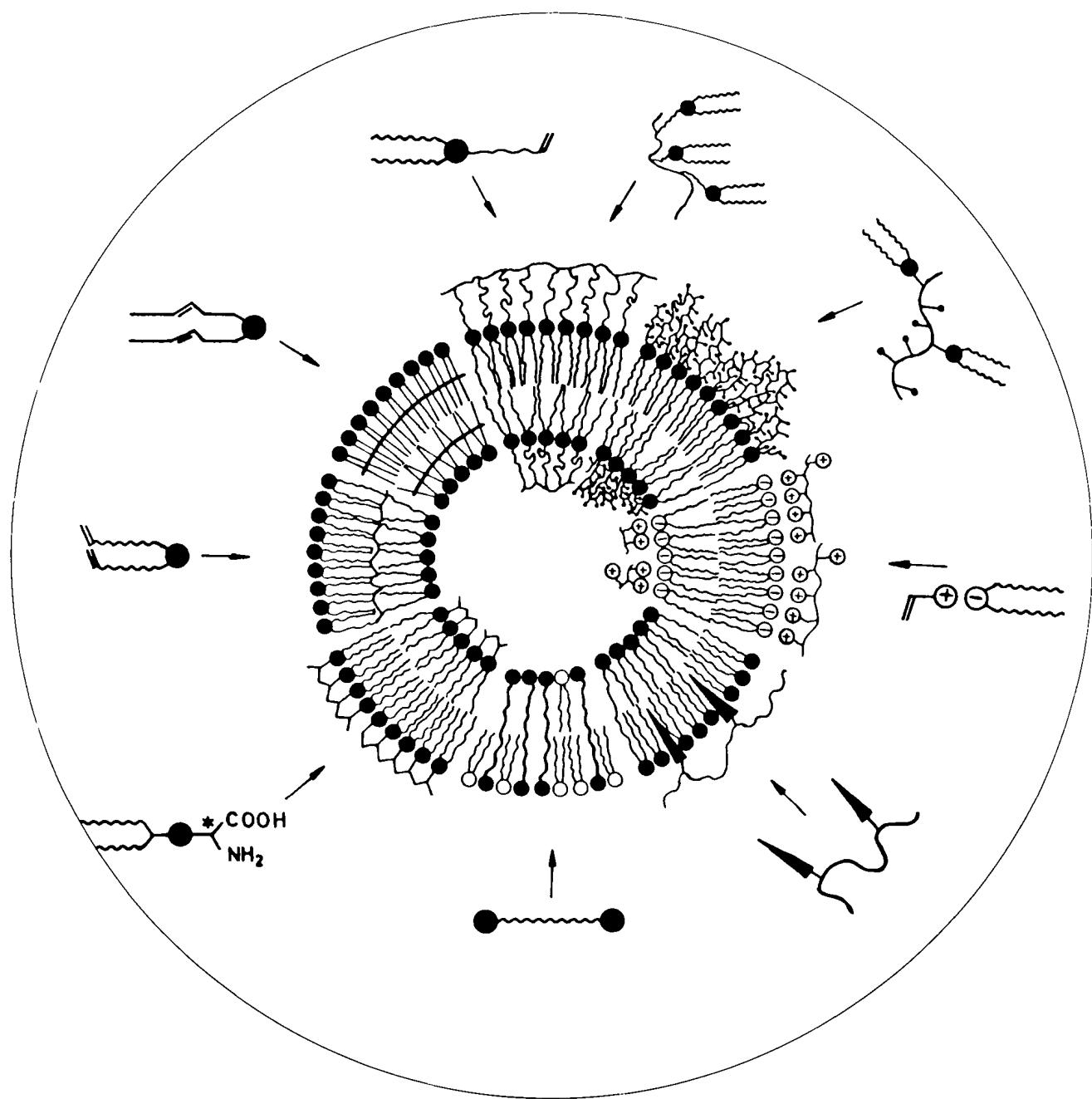


ANGEWANDTE CHEMIE

100. Jahrgang 1988

Heft 1

Seite 117-162



Helmut Ringsdorf, Bernhard Schlarb und Joachim Venzmer

Molekulare Architektur und Funktion von polymeren orientierten Systemen – Modelle für das Studium von Organisation, Oberflächenerkennung und Dynamik bei Biomembranen

Molekulare Architektur und Funktion von polymeren orientierten Systemen – Modelle für das Studium von Organisation, Oberflächenerkennung und Dynamik bei Biomembranen**

