

Bindungsexperimente: Das Polymer (10 mg) wurde über Nacht bei Raumtemperatur mit einer Lösung des Peptids (1 mm Acetonitril/Wasser 4:1, 0,333 mL) geschüttelt. Vor der HPLC-Analyse wurden die Lösungen über ein PTFE-Membranspritzenfilter (0,2 µm, 13 mm Durchmesser, HPLC Technology, Macclesfield, Großbritannien) filtriert, das an eine Einwegspritze angeschlossen war. Die HPLC-Analyse erfolgte an einer LiChrospher-C18-Kolonne (Merck) bei isokratischer Elution mit 20proz. wäßrigem Methanol unter UV-Detektion.

Eingegangen am 14. Dezember 1998 [Z12782]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2057–2060

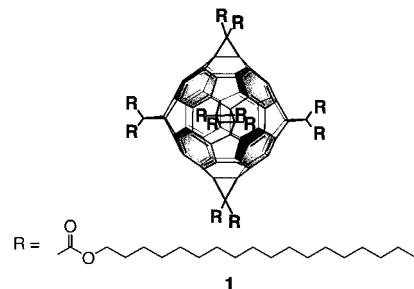
Stichwörter: Imprinting • Molekulare Erkennung • Peptide • Polymere • Rezeptoren

- [1] L. Pauling, *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 2643–2657.
- [2] Übersichten: a) G. Wulff, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1958–1979; G. Wulff, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1812–1832; b) K. J. Shea, *Trends Polym. Sci.* **1998**, *2*, 166–173; c) K. Mosbach, O. Ramström, *Bio/Technology* **1996**, *14*, 163–170; d) E. N. Vulfson, C. Alexander, M. J. Whitcombe, *Chem. Br.* **1997**, *33*, 23–26. Ein bemerkenswerter, neuerer Bericht über den Einsatz der kombinatorischen Chemie im molekularen Imprinting: e) T. Takeuchi, D. Fukuma, J. Matsui, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 285–290.
- [3] G. Vlatakis, L. I. Andersson, R. Müller, K. Mosbach, *Nature* **1993**, *361*, 645–647.
- [4] O. Ramström, L. Ye, K. Mosbach, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 471–477.
- [5] M. J. Whitcombe, M. E. Rodriguez, P. Villar, E. N. Vulfson, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7105–7111.
- [6] Aminosäurederivate und kurze Peptide wurden auf nichtkovalente Weise in einer Reihe von Untersuchungen „abgedruckt“. Dabei wurden Polymere hergestellt, die eine Racematspaltung ermöglichen. Siehe z. B.: a) B. Sellergren, M. Lepistö, K. Mosbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5853–5860; b) I. A. Nicholls, L. I. Andersson, K. Mosbach, B. Ekberg, *Trends Biotechnol.* **1995**, *13*, 47–51; c) Yu, K. Mosbach, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4057–4064; d) S. Vidyasankar, M. Ru, F. H. Arnold, *J. Chromatogr. A* **1997**, *775*, 51–63; e) J. M. Lin, T. Nakagama, K. Uchiyama, T. Hobo, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1997**, *15*, 1351–1358; f) O. Ramström, I. A. Nicholls, K. Mosbach, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 649–656; g) M. Kempe, K. Mosbach, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3563–3566; h) L. I. Andersson, R. Müller, G. Vlatakis, K. Mosbach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 4788–4792.
- [7] M. Lübke, M. J. Whitcombe, E. N. Vulfson, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13342–13348.
- [8] Kovalentes Imprinting mit polymerisierbaren Carbonsäureestern (ohne Spacer) ist bereits erfolgreich durchgeführt worden: B. Sellergren, L. Andersson, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3381–3383.
- [9] Dieses Monomer wurde bereits in Kombination mit Methacrylsäure für das Imprinting von Aminosäurederivaten verwendet: O. Ramström, L. I. Andersson, K. Mosbach, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7562–7564.
- [10] Infrarot- und ¹H-NMR-Untersuchungen an der Modellverbindung *N*-(4-Hexadecylphenyl)-2-methacryloyloxybenzamid bestätigten das Vorliegen einer intramolekularen H-Brücke zwischen dem Amid-N-Proton und dem benachbarten Sauerstoffatom.
- [11] X. C. Liu, K. Mosbach, *Macromol. Rapid Commun.* **1998**, *19*, 671–674.
- [12] Über die Selektivität zwischen Aspartat- und Glutamatderivaten von Imprint-Polymeren auf der Basis von Methacrylsäure wurde bereits berichtet: L. I. Andersson, K. Mosbach, *J. Chromatogr.* **1990**, *516*, 313–322.
- [13] G. H. Chen, Z. B. Guan, C. T. Chen, L. T. Fu, V. Sundaresan, F. H. Arnold, *Nat. Biotechnol.* **1997**, *15*, 354–357.

