

Lichtgesteuerte molekulare Erkennung und Adhäsion von Vesikeln**

Siva Krishna Mohan Nalluri und Bart Jan Ravoo*

Eine der wesentlichsten Aufgaben der Chemie ist die Nachbildung von biologischen Systemen durch wohldefinierte supramolekulare Strukturen mit dynamischen und adaptiven Eigenschaften. Zahlreiche Veröffentlichungen haben bereits gezeigt, dass durch die gezielte Kombination von orthogonalen Wechselwirkungen hochentwickelte Materialien und Oberflächen erhalten werden können, die durch äußere Reize steuerbar sind.^[1] Weiterhin wurde dargelegt, dass die molekulare Erkennung und Wechselwirkung zwischen synthetischen Vesikeln mit Doppelschichtmembranen als vielseitiges Modellsystem für die Erkennung, Adhäsion und Fusion von biologischen Zellmembranen dient.^[2,3] Das oberste Ziel dieses Forschungsfeldes ist die Semisynthese von Gewebe mithilfe von supramolekularen Materialien, d. h. die Entwicklung von adaptiven Materialien auf der Grundlage von selbstorganisierten Kompartimenten. In dieser Arbeit wird die photoinduzierte Isomerisierung eines difunktionellen nichtkovalenten Linkermoleküls als Trigger verwendet, um die molekulare Erkennung und Adhäsion von Vesikeln herbeizuführen und aufzulösen. Nach unserer Kenntnis ist ein solches photoreaktives supramolekulares System bisher bei spiellost.

Das vorgestellte photoreaktive supramolekulare System basiert auf der Wirt-Gast-Wechselwirkung von Azobenzolen mit Vesikeln bestehend aus amphiphilen Cyclodextrinen (CDs).^[3] Azobenzole sind eine Klasse von bekannten photoreaktiven Verbindungen, die durch lichtinduzierte Anregung reversibel isomerisieren können. Die Isomerisierung erfolgt bei 350 nm von *trans* nach *cis* und bei 455 nm von *cis* nach *trans*. Aufgrund ihrer Photoisomerisierung sind Azobenzole die molekulare Grundlage für eine Vielzahl von lichtsensitiven supramolekularen Materialien,^[4] darunter auch photoreaktive Vesikel.^[5,6] Darüber hinaus ist die Gast-Wechselwirkung der Azobenzole mit einem CD-Wirt lichtaktiv: Das stabförmige *trans*-Isomer bildet einen stabilen Einschlusskomplex mit α -Cyclodextrin (α -CD) und β -Cyclodextrin (β -CD), während das gekrümmte *cis*-Isomer nicht in die Kavität der Cyclodextrine passt. Ferner wurde der lichtgesteuerte Einschluss von Azobenzolen in CDs zur Herstellung

von lichtreaktiven Hydrogelen,^[7] Micellen und Vesikeln,^[8] Ionenkanälen,^[9] Oberflächen^[10] und Wirkstofftransportern verwendet.^[11]

In dieser Arbeit wird die lichtreaktive Wechselwirkung von Vesikeln bestehend aus den amphiphilen CDs **1a** und **1b** mit den difunktionellen Gastmolekülen **2** und **3** untersucht (Abbildung 1A). Die amphiphilen Moleküle α -CD **1a** und β -CD **1b** wurden nach bekannter Methode hergestellt.^[3b,d] Durch Extrusion in einer Pufferlösung bei pH 7.4 wurden daraus unilamellare CD-Vesikel mit einem Durchmesser von ca. 100 nm erhalten.^[3] Die Synthese der Gastmoleküle **2** und **3** ist in den Hintergrundinformationen beschrieben. Die analytischen und spektroskopischen Daten für **2** und **3** stimmen mit ihrer molekularen Struktur überein. Gastmolekül **2** ist ein homodifunktionelles nichtkovalentes Linkermolekül, das zwei identische supramolekulare Bindungsstellen trägt, nämlich zwei Azobenzolgruppen, die Einschlusskomplexe mit α -CD und β -CD bilden. Die Bildung des Wirt-Gast-Komplexes von **2** sollte lichtaktiv sein, da lediglich das *trans*-Azobenzol ein passender Gast für α -CD und β -CD ist, während das *cis*-Azobenzol nicht in die Kavität passt. Daher kann **2** zwei α -CD- oder β -CD-Moleküle binden, wenn es in