Von Helmut Ringsdorf*, Bernhard Schlarb und Joachim Venzmer

Der Teil und das Ganze. Nicht erst die moderne Naturwissenschaft hat die Selbstorganisation für den Aufbau von Funktionseinheiten entdeckt, schon in den alten Philosophien Asiens und Europas ist sie ein Grundgedanke: Erst die Gemeinsamkeit der Teile schafft das Ganze und seine Funktionsfähigkeit. Übersetzt in die Sprache der Chemie bedeutet dies: Die Selbstorganisation von Molekülen führt zu supramolekularen Systemen. Thermotrope und lytische Flüssigkristalle sind solche Funktionseinheiten, die sich durch Selbstorganisation bilden und als hochorientierte Systeme neue Eigenschaften aufweisen. Die Bedeutung lytischer Flüssigkristalle ist in den Biowissenschaften seit langem bekannt. Sie sind eine Voraussetzung für die Entstehung des Lebens und die Funktionsfähigkeit von Zellen. In den Materialwissenschaften hat das Konzept *Funktion durch Organisation* in den letzten Jahren bereits zur Entwicklung neuer flüssigkristalliner Materialien geführt. Aus der Sicht der Makromolekularen Chemie soll am Beispiel der molekularen Architektur von Polymer-systemen versucht werden, diese beiden Bereiche gemeinsam zu betrachten und besonders zu ihrer gemeinsamen Bearbeitung anzuregen. Polymere Flüssigkristalle vereinigen die Fähigkeit zur spontanen Selbstorganisation, die den flüssigkristallinen Zustand auszeichnet, mit polymerspezifischen Eigenschaften, die eine Stabilisierung von Ordnungszuständen zulassen. Als *neue Materialien* wurden auch diese bereits intensiv untersucht. Als Modellsysteme für Biomembranen und zur Simulation von Biomembranprozessen hingegen wurden sie bisher nur wenig diskutiert. Intention dieses Beitrags ist es, zu zeigen, daß die Makromolekulare Chemie helfen kann, Zellprozesse wie die Stabilisierung von Biomembranen, die spezifische Oberflächenerkennung oder gar die „Entkorkung“ von Zellen zu simulieren. Von jeher interdisziplinär arbeitend, kann sich die Polymerwissenschaft schon lange nicht mehr an den klassischen Massenkunststoffen festhalten. Der Aufbruch zu neuen Forschungsbereichen hat begonnen. Die Verbindung von Flüssigkristall- und Biomembranforschung scheint uns besonders wichtig. Eine der Grundvoraussetzungen, dieses Grenzgebiet zwischen Organischer Chemie und Membranbiologie oder, allgemeiner, zwischen Biowissenschaften und Materialwissenschaften zu bearbeiten, wird die Bereitschaft zu einer engen Kooperation mit Nachbardisziplinen sein, die sich bisher oft fremd gegenüberstanden. Dieser Beitrag ist weit davon entfernt, definitive Antworten zu geben; er soll aber Mut machen zum wissenschaftlichen Wagnis, denn oft halten wir aus Angst vor dem Abenteuer am mühsam erworbenen Wissen zu fest.

„Woran arbeiten Sie?“ wurde Herr K. gefragt.

Herr K. antwortete: „Ich habe viel Mühe,
ich bereite meinen nächsten Irrtum vor.“

Bertolt Brecht^[1]

1. Einleitung: „Makromolekulare Chemie heute – bejahrte Wurzeln, neue Zweige“^[2]?

1.1. Tradition und Innovation in der Wissenschaft

Tradition und Innovation sind zwei entscheidende Pole der Wissenschaft. Die Tradition als Basis: Sie ist das Wissen, die Ordnung und die Sicherheit des Gelernten und Erfahrenen. Ein Gebiet zu verstehen und es zu beherrschen,

das schafft Selbstvertrauen und sollte den Mut geben zur Innovation. Die Innovation als Abenteuer: Sie ist das Wagnis und die Gefahr, die in der Tradition erworbene eigene wissenschaftliche Identität in Frage zu stellen, sie gar zu verlieren.

Ein Verharren in der Tradition, in der Wissenschaftserfahrung führt bald zur erlahmenden Routine, zum zu simplen Denken, zur Wissenschaft von gestern; verloren geht der Wunsch nach einem Aufbruch zu neuen Abenteuern^[3]. Umgekehrt birgt nur Innovation, nur spielerische Freude am ständig Neuen die Gefahr in sich, oberflächlich zu werden und sich – zu oft – in falsche Richtungen zu verrennen.

Heute wird viel gewußt! Aber bei aller Bewunderung der Tradition und des Wissens, bei aller Achtung vor solider und auch erfolgreicher Arbeit, rechtfertigt sich die Wissenschaft doch nur aus dem Wagnis und damit aus der Bereitschaft, liebgewonnene Wissenschaftspfründe^[4] aufzugeben und zu neuen Horizonten aufzubrechen.

[*] Prof. Dr. H. Ringsdorf, Dipl.-Chem. B. Schlarb,
Dipl.-Chem. J. Venzmer
Institut für Organische Chemie der Universität
J.-J.-Becher-Weg 18/20, D-6500 Mainz 1

[**] Das Vorsatzblatt ist Abbildung 24 dieses Beitrags.

1.2. Ein Beispiel, das zum Thema überführt: Ordnung gegen Chaos

Vor einigen Jahren noch war es schwierig, die Entstehung des Lebens mit den Grundgesetzen der Physik in Einklang zu bringen. Nach der klassischen Wärmelehre sollte nämlich die Unordnung in der Welt immer zunehmen. Danach müßten eigentlich alle geregelten Funktionsabläufe einmal aufhören, alle Ordnungen zerfallen. Da die Welt im Urknall aus dem Chaos entstanden ist, gab es auch an ihrem Anfang keine Ordnung. Wo war da noch Platz für geordnete Strukturen, also für das Lebendige schlechthin^[5]?