Nanosphären aus polymerisierten Lipofullerenen**

Michael Hetzer, Hauke Clausen-Schaumann, Sibylle Bayerl, Thomas M. Bayerl,* Xavier Camps, Otto Vostrowsky und Andreas Hirsch*

Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) bildet mit außergewöhnlich hohen Gewichtsanteilen von lipophilen Hexaaddukten von C_{60} wie **1** im wäßrigen Medium multilamellare Vesikel (MLV) mit schlauchförmigen Fullerene-Nanoaggrega-



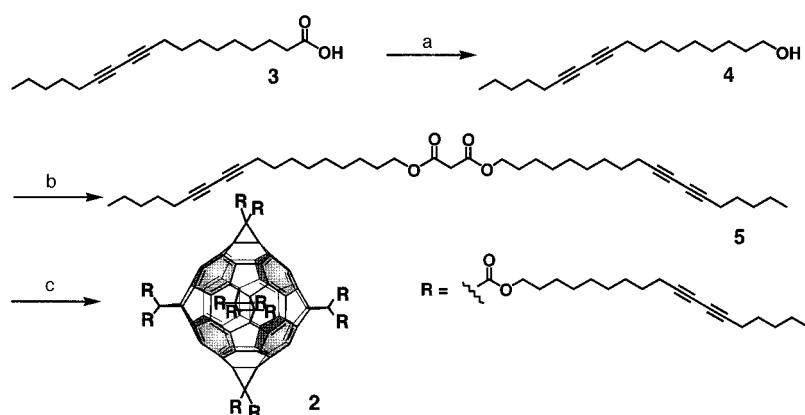
ten innerhalb der Lecithindoppelschicht.^[1, 2] Die eingelagerten Lipofullerenen weisen Längen von einigen µm und Durchmesser bis zu 30 nm auf und verändern signifikant die mikromechanischen Eigenschaften der konjugierten Membranen. So wurde eine Erhöhung der Membransteifigkeit bei gleichzeitiger entkoppelter lateraler Diffusion von Lipiden und Lipofullerenen innerhalb der Doppelschicht nachgewiesen.^[1–3] In diesem Zusammenhang ergab sich die Fragestellung, ob die Selbstorganisation der Lipofullerenen innerhalb dieser supramolekularen Strukturen für den Aufbau von formstabilen auf Fullerenen basierenden Nanoarchitekturen herangezogen werden kann.

Wir berichten nun über die Synthese von gefüllten und hohlen Nanosphären, die durch Polymerisation solcher in MLVs interkalierter Lipofullerenen entstanden sind. Als vernetzungsfähiges Strukturelement innerhalb der lipophilen Ketten haben wir Butadiinringgruppen gewählt. Damit sollte durch Belichtung im Sinne von 1,4-Additionen^[4–6] eine kovalente Verknüpfung der Lipofullerenen möglich werden.^[7] Es ist bekannt, daß Membranen, die aus Lipiden mit Butadiineinheiten aufgebaut sind, durch Vernetzung unter Bildung von Oligodiacylenen polymerisiert werden können.^[8] Als monomeres Lipofulleren wurde das T_h -symmetrische Hexakisaddukt **2** verwendet, das mit seinen zwölf

[*] Prof. Dr. T. M. Bayerl, Dr. M. Hetzer,
Dipl.-Phys. H. Clausen-Schaumann, Dr. S. Bayerl
Physikalisches Institut EP-5 der Universität
D-97074 Würzburg
Fax: (+49) 931-7840759
E-mail: bayerl@physik.uni-wuerzburg.de

Prof. Dr. A. Hirsch, Dr. X. Camps, Dr. O. Vostrowsky
Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg
D-91054 Erlangen
Fax: (+49) 9131-8526864
E-mail: andreas.hirsch@organik.uni-erlangen.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.