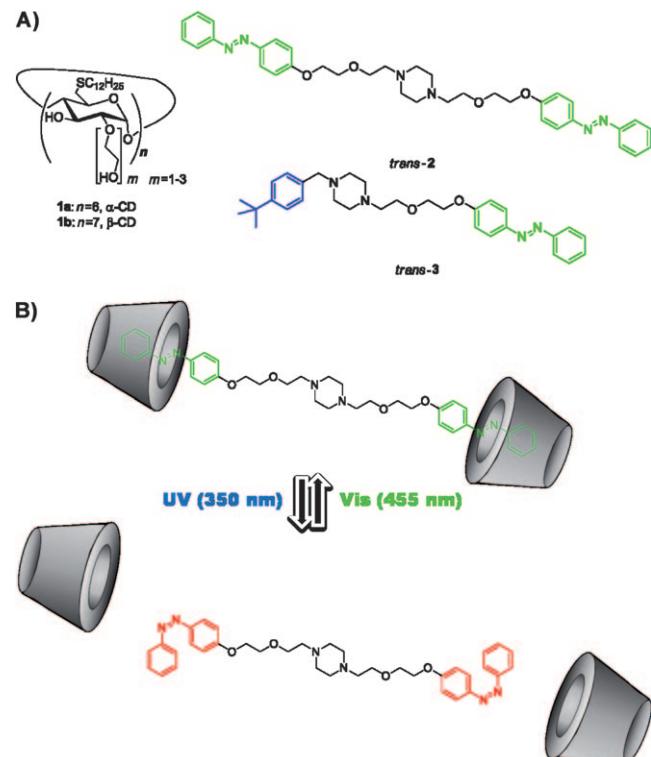


Abbildung 1. A) Strukturen der Wirtmoleküle **1a** und **1b** und Gastmoleküle **2** und **3**. B) Lichtreaktive Einschlusskomplexe von **2** in α -CD und β -CD.

[*] S. K. M. Nalluri, Prof. Dr. B. J. Ravoo

Organisch-Chemisches Institut und Graduate School of Chemistry
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Corrensstraße 40, 48149 Münster (Deutschland)
Fax: (+49) 251-839-36557
E-Mail: b.j.ravoo@uni-muenster.de

[**] Wir danken der Graduate School of Chemistry in Münster für das Stipendium an S.K.M.N. Weiterhin danken wir Dr. Seda Kehr für ihre Hilfe bei der konfokalen Mikroskopie, Jens Voskuhl für die Bereitstellung von Rhodamin-markierten Cyclodextrinen und Sabine Himmlein für die Übersetzung des Manuskripts.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201001442> zu finden.

der *trans*-Form vorliegt, aber nicht in der *cis*-Form (Abbildung 1B). Das Gastmolekül **3** ist ein heterodifunktionelles nichtkovaleentes Linkermolekül das zwei verschiedene supramolekulare Bindungsstellen trägt: eine Azobenzolgruppe, die Einschlusskomplexe mit α -CD und β -CD bildet, und eine *tert*-Butylbenzolgruppe, die ausschließlich Einschlusskomplexe mit β -CD bildet (nicht aber mit α -CD, dessen Kavität zu klein für die *tert*-Butylbenzolgruppe ist). Die Bildung des Wirt-Gast-Komplexes von **3** sollte demnach teilweise lichtreaktiv sein, da nur das *trans*-Azobenzol ein geeigneter Gast für die CDs ist, während das *cis*-Azobenzol keine Wirt-Gast-Wechselwirkung eingeht. Demzufolge kann **3** zwei CD-Moleküle binden, wenn es in seiner *trans*-Form vorliegt und nur eines (β -CD) in seiner *cis*-Form.

