

Selbstorganisation und Bildung flüssigkristalliner Phasen von Analoga der Membranlipide aus Archaeabakterien**

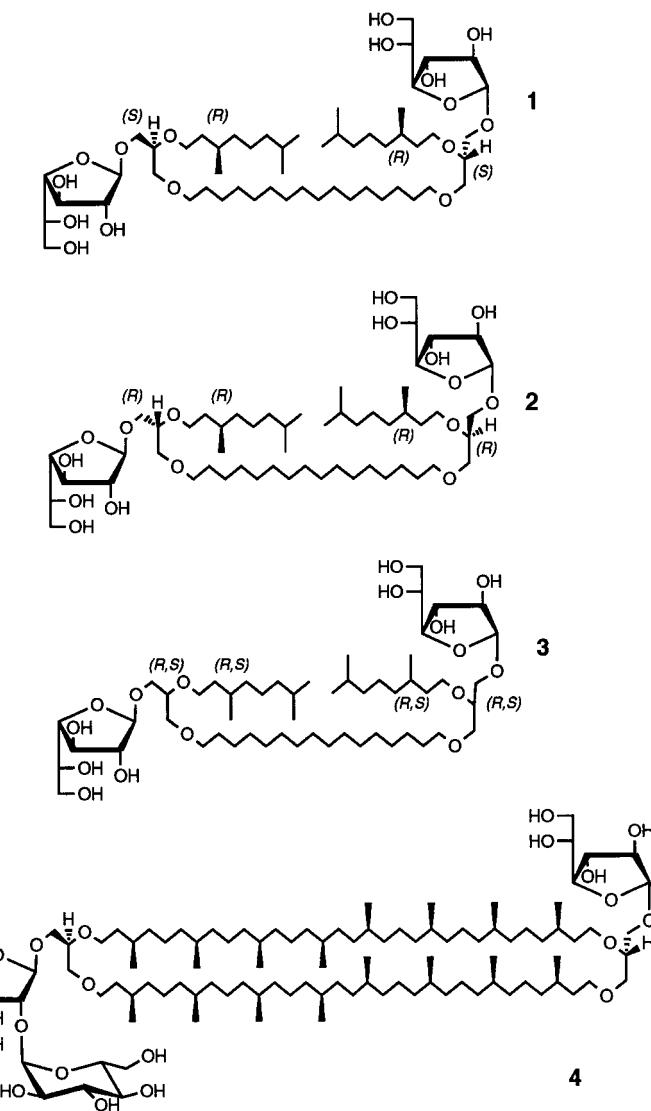
Rachel Auzély-Velty, Thierry Benvegnu,
Daniel Plusquellec,* Grahame Mackenzie,
Julie A. Haley und John W. Goodby*

Molekulare Selbstanordnung und Selbstorganisation gewinnen zunehmend an Bedeutung bei der Aufklärung von biologischen Prozessen und der Entwicklung neuer supramolekularer Strukturen und molekularen Materialien.^[1-9] Wichtige Denkanstöße für deren Entwicklung liefern biologische Zellen, in denen eine Vielzahl von Mikrostrukturen unterschiedlicher Größe und Funktion verwirklicht sind. Eine besonders reichhaltige Quelle der Inspiration sind Archaeabakterien, eine Klasse von Organismen, die an extreme Lebensbedingungen angepaßt sind. Ihre Bedeutung nimmt zu, seit Fortschritte in der Vulkanismusforschung (z.B. Untersuchungen am Vulkan auf Montserrat) zur Entdeckung zahlreicher neuer Stämme von Archaeabakterien geführt haben.

