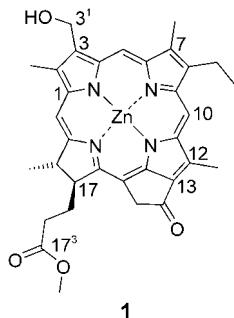


Reversible Selbstorganisation semisynthetischer Zinkchlorine zu definierten Stabantennen**

Valerie Huber, Martin Katterle, Marina Lysetska und Frank Würthner*

Professor Franz Effenberger zum 75. Geburtstag gewidmet

Die in den Chlorosomen grüner phototroper Bakterien (z. B. *Chloroflexus aurantiacus*) vorkommenden stabförmigen Lichtsammelantennen sind faszinierende Beispiele für selbst-organisierte funktionale Strukturen. Im Unterschied zu allen anderen pflanzlichen und bakteriellen Lichtsammelsystemen bestehen sie ausschließlich aus Bakteriochlorophyllen (BChls) und benötigen kein Protein zur Kontrolle ihrer Organisation. Holzwarth, Schaffner, Tamiaki und Mitarbeiter haben diese natürlichen Systeme untersucht und eine einfache Modellverbindung **1** für die Hauptkomponente dieser Lichtsammelantennen, das BChl *c*, entwickelt.^[1]



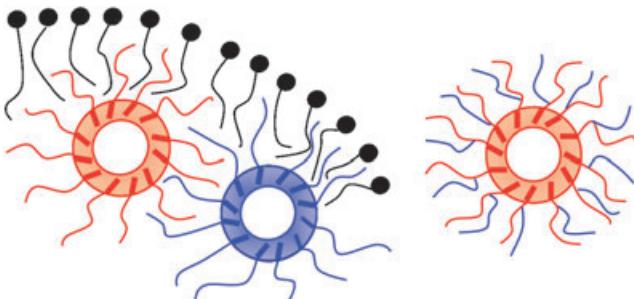
Sowohl BChl *c*, als auch Modellverbindung **1** bilden in unpolaren Lösungsmitteln wie *n*-Hexan durch Selbstorganisation ausgedehnte Farbstoffaggregate, welche die größte Excitonendiffusionslänge unter allen bekannten Farbstoffaggregaten aufweisen.^[2] Diese Eigenschaft ist von fundamentaler Bedeutung für die hohe Effizienz der Lichtsammelantennen in den

Chlorosomen der grünen Bakterien und wegweisend für das Design organischer Solarzellen.

Die von BChl *c* und von Verbindung **1** gebildeten röhrenförmigen Aggregate neigen dazu, in Lösung weiter zu aggregieren und als wenig definierte Agglomerate auszufallen.^[3] Als Folge davon sind diese Substanzen schwer handhabbar, und Struktur-Funktions-Beziehungen sind nur mit Einschränkung abzuleiten. In dieser Zuschrift möchten wir auf Basis von **1** weiterentwickelte Verbindungen vorstellen, die durch Selbstorganisation strukturell definierte Stabaggregate mit guter Löslichkeit bilden. Die Entstehung dieser Aggregate ist vollständig reversibel und kann durch Variation der Lösungsmittelpolarität induziert werden. Damit liegt erstmals ein einfach anwendbares biomimetisches Antennen-

modell für die wesentlich komplexeren natürlichen Systeme vor.

Schema 1 veranschaulicht unsere Strategie zur Herstellung gut löslicher, nicht agglomerierender Stabantennen. Im



Schema 1. Chlorosomenmodell (links): Lipideinfachmembran (schwarz), röhrenförmige Stabaggregate aus BChl *c* mit einer unpolaren Seitenkette pro Chlorineinheit (rot und blau). Rechts: Isoliert in Lösung vorliegende Stabaggregate mit zwei unpolaren Seitenketten pro Chlorineinheit (vgl. **6b**).

