

Cyclodextrine – wohlfeile Bausteine für den Aufbau molekularer Systeme mit mechanischen Verknüpfungen

Von J. Fraser Stoddart*

Wenn es gegenwärtig ein Thema gibt, das bei der Entwicklung neuer Konzepte in der Synthesechemie immer stärkeren Einfluß gewinnt, dann ist es sicherlich das der molekularen Selbstorganisation^[1]. Daß dieses Phänomen gerade jetzt, mit einer gewissen Verspätung, in alle Teilgebiete der Chemie vordringt, liegt vor allem an der beschleunigten Entwicklung und wachsenden Akzeptanz der supramolekularen Chemie^[2]. Lange bevor Chemiker begannen, sich theoretisch und praktisch mit synthetisch hergestellten Systemen jenseits der Chemie einzelner Moleküle zu beschäftigen, hat die Natur die besondere Bedeutung der molekularen Erkennung herausgestellt, indem sie raffinierte molekulare und supramolekulare Anordnungen schuf, die Form und Funktion in sich vereinen.

Wenn es einer Verbindungsklasse gelungen ist, die Brücke zwischen natürlich vorkommenden und synthetischen Wirtmolekülen zu schlagen, dann sind es die Cyclodextrine – oder „CDs“, wie sie von Insidern genannt werden. Auch wenn Chemiker sich schon seit über hundert Jahren^[3a] intensiv mit ihnen beschäftigen, so haben sie doch nie aufgehört, die Chemikergemeinde zu faszinieren^[3b]. Und das aus gutem Grund: Zum einen sind es ästhetische Moleküle, zum anderen beflügeln sie immer wieder aufs neue. Die erst kürzlich erschienenen Veröffentlichungen^[4–7] von vier Arbeitsgruppen aus vier Ländern zur Selbstorganisation von Systemen mit CDs in Rotaxane und Polyrotaxane (Abb. 1) zeigen nur einmal mehr, daß auch nach hundert Jahren noch immenser Freiraum für Innovationen rund um die CDs existiert.

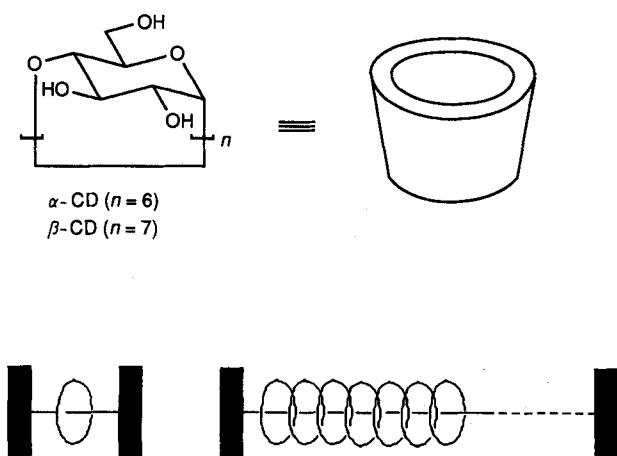
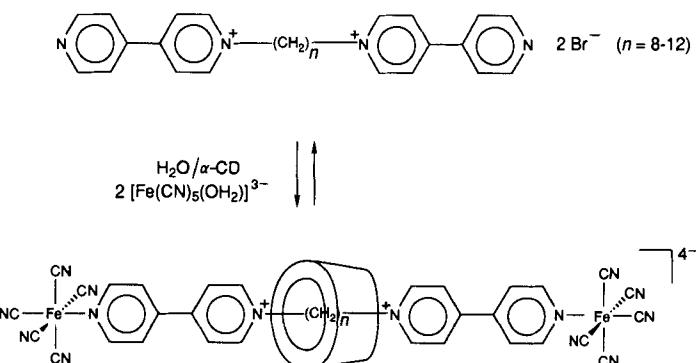


Abb. 1. Schematische Darstellung von α -Cyclodextrin (α -CD) und β -Cyclodextrin (β -CD) (oben) sowie eines [2]-Rotaxans (unten links) und eines Polyrotaxans (unten rechts).