Es war die stürmische Entwicklung auf dem Gebiet der Nichtgleichgewichtsphänomene, die aus der Sackgasse herausgeholfen hat. Unter dem Begriff der Selbstorganisation wurden in den letzten Jahrzehnten in verschiedenen Disziplinen Theorien entwickelt, die die Dynamik sowie die Höherentwicklung und Ausdifferenzierung von Systemen zum Gegenstand haben. Hierzu gehören besonders im Grenzgebiet zwischen Chemie und Biologie Konzepte für das Entstehen hochkomplizierter organischer Moleküle und ihre Rolle bei der Entwicklung biologischer Information in einer präbiotischen Welt^[6]. Auch die junge, gebietsübergreifende Lehre von der Synergetik^[6] mit ihren Forschungskonzepten zum geordneten, selbstorganisierenden, kollektiven Verhalten hat hier geholfen.

Die faszinierenden Erscheinungen der Selbstorganisation, die in physikalischen, chemischen und biologischen Systemen im oder fern vom thermodynamischen Gleichgewicht beobachtet werden, zeichnen sich durch ihre Vielfalt und Komplexität aus. Spontan organisieren sich zahlreiche Systeme, manche bis hin zu einem wohlgeordneten Verhalten im Makroskopischen. Der geordnete Zustand kann dabei von einer verhältnismäßig einfachen räumlichen oder zeitlichen Organisationsform bis zum komplizierten Wechselspiel zwischen Ordnung und Funktion in biologischen Systemen reichen. Das Phänomen der Selbstorganisation entwickelte sich in den letzten Jahren allmählich zu einem Feld interdisziplinärer Forschung mit gebietsübergreifenden Themen^[5,6].

1.3. Vom polymeren Flüssigkristall zum funktionellen Biomembranmodell?

Die Makromolekulare Chemie stand von Beginn an zwischen den klassischen Disziplinen Chemie und Physik und mußte Innovationen wagen. Niemand hat das besser gezeigt und erlebt als *Hermann Staudinger*. Es ist lehrreich zu sehen, wie er auf der Höhe seines kreativen Schaffens in der Organischen Chemie – das war seine Tradition – seine klassischen Arbeitsgebiete verließ, um sich in das Grenzgebiet zwischen Chemie und Physik zu begeben und das Abenteuer Makromolekulare Chemie zu wagen^[7]. In der Zwischenzeit ist die Makromolekulare Chemie selbst eine klassische Disziplin geworden, eine reife Wissenschaft, mit allen Vor- und Nachteilen des Alters. Es kann reichlich gerettet werden, die Ergebnisse sind vielfältig – aber man muß fragen: wo ist die Zukunft, wo ist das Abenteuer?

Aus dem Zusammenspiel von Metallurgie, Keramik und Kunststofftechnik haben sich die modernen Materialwissen-

schaften entwickelt, und bereits im Festheft der *Angewandten Chemie* zu H. Staudingers 100. Geburtstag hat „der alte Geheimrat“ *Hermann Mark* gefragt, wohin die Polymerwissenschaft jetzt will^[2]: „Ist sie auf dem Weg in das Gebiet der Life Science? Können Polymer Science, Zellbiologie und Medizin auf einen gemeinsamen Nenner gebracht werden?“ So gesehen stehen die Polymerwissenschaften als interdisziplinäre Wissenschaft heute nicht nur zwischen Chemie und Physik, sondern auch zwischen Materialwissenschaften (Materials Science) und Biowissenschaften (Life Science) (Abb. 1).

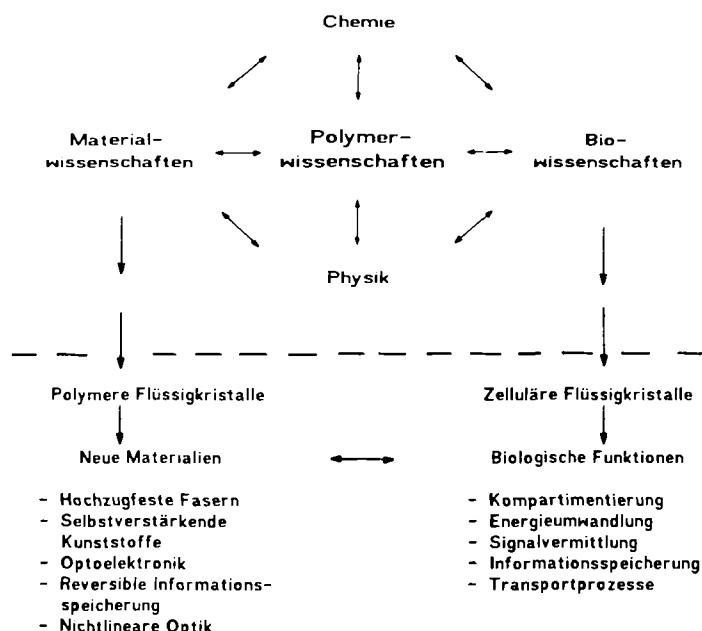


Abb. 1. Die Polymerforschung als interdisziplinäre Wissenschaft.