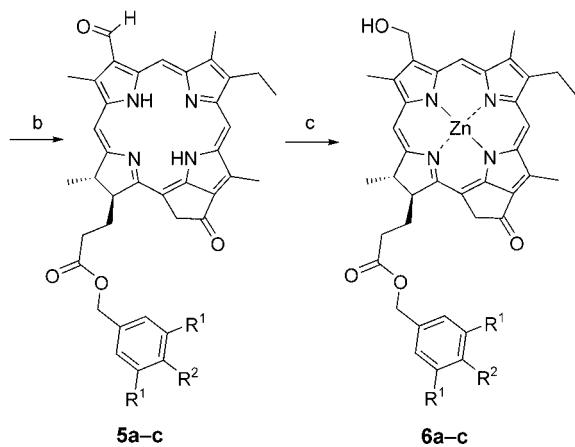
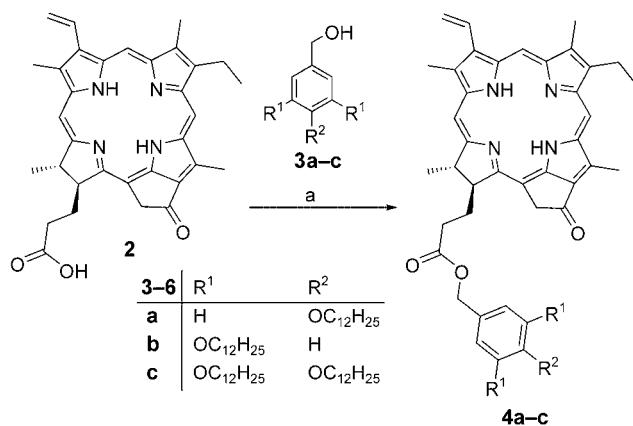
natürlichen System der Chlorosomen enthält jedes Chlorin nur eine unpolare Kette (z. B. Farnesyl).^[1b] Die durch Selbstorganisation dieser Chlorine entstehenden röhrenförmigen Stabaggregate sind sowohl durch Nachbaraggregate, als auch durch die Chlorosomen umhüllende Lipideinfachmembran umgeben, wobei sich in beiden Fällen benachbarte Alkylketten gegenseitig durchdringen, um die Aggregate zusammenzuhalten.^[4] Hieraus ergibt sich zwangsläufig, dass isoliertes BChl *c* in Wasser oder organischen Lösungsmitteln zur Agglomeration neigt. Die Einführung weiterer Alkylketten in 17³-Position sollte dagegen zu gut löslichen Stabaggregaten in Form von Zylindermicellen führen und die Neigung zur Agglomeration deutlich vermindern. Zur Evaluierung dieses Konzepts wurden die Zinkchlorine **6a–c** mit einer (**6a**), zwei (**6b**) und drei (**6c**) Alkylketten hergestellt. Die neuen biomimetischen Verbindungen sollten für die Strukturaufklärung dieser Antennenaggregate hilfreich sein und auch spektroskopisch einheitliche Funktionseinheiten liefern.

Die Zielverbindungen waren durch Derivatisierung von Chl *a* erhältlich, das aus der Alge *Spirulina maxima* gewonnen wurde.^[5] Schema 2 zeigt die Synthese von **6a–c** ausgehend von Phäophorbid **2**, das aus Chl *a* gewonnen wurde.^[6] Die Carboxyfunktion in 17³-Position von 13²-Demethoxycarbonylmethylphäophorbid *a* (**2**) wurde mit den Alkoholen **3a–c** unter Einsatz der Aktivierungsreagentien DCC, DMAP, DPTS und *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan verestert. Die Ester **4a–c** wurden durch oxidative Spaltung der Vinylgruppe mit Osmiumtetroxid und Natriumperiodat in die entsprechenden Formylderivate **5a–c** umgewandelt. Die Formylgruppe wurde selektiv mit Boran-*tert*-Butylamin zur Hydroxyfunktion reduziert, und anschließend wurden durch Umsetzung mit Zinkacetat in Methanol die gewünschten Zinkchlorine **6a–c** erhalten.^[7,8]

Charakteristisch für die chlorosomalen Farbstoffaggregate in *Chloroflexus aurantiacus* und für die in vitro gebildeten Aggregate von BChl *c* ist eine gegenüber dem Monomer bathochrom verschobene Q_y-Bande.^[1b] Ursache dieser Rot-

[*] V. Huber, Dr. M. Katterle, Dr. M. Lysetska, Prof. Dr. F. Würthner
Institut für Organische Chemie
Universität Würzburg
Am Hubland, 97074 Würzburg (Deutschland)
Fax: (+49) 931-888-4756
E-mail: wuerthner@chemie.uni-wuerzburg.de

[**] Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie für die finanzielle Unterstützung unserer Forschungsarbeiten.