Schema 1. Herstellung des polymerisierbaren Lipofulleren-Hexakisaddukts **2**. a) LiAlH₄, Diethylether; b) ClCOCH₂COCl/Pyridin, CH₂Cl₂; c) C₆₀, DMA, CBr₄, DBU, Toluol.

Octadecadiynoseitenketten hyperfunktional ist und damit eine gute Vernetzbarkeit in drei Dimensionen gewährleistet. Für die Herstellung von **2** (Schema 1) wurde 10,12-Octadecadiinsäure **3** reduziert und der erhaltene Alkohol **4** mit Malonyldichlorid zu Dioctadecadiinylmalonat **5** umgesetzt. Dieses gab mit Fullerenen via Templataktivierung^[9] mit Dimethylanthracen (DMA) und 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) nach erschöpfender Cyclopropanierung^[10, 11] **2**, welches vollständig charakterisiert wurde (Tabelle 1).

Für die Untersuchung der photochemischen Vernetzbarkeit von **2** wurde zunächst das Monomer als Film auf einer Glasplatte zwei Tage belichtet (300-W-Lampe). Während das gelbe Monomer **2**

Deuterium-Festkörper-NMR (²H-NMR) und Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie ergaben, daß **2** innerhalb der Membran die gleiche Tendenz zur Selbstaggregation aufweist wie die analogen gesättigten, nichtpolymerisierbaren Lipofullerenen.^[1, 2] Für die Polymerisation wurde eine wäßrige Suspension der DPPC-MLVs, die 15 Mol-% **2** enthielten, in einer Quarzküvette bei 50 °C (fluide Lipiddphase^[1, 2]) 12 h mit UV-Licht (8 W, 256 nm) bestrahlt. In Kontrollexperimenten mit reinen DPPC-MLVs wurde durch Differentielle Scanningkalorimetrie (DSC) sichergestellt, daß sich die Lipide unter den Versuchsbedingungen nicht zersetzen. Beim polymerisierbaren DPPC-Lipofulleren-System änderte sich hingegen nach der