Wylie und Macartney^[4] von der Queen's University in Kingston, Ontario (Kanada) beschrieben ein Metallkom-

[*] Prof. J. F. Stoddart
School of Chemistry, The University of Birmingham
Edgbaston, GB-Birmingham B15 2TT (Großbritannien)

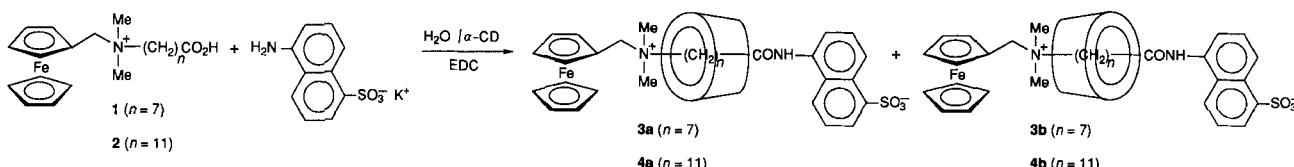
plex-[2]-Rotaxan mit α -CD-Komponente (Schema 1), dessen spontane Bildung unabhängig von der Reihenfolge ist, in der man die Reaktionspartner – α -Cyclodextrin, α,ω -Alkandiyl-bis-4,4'-bipyridiniumbromid und festes $\text{Na}_3[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Vorläufer für $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ -Ionen als Endgruppen) – zum wässrigen Reaktionsgemisch gibt. Das [2]-Rota-



Schema 1. Das Metallkomplex-[2]-Rotaxan von Wylie und Macartney [4].

xan bildet sich sogar dann, wenn man α -CD zu der hantelförmigen Verbindung $[(\text{NC})_5\text{Fe}(\text{bpy}(\text{CH}_2)_n\text{bpy})\text{Fe}(\text{CN})_5]^{4-}$ gibt. Dies deutet auf ein langsames Abdissoziieren einer der $[\text{Fe}(\text{CN})_5]^{3-}$ -Endgruppen hin, gefolgt von der Bildung des Semirotaxans $[\{\text{bpy}(\text{CH}_2)_n\text{bpy} \cdot \alpha\text{-CD}\}\text{Fe}(\text{CN})_5]^-$ und anschließender schneller Rekomplexierung durch $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ zum [2]-Rotaxan. Den Beweis für die Entstehung eines [2]-Rotaxans liefert unter anderem das ^1H -NMR-Spektrum, in dem die Signale zueinander symmetrischer Protonen der $[\text{bpy}(\text{CH}_2)_n\text{bpy}]^{2+}$ -Untereinheit in zwei Signalsätzen aufgespalten sind. Dies ergibt sich unmittelbar aus der asymmetrischen Orientierung des α -CD-Rings bezüglich der Enden des Rotaxans. Aufgrund der Tatsache, daß 4,4'-Bipyridin im „Faden“ des Rotaxans durch Pyrazin ersetzt werden kann und andere $[\text{M}(\text{CN})_5]^{4-}$ - und $[\text{M}(\text{NH}_3)_5]^{3+}$ -Ionen mit redoxaktiven d^6 -Metall-Zentren wie Co, Ru, Os und Fe als alternative Endgruppen denkbar sind, wäre es nicht überraschend, wenn in Kürze eine ganze Familie solcher [2]-Rotaxane bekannt würde^[17].