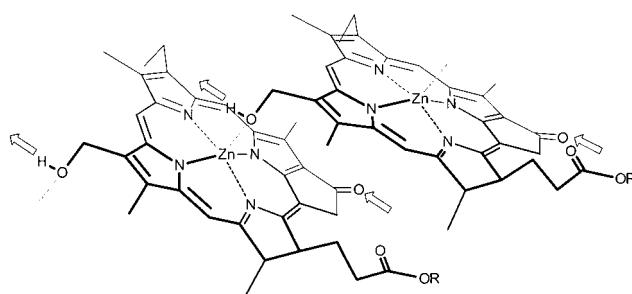


Schema 2. a) DCC, DMAP, DPTS, *N*-Ethylidisopropylamin, CH_2Cl_2 , RT, 3 h, 40–61%; b) OsO_4 , NaIO_4 , AcOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, RT, 5 h, 80–98%; c) $\text{BH}_3(\text{tBu})\text{NH}_2$, THF , RT, 4 h; $\text{Zn}(\text{OAc})_2$, MeOH , RT, 3 h, 60–85%. DCC = Dicyclohexylcarbodiimid, DMAP = 4-Dimethylaminopyridin, DPTS = 4-Dimethylaminopyridinium-*p*-toluolsulfonat.

verschiebung ist die Wechselwirkung zwischen den Metallochlorinen, die mit der Wechselwirkung in Scheibe-Aggregaten (J-Aggregaten) vergleichbar ist.^[9] Für den Aufbau von J-Aggregaten unter Röhrenbildung sind drei Strukturmerkmale der Metallochlorine wesentlich:^[3] Ein Metallion, das eine koordinative Bindung zu dem an 3¹-Position gebundenem Sauerstoff ausbildet, ein ausgedehntes π -System für effektive π - π -Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrückendonoren (3¹-Hydroxygruppe) und -acceptoren (13¹-Ketogruppe).

Durch die beiden ersten Wechselwirkungen resultiert das π - π -Stapeln zu J-Aggregaten (Schema 3), während die Wasserstoffbrücken die Röhrenstruktur bewirken, bei der alle Alkylketten nach außen gerichtet sind (inverse Zylindermicelle).^[10] Wie BChl *c* weisen auch die Zinkchlorine **6a–c** diese Strukturmerkmale auf, und die charakteristische bathochromie Verschiebung der Q_y-Bande von 648 nm zu 742 nm in unpolaren Lösungsmitteln wurde auch für **6a–c** beobachtet, wie die UV/Vis-Spektren von **6b** belegen (Abbildung 1). Ebenso charakteristisch ist die minimale Stokes-Verschiebung von weniger als 1 nm, die auf das resonante Fluoreszenzverhalten (siehe Fluoreszenzspektrum in Abbildung 1) von **6a–c** in J-Aggregaten schließen lässt.

Im Unterschied zur literaturbekannten Modellverbindung **1** bilden die Zinkchlorine **6b** und **6c** mit zwei bzw.



Schema 3. Wechselwirkungen der Zinkchlorine **6a–c**. Koordinative Zn-O-Bindungen (grau) führen zu Stapeln von J-Aggregaten, Wasserstoffbrücken verbinden die Stapel (durch Pfeile angezeigt).

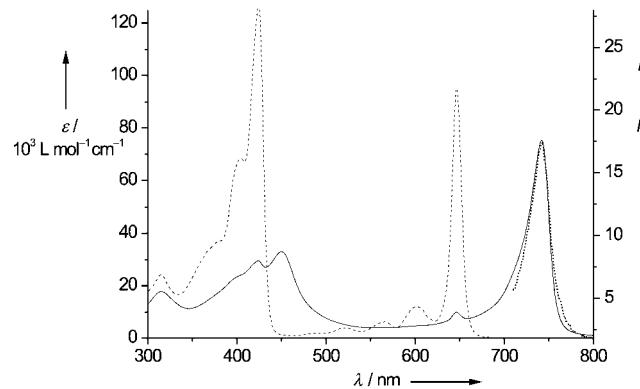


Abbildung 1. UV/Vis-Spektren von **6b**. Monomer gelöst in THF, $c=2.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (----); Aggregat gelöst in Hexan mit <1% THF, $c=4.6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (—). Fluoreszenzspektrum ($\lambda_{\text{ex}}=690 \text{ nm}$) von **6b** gelöst in Hexan mit <1% THF (.....).

drei Alkylketten langzeitstabile lösliche Aggregate in unpolaren Lösungsmitteln. Wie nach unserem Konzept zu erwarten, zeigte es sich, dass mindestens zwei Alkylketten für eine gute Löslichkeit erforderlich sind, da Zinkchlorin **6a** wie Modellverbindung **1** im Verlauf von Stunden bis Tagen unkontrolliert agglomiert und schließlich ausfällt (Abbildung 2).

