

Schaltbare supramolekulare Organisation strukturaldefinierter Micellen basierend auf einem amphiphilen Fulleren**

Stephan Burghardt, Andreas Hirsch,* Boris Schade,
Kai Ludwig und Christoph Böttcher*

Wir untersuchen seit einiger Zeit die Synthese und supramolekulare Organisation von dendritischen Amphiphilen, die als Kernbausteine Fullerene oder Calixarene enthalten.^[1–3] Dabei interessiert uns neben der Herstellung von strukturalpersistenten Micellen besonders der Aufbau von funktionalisierbaren Micellen oder Liposomen, deren Aggregationsverhalten durch einen externen Stimulus gesteuert werden kann. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse könnten sich als nützlich für die Entwicklung von Wirkstofftransportsystemen erweisen. Beispiele für solche dendritischen Amphiphile sind 1) das globuläre Amphifulleren **1**,^[1] das in einem oktaedrischen [1:5]-Additionsmuster^[4] ein Paar von Carboxy-terminierten Amiddendronen und fünf Dodecylmalonataddenden an den Fullerenkern gebunden enthält, und 2) das Calixaren-derivat **2**,^[3] das analoge hydrophile und lipophile Bauelemente aufweist.

Im Amphiphil **1** ist der Platzbedarf der hydrophilen und hydrophoben Bereiche ausbalanciert, und es herrscht freie konformative Beweglichkeit, was eine Bandbreite energetisch günstiger Packungsmotive sowohl für micellare Strukturen als auch für ausgedehnte liposomale Doppelschichtstrukturen gewährleistet. Das tatsächliche Vorliegen unterschiedlicher Aggregationsformen wurde durch elektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigt.^[2a] Im Unterschied dazu haben wir das Amphiphil **2** so konstruiert, dass eine relativ starre T-förmige Struktur vorliegt,^[3] die keine Packung zu sehr ausgedehnten Überstrukturen wie Liposomen gewährleistet. In der Tat haben wir zeigen können, dass bei der supramolekularen Organisation von **2** ausschließlich sehr kleine, stark gekrümmte Aggregate entstehen, die das erste

[*] S. Burghardt, Prof. Dr. A. Hirsch
Institut für Organische Chemie
Universität Erlangen-Nürnberg
Henkestraße 42, 91054 Erlangen (Deutschland)
Fax: (+49) 9131-852-6864
E-mail: andreas.hirsch@chemie.uni-erlangen.de
Dr. B. Schade, Dr. K. Ludwig, Dr. C. Böttcher
Forschungszentrum für Elektronenmikroskopie
Institut für Chemie
Freie Universität Berlin
Fabeckstraße 36a, 14195 Berlin (Deutschland)
Fax: (+49) 30-838-56589
E-mail: bottcher@chemie.fu-berlin.de

[**] Die Autoren danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung (DFG AH468/13-1 und Großgeräteinitiative für FU Berlin).



Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

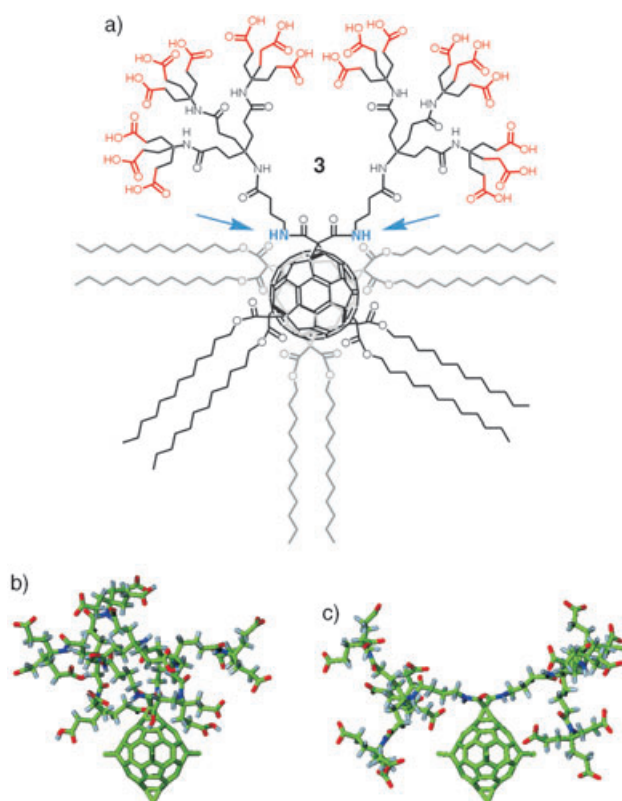
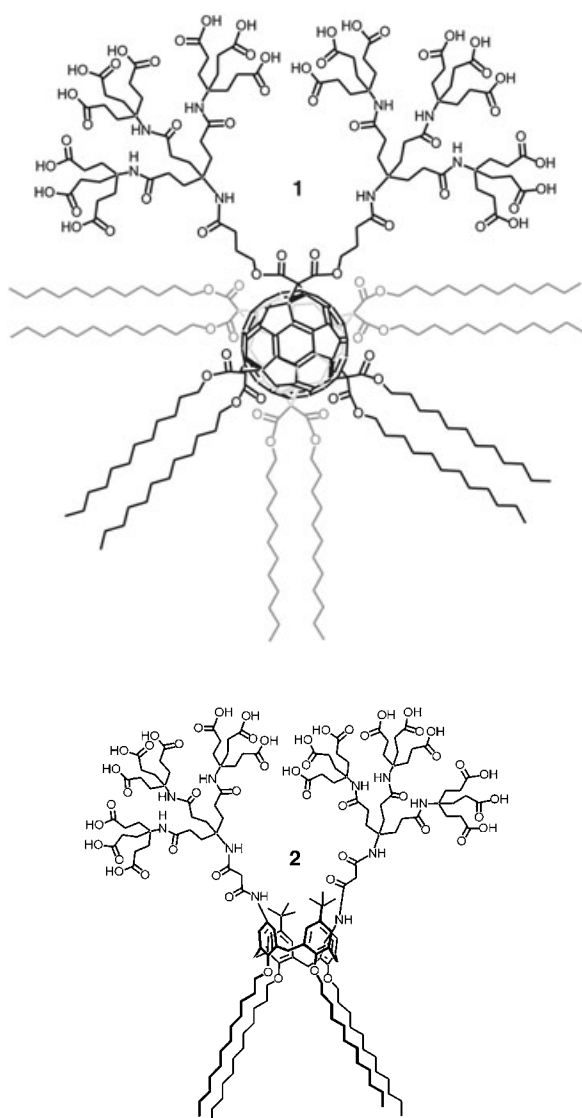


Abbildung 1. a) Amphiphiles Fullerendendrimer **3**, dessen dendritische Äste über Amidbindungen (blaue Pfeile) verknüpft sind. b,c) Molekülmodelle unterschiedlich protonierter Konformationen von **3**, modelliert mit der Software Tinker.^[7] Die Alkylketten sind zur besseren Übersicht nicht dargestellt. b) Dendronen partiell protoniert; in früheren Titrationsmessungen an Langmuir-Blodgett-Filmen konnte für das chemisch sehr ähnliche Dendrimer **1** ein pK_s -Wert von 7.5 bestimmt werden,^[2b] für die Simulation von **3** haben wir deshalb bei pH 7.2 8 negative Ladungen (von insgesamt 18 möglichen) zugrunde gelegt. c) Dendronen vollständig deprotoniert (18 negative Ladungen).