In diesem Beitrag soll am Beispiel der Selbstorganisation und der molekularen Architektur makromolekularer Systeme gezeigt werden, daß man die zu den Polymerwissenschaften beitragenden Disziplinen nicht mehr getrennt betrachten sollte. Es wird nicht um die biologischen Makromoleküle der Zelle, um Proteine, Polysaccharide und Nucleinsäuren gehen. Die Molekularbiologie kann heute aufgrund der bekannten Strukturen dieser natürlichen Polymere deren zentrale Bedeutung für die Lebensprozesse im wesentlichen verstehen. Ihre Funktion beruht in allen Fällen auf der Kombination von molekularer Beweglichkeit und hoher Ordnung, z.B. durch Einbau in Biomembranen, durch Selbstorganisation in Lösung oder durch Orientierung an zellulären Oberflächen. Dies sind Eigenschaftskombinationen, die typisch sind für das, was man flüssigkristallines Verhalten nennt. Daher werden Flüssigkristalle als ein prinzipielles Beispiel für selbstorganisierende Systeme gewählt; sie sind sowohl in den Material- als auch in den Biowissenschaften von Bedeutung (Abb. 1).

Nicht von ungefähr hat vor ca. 50 Jahren *J. D. Bernal* auf der Basis der damaligen Vorstellungen die lebende Zelle als natürlichen Flüssigkristall bezeichnet^[8]. Flüssigkristalle zeigen durchaus Verhaltensmuster, die man normalerweise mit der lebenden Zelle assoziiert: Sie reagieren auf eine Fülle von äußeren Anregungen wie Licht, Schall,

mechanischen Druck, Wärme, elektrische und magnetische Felder sowie auf Änderungen der chemischen Umgebung. Die Bedeutung von zellulären Flüssigkristallen ist also schon lange bekannt; niedermolekulare und polymere Flüssigkristalle gewinnen in Forschung und Anwendungstechnik immer mehr an Bedeutung. Gemeinsam betrachtet wurden sie aber selten^[9], obwohl die Grundprinzipien ihrer Selbstorganisation und ihres Verhaltens die gleichen sind.

Wie sehen nun für synthetische und einfache biologische Flüssigkristalle die molekularen Architekturen der Grundbausteine und der daraus durch Selbstorganisation entstehenden supramolekularen Systeme aus? Worauf beruhen ihre Funktionen, und wie hängen sie mit den molekularen Architekturen zusammen? Dies soll in Abschnitt 2 in einer Übersicht angedeutet sowie für einfache thermotrope und lyotrope Mesogene in Abschnitt 3 definiert und mit Beispielen belegt werden, um Interesse an diesem gebietsübergreifenden Thema zu wecken. In Abschnitt 4 wird dann gezeigt, daß man heute langsam lernt, was die Natur schon längst kann: ultradünne, geordnete Membranen zu stabilisieren und zu funktionalisieren. Die Abschnitte 5 und 6 sind dem Zusammenhang von Struktur, Funktion und Organisation in Biomembranmodellen gewidmet. Es ist faszinierend zu sehen, wie z. B. Chemie, Physik und Membranbiologie zusammenspielen müssen, um Oberflächenreaktionen (Abschnitt 5) und dynamische Prozesse von Biomembranen (Abschnitt 6) zu simulieren.

Endocytose und Exocytose, Patching und Capping - Fremdwörter für Chemiker? Korkenzieher für verkorkte Liposomen? - Eine lustige, gar eine unwissenschaftliche Frage? Die Begriffe stammen aus dem Grenzgebiet zwischen Flüssigkristall- und Zellforschung, einem Bereich, dessen Erforschung eigentlich erst beginnt. Die Bereitschaft zur engen Kooperation mit Nachbardisziplinen, die sich bisher oft fremd gegenüberstanden^[10], wird eine Grundvoraussetzung für die Bearbeitung dieses Grenzgebiets sein.

Dieser Beitrag soll weder eine perfekte Zusammenfassung sein, noch soll er Forschungsergebnisse detailliert darstellen. Er ist weit davon entfernt, definitive Antworten zu geben, soll aber Mut machen zum wissenschaftlichen Wagnis, denn oft halten wir aus Angst vor dem Abenteuer am eigenen Wissen zu fest^[11].

2. Selbstorganisation und Bildung supramolekularer Systeme

Ordnung und Beweglichkeit sind auch auf molekularer Ebene Grundprinzipien der Natur. Die beiden Extreme sind die perfekt geordneten Kristalle, in denen die Moleküle praktisch keine Beweglichkeit mehr aufweisen, und die Gase sowie Flüssigkeiten, in denen die Moleküle hohe Beweglichkeit und keine Fernordnung zeigen. In den flüssigkristallinen Phasen sind beide Prinzipien kombiniert. Die molekulare Basis der Selbstorganisation flüssigkristalliner Phasen ist vielfältig, doch fast ausnahmslos simpel: Formanisotrope oder amphiphile Moleküle sind die einfachsten Bausteine. Sie ermöglichen bereits - wie in Abbildung 2 angedeutet - die breite Stoffpalette von den thermotropen und lyotropen Flüssigkristallen über die Vielfalt