Zur weiteren Charakterisierung des Aggregationsprozesses wurde Zinkchlorin **6b** in Heptan/*Di-n*-butylether (80:20) gelöst und UV/Vis-spektroskopisch zwischen 15 und 95°C untersucht. Erste Versuche hatten gezeigt, dass nach ca. 1 h auch bei tiefen Temperaturen ein stationärer Zustand erreicht ist, daher wurden die Proben 1.5 h bei der jeweiligen Temperatur äquilibriert, bevor die Messung erfolgte. Mit steigender Temperatur nimmt die Q_y-Bande der Aggregate bei 742 nm ab und die Monomerbande der Chlorine bei 648 nm zu (Abbildung 3). Da sich beim darauf folgenden Abkühlprozess die Q_y-Aggregatbande vollständig zurückbildet, ist die Aggregatbildung reversibel. Die Tatsache, dass weder beim Erwärmen noch beim Abkühlen ein Niederschlag auftritt, weist auf das Vorliegen thermodynamisch stabiler Aggregatstrukturen hin und unterscheidet diese Chlorinaggregate von vielen anderen selbstorganisierten Farbstoffaggregaten.^[11] Wie im Einschub der Abbildung 3 zu sehen, erhält man durch Auftragen der Absorption gegen die Temperatur einen sigmoiden Kurvenverlauf mit einer



Abbildung 2. Farbe und Löslichkeitsverhalten des Zinkchlorins **6b** in THF (links) und in Heptan mit 1% THF nach 8 Tagen (rechts) und Vergleich mit der Modellverbindung **1** (Mitte, ebenfalls in Heptan mit 1% THF nach 8 Tagen).

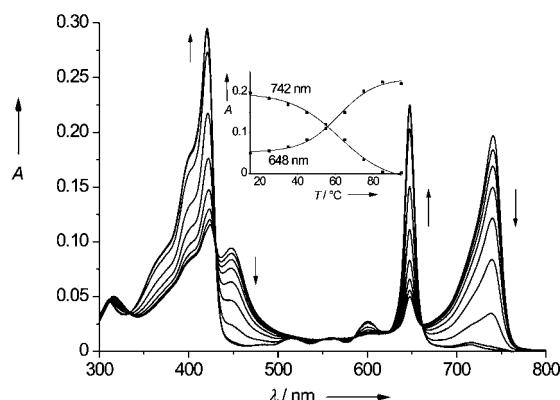


Abbildung 3. UV/Vis-Spektren von **6b** in Heptan/Di-*n*-butylether (80:20) bei verschiedenen Temperaturen ($c=3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Beginnend bei 15 °C wurde nach jeweils 1.5 h die Temperatur um 10 °C erhöht, bis 95 °C erreicht waren; die Pfeile zeigen die Änderungen mit steigender Temperatur. Im Einschub sind die Abnahme der Q_y -Bande der Aggregate bei 742 nm und die Zunahme der Monomerenbande bei 648 nm bei steigender Temperatur gezeigt.

Schmelztemperatur von 60 °C für die Aggregate. Die Aggregate dissoziieren auch bei der Zugabe kleiner Mengen eines protischen Lösungsmittels wie Methanol, das die Wasserstoffbrücken und die koordinativen Bindungen aufbricht (Schema 3).

Neben der bathochromen Verschiebung der langwelligen UV/Vis-Bande ist ein induzierter CD-Effekt ein besonderes Charakteristikum der natürlichen BChl-*c*-Stabaggregate. Er entsteht durch die chirale excitonische Kopplung der Übergangsdipolmomente und besteht aus zwei Banden mit entgegengesetztem Vorzeichen (Excitonencouplett).^[12] In der Literatur wurde von überraschend unterschiedlichen CD-Spektren von isolierten Chlorosomen und in vitro erzeugten BChl-*c*-Aggregaten berichtet.^[2, 13] Griebenow et al. teilten die Spektren in drei Gruppen ein: Typ I mit positivem Vorzeichen bei kurzen Wellenlängen und negativem bei langen