Beispiel von nachweislich strukturdefinierten Micellen sind.^[3] Jede dieser C_2 -symmetrischen Micellen besteht aus exakt sieben Amphiphilen **2**. Die Struktur wurde mithilfe von Kryotransmissionselektronenmikroskopie (Kryo-TEM) und Techniken zur dreidimensionalen Rekonstruktion von Einzelpartikeln bei einer Auflösung von 12 Å bestimmt.^[3]

Wir berichten hier über das erstmalig synthetisierte (siehe Hintergrundinformationen) Amphiphil **3**, dessen Aggregation durch Änderung des pH-Wertes in unterschiedliche supramolekulare Organisationsformen geschaltet werden kann (Abbildung 1). Grundsätzlich kann das Aggregationsverhalten amphiphiler Systeme mithilfe kombinierter Verfahren bestehend aus ultraschneller Kryofixierung der Präparate (= Vitrifizierung durch schnelles Abkühlen) und direkter TEM-Abbildung bei konstanter Präparatkühlung (≈ 120 K) unter quasi nativen Bedingungen direkt untersucht werden. Die Abkühlung bei der Präparation erfolgt so schnell ($> 10^4$ K s⁻¹), dass eine molekulare Umstrukturierung, z.B. auch die Kristallisation des Wassers, nachweislich unterbunden wird.^[5,6] Die mikroskopischen Aufnahmen liefern Pro-

jektionsbilder der Aggregate, sodass auch Informationen über ihre intrinsische Struktur zugänglich werden.

Wird Amphiphil **3** auf diese Weise bei neutralem pH-Wert in Wasser untersucht (Phosphatpuffer pH 7.2), können vorwiegend stäbchenförmige Aggregate mit einer doppelschichtigen Ultrastruktur gefunden werden (Abbildung 2a). Der Durchmesser solcher Stäbchen beträgt 65 ± 5 Å, die Länge variiert sehr und überschreitet dabei deutlich ein Vielfaches des Durchmessers. Darüber hinaus werden vereinzelt auch kugelförmige Aggregate mit einem Durchmesser von etwa 85 ± 10 Å gefunden. Neben den auffälligen Schwankungen im Durchmesser weisen diese Kugelmicellen auch eine deutliche Feinstrukturierung auf. Wird der pH-Wert der neutralen Lösung auf etwa 9 (Boratpuffer pH 9.2) erhöht, lassen sich nunmehr ausschließlich strukturierte Kugelmicellen von 85 ± 10 Å Durchmesser nachweisen (Abbildung 2b). In Analogie zu unseren Untersuchungen an Micellenstrukturen des Amphiphils **2**^[3] haben wir die Strukturierung der Kugelmicellen als Indiz für eine Strukturpersistenz angesehen. Jede Einzelstruktur sollte demnach eine bestimmte räumliche Ansicht des Aggregates repräsentieren, und somit sollte sich auch die dreidimensionale räumliche Organisation aus den Bilddaten

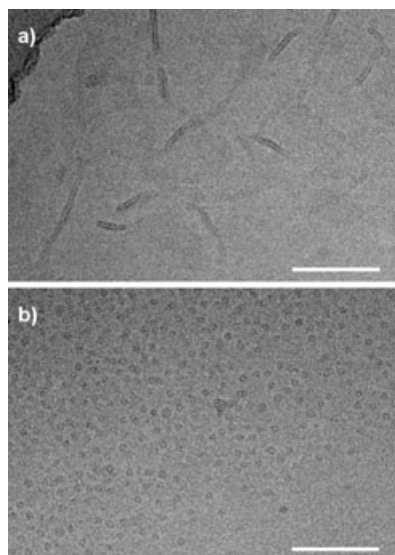


Abbildung 2. Repräsentative elektronenmikroskopische Aufnahmen von **3**, eingebettet in vitrifiziertem Eis (Maßstab 50 Å), zeigen a) bei pH 7.2 die Bildung überwiegend stäbchenförmiger doppelschichtiger Aggregate und b) bei pH 9.2 ausschließlich Kugelmicellen.

bestimmen lassen. Abweichungen im Durchmesser wären damit auf die unterschiedlichen Orientierungen der Aggregate zurückzuführen. Mithilfe von Verfahren der Bildverarbeitung (Alignierung, Klassifizierung, Raumwinkelbestimmung) (Abbildung 3a) gelang die Berechnung der dreidi-