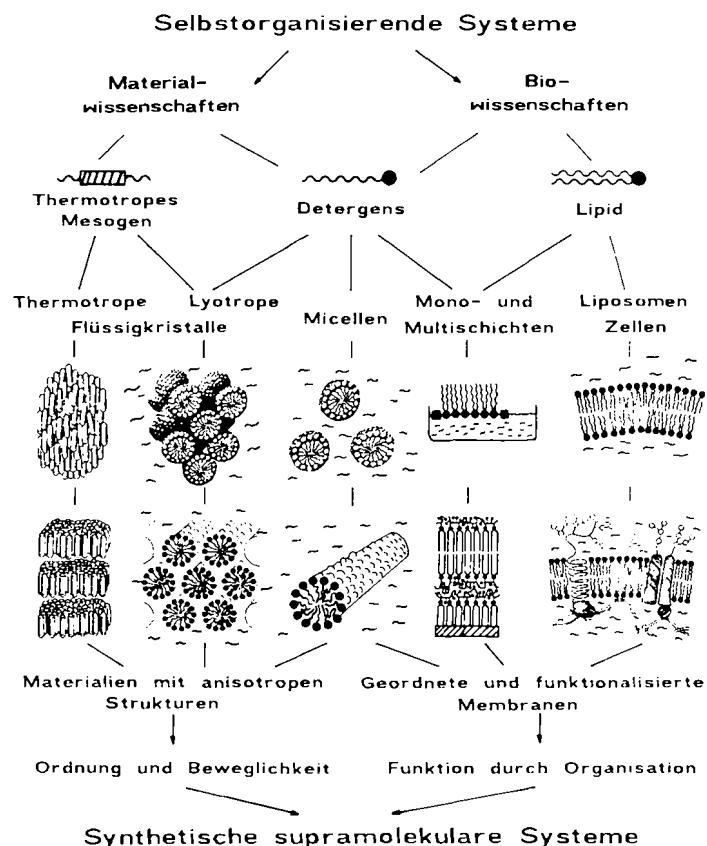


Abb. 2. Selbstorganisation von Mesogenen und Amphiphilen. Die Palette der supramolekularen Strukturen reicht von der einfachen nematischen Flüssigkristallphase bis zur komplexen Biomembran.

der micellaren Systeme bis zu den hochgeordneten Membranen in Liposomen und Zellen.

Die Bedeutung der Flüssigkristalle und micellaren Systeme in den Materialwissenschaften beruht auf eben dieser Kombination von Ordnung und Beweglichkeit und auf den damit zusammenhängenden anisotropen, d.h. richtungsabhängigen Eigenschaften der Materialien und Lösungen.

Von den Biowissenschaften weiß man, daß ohne die Selbstorganisation der Lipide zu Doppelschichten in den Zellmembranen das Leben nicht möglich wäre. Ordnung und Beweglichkeit sind die Basis für den Aufbau der Funktionseinheiten aus Lipiden und Proteinen. In allen Fällen wird die Funktion solcher durch Aggregation entstandener supramolekularer Systeme^[12] durch ihre Organisation bedingt.

Die Selbstorganisation und der Aufbau von supramolekularen Systemen ist ein interdisziplinäres Feld und ohne das Zusammenwirken verschiedener Gebiete unserer Wissenschaft nicht zu verstehen: die Chemie allein macht es nicht, aber genau so wenig die Physik oder die Biologie. In den letzten Jahren nahm die Zahl der Arbeiten zu, die Zusammenhänge zwischen synthetischen und zellulären Flüssigkristallen aufzeigen und aus dem Verstehen beider Systeme neue Perspektiven eröffnen. Die Makromolekulare Chemie kann hier eine wichtige Rolle spielen. Einerseits können Makromoleküle organisierte Systeme stabilisieren, ohne deren Beweglichkeit zu unterbinden. Andererseits ist das Spiel mit neuen Verbindungen, die durch ihre Strukturen zu Systemen mit neuen Eigenschaften führen, der Makromolekularen Chemie von jeher eigen.

3. Molekulare Architektur von synthetischen selbstorganisierenden Strukturen – oder wie lockt man Moleküle zum Aufbau supramolekularer Systeme?

3.1. Struktur und Eigenschaften von thermotropen polymeren Flüssigkristallen

Zahlreiche organische Verbindungen mit einer starren, stabförmigen Molekülstruktur (Mesogene) gehen beim Schmelzen nicht direkt aus dem kristallinen in den isotropen Zustand über, sondern bilden zunächst flüssigkristalline Phasen (Abb. 3)^[13]. Diese auch als Mesophasen be-

det zwischen einer nematischen discotischen Phase und mehreren columnaren discotischen Phasen^[19], bei denen die Molekülscheiben Stapel bilden, die wiederum in einem zweidimensionalen Gitter angeordnet sind (vgl. Abb. 5). In der Zwischenzeit sind weitere Phasentypen gefunden worden: tubulare^[20], pyramidale^[21], phasmidische^[22] und sani-dische^[23] Phasen. Vorläufig bleibt unklar, ob es sich nur um lustige neue Formulierungen oder wirklich um neue Phasen handelt.

Die Entwicklung der flüssigkristallinen Polymere^[24] nahm ihren Anfang mit Polymeren, deren steife Hauptkette als ganzes die mesogene Einheit ist. Solche Polymere bilden entweder in Lösung^[25] oder in der Schmelze^[26] flüssigkristalline Phasen und finden mittlerweile Anwendung als hochzugfeste Fasern (z. B. Kevlar[®]) bzw. als selbst-verstärkende, thermoplastisch verarbeitbare Kunststoffe (z. B. Xydar[®], Vectra[®] und Ultrax[®]).