Unter dem Sammelbegriff Archaeabakterien faßt man eine Vielzahl extremphiler Mikroorganismen zusammen, die ein drittes großes Reich neben den gut untersuchten Eubakterien (den klassischen Prokaryonten) und den Eukaryonten bilden.^[10-12] Auf molekularer Ebene unterscheiden sich die Lipidbestandteile der Membranen der Archaeabakterien auffallend von denen der Eubakterien und Eukaryonten.^[13-15] Von besonderem Interesse ist die Molekülgestalt der Membranlipide von thermophilen Archaeabakterien: Sie weisen eine bipolare Architektur auf; zwei polare Enden werden durch zwei polyisoprenartige C₄₀-Ketten verbunden, die die gesamte Membran durchspannen und somit die Dicke der Lipidschicht bestimmen. Typisch für solche Tetraether-Lipide sind der hohe Anteil an glycosylierten Lipiden in den Membranen von thermophilen Methanbildnern und Schwefelbakterien und das Auftreten ungewöhnlicher Zuckerderivate wie β -D-Galactofuranose-Einheiten.^[13-15] Möglicherweise tragen diese Struktureinheiten zu einer weiteren Stabilisierung des Membrangerüstes bei, indem sie untereinander Wasserstoffbrückenbindungen bilden.^[16, 17] Erstaunlich ist jedoch die Existenz von Furanoseeinheiten unter diesen extremen Umweltbedingungen, da Glucofuranosen wesent-

lich schneller hydrolysiert werden als die entsprechenden Pyranosederivate.^[18]

Trotz des zunehmenden Interesses an der Struktur und Funktion der Glycolipide von Archaeabakterien haben sich bisher erst wenige Arbeiten damit beschäftigt, die Zusammenhänge zwischen der Molekülstruktur der monomeren Glycolipide und der Architektur ihrer supramolekularen Aggregate aufzuklären. Häufig sind weder durch Isolieren aus Bakterien noch durch Synthesen ausreichende Mengen der chemisch reinen Verbindungen zugänglich. Wir berichten hier über die Totalsynthese der Glycolipide **1**–**3**, die in ihrer



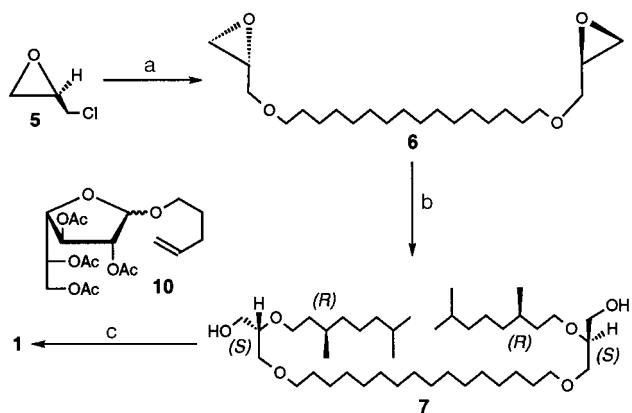
Struktur und Funktionalität natürlichen Glycolipiden von Archaeabakterien nachempfunden sind. Außerdem beschreiben wir ihre thermotrop- und lyotrop-flüssigkristallinen Eigenschaften sowie ihre in wässriger Lösung gebildeten supramolekularen Aggregate und deren elektronenmikroskopische Untersuchung.

Die auffälligsten Strukturelemente von **1**–**3** sind 1. eine Hexadecamethylenbrücke, die an den Positionen sn3 und sn3' mit je einem Glycerinmolekül verbunden ist, 2. zwei Dihydrocitronellyketten, die zusammen eine vergleichbare Länge

[*] Prof. D. Plusquellec, R. Auzély-Velty, T. Benvegnu
Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes
Laboratoire de Synthèses et Activations
de Biomolécules, associé au CNRS
Avenue du Général Leclerc, F-35700 Rennes (Frankreich)
Fax: (+33) 2-99-87-13-48
E-mail: daniel.plusquellec@ensc-rennes.fr
Prof. J. W. Goodby, G. Mackenzie, J. A. Haley
Department of Chemistry, Faculty of Science and the Environment
University of Hull, Hull HU6 7RX (Großbritannien)
Fax: (+44) 1482-464611
E-mail: J.W.Goodby@chem.hull.ac.uk
[**] Diese Arbeit wurde von EPSRC, vom Alliance Programme of the British Council und vom Ministère des Affaires Étrangères gefördert. Dem CNRS Région Bretagne danken wir für das Stipendium für R.A.-V. Ferner danken wir J. P. Rolland und D. Thomas (Universität Rennes) für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen.

haben wie der Spacer und die an den Positionen sn2 und sn2' mit den Glycerinmolekülen verknüpft sind, sowie 3. zwei glycosidisch gebundene polare Einheiten an den Molekülen, die sich von D-Galactofuranose ableiten. Diese Lipide sind eng mit dem natürlich vorkommenden Tetraether **4** verwandt, einem nahezu symmetrischen polaren Lipid aus dem Methanbildner *Methanospirillum hungatei*.^[19]