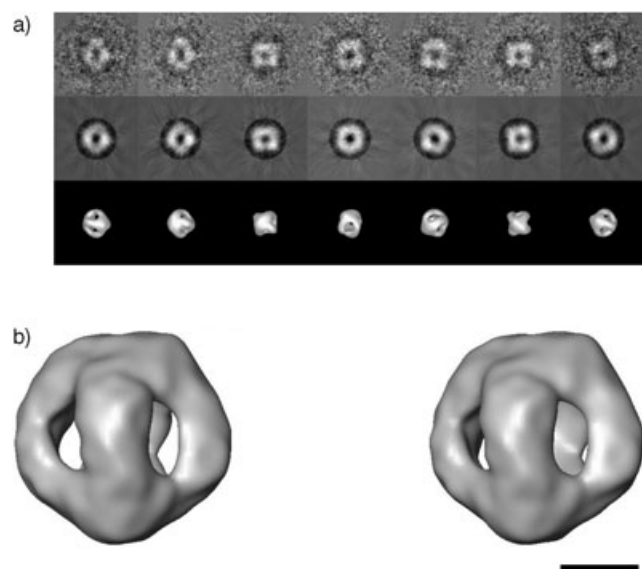


Abbildung 3. Dreidimensionale Rekonstruktion der Kugelmicellen aus **3** bei pH 9.2 aus kryo-elektronenmikroskopischen Daten. a) Die erste Reihe zeigt Klassensummenbilder von Micellen unterschiedlicher räumlicher Orientierung. Basierend auf den zugehörigen Raumwinkeln wurden aus den Daten dreidimensionale Strukturinformationen mit einer Auflösung von ca. 16 Å gewonnen. Rückprojektionen (zweite Reihe) aus dem errechneten Volumen (dritte Reihe) mit gleichen Raumwinkeln geben Hinweise auf den Grad der Übereinstimmung mit den experimentellen Daten. b) Stereobild der finalen dreidimensionalen Rekonstruktion (Maßstab 25 Å).

mensionalen Struktur auch für die Kugelmicellen von **3** (Abbildung 3b). Die erfolgreiche Rekonstruktion ist ein klares Indiz dafür, dass die räumliche molekulare Organisation der Aggregate (ca. 5000 Einzelaggregate wurden aus den mikroskopischen Daten willkürlich extrahiert) auf dem erreichten Auflösungs-niveau identisch ist.

In die rekonstruierte 3D-Dichtekarte des Aggregates haben wir eine visuelle dreidimensionale Einbeschreibung von Molekülmodellen vorgenommen, um ihre mögliche räumliche Organisation zueinander abzuleiten (Abbildung 4a und b). Verwendung fand hier eine mit dem Pro-