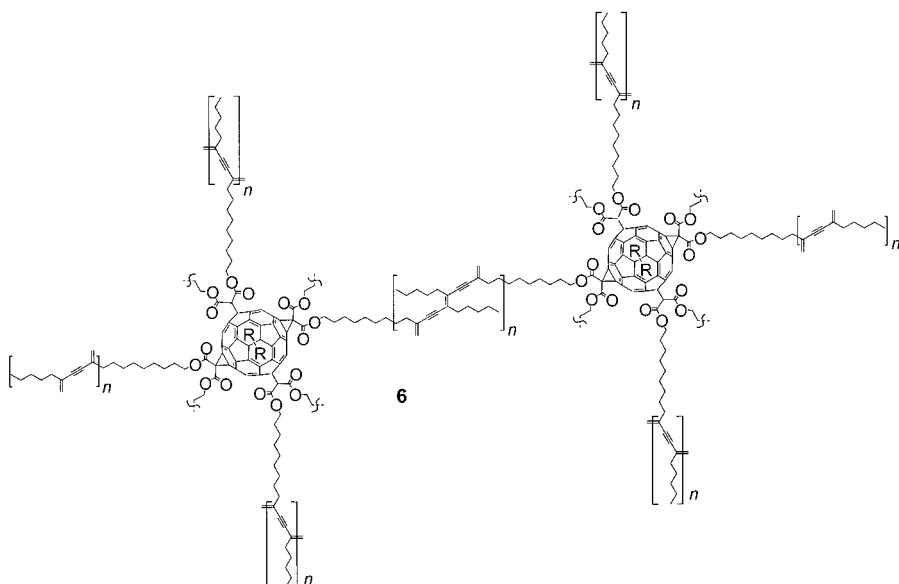


Tabelle 1. ¹H-NMR-, ¹³C-NMR-, IR-, UV- und MS-Daten von **2**.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.90 (t, 36 H, J = 7 Hz, CH₃), 1.35–1.55 (m, 216 H, CH₂), 1.68 (tt, 24 H, J₁ = J₂ = 7 Hz, CH₂), 2.24 (t, 48 H, J = 7 Hz, CH₂C≡C), 4.24 (t, 24 H, J = 7 Hz, CH₂O); ¹³C-NMR (100.5 MHz, CDCl₃): δ = 13.84 (CH₃), 19.09, 19.13, 22.09, 25.74, 27.98, 28.31, 28.36, 28.78, 28.99, 29.13, 29.31, 30.92 (CH₂), 45.33 (Methanobrücke), 65.23, 65.26 (sp-C), 66.92 (CH₂O), 69.06 (C₆₀-sp³-C), 77.43, 77.48, (sp-C), 141.15, 145.81 (C₆₀-sp²-C), 163.92 (C=O); IR (KBr): ν = 2930.8, 2856.4, 2256.1, 2155.5, 1746.3, 1465.1, 1264.4, 1215.8, 1080.2, 715.7, 529.3 cm⁻¹; UV (CH₂Cl₂): λ_{max} = 270.5, 280.5, 318.0, 336.0, 383.0 nm; MS (α-Cyan-p-hydroxyimtsäure (CCA), MALDI): m/z: 4267 [M⁺]

bei 42 °C schmilzt, findet bei dem unlöslichen, rotbraunen Bestrahlungsprodukt **6** bis 280 °C kein Phasenübergang statt. Die ¹³C-Festkörper-NMR-Analyse (MAS) und das IR-Spektrum von **6** zeigen, daß neben neugebildeten Endiineinheiten (δ = 90–140; ν = 2230 (C≡C), 1600 cm⁻¹ (C=C)) noch intakte Butadiineinheiten (δ = 65, 77) vorhanden sind. Aus sterischen Gründen können jeweils nur zwei oder drei Monomerbausteine an einer Verknüpfungstelle unter Bildung von kurzen Endiineinheiten vernetzt werden.

Für die matrixkontrollierte Polymerisation innerhalb der MLVs wurde **2** in die Phospholipidvesikel interkaliert.

Bestrahlung das dynamische Verhalten der Lipide signifikant. Abbildung 1 zeigt Deuterium-NMR-Spektren des polymerisierbaren DPPC-Lipofulleren-Systems (kettenperdeuteriertes DPPC) vor und nach der Polymerisation. Die Veränderung der Linienform kann durch eine Erhöhung des Mem-

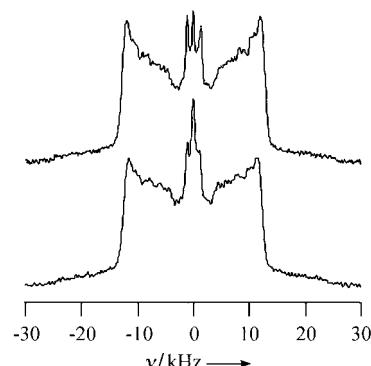


Abbildung 1. ²H-NMR-Spektren der perdeuterierten multilamellaren DPPC-Vesikel ([D₆₂]DPPC) mit 15 Mol-% Lipofulleren **2** vor (oben) und nach UV-Bestrahlung (unten) bei 50 °C.

branbiegemoduls erklärt werden.^[1] Weiterhin manifestiert sich die Polymerisation durch eine mehr als 10proz. Verringerung der transversalen Deuterium-NMR-Relaxationszeit t_2 der perdeuterierten DPPC-Ketten. Eine Verringerung der t_2 -Relaxationszeit der Lipidketten kann mit der Anwesenheit rigider Strukturen in ihrer unmittelbaren Umgebung erklärt werden. Relaxations-Kontrollexperimente ergaben zudem, daß die Polymerisation nach 12 h Bestrahlungszeit abgeschlossen war und daß die Verringerung von t_2 nicht bei reinen, analog behandelten DPPC-MLVs auftritt.