Die Syntheseroute zu den Glycolipiden **1–3** begann mit der Herstellung der Diole **7–9**, die nachfolgend mit einem Galactofuranose-Donor zweifach glycosyliert wurden: So lieferte die Bisalkylierung von 1,16-Hexadecadiol mit (R)-Epichlorhydrin das Diepoxid **6** unter vollständiger Inversion am sn-2-Kohlenstoffatom (Schema 1). In Gegenwart von

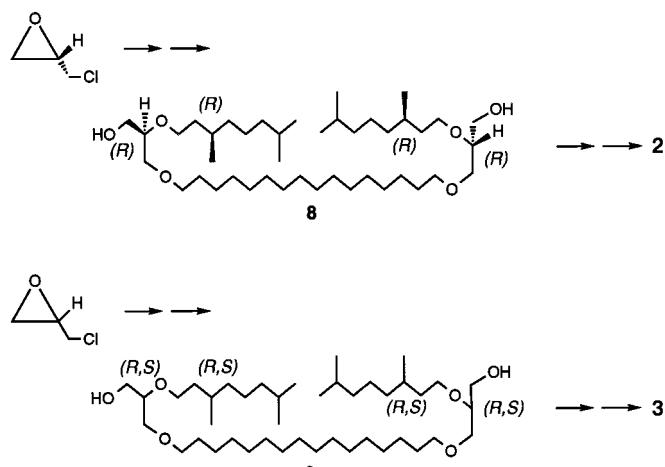


Schema 1. Synthese von **1**. a) 1,16-Hexadecadiol/n-Hexan:50proz. wäßrige Natronlauge (2:1), Bu_4NBr , 55%; b) 1. Allylalkohol, NaOMe (kat.), 90%, 2. (R)-Citronellylbromid, NaH , 80%, 3. $[\text{RhCl}(\text{Ph}_3\text{P})_3]$, Ethanol:Toluol:Wasser (7:3:1), 80%, 4. Raney-Nickel, H_2 , Ethanol, 95%; c) 1. **10**, CH_2Cl_2 , NIS, TESOTf, 67%, 2. MeOH , NaOMe (kat.), 79%. NIS = *N*-Iodsuccinimid, TESOTf = Triethylsilyltrifluormethansulfonat, Ac = Acetyl.

Allylalkohol fand sowohl die regiospezifische Öffnung der Oxiranringe in **6** als auch die Einführung von Allylether-Schutzgruppen an den primären Positionen statt. Nach Alkylierung mit (R)-Citronellylbromid an den Positionen sn2 und sn2', Abspaltung der *O*-Allylgruppen sowie Reduktion der Citronellyl- zu Dihydrocitronellylketten wurde das Diol **7** erhalten. Die beste Gesamtausbeute für die Sequenz lag bei 35 %, durchschnittlich wurden 30 % erreicht. Analog zu **7** wurden auch sein Diastereomer **8** und das racemische Diol **9** ausgehend von (S)-Epichlorhydrin bzw. racemischem Epichlorhydrin synthetisiert (Schema 2).

Der letzte, entscheidende Schritt war die Einführung der Galactofuranoseeinheiten als polare Endgruppen. Mit **10**, das in einer Eintopfreaktion aus D-Galactose zugänglich ist,^[20] konnten beide β -D-Galactofuranosereste in einem Schritt eingeführt werden, wobei man die diglycosylierten Lipide stereospezifisch in Ausbeuten von 65–70 % erhielt. Auf die erfolgreiche Glycosylierung folgte die Desacetylierung der Glycosideinheiten unter Standardbedingungen. Die Glycolipide **1–3** wurden vollständig durch NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie und Elementaranalysen charakterisiert.