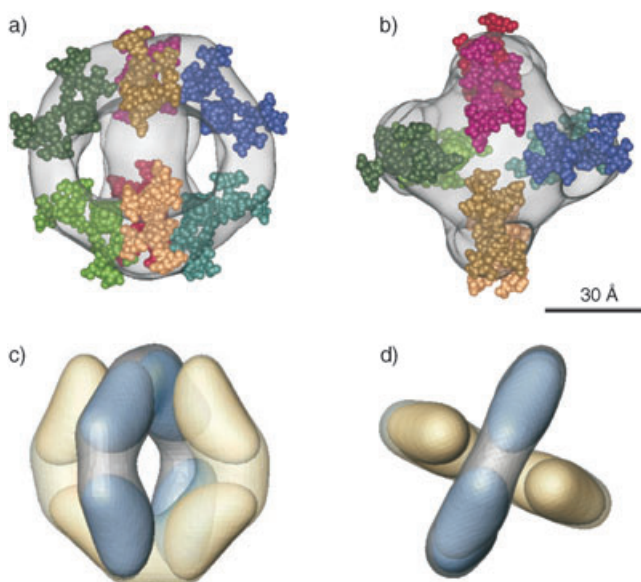


Abbildung 4. Interpretation der rekonstruierten Strukturdaten. a) Acht Dendrofullerenkopfguppen lassen sich in C_2 -symmetrischer Anordnung in die rekonstruierte Dichtekarte einpassen. b) Die Ansicht von (a) um 90° nach vorn gekippt. c) Schematische Darstellung der Kopfgruppenanordnung: Jeweils zwei planare, U-förmige Strukturen aus je vier Molekülen (gelb und blau) sind mit ihren offenen Enden um 90° in der Längsachse zueinander verdreht und – nicht ganz vollständig – ineinandergesteckt. d) Die Ansicht von (c) um 90° nach vorn gekippt.

gramm Tinker^[7] simulierte Konformation von **3** in seiner vollständig deprotonierten Form (Abbildung 1c). Die Micellenstruktur kann in diesem Falle aus acht Molekülen in C_2 -symmetrischer Anordnung realisiert werden. Die molekulare Organisation des Aggregats lässt sich dabei anschaulich am einfachsten beschreiben, indem man zwei planare U-förmige Strukturen aus je vier Molekülen bildet, die mit ihren offenen Enden um 90° in der Längsachse zueinander verdreht, dabei aber nicht ganz vollständig ineinandergesteckt sind (Abbildung 4c und d). Diese Anordnung gewährleistet eine insgesamt annähernd sphärische Gestalt und damit auch eine sehr effiziente Abschirmung aller hydrophoben Molekülteile gegen die wässrige Umgebung. Wie auch schon im Falle der strukturpersistente Micellen aus dem Calixarenderivat **2** ist der innere Kernbereich der Micelle, der von den hydrophoben Alkylketten eingenommen wird, in der Rekonstruktion nicht erfassbar. Da die einzelnen Ketten nicht in einer räumlich definierten Anordnung vorliegen, sondern eher

statistisch mit uneinheitlicher Konformation im Kernbereich verteilt sind, wird dieser Aggregatbereich durch das angewandte Rekonstruktionsverfahren herausgemittelt. Lediglich die Kopfgruppen, die durch das stark kontrastgebende Fulleren gut lokalisierbar sind, erweisen sich in ihrer Anordnung als räumlich persistent und liefern damit das gefundene Strukturmuster.

In der molekularen Struktur von **3** ist offensichtlich ein supramolekulares Verhalten codiert, das auf einer Kombination der Eigenschaften von **1** und **2** beruht. Auf der einen Seite liegt, wie in **1**, eine noch eher ausbalancierte Raumerfüllung der hydrophilen und hydrophoben Bereiche vor, auf der anderen Seite sind, wie in **2**, die dendritischen Äste durch Amid- anstelle von Esterbindungen verknüpft, was eine deutlich höhere Rigidität verursacht. Der signifikante Schaltungseffekt bei Veränderung des pH-Wertes kann durch Effekte elektrostatischer Abstoßung der jetzt vollständig deprotonierten Carboxygruppen erklärt werden, wobei als Sekundäreffekt sicherlich auch die stärkere Solvatisierung zu berücksichtigen ist. Man kann entsprechend annehmen, dass im neutralen Bereich infolge der teilweisen Protonierung die elektrostatische Abstoßung und damit auch die Solvatisierung vermindert wird, sodass eine weitaus dichtere Packung realisiert werden kann, wie sich dies in dem im Vergleich zu den Kugelmicellen geringeren Durchmesser der Stäbchen niederschlägt. Abbildung 1b zeigt hierzu das entsprechende Resultat der Konformationssimulation für **3** in wässriger Umgebung bei neutralem pH-Wert. Der für alle Stäbchenaggregate durchgängig identische Wert für den Durchmesser legt nahe, dass der dreidimensionalen Organisation ein kreisförmiger Querschnitt zugrunde liegen muss. Hieraus ergibt sich eine molekulare Anordnung, die aufgrund von Dimension und Dichteprofil als doppelschichtige Fadenmicelle verstanden werden kann. Unter Zugrundelegung des Zylinderdurchmessers von etwa 65 Å würde sich ein entsprechender Krümmungsradius je nach Packungsmotiv mit etwa acht Molekülen realisieren lassen, wie es in einem Modell in Abbildung 5 vorgeschlagen wird.