Die Wechselwirkung der CD-Vesikel bestehend aus **1a** und **1b** jeweils mit dem homodifunktionellen Gast **2** und dem heterodifunktionellen Gast **3** wurde durch Messung der optischen Dichte bei 600 nm (OD600)^[12] und dynamische Lichtstreuung (DLS) untersucht. Bei einer CD-Konzentration von 30 μ M ist OD600 kleiner als 0.05. Bei der Zugabe von *trans*-**2** oder *trans*-**3** (15 μ M) zu den Vesikeln von β -CD **1b** (30 μ M) steigt OD600 von ca. 0.05 auf ca. 0.5 innerhalb von 30 min (Abbildung 2A). Gemäß DLS erhöht sich die mittlere Partikelgröße auf über 1000 nm (Abbildung 2B). Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass sowohl *trans*-**2** als auch *trans*-**3** eine schnelle Aggregation und Adhäsion der Vesikel von **1b** verursachen. Es ist daher anzunehmen, dass beide

Linkermoleküle *trans*-**2** und *trans*-**3** Wirt-Gast-Einschlusskomplexe mit der Oberfläche der CD-Vesikel bilden und die Vesikel unter Bildung von mehreren intervesikulären nichtkovalenten Bindungen zusammenkleben („supramolekularer Kleber“). Diese Hypothese wird zusätzlich durch die Tatsache bestätigt, dass die Aggregation und Adhäsion der Vesikel von **1b** in Gegenwart von jeweils *trans*-**2** oder *trans*-**3** bei Zugabe eines Überschuss (10 mM) an α -CD oder β -CD sofort rückgängig gemacht wird: Das Überangebot an Wirtmolekülen in Lösung führt zur Dissoziation der Wirt-Gast-Komplexe auf der Vesikeloberfläche (siehe Hintergrundinformationen).

Die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Vesikelaggregation sind konzentrationsabhängig: Bei Zugabe von weniger *trans*-**2** oder *trans*-**3** (10 μ M anstatt von 15 μ M) zu den CD-Vesikeln dauert es länger bis eine maximale OD600 erreicht wird. Durch die Zugabe von *cis*-**2** oder *cis*-**3** (15 μ M, erhalten aus *trans*-**2** und *trans*-**3** durch 4 min Bestrahlung bei 350 nm) zu den Vesikeln von **1b** (30 μ M) bleiben sowohl OD600 als auch der mittlere Vesikeldurchmesser (ca. 100 nm) konstant. Diese Beobachtungen belegen, dass *cis*-**2** und *cis*-**3** keinerlei Aggregation der Vesikel von **1b** verursachen. Dies wird als weiterer Beweis für die durch Bildung von Wirt-Gast-Komplexen gesteuerte Aggregation und Adhäsion der Vesikel von **1b** gewertet, da nur *trans*-Azobenzole (nicht *cis*-Azobenzole) Einschlusskomplexe mit β -CD bilden.

Die bemerkenswerten Unterschiede zwischen dem *trans*- und *cis*-Isomer der Gäste **2** und **3** lassen

darauf schließen, dass die photoreaktive molekulare Erkennung und Adhäsion der Vesikel von **1b** durch In-situ-Photoisomerisierung von **2** (oder **3**) erreicht werden kann. Wie in Abbildung 2C und D gezeigt, findet eine solche Photoisomerisierung leicht statt und resultiert in einer reversiblen photoinduzierten Aggregation und Deaggregation der Vesikel. Dies geschieht durch die Bestrahlung bei 350 nm (um *cis* aus *trans* zu erhalten) gefolgt von einer Bestrahlung bei 455 nm (um *trans* aus *cis* zu erhalten). Die Umkehrbarkeit der photoinduzierten Aggregation ist nach fünf Zyklen vollständig, vorausgesetzt, dass die Bestrahlungszeit ausreichend (20 min)