Wellenlängen [+/-], Typ II [-/+] (das Gegenteil von Typ I), sowie einen Mischtyp [-/+/-].^[14] In einer theoretischen Arbeit schlugen Holzwarth und Mitarbeiter vor, dass die unterschiedlichen Typen von CD-Spektren auf einem „Größeneffekt“ beruhen.^[15] Danach geht bei einer Aggregatlänge von mehr als 30 Molekülen BChl *c* der Typ II in den Mischtyp über. Andererseits könnte gerade die eingangs erwähnte unkontrollierte Agglomeration in vitro zu Artefakten in den CD-Spektren führen. Vor diesem Hintergrund ist es interessant, dass **6b** ein der Modellverbindung **1** sehr ähnliches Excitonencouplett aufweist (Abbildung 4), das bei Temperaturänderung reversibel entsteht und verschwindet und zeitlich keine Veränderungen erfährt.

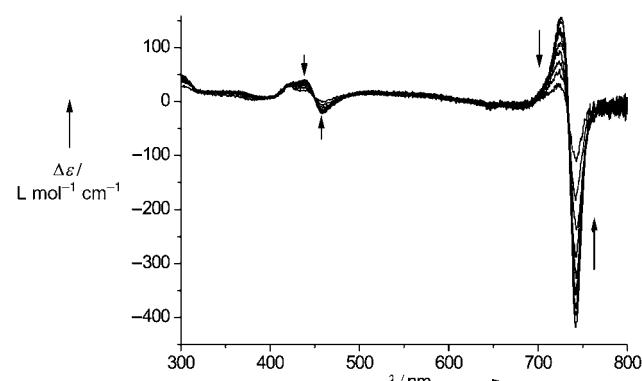


Abbildung 4. CD-Spektren von **6b** in Heptan/Di-*n*-butylether (80:20) im Temperaturbereich 15–95 °C ($c=1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Vor der Messung wurde die Probe 1.5 h äquilibriert und daraufhin die Temperatur jeweils um 10 °C erhöht; die Pfeile zeigen die Änderungen mit steigender Temperatur.

Die bisherigen Daten zeigen, dass die Zinkchlorine **6b** und **c** vergleichbare spektrale Eigenschaften besitzen wie die natürlichen Lichtsammelantennen in Chlorosomen. Im Folgenden wurden rasterkraftmikroskopische (AFM) Untersuchungen durchgeführt, um sie auch strukturell zu charakterisieren. Abbildung 5a zeigt eine AFM-Aufnahme von einer Probe, die aus Hexan/THF durch Rotationsbeschichtung auf HOPG (highly ordered pyrolytic graphite) abgeschieden wurde. Aus der AFM-Aufnahme geht hervor, dass Zinkchlorin **6b** Aggregate in Form starrer Stäbe bildet. Die Länge der Stäbe beträgt $300 \pm 97 \text{ nm}$, die Höhe $5.8 \pm 0.4 \text{ nm}$ (Abbildung 5b, vertikaler Abstand zwischen dem schwarzen und grünen Dreieck).

Es ist bemerkenswert, dass alle beobachteten Stabantennen in isolierter Form vorliegen. Damit wird auch von struktureller Seite unsere in Schema 1 skizzierte Vorstellung untermauert. Die gemessene Höhe von etwa 6 nm ist in Einklang mit elektronenmikroskopischen Daten für die stabförmigen BChl-*c*-Aggregate der Chlorosomen (*Chloroflexus aurantiacus*)^[16] und mit dem Röhrenmodell von Holzwarth und Schaffner.^[10] Spektroskopische Daten sowie Rechnungen^[10, 15] sprachen bereits für das Vorliegen von stabförmigen Röhrenstrukturen, allerdings lieferten erst die AFM-Aufnahmen den mikroskopischen Beleg für die supramolekulare