Gegen Ende letzten Jahres berichteten Isnin und Kaiser^[5] von der University of Miami in Florida (USA) über die selbstorganisierte Bildung eines asymmetrischen, zwitterionischen [2]-Rotaxans mit α -Cyclodextrin und eröffneten damit einen ebenso bestechend einfachen wie logischen Zugang zu vergleichsweise komplizierten Verbindungen (Schema 2). Ausgehend von der Tatsache, daß Alkyldimethyl(ferrocenylmethyl)ammonium-Ionen über die Alkylgruppen und die Ferrocen-Untereinheiten mit α - und β -CD in Wechselwirkung treten können, wurde die Alkylkette mit einer endständigen Carboxygruppe versehen: 1; $n=7$; 2; $n=11$. Die Bindung von α -CD wird dadurch zwar pH-abhängig



Schema 2. Die zwitterionischen [2]-Rotaxane von Isnin und Kaifer [5].

(für **1** · α -CD: $K_a = 425 \text{ M}^{-1}$ bei pH 2.6; $K_a = 71 \text{ M}^{-1}$ bei pH = 8.0), bleibt aber in wäßriger Lösung bestehen. Dies ermöglicht die anschließende Amidierung der Carboxygruppe mit Kalium-5-amino-2-naphthalinsulfonat unter Verwendung des wasserlöslichen Kondensationsmittels 1-[3-(Dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimid-hydrochlorid (EDC). In beiden Fällen konnten die isomeren, zwitterionischen [2]-Rotaxane **3a/b** und **4a/b** in 15% Ausbeute isoliert werden. Mittlerweile ist es gelungen, die Isomeren zu trennen^[8] und die relativen Orientierungen des α -CD-Rings auf den asymmetrischen hantelförmigen Grundkörpern zu bestimmen: Dabei stellte sich heraus, daß eines der Isomeren stabil ist, während das andere das α -CD-Molekül langsam abstreift! Auch hier sind sich die Autoren der breiten Anwendbarkeit ihrer Methode bewußt und erwarten für die Zukunft „eine Vielzahl von Rotaxan-Strukturen mit aufgefäderten Cyclodextrinen“.

Um buchstäblich eine Dimension erweitert wird das geschilderte Isomeriephänomen in Polyrotaxanen, bei denen sich mehr und mehr die Ansicht durchsetzt^[8], daß die Cyclodextrine unter Gleichgewichtsbedingungen mit alternierender Orientierung aufgefädelt werden sollten. Dabei stehen benachbarte Ringe in einer Kopf-Kopf- oder Schwanz-Schwanz-Anordnung, die jeweils eine optimale Ausbildung von Wasserstoffbrücken ermöglichen.

Von Polyethylenglycol(PEG)-Ketten wußte man, daß sie α -CD-„Perlen“ wie zu einer Halskette auffädeln^[9]. Harada, Li und Kamachi^[6] von der Universität Osaka in Japan ist es jetzt gelungen, die Kettenenden eines Polyethylenglycoldiamins (PEG-DA; Molmasse 3450) mit Dinitrophenyl-Einheiten als Endkappen zu versehen. Die Reaktion wurde mit einer Lösung von PEG-DA in Dimethylformamid (DMF) durchgeführt, wobei diese mit α -CD gesättigt und mit 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol (großer Überschuß, 46 Äquiv.) versetzt wurde. Nach einer aufwendigen Reinigungsoperation ergab die vollständige Charakterisierung des in hoher Ausbeute (60%) erhaltenen Produkts eine mittlere Molmasse von 23200 ($^1\text{H-NMR}$) bis 26400 (UV). Diese Werte entsprechen 20 bzw. 23 aufgefädelt α -CD-Molekülen je Polyrotaxan-Molekül (Abb. 2). Die unge-