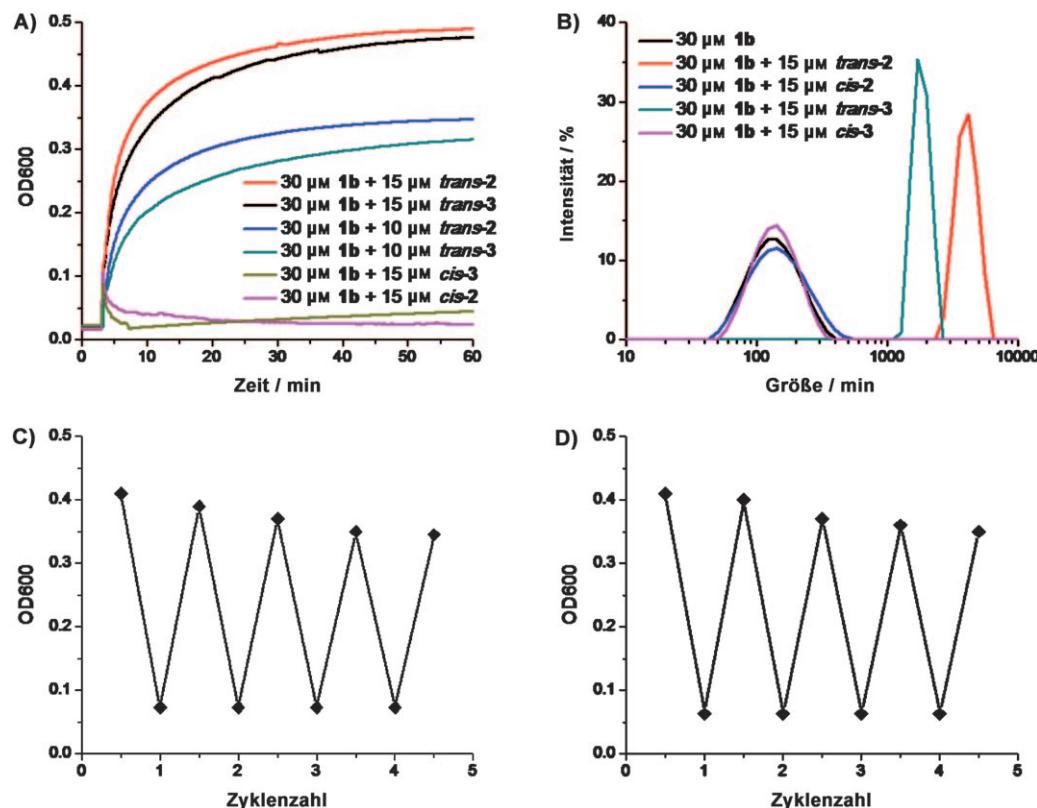


Abbildung 2. Lichtgesteuerte Aggregation der Wirtvesikel von **1b** durch die Gastmoleküle **2** und **3**. A) Zeitabhängige Messung der OD600. B) Größenverteilung nach DLS. C) Lichtgesteuerte Aggregation hervorgerufen durch Gastmolekül **2**. D) Lichtgesteuerte Aggregation hervorgerufen durch Gastmolekül **3**.

bei 350 nm und 30 min bei 455 nm) und die Vesikelkonzentration auf 30 μM beschränkt ist, sodass das Maximum der OD600 unter 0.5 bleibt.^[13]

Bei den Wechselwirkungen der Gastspezies **2** und **3** mit den Vesikeln von α -CD **1a** (anstatt von β -CD **1b**) tritt eine Reihe von wichtigen Unterschieden infolge spezifischer molekulärer Erkennungen zutage. Wird *trans*-**2** (15 μM) zu den Vesikeln von **1a** (30 μM) gegeben, erhöht sich OD600 von 0.05 auf 0.5 innerhalb von 30 min (Abbildung 3 A). Den DLS-Messungen zufolge erhöht sich die mittlere Partikelgröße auf