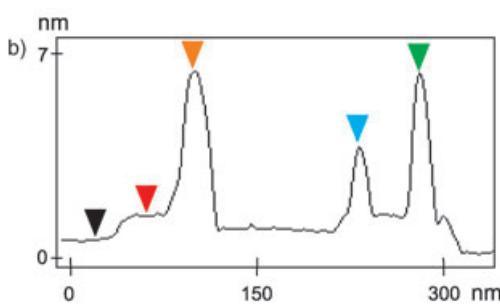
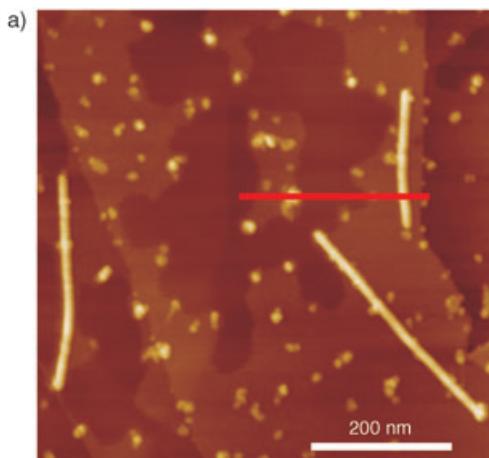
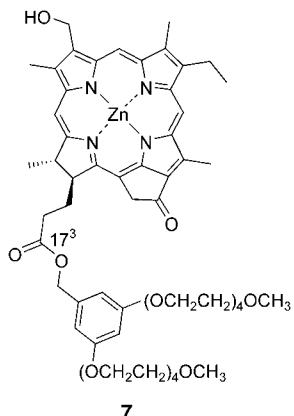


Abbildung 5. a) Tapping-Mode-AFM-Aufnahme von **6b**. Die Probe wurde durch Rotationsbeschichtung einer Lösung von **6b** in Hexan/THF (100:1) auf HOPG aufgetragen und in Luft abgetastet. b) Höhenprofil der roten Linie aus (a).

Organisation dieser Substanzklasse. Neben den stabförmigen Strukturen sind in Abbildung 5 aber auch kleinere und größere kugelförmige Strukturen zu erkennen, deren Höhe durchschnittlich 3.1 ± 0.6 nm bzw. 5.6 ± 0.7 nm bemisst (Abbildung 5 b, vertikale Abstände zwischen dem schwarzen und blauen Dreieck bzw. zwischen dem schwarzen und orangefarbenen Dreieck). Ob diese Kugelmicellen eine Folge des Abscheidungsprozesses sind oder bereits in Lösung mit den Stabaggregaten coexistieren, muss in zukünftigen Studien geklärt werden. Außerdem ist die HOPG-Oberfläche mit einer 0.5 ± 0.1 nm dicken Adsorbschicht bedeckt (Abbildung 5 b, vertikaler Abstand zwischen dem schwarzen und roten Dreieck), die auf eine durch die Graphit-Oberfläche induzierte Selbstorganisation von Zinkchlorin-Monomeren zurückzuführen sein dürfte.

Dass sich das in Schema 2 dargestellte Konzept auch zur Herstellung einheitlicher Zinkchlorin-Stabaggregate in Wasser anwenden lässt, deuten erste Untersuchungen für die Verbindung **7** an: Die Q_y-Bande erfährt ebenfalls eine bathochrome Verschiebung von 648 nm zu 744 nm bei der Aggregatbildung in Wasser mit 1% THF.

Mit **6b** und **6c** wurden Zinkchlorine zugänglich, die auch in Form selbstorganisierter Stabantennen eine ausgezeichnete Löslichkeit aufweisen. Spektroskopische Untersuchungen belegen das reversible Entstehen dieser biologisch wichtigen Aggregate. Durch Rasterkraftmikroskopie konnten erstmals



isolierte Stabaggregate nachgewiesen werden, deren Durchmesser in guter Übereinstimmung mit elektronenmikroskopischen Daten für BChl-*c*-Aggregate in Chlorosomen ist.

Eingegangen am 30. November 2004
Online veröffentlicht am 21. April 2005

Stichwörter: Aggregation · Chlorine · Farbstoffe/Pigmente · Rastersondenverfahren · Selbstorganisation