Die Selbstanordnung und die Selbstorganisation von **1–3** wurden auf unterschiedliche Weise untersucht: Ihr Schmelz-



Schema 2. Synthese von **2** und **3** (Reagenzien und Bedingungen siehe Schema 1).

und Kristallisationsverhalten wurde zunächst detailliert unter einem Polarisationsmikroskop (Zeiss Universal-Polarisationsmikroskop) mit Heiztisch und Steuereinheit (Mettler FP52 und FP5) verfolgt, darüber hinaus durch Differenz-Scanning-Kalorimetrie (DSC; Perkin Elmer DSC 7 PC mit UNIX-Software, Scangeschwindigkeiten von 1, 5 und 10° min^{-1}). Die Ergebnisse wurden auf einen Indium-Standard bezogen (156.7°C , $\Delta H = 28.5 \text{ J g}^{-1}$; Literaturwert 156.6°C , $\Delta H = 28.45 \text{ J g}^{-1}$).^[21]

Die Glycolipide **1–3** haben ein ähnliches Schmelzverhalten, d.h., sie alle gehen beim Erhitzen in thermotrope flüssigkristalline Phasen über. Die Identifizierung der Mesophasen war aber unmöglich, da sich paramorphe Defekttstrukturen bildeten, die dem festen Zustand zugeschrieben werden. Allerdings weisen alle drei Verbindungen beim Abkühlen aus der isotropen Flüssigkeit (*Iso*) die klassischen Defekttstrukturen ungeordneter hexagonaler columnarer Phasen auf (*Col_{hd}*).^[22–24] Fächertexturen wurden gebildet, aber es wurden keine hyperbolischen oder elliptischen Linien beobachtet, wie sie bei lamellaren smektischen Phasen auftreten.^[25, 26] Stattdessen treten geradlinige Defekte auf, ein Kennzeichen für hexagonale columnare Phasen. Die Fächertexturen sind völlig gleichmäßig und ohne Querstreuung, was darauf hinweist, daß die Positionen der Moleküle in der Phase ungeordnet sind. Polarisationsmikroskopische Untersuchungen deuten auf eine columnare Struktur der Moleküle in der Mesophase hin. Die Säulen sind hexagonal-dicht gepackt, und die Moleküle selbst sind innerhalb der Säulen ungeordnet. In Abbildung 1 ist die Defekttstruktur von **3** nach dem Abkühlen aus der isotropen flüssigen Phase zu sehen. Die Graufärbung der untersuchten Proben ist ein Indiz für die schwache Doppelbrechung des Materials. Interessanterweise wurden keinerlei homöotrope Texturen beobachtet, die bei lamellaren Phasen nahezu immer auftreten.

Die Klärtemperaturen der Verbindungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Sie sind für alle drei Verbindungen annähernd gleich und damit unabhängig von der Konfiguration. Kleine Unterschiede sind eher auf Meßgenauigkeiten und geringfügige Verunreinigungen zurückzuführen.

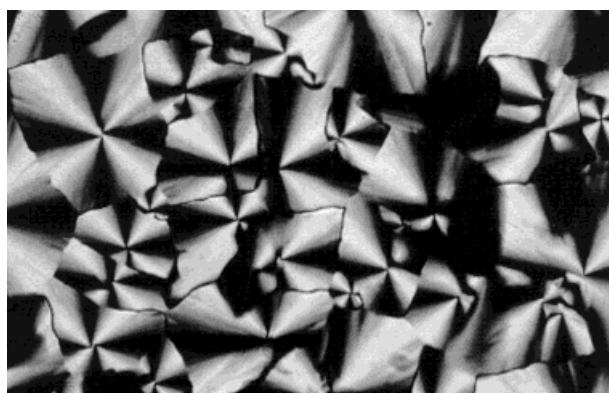


Abb. 1.

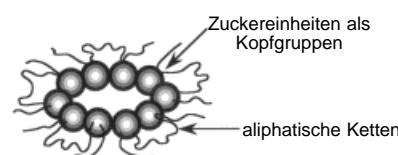
Tabelle 1. Übergangstemperaturen [$^{\circ}\text{C}$] und Übergangsenthalpien [J g^{-1}] (in Klammern) der Glycolipide **1**–**3**.