Untersuchungen der Flüssigphasen-Proben durch Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie ergaben, daß die vor der Polymerisation beobachteten Schlauchstrukturen (Abbildung 2 a) auf der MLV-Oberfläche weitgehend verschwunden waren. Dafür findet man perfekt sphärische Objekte aus polymerisiertem Lipofulleren mit Durchmessern von 100 nm bis zu mehreren μm (Abbildung 2 b). Die kleinen Sphären mit Durchmessern $< 150 \text{ nm}$ sind hohl und transparent, der Replikahintergrund ist durch die Objekte hindurch sichtbar. Die größeren Kugeln sind gefüllt und für den Elektronenstrahl nicht mehr durchlässig. Das DPPC ließ sich nach der Polymerisation durch Extraktion mit organischem Lösungsmittel entfernen. Damit waren vakuumgetrocknete Nanosphären der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) nun auch ohne Gefrierbruch-Präparation zugänglich (Abbildung 2 c). Raster-Kraft-Mikroskopie-Aufnahmen (AFM) ergaben für einzelne aus der Oberfläche herausragende C_{60} -Kugeln einen mittleren Abstand von 16 nm (Abbildung 3). Nach einer rechnerischen Glättung wurden eine durchschnittliche Oberflächenrauhigkeit der Polymerkugeln von 0.9 nm und maximale Höhenamplituden von 1.5 nm ermittelt. Die gefüllten Polymerkugeln erwiesen sich als mechanisch sehr stabil und werden auch bei Auflagekräften, die um ein bis zwei Größenordnungen größer waren als die für Abbildung 3 gewählte Kraft von 1 nN, nicht beschädigt. Bei den TEM-Abbildungen der transparent erscheinenden kleinen Hohlkugeln konnte außerdem keine Abdunkelung der Projektion der Sphärenränder festgestellt werden. Die Wanddicke dieser Kugelsphären muß also unter der Auflösungsgrenze des Mikroskops (ca. 10 nm) liegen.

Die hier vorgestellte Polymerisation kann als eine spezielle Art von Emulsionspolymerisation angesehen werden, bei der das Monomer in wässriger Lösung in Gegenwart eines Detergents polymerisiert wird.^[12] Die Tatsache, daß die Bildung der Nanosphären aus der fluiden MLV-Phase beobachtet wird, in der nur die quasi-zweidimensionale laterale Bewegung der Monomerenbausteine gewährleistet ist, läßt auf eine essentielle Templatfunktion der Vesikel während der Polymerisation schließen.

Interessanterweise lassen sich jedoch aus **2** in Abwesenheit von DPPC neben amorphem Polymer in geringen Ausbeuten auch sphärische Polymere herstellen. Ursprünglich nur als Kontrollexperiment gedacht, wurde eine Lösung von 5 mg mL⁻¹ **2** in Decan bei Raumtemperatur bestrahlt (8 W, 256 nm). Bereits nach 30 min beobachtet man die Entstehung eines glänzend-braunen Niederschlags an der Wand des Reaktionsgefäßes und zusätzlich im Inneren der Lösung suspendierte kleine kugelige Objekte. In diesem Fall konnten jedoch keine Hohlkugeln gefunden werden. Unseres Wissens