- [1] a) H. Tamiaki, A. R. Holzwarth, K. Schaffner, *J. Photochem. Photobiol. B* **1992**, *15*, 355–360; b) A. R. Holzwarth, K. Griebenow, K. Schaffner, *J. Photochem. Photobiol. A* **1992**, *65*, 61–71.
- [2] a) D. C. Brune, G. H. King, A. Infosino, T. Steiner, M. L. W. Thewalt, R. E. Blankenship, *Biochemistry* **1987**, *26*, 8652–8658; b) S. Savikhin, Y. Zhu, R. E. Blankenship, W. S. Struve, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 3320–3322; c) V. I. Prokhorenko, D. B. Steensgaard, A. R. Holzwarth, *Biophys. J.* **2000**, *79*, 2105–2120.
- [3] a) T. S. Balaban, J. Leitich, A. R. Holzwarth, K. Schaffner, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 1362–1372; b) T. S. Balaban, A. D. Bhise, M. Fischer, M. Linke-Schaetzel, C. Roussel, N. Vant-huyne, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2190–2194; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2140–2144.
- [4] J. M. Olson, *Photochem. Photobiol.* **1998**, *67*, 61–75.
- [5] K. M. Smith, D. A. Goff, D. J. Simpson, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4946–4954.
- [6] H. Tamiaki, M. Amakawa, Y. Shimono, R. Tanikaga, A. R. Holzwarth, K. Schaffner, *Photochem. Photobiol.* **1996**, *63*, 92–99.
- [7] Daten für **6b**: dunkelgrüner Feststoff; Schmp. 241 °C; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, [D₅]Pyridin, 25 °C): δ = 9.58 (s, 1 H, CH), 9.41 (s, 1 H, CH), 8.33 (s, 1 H, CH), 6.38–6.36 (m, 3 H, CH), 5.87 (s, 2 H, CH₂), 5.22 (d, ²J_{H,H} = 19.7 Hz, 1 H, CH₂), 5.05 (d, ²J_{H,H} = 19.6 Hz, 1 H, CH₂), 4.97 (d, ²J_{H,H} = 12.4 Hz, 1 H, CH₂), 4.92 (d, ²J_{H,H} = 12.4 Hz, 1 H, CH₂), 4.38 (dq, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1 H, CH), 4.22 (td, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1 H, CH), 3.84 (t, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 4 H, CH₂), 3.75 (q, ³J_{H,H} = 7.6 Hz, 2 H, CH₂), 3.70 (s, 3 H, CH₃), 3.30 (s, 3 H, CH₃), 3.19 (s, 3 H, CH₃), 2.63–2.55 und 2.45–2.29 und 1.99–1.91 (m, 4 H, CH₂), 1.72–1.65 (m, 9 H, CH₃, CH₂), 1.38–1.25 (m, 36 H, CH₂), 0.88 ppm (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 6 H, CH₃); UV/Vis (THF): $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ = 648 (95 000) nm; MS (FAB, NBA): 1058.7 [M–2H]⁺.
- [8] Um Demetallierung zu vermeiden wird hier anstelle des in natürlichen (Bakterio)Chlorophyllen enthaltenen Magnesium-ions ein Zinkion verwendet.

- [9] a) D. Möbius, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 437–444; b) A. Pawlik, S. Kirstein, U. De Rossi, S. Dähne, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 5646–5651; c) H. von Berlepsch, C. Böttcher, A. Ouart, C. Burger, S. Dähne, S. Kirstein, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 5255–5262; d) S. Dähne, *Bunsen Magazin* **2002**, *4*, 81–92.
- [10] a) A. R. Holzwarth, K. Schaffner, *Photosynth. Res.* **1994**, *41*, 225–233; b) K. Schaffner, A. R. Holzwarth, *Leopoldina* **1997**, *42*, 205–220.
- [11] a) F. Würthner, C. Thalacker, A. Sautter, W. Schärtl, W. Ibach, O. Hollricher, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 3871–3886; b) F. Würthner, S. Yao, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8943–8949; c) C. Thalacker, A. Miura, S. De Feyter, F. C. De Schryver, F. Würthner, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 414–422.
- [12] N. Berova, K. Nakanishi in *Circular Dichroism: Principles and Applications* (Hrsg.: N. Berova, K. Nakanishi, R. Woody), VCH, New York, **2000**, S. 337–368.
- [13] a) M. Miller, T. Gillbro, J. M. Olson, *Photochem. Photobiol.* **1993**, *57*, 98–102; b) R. Frese, U. Oberheide, I. van Stokkum, R. van Grondelle, M. Foidl, J. Oelze, H. van Amerongen, *Photosynth. Res.* **1997**, *54*, 115–126.
- [14] K. Griebenow, A. R. Holzwarth, F. van Mourik, R. van Grondelle, *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, *1058*, 194–202.
- [15] V. I. Prokhorenko, D. B. Steensgaard, A. R. Holzwarth, *Biophys. J.* **2003**, *85*, 3173–3186.
- [16] L. A. Staehelin, J. R. Golecki, R. C. Fuller, G. Drews, *Arch. Mikrobiol.* **1978**, *119*, 269–277.