Parallel zu diesen industriellen Entwicklungen beschäftigte man sich in den letzten zehn Jahren im Bereich der akademischen Forschung mit dem Einbau der von den niedermolekularen Flüssigkristallen bekannten stabförmigen mesogenen Gruppen in Polymere. Dieser Einbau erfolgt entweder durch die Verknüpfung der mesogenen Gruppen über flexible Spacer^[27] (semiflexible flüssigkristalline(LC-)Hauptkettenpolymere (Typ B, Abb. 4)^[28]) oder durch die Fixierung der Mesogene über einen flexiblen Spacer an ein Polymerrückgrat (LC-Seitengruppenpolymere (Typ A, Abb. 4)^[29]). Beide Typen von flüssigkristallinen Polymeren wurden und werden intensiv untersucht. Ihre Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind in zahlreichen Monographien^[30] und Übersichtsartikeln^[31] zusammengefaßt.

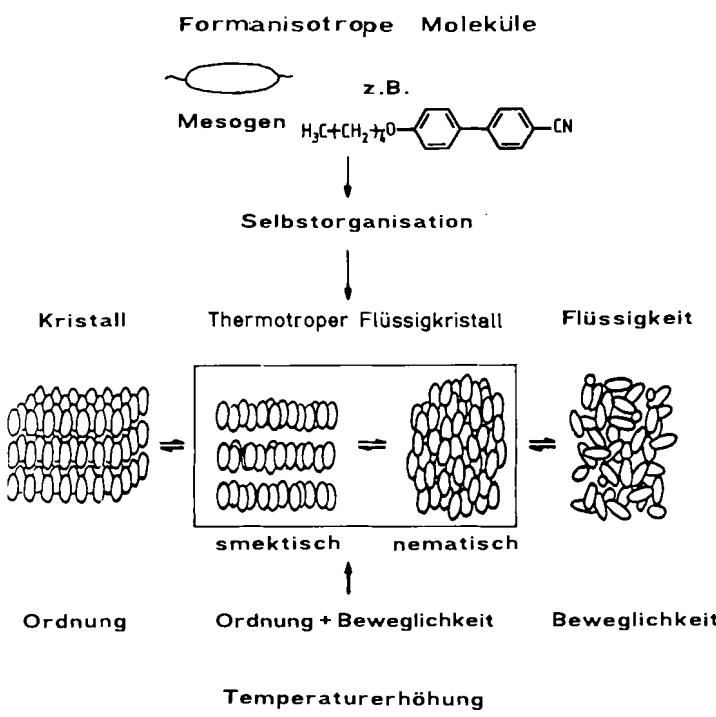


Abb. 3. Mesogene und ihre thermotropen Mesophasen.

zeichneten Zustände kombinieren die Ordnung des Kristalls mit der Mobilität der isotropen Flüssigkeit. Gemeinsam ist allen Mesophasen die parallele Anordnung der Moleküllängssachsen (Orientierungsfestordnung). Man unterscheidet nematische (Molekülschwerpunkte isotrop verteilt) und smektische Phasen (Molekülschwerpunkte in Schichten angeordnet). Die smektischen Phasen werden weiter untergliedert^[14] in Phasen mit und ohne Neigung (Tilt) der Mesogene zur Richtung der smektischen Schichtnormale, wobei die Moleküle in den Schichten ungeordnet oder in verschiedenen Ordnungszuständen vorliegen können. Die Triebkräfte für die Bildung von Mesophasen sind zum einen die auf der Formanisotropie der Mesogene beruhenden anisotropen Dispersionswechselwirkungen^[15] und zum anderen die ebenfalls orientierungsabhängigen sterischen Abstoßungskräfte^[16].

Nachdem die Mesophasen stabförmiger Verbindungen fast 100 Jahre bekannt waren^[17], wurde 1977 mit dem Auffinden der discotischen Flüssigkristallphasen scheibenförmiger Moleküle durch Chandrasekhar et al.^[18] das Spiel der molekularen Architektur neu eröffnet. Man unterschei-

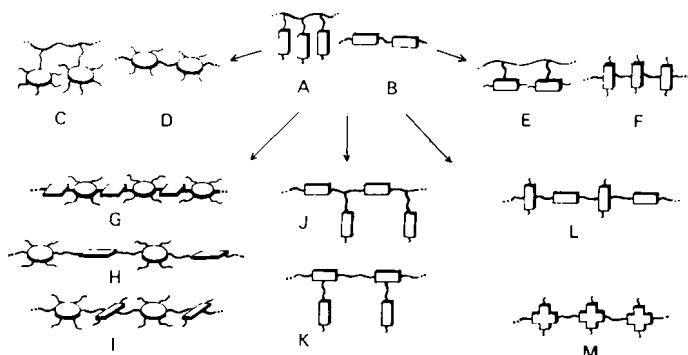


Abb. 4. Variationen der molekularen Architektur von flüssigkristallinen Polymeren: A) Seitengruppenpolymere; B) Hauptkettenpolymere; C) discotische Seitengruppenpolymere [32]; D) discotische Hauptkettenpolymere [33]; E) Seitengruppenpolymere mit lateral fixierten Mesogenen [34, 35]; F) Hauptkettenpolymere mit lateral verknüpften Mesogenen [35]; G, H, I) Disc-rod-Polymeren, d.h. Kombinationen von scheiben- und stabförmigen Mesogenen [23, 36, 37]; J, K) kombinierte Hauptketten-/Seitengruppenpolymere [38]; L) Polymere mit lateral und terminal verknüpften mesogenen Gruppen; M) Polymere mit kreuzförmigen mesogenen Gruppen [35].