Verbindung	glasartig → columnar	columnar → isotrop fl.	columnar → glasartig
1	64.8	115.2 (1.53)	–37.7
2	56.7	117.6 (2.93)	–43.89
3	51.7	118.4 (1.38)	–37.8

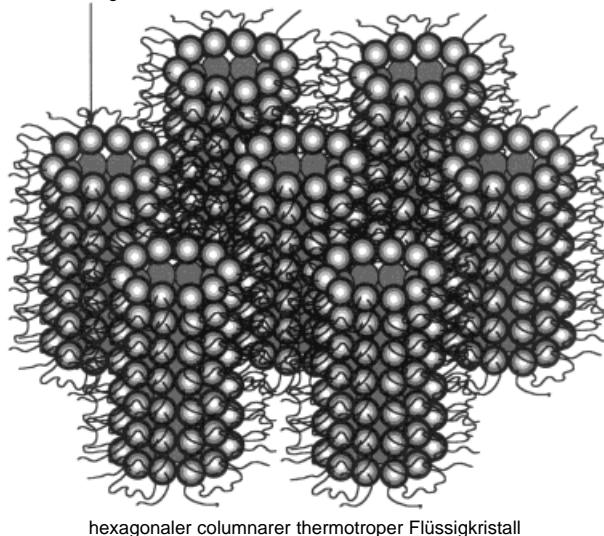
Die flüssigkristalline Phase konnte in allen drei Fällen bis zu Temperaturen deutlich $<0^{\circ}\text{C}$ unterkühlt werden. Häufig trat keine erneute Kristallisation ein, sondern die Proben erstarren glasartig, wobei die Defekttexturen der flüssigkristallinen Phase quasi eingefroren wurden. Beim Erhitzen ging der Glaszustand ohne Veränderungen der Defekttextur wieder in den flüssigkristallinen Zustand über, so daß sich die exakten Glasübergangstemperaturen durch Beobachtung am Mikroskop nicht ermitteln ließen. Durch DSC konnten sie jedoch bestimmt werden (siehe Tabelle 1).

Unsren Ergebnissen zufolge weist die Mesophase eine columnare Ordnung auf. Zwei mögliche Strukturen lassen sich dafür postulieren: Die aliphatischen Ketten der Moleküle können sich an der Außenseite und die Zuckereinheiten im Innern der Säulen befinden oder umgekehrt. Bei einer kontrollierten Zugabe von Wasser zur reinen Phase stellte sich jedoch heraus, daß die thermotrope columnare Phase nicht lückenlos mit Wasser mischbar ist. Dies spricht dafür, daß die aliphatischen Ketten zur Außenseite der Säulen hinweisen. Die in Abbildung 2 dargestellte columnare Struktur, in der die Moleküle gefaltet sind und eine haarnadelähnliche Konformation einnehmen, sollte demnach bevorzugt sein. Bedingt durch die Faltung der Moleküle können sich hier die Ketten an der Außenseite der Säulen anordnen, während die Zuckereinheiten nach innen weisen. Diese Annahme wird auch durch eine kürzlich publizierte Arbeit von Taguchi et al.^[27] über Dotriacontan-1,32-diylphosphat (C32P) und das nahezu isomere Doppelkettenphosphat 2C16P gestützt. Die Alkylkette in C32P liegt hauptsächlich in *trans*-Anordnung vor. Die Anwesenheit einiger *gauche*-Konformere führt dazu, daß die Moleküle eine haarnadelähnliche Struktur bilden und

Die dicht gepackten Kopfgruppen lassen nur einen geringen Freiraum im Innern der Säulen



Moleküle in ungeordneten Säulen

Abb. 2. Ungeordnete columnare Struktur der thermotropen Mesophase von **1**–**3**.

in der Mitte der Kette gefaltet sind. Es resultieren columnare Strukturen. In Richtung der Säulenachse liegen die Moleküle wie in einer flüssigen Phase ungeordnet vor, und die Säulen sind hexagonal gepackt, so daß eine ungeordnete hexagonale columnare thermotrope Mesophase resultiert.

Auch bei Lyotropie-Untersuchungen an den drei Verbindungen wurden hexagonale Phasen beobachtet. Anders als bei der Struktur der thermotropen columnaren Phasen, die nicht vollständig mit Wasser mischbar sind, dürften in den hexagonalen lyotropen Phasen die polaren Kopfgruppen der Moleküle eher zur Außenseite der Säulen gerichtet sein. Da einige der Materialien in wässrigen Medien röhrenförmige Strukturen bilden können, liegt die Annahme nahe, daß hier wahrscheinlich eine durch Selbstanordnung entstandene Doppelschichtstruktur wie in einer Membran der Struktur der hexagonalen lyotropen Phase zugrundeliegt.