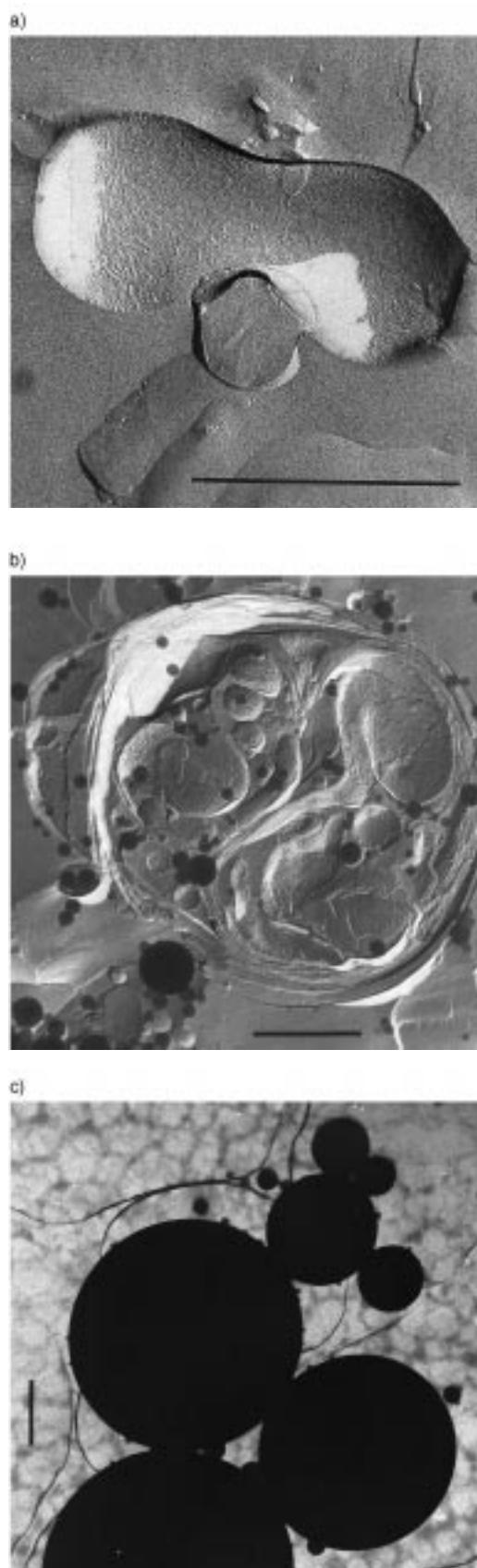


Abbildung 2. TEM-Aufnahme einer Gefrierbruch-Präparation von 15 Mol-% Lipofulleren **2** in multilamellaren DPCC-Vesikeln a) vor und b) nach mit UV-Licht initiiertem Polymerisationsprozess. c) Lipofulleren-Polymerosphären nach Extraktion des DPPC und anschließender Vakuumtrocknung. Die Längen der Balken entsprechen jeweils 1 μm .

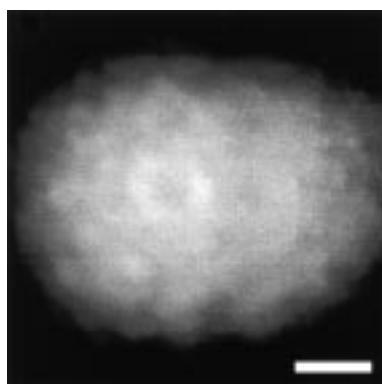


Abbildung 3. AFM-Aufnahme einer Lipofulleren-Polymersphäre nach DPPC-Extraktion; die Länge des Balkens entspricht 50 nm.

liegt hier der erste Fall für eine isotrope Polymerisation vor, die vermutlich allein schon durch die Form und die Hyperfunktionalität des hochsymmetrischen Monomers **2** ermöglicht wird. Nur ein kleiner Teil der zwölf zur Vernetzung verfügbaren Gruppen können aus sterischen Gründen überhaupt zur Polymerisation herangezogen. Die jeweils außen an den Kugelflächen befindlichen und noch nicht umgesetzten Diinfunktionen bedingen nach Art eines „lebenden Polymers“ durch Diffusionskontrolle der Monomeren in Lösung ein dendritisches, dem Raumangebot entsprechendes isotropes Polymerenwachstum zu einem isotropen 3D-Netz. Die Polymerisation in Lösung ähnelt der Polymerisation in MLVs insofern, als daß in beiden Fällen ein Medium für die Diffusionskontrolle bereitsteht: das Lösungsmittel Decan oder die fluide Lipiddoppelschicht. Der Grund für die Bildung von kleinen Hohlkörpern im Falle der Vesikelpolymerisation kann in der Stabilität kleiner Vesikel liegen, die durch ihre Formgebung und das kleine Volumen nur eine laterale Diffusion und damit nur eine anisotrope zweidimensionale Polymerisation zur Hohlkugel erlauben. Größere multilamellare Vesikel könnten zwar entsprechend zur Bildung zwiebelschalenaartig konzentrisch gefüllter Kugeln führen, wahrscheinlicher ist jedoch, daß die einzelnen Lamellen dem Druck nicht standhalten, die Membran reißt und so die Diffusion von Monomerenbausteinen auch von außerhalb (und innerhalb) erfolgen kann und damit die Bildung kompakt gefüllter dreidimensionaler Polymersphären initiiert wird.

Experimentelles

Synthese des Lipofulleren-Monomerenbausteines **2**: 10,12-Octadecadiin-1-ol **4** wird in quantitativer Ausbeute durch LiAlH₄-Reduktion von käuflicher 10,12-Octadecadiinsäure **3** in Diethylether erhalten; die anschließende Acylierung mit Malonyldichlorid/Pyridin in CH₂Cl₂ führt zu Di-10,12-octadecadiinylmalonat **5** (63 % Ausbeute). Die folgende templatunterstützte Cyclopropanierung^[9–11] von C₆₀ (108 mg, 0.15 mmol) mit DMA (310 mg, 1.50 mmol), **4** (894 mg, 1.50 mmol), CBr₄ (497 mg, 1.50 mmol) und DBU (0.448 mL, 3 mmol) in 70 mL Toluol liefert nach Säulen- (SiO₂; Hexan/CH₂Cl₂, 1/1) und präparativer HPLC-Chromatographie (grom-Sil 100Si, NPI, 5 µL, 20 mL min⁻¹, CH₂Cl₂/Heptan, 7/3) 1,2:18,36:22,23:27,45:31,32:55,56-Hexakis[[di(10,12-octadecadiinylloxycarbonyl)]methano]-1,2,18,36,22,23,27,45,31,32,55,56-dodecahydro[60]fuleren **2** (166 mg, 26 % Ausbeute).