Ausgehend von diesen beiden „klassischen“ Typen A und B wurden in jüngster Zeit Variationen der makromolekularen Architektur von flüssigkristallinen Polymeren durchgeführt, die in Abbildung 4 schematisch dargestellt sind. Zum einen ist es möglich, die von den niedermolekularen Flüssigkristallen bekannten discotischen Phasen auch mit Seitengruppen^[32] (Typ C) und Hauptkettenpolymeren^[33] (Typ D) zu verwirklichen. Zum anderen können stabförmige Mesogene natürlich auch anders als in den

klassischen Typen A und B eingebaut werden: In den Seitengruppenpolymeren mit lateral fixierten mesogenen Gruppen^[34, 35] (Typ E) und in den Hauptkettenpolymeren mit lateral verknüpften Mesogenen^[35] (Typ F) verhindern diese zunächst ungewöhnlich anmutenden Architekturen nicht das Auftreten von flüssigkristallinen Phasen. Bei den Polymeren des Typs E führt die eingeschränkte Rotation der mesogenen Gruppen um ihre Längsachse zu biaxial nematischen Phasen^[34a-c], die bisher bei niedermolekularen Flüssigkristallen nicht beobachtet werden konnten. Ebenfalls polymerspezifisch ist die dritte Gruppe von Strukturvariationen, ein bisher erst wenig erschlossenes Feld für neuartige flüssigkristalline Materialien: Die Kombination mehrerer Strukturelemente oder Bauprinzipien in einem Makromolekül. Hierzu zählen die verschiedenen Kombinationen von scheiben- und stabsförmigen Mesogenen^[23, 36, 37] (Typ G, H und I) und die Vereinigung der Bauprinzipien der klassischen flüssigkristallinen Polymere A und B in den kombinierten Hauptketten-/Seitengruppenpolymeren^[38] (Typ J und K). Weiterhin zu nennen sind die Polymere mit kreuzförmigen mesogenen Gruppen^[35] (Typ M) und die bislang noch nicht verwirklichte Kombination von lateral und terminal verknüpften mesogenen Gruppen (Typ L).

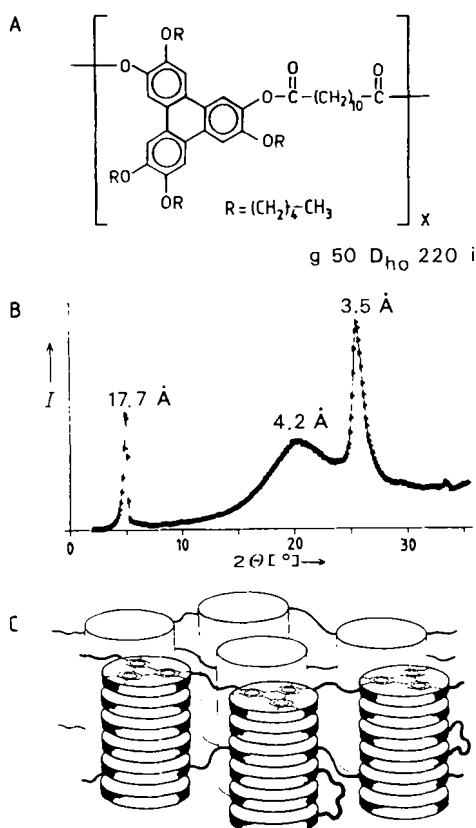


Abb. 5. A) Chemische Struktur und Phasenverhalten eines discotischen Hauptkettenpolymers auf Triphenylenbasis [33a] (g=glasig; D_{ho}=Discotic hexagonal ordered; i=isotrop). B) Röntgen-Goniometeraufnahme ($\lambda=1.54 \text{ \AA}$) des Polymeren ($I=\text{Streuintensität}$, $\theta=\text{Streuwinkel}$) [33b]. Zu den Streumaxima sind die Bragg-Abstände angegeben; sie lassen sich in Analogie zu den bei niedermolekularen Triphenylenderivaten gefundenen Werten [19b] folgendermaßen interpretieren: 17.7 \AA entspricht dem Netzebenenabstand der hexagonal gepackten Kolumnen; 4.2 \AA entspricht dem Flüssigkeitshalo der geschmolzenen Alkylketten; 3.5 \AA entspricht dem konstanten Abstand der Triphenylenmoleküle in den Kolumnen. C) Strukturmodell für die D_{ho}-Phase discotischer Hauptkettenpolymere, das sich aus Röntgen-Flachkammeraufnahmen an mechanisch orientierten Proben der discotischen Polymere ergibt [33b]. Die Kolumnen stehen dabei senkrecht zur Verstreckrichtung.