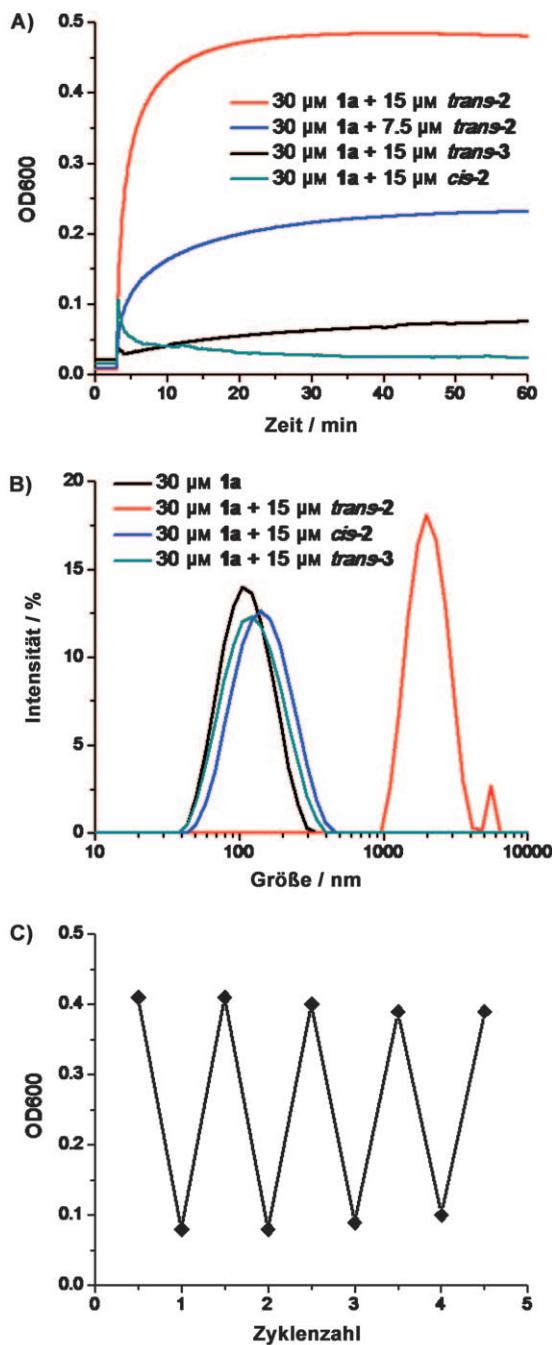


Abbildung 3. Lichtgesteuerte Aggregation der Wirtvesikel von **1a** durch Gastmolekül **2**. A) Zeitabhängige Messung der OD600. B) Größenverteilung nach DLS. C) Lichtgesteuerte Aggregation.

über 1000 nm (Abbildung 3 B). Diese Beobachtungen belegen, dass *trans*-**2** eine schnelle Aggregation und Adhäsion sowohl der Vesikel von **1a** als auch der Vesikel von **1b** bewirkt. Dagegen zeigte sich, dass *trans*-**3** keine Aggregation der Vesikel von **1a** bewirkt. Es wird angenommen, dass *trans*-**2** und ebenso *trans*-**3** an die Oberfläche der Vesikel von **1a** durch die Bildung eines Wirt-Gast-Komplexes mit der *trans*-Azobenzolgruppe von **2** und **3** binden. Während Vesikel von **1a** in Gegenwart von *trans*-**2** aufgrund von intervesikulären nichtkovalenten Bindungen aggregieren und zusammenkleben, verursacht *trans*-**3** keine wesentlichen intervesikulären Wechselwirkungen, da seine *tert*-Butylbenzylgruppe zu groß ist, um einen Wirt-Gast-Einschlusskomplex mit **1a** zu bilden.^[14] Auch in diesem Fall sind die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Vesikelaggregation konzentrationsabhängig. Wird darüber hinaus *cis*-**2** (15 μM , erhalten aus *trans*-**2** durch 4 min Bestrahlung bei 350 nm) zu den Vesikeln von **1a** (30 μM) gegeben, bleiben sowohl OD600 (ca. 0.05) als auch der mittlere Vesikeldurchmesser (ca. 100 nm) konstant. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass *cis*-**2** keine Aggregation der Vesikel von **1a** bewirkt, wie auch für Vesikel von **1b** beschrieben, kann auch eine photoreaktive molekulare Erkennung und Adhäsion der Vesikel von **1a** mittels In-situ-Photoisomerisierung von **2** bewirkt werden (Abbildung 3 C). Die Reversibilität der photoinduzierten Aggregation ist nach fünf Zyklen vollständig. Die oben beschriebenen Experimente machen eine bemerkenswerte Selektivität in der molekularen Erkennung der Vesikel von **1a** und **1b** deutlich: Zum einen ist die Erkennung und Adhäsion der Vesikel in zwei Richtungen photoreaktiv (Adhäsion durch sichtbares Licht und Auflösung der Aggregation durch UV-Licht) und zum anderen bindet Gastmolekül **3** selektiv an Vesikel von **1b** (nicht an **1a**), da es keinen divalenten Komplex mit α -CD bilden kann. Die Aggregation der Vesikel von **1a** und **1b** in Gegenwart von *trans*-**2** kann ebenso im mikroskopischen Maßstab beobachtet werden (Abbildung 4).