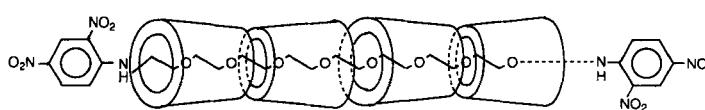
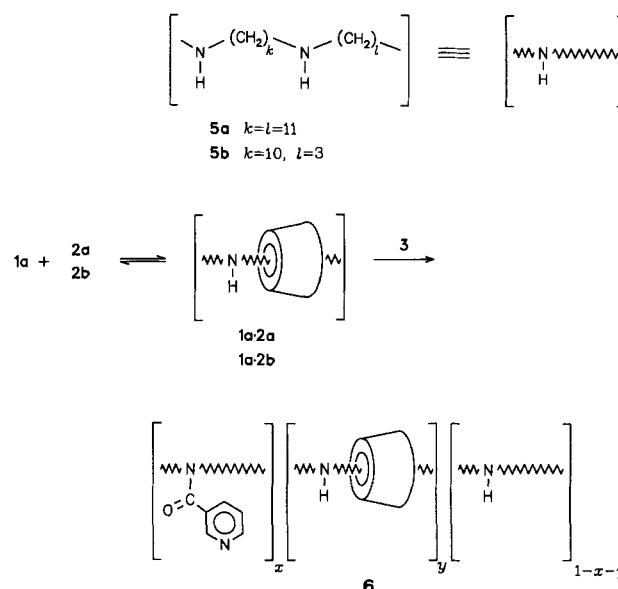


Abb. 2. Schematische Darstellung des Polyrotaxans von Harada et al. [6], das durch Auffädelung von α -Cyclodextrin-„Perlen“ auf eine Poly(ethylenglycoldiamin)-Kette (PEG-DA) und Kupplung mit Dinitrophenyl(DNP)-Endgruppen entsteht.

wöhnliche Struktur des Moleküls erinnert an einen molekularen Abacus^[10], und zwar sowohl hinsichtlich Struktur als auch Dynamik.

Ganz unabhängig davon konnten Wenz und Keller^[7] vom Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz zeigen, wie CD-Moleküle von den folgenden beiden Polymerketten aufgefädelt werden (Schema 3): Poly(iminoundecanmethylen) **5a** mit $P_n = 43 \pm 5$ und Poly(iminotrimethylen-imino-decamethylen) **5b** mit $P_n = 23 \pm 2$. Sowohl $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchungen als auch Viskositätsmessungen zeigten, daß das Auffädeln von α -CDs auf **5a** nur einige Stunden in Anspruch nimmt, während es bei **5b** in wäßriger Lösung mehr als eine Woche dauert, bis die maximal mögliche Zahl von α -CD-Molekülen aufgenommen ist. Dementsprechend benötigte die Trennung via Gleichgewichtsdialyse von **5a** · (α -CD)_n in die Komponenten lediglich 15 Stunden, während sie bei **5b** · (α -CD)_n auch nach zwei Wochen noch nicht annähernd vollständig war. Zur Ein-



Schema 3. Die [2]-Rotaxane und das Polyrotaxan von Wenz und Keller [7].

führung von mindestens zwei hydrophilen Nicotinoyl-Blockadegruppen an beliebigen Positionen entlang der Poly(iminooligomethylen)-Kette wurde **5b** · (α -CD)_n mit Nicotinsäurechlorid umgesetzt. Dabei entstand ein Polyrotaxan vom Typ **6** der Molmasse 55000 ± 5000 (bestimmt durch Laserlichtstreuung) mit durchschnittlich 37 permanent aufgefädelt α -CD-Molekülen.

All diese aufregenden Entwicklungen rund um Cyclodextrine^[11] sind vor dem Hintergrund der Aktivitäten anderer Arbeitsgruppen zu sehen, die sich mit vollsynthetischen Rotaxanen^[12-15] und Polyrotaxanen^[16] beschäftigen. Molekulare Selbstorganisation ist dabei das übergeordnete Konzept für den Aufbau dieser molekularen Systeme mit mechanischen Verknüpfungen. In dem Maß, wie wir das Verhalten der unterschiedlichen Systeme in verschiedenen Lö-

sungsmitteln durchschauen, wird auch unser Verständnis der molekularen Erkennung sprunghaft wachsen. Praktische Anwendungen werden sich daraus freilich erst in fernerer Zukunft ergeben. Gegenwärtig möge der Hinweis genügen, daß es große Hoffnungen gibt, Materialien mit neuartigen Formen und Eigenschaften zu finden.