Die supramolekularen Aggregate, die in wässriger Lösung gebildet werden, wurden elektronenmikroskopisch untersucht. Während **1** und **3** Röhren bilden, ist dies bei **2** nicht der Fall (Abb. 3). Im Unterschied zu den Selbstanordnungstendenzen, die zur Bildung flüssigkristalliner Phasen führen, ist die Selbstorganisation als Röhrenstruktur abhängig von der Konfiguration des untersuchten Materials. Interessanterweise haben die Röhren, die von **1** und **3** gebildet werden, parallele, in gleichmäßigen Abständen unterbrochene Defektlinien orthogonal zur Längsachse der Röhren (Abb. 3a und c). Linien dieser Art stehen meist in Zusammenhang mit Chiralität, besonders mit einer helicalen Verdrehung, und resultieren aus der Packung der chiralen Moleküle. Demzufolge haben die Röhren entweder eine helicale Struktur, die

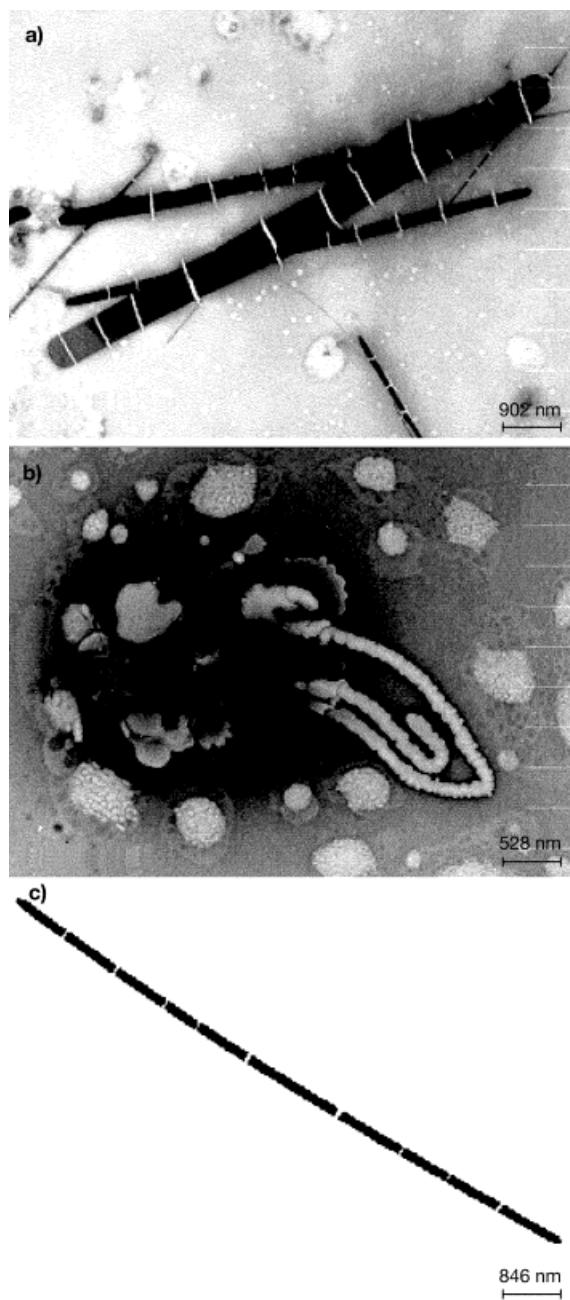


Abb. 3. Elektronenmikroskopische Aufnahmen typischer supramolekulärer Aggregate der Glycolipide **1–3** (a–c) in wässrigen Medien (Negativanfärbung mit Uranylacetat).

sich aus mehreren hundert monomolekularen Schichten zusammensetzt, oder eine periodische Defektstruktur, der eine helicale Anordnung zugrundeliegt. Periodische Defektstrukturen bei thermotropen Flüssigkristallen sind bekannt und treten häufig auf, wenn einerseits die Moleküle zur Bildung einer verdrillten Überstruktur neigen und andererseits strukturelle oder räumliche Limitierungen der Verdrillung entgegenstehen, etwa bei Blauen Phasen oder TGB-Phasen (TGB = twist grain boundary). Diese Konkurrenz führt zu einer Frustration, der die Moleküle durch die Bildung von Defektstrukturen ausweichen.