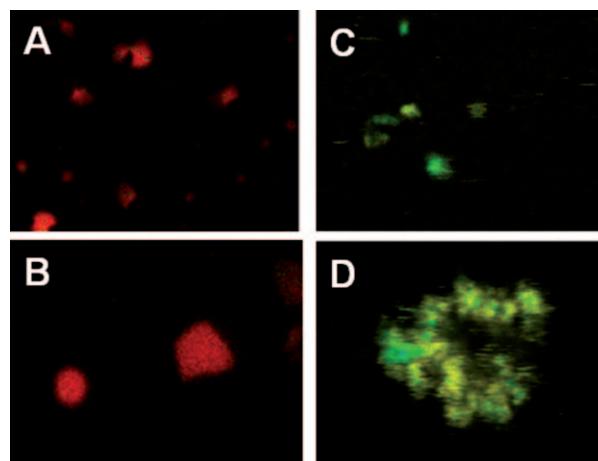


Abbildung 4. Konfokale Mikroskopiebilder von A) Rhodamin-markierten Vesikeln von **1b**, B) Aggregation von Vesikeln von **1b** in Gegenwart von *trans*-**2**, C) Vesikel von **1a** markiert mit NBD-Chol und D) Aggregation von Vesikeln von **1a** in Gegenwart von *trans*-**2**. Größe des Bildausschnitts jeweils 18 \times 14 μm .

Zusammenfassend haben wir ein photoreaktives supramolekulares System entwickelt, das die Aggregation und Adhäsion von synthetischen Vesikeln durch hochgradig selektive und vollständig reversible photoreaktive molekulare Erkennungsprozesse ermöglicht. Wir hoffen, dass diese Arbeit zur Weiterentwicklung von adaptiven Materialien und makroskopischen Systemen auf der Grundlage von selbstorganisierten Kompartimenten führen wird.

Eingegangen am 10. März 2010,
veränderte Fassung am 7. Mai 0000
Online veröffentlicht am 24. Juni 2010

Stichwörter: Cyclodextrine · Molekulare Erkennung · Photoreaktive Systeme · Vesikel · Wirt-Gast-Systeme