- [1] D. Philp, J. F. Stoddart, *Synlett* **1991**, 445.
- [2] J.-M. Lehn, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 91; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89; *ibid.* **1990**, *102*, 1347 bzw. **1990**, *29*, 1304.
- [3] a) J. F. Stoddart, *Carbohydr. Res.* **1989**, *192*, xii; b) W. Saenger, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 343; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 344.
- [4] R. S. Wylie, D. H. Macartney, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3136.
- [5] R. Isnin, A. E. Kaifer, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8188.
- [6] A. Harada, J. Li, M. Kamachi, *Nature* **1992**, *356*, 325.
- [7] G. Wenz, B. Keller, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 201; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 197.
- [8] Siehe Anmerkungen in einem Artikel von R. Dagani, *Chem. Eng. News* **1992**, *70* (15), 39.

- [9] A. Harada, M. Kamachi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1322; siehe auch *Macromolecules* **1990**, *23*, 2821.
- [10] M. V. Reddington, A. M. Z. Slawin, N. Spencer, J. F. Stoddart, C. Vicent, D. J. Williams, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 630.
- [11] Für Beispiele von kammartigen Rotaxanpolymeren mit nichtkovalent gebundenen Cyclodextrinen in den Seitenketten siehe M. Born, H. Ritter, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1991**, *12*, 471.
- [12] J. F. Stoddart in *Host-Guest Molecular Interactions – From Chemistry to Biology* (*Ciba Found. Symp. No. 158*), Wiley, Chichester, **1991**, S. 5.
- [13] P. L. Anelli, N. Spencer, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5131.
- [14] P. R. Ashton, M. Grognuz, A. M. Z. Slawin, J. F. Stoddart, D. J. Williams, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6235.
- [15] P. L. Anelli, P. R. Ashton, R. Ballardini, V. Balzani, M. Delgado, M. T. Gandolfi, T. T. Goodnow, A. E. Kaifer, D. Philp, M. Pietraszkiewicz, L. Prodi, M. V. Reddington, A. M. Z. Slawin, N. Spencer, J. F. Stoddart, C. Vicent, D. J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 193.
- [16] Y. X. Shen, H. W. Gibson, *Macromolecules* **1992**, *25*, 2058.
- [17] Nach Fertigstellung dieses Beitrags wurde ein *lipophiles* [2]-Rotaxan (das von Wylie und Macartney ist *hydrophil*) beschrieben: G. Wenz, E. van der Bey, L. Schmidt, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 758; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 783.

Protein Engineering: Modifiziertes Hämoglobin als Blutersatzstoff

Von Timm-H. Jessen und Rolf Hilgenfeld*

Der Enthusiasmus, mit dem die gezielte Veränderung der Eigenschaften von Proteinen auf gentechnischem Wege, genannt Protein Engineering^[11], noch vor wenigen Jahren mit nationalen und internationalen Programmen gefördert wurde, scheint allmählich abzuflauen. Die Schlagworte von heute sind eben andere (Nanotechnologie, Glycobiologie) als vor fünf Jahren – in unserer kurzlebigen Zeit ein ganz normaler Vorgang. Und es scheint, als ob einige Protagonisten des Protein Engineering in der Tat mehr versprochen haben als sie – zumindest kurzfristig – halten konnten. Das Design maßgeschneiderter Enzyme für die Katalyse organischer Reaktionen mit hoher Stereoselektivität hat bisher nur in Ausnahmefällen funktioniert – kein Wunder, ist doch unser Verständnis der Struktur-Funktions-Beziehungen von Proteinen nach wie vor ziemlich eingeschränkt. Während die schnellen und spektakulären Erfolge, abgesehen von einigen Waschmittelproteasen, also weitgehend ausgeblieben sind, tritt das Protein Engineering nunmehr in eine Konsolidierungsphase, in der realistische Fragestellungen wissenschaftlich solide bearbeitet werden können – und siehe da, die Früchte der Arbeit reifen allmählich heran. Dies zeigt sich insbesondere bei Proteinen, die als Therapeutika eingesetzt werden oder werden sollen, und deren Eigenschaften durch gezielte Modifizierung besser den Erfordernissen angepaßt werden können. So läßt sich etwa der Wirkungseintritt von Humaninsulin durch den spezifischen Austausch bestimmter Aminosäurereste beschleunigen^[2], während wieder andere Modifikationen des Hormons zu einer verlängerten Wirkdauer führen und damit die Zahl der notwendigen Injektionen verringert werden kann^[3] – unnötig zu erwähnen, welche Erleichterung dies für den Diabetiker sein wird.