Die Tatsache, dass durch geeignete Substitution strukturerhaltende Aggregate reproduzierbar erzeugt werden können, ermöglicht nunmehr die systematische Untersuchung der ihre Bildung bestimmenden Parameter. Grundlegende Studien zur Stabilität der Aggregate, insbesondere ihrer Toleranz gegenüber einer chemischen Modifikation und vor allem auch einer Funktionalisierung der Kopfgruppen, sollten die Basis für die Synthese von maßgeschneiderten

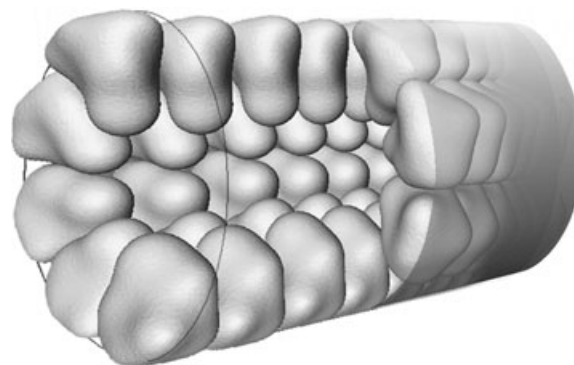


Abbildung 5. Modellvorschlag für eine molekulare Anordnung von **3** in micellaren Stäbchen bei neutralem pH-Wert. Dem verwendeten Kopfgrippenvolumen liegt die Konformation für die teilprotonierte Form aus Abbildung 1b zugrunde. Die hydrophoben Alkylketten, die sich im Zentrum der Micelle befinden sollten, sind der Übersicht wegen nicht berücksichtigt. Sie entsprechen den Bereichen geringer Dichte in den elektronenmikroskopischen Aufnahmen in Abbildung 2a.

Transportsystemen legen, die die selektive Lieferung von Wirkstoffen in lebenden Organismen gewährleisten.

Eingegangen am 29. Oktober 2004

Online veröffentlicht am 13. April 2005

Stichwörter: Amphiphile · Dendrimere · Elektronenmikroskopie · Fulleren · Micellen

- [1] a) M. Brettreich, A. Hirsch, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 2731–2734; b) M. Braun, S. Atalick, D. M. Guldi, H. Lanig, M. Brettreich, S. Burghardt, M. Hatzimarinaki, E. Ravaneli, M. Prato, R. Van Eldik, A. Hirsch, *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 3867–3875.
- [2] a) M. Brettreich, S. Burghardt, C. Böttcher, T. Bayerl, S. Bayerl, A. Hirsch, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 1915–1918; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 1845–1848; b) A. P. Maierhofer, M. Brettreich, S. Burghardt, O. Vostrowsky, A. Hirsch, S. Langridge, T. M. Bayerl, *Langmuir* **2000**, 16, 8884–8891.
- [3] N. Kellermann, W. Bauer, A. Hirsch, B. Schade, K. Ludwig, C. Böttcher, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 3019–3022; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 2959–2962.
- [4] A. Hirsch, O. Vostrowsky, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 829–848.
- [5] M. Adrian, J. Dubochet, J. Lepault, A. W. McDowall, *Nature* **1984**, 308, 32–36.
- [6] J. Dubochet, M. Adrian, J.-J. Chang, J.-C. Homo, J. Lepault, A. W. McDowall, P. Schultz, *Q. Rev. Biophys.* **1988**, 21, 129–228.
- [7] <http://dasher.wustl.edu/tinker/>.