrea Zehl und Jeannette Klein

Atomarer Wasserstoff H[•] lässt sich in einer geeignet präparierten AlF₃-Pulvermatrix bei Temperaturen $T \geq 300$ K über einen Zeitraum von Jahren stabilisieren (Abbildung 1). Die Wasserstoffatome entstehen dabei durch γ -Bestrahlung, wobei als H[•]-Vorstufen im Wesentlichen OH-Gruppen im Volumen der Kristallite fungieren. Erstmals ist es damit gelungen, die Stabilisierung der reaktiven H[•]-Atome in einem

- [1] B. Hille, *Ionic Channels of Excitable Membranes*, 2. Aufl., Sinauer, Sunderland, MA, USA, **1992**.
- [2] B. Eisenberg, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 117–123.
- [3] D. G. Nicholls, *Proteins, Transmitters and Synapses*, Blackwell, Oxford, **1994**.
- [4] a) *Membrane Protein Structure* (Hrsg.: S. H. White), Oxford University Press, New York, **1994**; b) A. Kreuz, P. J. Pfaffinger, C. F. Stevens, S. Choe, *Nature* **1998**, *392*, 945–948; c) D. A. Doyle, J. M. Cabral, R. A. Pfuetzner, A. L. Kuo, J. M. Gulbis, S. L. Cohen, B. T. Chait, R. MacKinnon, *Science* **1998**, *280*, 69–77.
- [5] a) U. Koert, *Chem. Unserer Zeit* **1997**, *31*, 20–26; b) G. W. Gokel, O. Murillo, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 425–432.
- [6] a) K. S. Akerfeldt, J. D. Lear, Z. R. Wassermann, L. A. Chung, W. F. DeGrado, *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 191–197; b) J. D. Lear, Z. R. Wassermann, W. F. DeGrado, *Science* **1988**, *240*, 1177–1181; c) N. Voyer, M. Robitaille, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6599–6600.
- [7] a) A. Nakano, Q. Xie, J. V. Mallen, L. Echegoyen, G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1287–1289; b) Y. Kobuke, K. Ueda, M. Sokabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7618–7622; c) M. J. Pregel, L. Jullen, J.-M. Lehn, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1695–1639; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1637–1639; d) K. Kaye, T. Fyles, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12315–12321; e) Y. Tanaka, Y. Kobuke, M. Sokabe, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 717–719; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 693–695; f) G. Deng, M. Merritt, K. Yamashita, V. Janout, A. Sadownik, S. L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3307–3308; g) H.

[*] Dr. G. Scholz, Prof. Dr. R. Stöber, Dr. J. A. Momand, Dr. A. Zehl, Dr. J. Klein
Humboldt-Universität zu Berlin
Institut für Chemie
Hessische Straße 1–2, 10115 Berlin (Deutschland)
Fax: (+49) 30-2093-7378
E-mail: gs@magneton.chemie.hu-berlin.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Dr. E. Janata (HMI Berlin), Dr. B. Ziemer, Dr. M. Päch und Dr. J. Bartoll (HU Berlin) danken wir für die Unterstützung bei den Experimenten.