Die MLV-Proben für die Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie und die TEM-Untersuchungen wurden nach dem in Lit. [1] beschriebenen Ver-

fahren präpariert. Für die TEM-Messungen der Polymersphären nach der Entfernung der Lipide wurden Triafol-Lochfolien verwendet und direkt in den Elektronenstrahl gebracht. In den Löchern befanden sich die aus der organischen Lösung erhaltenen, getrockneten Polymersphären.

Die AFM-Aufnahmen wurden im Kontakt-Modus (Nanoscope IIIA, Digital Instruments, Mannheim) auf Glimmerplättchen in 1-Propanol bei 15 °C aufgenommen, nachdem das Lipid mit CHCl₃ entfernt worden war. Aufnahmeparameter: konstante Kraft (<1 nN), Siliciumnitrid-Cantilever (30 mNm⁻¹), 6.8 Zeilen pro Sekunde, 90° Scanwinkel.

Die ²H-NMR-Experimente wurden wie in Lit. [1] beschrieben durchgeführt. Zur Messung der transversalen Relaxationszeit *t*₂ wurde der Pulsabstand in der Quadrupolecho-Sequenz zwischen 30 und 120 µs variiert, und eine halblogarithmische Auftragung der Echointensität über den doppelten Pulsabstand ergab (*t*₂)⁻¹ als Steigung der Geraden.

Eingegangen am 26. Februar 1999 [Z13087]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1962–1965

Stichwörter: Elektronenmikroskopie • Fullerene • Lipofullerene • Polymerisationen • Vesikel

- [1] M. Hetzer, S. Bayerl, X. Camps, O. Vostrowsky, A. Hirsch, T. M. Bayerl, *Adv. Mater.* **1997**, 913–917.
- [2] M. Hetzer, S. Bayerl, T. M. Bayerl, X. Camps, O. Vostrowsky, A. Hirsch in *Molecular Nanostructures* (Hrsg.: H. Kuzmany, J. Fink, M. Mehring, S. Roth), World Scientific, **1997**, S. 528–532.
- [3] M. Hetzer, T. Gutberlet, M. F. Brown, X. Camps, O. Vostrowsky, H. Schönberger, A. Hirsch, T. M. Bayerl, *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 637–642.
- [4] a) G. Wegner, *Z. Naturforsch. B* **1969**, *24*, 824–832; b) G. Wegner, *Chimia* **1974**, *28*, 475–484; c) G. Wegner, *Angew. Chem.* **1974**, *93*, 352–371; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, *20*, 361.
- [5] K. Takeda, G. Wegner, *Makromol. Chem.* **1972**, *160*, 349–353.
- [6] *Modern Acetylene Chemistry* (Eds.: P. Stang, F. Diederich), VCH, Weinheim **1995**.
- [7] Im Gegensatz zu den klassischen topologisch kontrollierten Polymerisationen von Butadiinen^[4–6] liegt hier keine Präorganisation vor, die die Ausbildung eines langkettigen Polydiacetylen-Rückgrates zuläßt.
- [8] *Phospholipids Handbook* (Hrsg.: G. Cevel), Marcel Dekker, New York, **1993**.
- [9] I. Lamparth, C. Mössmer, A. Hirsch, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1755–1757; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *35*, 1607.
- [10] A. Hirsch, I. Lamparth, H. R. Karfunkel, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 453–455; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 437.
- [11] F. Djojo, A. Herzog, I. Lamparth, F. Hampel, A. Hirsch, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1537–1547.
- [12] M. S. El-Aasser, E. D. Sudol in *Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers* (Hrsg.: P. A. Lovell, M. S. El-Aasser), Wiley, Chichester, New York, **1997**, S. 37–55.