Bei **1** und **3** können die orthogonalen Linien auf Defekte zurückgeführt werden, die bei der Beschränkung der Verdrillung

lung auf kleinsten Raum entstehen, ähnlich wie bei den TGB-Phasen.^[28] **2** bildet keine röhrenförmigen Strukturen. Dies könnte mit der von **1** und **3** abweichenden Konfiguration zusammenhängen, was wiederum zu einer anderen Vorzugsanordnung der asymmetrischen Molekülteile führen könnte. Detaillierte Untersuchungen und Erklärungen dieser durch Selbstanordnung entstandenen Strukturen sind jedoch komplex, und wir werden darüber an anderer Stelle umfassender berichten.

Eingegangen am 11. März 1998 [Z11574]

Stichwörter: Amphiphile • Flüssigkristalle • Kohlenhydrate • Lipide

- [1] J. M. Lehn, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1347; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1304.
- [2] P. Ball, *Nature* **1994**, *371*, 202.
- [3] M. T. Krejchi, E. D. T. Atkins, A. J. Waddon, M. J. Fournier, T. L. Mason, D. A. Tirrell, *Science* **1994**, *265*, 1427.
- [4] R. S. Lokey, B. L. Iverson, *Nature* **1995**, *375*, 303.
- [5] D. Philp, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1242; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1155.
- [6] R. H. Berg, S. Hvilsted, P. S. Ramanujam, *Nature* **1996**, *383*, 505.
- [7] A. Müller, C. Bengholt, *Nature* **1996**, *383*, 296.
- [8] D. Me Rosa, A. Morana in *Neural Networks and Biomolecular Engineering to Bioelectronics* (Hrsg.: C. Nicolini), Plenum, New York, **1995**.
- [9] C. M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 603; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 585.
- [10] C. R. Woese, G. E. Fox, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 5088.
- [11] F. J. Auhrman, K. McCallum, A. A. Davis, *Nature* **1992**, *356*, 148.
- [12] E. F. Delong, K. Y. Wu, B. B. Prezelin, R. V. M. Javine, *Nature* **1994**, *371*, 695.
- [13] G. D. Sprott, *J. Bioenerg. Biomembr.* **1992**, *24*, 555.
- [14] M. Kates in *The Biochemistry of Archaea (Archaeabacteria)* (Hrsg.: M. Kates, D. J. Kushner, A. T. Matheson), Elsevier, Amsterdam, **1993**.
- [15] A. Gambacorta, A. Gliozzi, M. De Rosa, *World J. Microbiol. Biotech.* **1995**, *11*, 115.
- [16] M. De Rosa, *Thin Solid Films* **1996**, *284–285*, 13.
- [17] K. Yamauchi, M. Kinoshita, *Prog. Polym. Sci.* **1993**, *18*, 763.
- [18] J. W. Green, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1966**, *21*, 95.
- [19] G. Ferrante, I. Ekiel, G. D. Sprott, *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, *921*, 281.
- [20] R. Velty, T. Benvegnu, M. Gelin, E. Privat, D. Plusquellec, *Carbohydr. Res.* **1997**, *299*, 7.
- [21] *CRC Handbook of Physics and Chemistry* (Hrsg.: R. C. Priest), 68. Auflage, CRC, Boca Raton (FL), **1988**, S. D 62.
- [22] Y. Bouligand, *J. Phys. (Paris)* **1980**, *41*, 1297.
- [23] Y. Bouligand, *J. Phys. (Paris)* **1980**, *41*, 1307.
- [24] S. Chandrasekhar, G. S. Ranganath, *Rec. Prog. Phys.* **1990**, *53*, 57.
- [25] G. Friedel, *Ann. Phys.* **1922**, *18*, 273.
- [26] G. W. Gray, J. W. Goodby, *Smectic Liquid Crystals: Textures and Structures*, Leonard Hill, Philadelphia, **1984**.
- [27] K. Taguchi, K. Arakawa, T. Eguchi, K. Katinuma, Y. Nakatani, G. Ourisson, *New J. Chem.* **1998**, *22*, 63.
- [28] J. W. Goodby, M. A. Waugh, S. M. Stein, E. Chin, R. Pindak, J. S. Patel, *Nature* **1989**, *337*, 449.