Für ein rationales Design eines solchen Austauschs von Aminosäuren ist natürlich eine genaue Kenntnis der dreidimensionalen Struktur des Proteins erforderlich, wie sie in bestimmten Fällen (bei kleinen Proteinen) durch NMR-

Techniken und in der Regel durch die Proteinkristallographie geliefert wird. So bildete die Röntgenstrukturanalyse von Hämoglobin durch M. Perutz et al. (MRC Cambridge)^[4] die Grundlage für gentechnische Modifikationen dieses Blutproteins, über die K. Nagai et al. (MRC) kürzlich zusammen mit Forschern der Firma Somatogen (Boulder, Colorado) in *Nature* berichteten^[5]. Mit diesem veränderten Hämoglobin scheint nach Jahrzehnten intensiver Forschung erstmals ein wirkungsvoller und gleichzeitig sicherer Blutersatzstoff in greifbare Nähe gerückt.

Dem Hämoglobin kommt die entscheidende Aufgabe beim Sauerstofftransport im Körper zu. Eingeschlossen in die roten Blutkörperchen wird das Protein in der Lunge mit Sauerstoff beladen, um diesen in den Kapillargefäßen des Gewebes in die Atmungskette einzuschleusen. Hämoglobin besteht aus zwei α - und zwei β -Polypeptidketten ($\alpha_2\beta_2$ -Tetramer), die je ein Fe^{2+} -haltiges Protoporphyrin IX, das Häm, enthalten. Lokal unterschiedliche Gaspartialdrücke, allosterische Effektoren sowie die Kooperativität des Tetramers modulieren die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins in idealer Weise^[6]. Da Hämoglobin der entscheidende Bestandteil des Blutes ist, lag sein Einsatz als Blutersatzstoff nahe; der Bedarf für einen solchen war angesichts der Probleme von Transfusionen mit Blutkonserven (Verfügbarkeit, Blutgruppenzugehörigkeit und Lagerstabilität) immer vorhanden, wird aber angesichts der zunehmenden Belastung mit pathogenen Viren in jüngster Zeit dringlich^[7].

Da aber Hämoglobin selbst als Blutersatzstoff nicht unproblematisch ist, wurden auch völlig andere Ansätze verfolgt. Mit den Perfluorkohlenwasserstoffen wurden vollsynthetische Sauerstofftransporter entwickelt, die bei Applikation als Emulsion Sauerstoff proportional zu seinem Partialdruck binden können. Die geringe Viskosität der Emulsionen sowie die Verwendbarkeit in Fällen, bei denen religiöse Gründe dem Patienten Bluttransfusionen verbieten, erhöhten die Attraktivität dieser Entwicklung^[8]. Mit Perfluoroctylbromid ist derzeit eine Verbindung in der klinischen Prüfung, die das Problempotential dieser Ersatzstoffe

[*] Dr. R. Hilgenfeld, Dr. T.-H. Jessen
Hoechst Aktiengesellschaft
Postfach 80 03 20, W-6230 Frankfurt 80