- [1] a) H. Hofmeier, U. S. Schubert, *Chem. Commun.* **2005**, 2423–2432; b) J. D. Badjic, C. M. Ronconi, J. F. Stoddart, V. Balzani, S. Silvi, A. Credi, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1489–1499; c) M. J. W. Ludden, M. Peter, D. N. Reinhoudt, J. Huskens, *Small* **2006**, *2*, 1192–1202; d) O. Crespo-Biel, C. W. Lim, B. J. Ravoo, D. N. Reinhoudt, J. Huskens, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 17024–17032; e) M. Schmittel, K. Mahata, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5364–5366; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5284–5286.
[2] Übersicht: J. Voskuhl, B. J. Ravoo, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 495–505.
[3] a) B. J. Ravoo, R. Darcy, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4494–4496; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4324–4326; b) A. Mazzaglia, R. Donohue, B. J. Ravoo, R. Darcy, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1715–1721; c) B. J. Ravoo, J. C. Jacquier, G. Wenz, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2112–2116; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2066–2070; d) P. Falvey, C. W. Lim, R. Darcy, T. Revermann, U. Karst, M. Giesbers, A. T. M. Marcelis, A. Lazar, A. W. Coleman, D. N. Reinhoudt, B. J. Ravoo, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1171–1180; e) C. W. Lim, B. J. Ravoo, D. N. Reinhoudt, *Chem. Commun.* **2005**, 5627–5629; f) C. W. Lim, O. Crespo-Biel, M. C. A. Stuart, D. N. Reinhoudt, J. Huskens, B. J. Ravoo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 6986–6991; g) F. Versluis, I. Tomatsu, S. Kehr, C. Fregonese, A. W. J. W. Tepper, M. C. A. Stuart, B. J. Ravoo, R. I. Koning, A. Kros, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13186–13187; h) J. Voskuhl, M. C. A. Stuart, B. J. Ravoo, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2790–2796.
[4] a) S. Yagai, T. Karatsu, A. Kitamura, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 4054–4063; b) U. Kusebauch, S. A. Cadamuro, H. J. Musiol, M. O. Lenz, J. Wachtveitl, L. Moroder, C. Renner, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7170–7173; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7015–7018; c) C. J. Barrett, J. I. Mamiya, K. G. Yager, T. Ikeda, *Soft Matter* **2007**, *3*, 1249–1261; d) T. Murase, S. Sato, M. Fujita, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5225–5228; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5133–5136; e) S. Yagai, A. Kitamura, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1520–1529; f) M. Yamada, M. Kondo, J. I. Mamiya, Y. L. Yu, M. Kinoshita, C. J. Barrett, T. Ikeda, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5064–5066; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4986–4988; g) M. V. Peters, R. S. Stoll, A. Kuehn, S. Hecht, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6056–6060; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5968–5972; h) F. L. Callari, S. Sortino, *Chem. Commun.* **2008**, 6179–6181; i) D. B. Liu, Y. Y. Xie, H. W. Shao, X. Y. Jiang, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4470–4472; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4406–4408; j) R. Klajn, P. J. Wesson, K. J. M. Bishop, B. A. Grzybowski, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7169–7173; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7035–7039.
[5] a) H. Sakai, A. Matsumura, S. Yokoyama, T. Saji, M. Abe, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 10737–10740; b) T. Hamada, Y. T. Sato, K. Yoshikawa, T. Nagasaki, *Langmuir* **2005**, *21*, 7626–7628; c) Y. P. Wang, P. Han, H. P. Xu, Z. Q. Wang, X. Zhang, A. V. Kabanov, *Langmuir* **2010**, *26*, 709–715.
[6] a) M. Higuchi, A. Takizawa, T. Kinoshita, Y. Tsujita, *Macromolecules* **1987**, *20*, 2888–2892 (diese Veröffentlichung beschreibt die photoinduzierte Adhäsion von Vesikeln – allerdings kann die Adhäsion lediglich durch Erhitzen aufgelöst werden); b) F. M. Mansfeld, G. Q. Feng, S. Otto, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 4289–4295 (diese Veröffentlichung beschreibt die photoinduzierte Adhäsion von großen Liposomen – allerdings ist die Adhäsion hier irreversibel).
[7] a) I. Tomatsu, A. Hashidzume, A. Harada, *Macromolecules* **2005**, *38*, 5223–5227; b) I. Tomatsu, A. Hashidzume, A. Harada, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2226–2227; c) G. Pouliquen, C. Amiel, C. Tribet, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 5587–5595; d) Y. L. Zhao, J. F. Stoddart, *Langmuir* **2009**, *25*, 8442–8446; e) X. Liao, G. Chen, X. Liu, W. Chen, F. Chen, M. Jiang, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4511–4515; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4409–4413.
[8] a) Y. P. Wang, N. Ma, Z. Q. Wang, X. Zhang, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2881–2884; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2823–2826; b) X. Chen, L. Hong, X. You, Y. L. Wang, G. Zou, W. Su, Q. J. Zhang, *Chem. Commun.* **2009**, 1356–1358; c) J. Zou, B. Guan, X. J. Liao, M. Jiang, F. G. Tao, *Macromolecules* **2009**, *42*, 7465–7473; d) Y. P. Wang, M. Zhang, C. Moers, S. L. Chen, H. P. Xu, Z. Q. Wang, X. Zhang, Z. B. Li, *Polymer* **2009**, *50*, 4821–4828.
[9] P. V. Jog, M. S. Gin, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3693–3696.
[10] P. B. Wan, Y. G. Jiang, Y. P. Wang, Z. Q. Wang, X. Zhang, *Chem. Commun.* **2008**, 5710–5712.
[11] D. P. Ferris, Y. L. Zhao, N. M. Khashab, H. A. Khatib, J. F. Stoddart, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1686.
[12] Die Optische Dichte wurde bei 600 nm (OD600) gemessen anstatt von 400 nm (OD400). Grund hierfür ist, dass die Absorption des Azobenzols mit dem gebräuchlicheren Parameter OD400 zur Charakterisierung von Vesikelösungen überlagert.
[13] Die Photoisomerisierung wird gehemmt oder sogar verhindert falls die OD600 der Vesikelösung größer als 0.5 ist.
[14] Es ist möglich, dass die *tert*-Butylbenzylgruppe zurückklappt und in die Doppelschicht der Membran insertiert. Dieser unspezifische hydrophobische Effekt ist sehr viel schwächer als die Bildung einer Einschlusverbindung mit der β-CD Kavität.