Hier sollen lediglich zwei Beispiele die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen solcher neuartiger flüssigkristalliner Polymere verdeutlichen. Abbildung 5 zeigt ein discotisches Hauptkettenpolymer^[33a,b] vom Typ D, das eine mechanisch orientierbare und im Glaszustand einfrierbare columnare Phase aufweist. Bemerkenswert ist hierbei, daß es sich um eine hochgeordnete D_{ho}-Phase handelt, die Polymerkette also die Packung nicht stört.

In Abbildung 6 werden flüssigkristalline kombinierte Hauptketten-/Seitengruppenpolymere vom Typ J und K verglichen. Je nach dem Anknüpfungspunkt der mesogenen Seitengruppen werden bevorzugt smektiische bzw. nematische Mesophasen beobachtet.

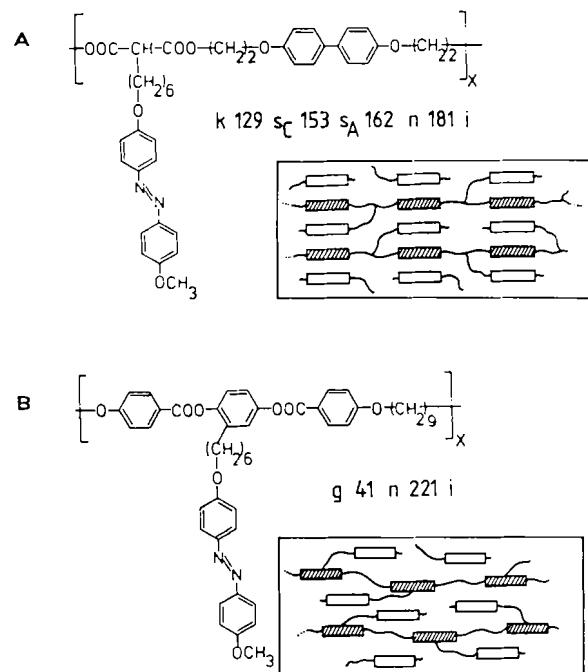


Abb. 6. Chemische Struktur, Phasenverhalten und Strukturmodelle der Mesophasen von flüssigkristallinen kombinierten Hauptketten-/Seitengruppenpolymeren. A) Die Anknüpfung der mesogenen Gruppen an die flexiblen Spacereinheiten der Polymalonathauptkette [38a] führt zum bevorzugten Auftreten von smektischen Mesophasen (s). B) Die Anknüpfung der mesogenen Seitengruppen direkt an die Hauptkettenmesogene [38b] führt zu breiten nematischen Phasen (n).

3.2. Strukturvariationen in micellaren und lyotrop-flüssigkristallinen Systemen

Im Gegensatz zu thermotrop-flüssigkristallinen Systemen bestehen lyotrop-flüssigkristalline Systeme immer aus mindestens zwei Komponenten. Eine davon ist ein Lösungsmittel, das Ordnung und Beweglichkeit wesentlich bestimmt. Der lyotrop-flüssigkristalline Zustand wird nicht primär über eine Änderung der Temperatur, sondern über eine Änderung des Lösungsmittelgehalts erreicht (Abb. 7)^[39].

Einzelmoleküle, die zunächst isotrop verteilt in der Lösung vorliegen, bilden mit abnehmendem Lösungsmittelgehalt Aggregate, die sich bei weiterer Konzentrierung zu nematischen oder den höher geordneten lamellaren (vergleichbar mit den thermotropen smektischen Phasen), columnaren und kubischen Mesophasen ordnen. Während sich nematische Phasen nur durch die Orientierungsfern-

Amphiphile Moleküle

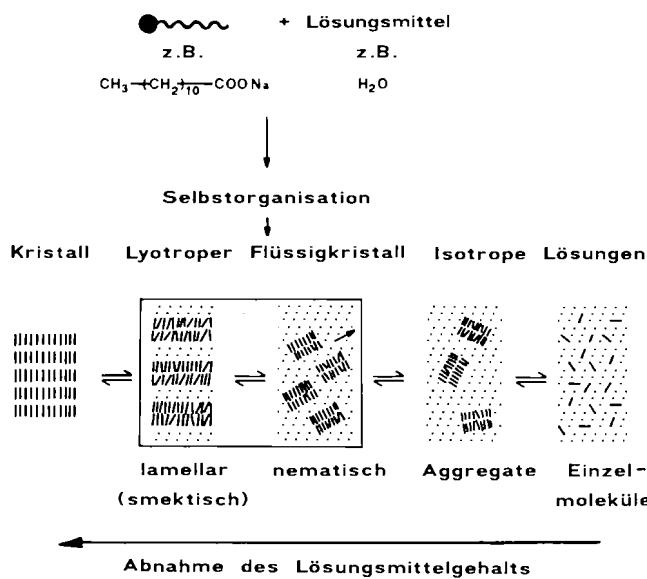


Abb. 7. Amphiphile und ihre lyotropen Mesphasen.

ordnung der Aggregate von isotropen Lösungen unterscheiden, zeichnen sich lamellare und columnare Phasen zusätzlich durch eine ein- bzw. zweidimensionale Positionsfernordnung der Aggregatschwerpunkte aus; kubische Phasen weisen eine dreidimensionale Positionsfernordnung auf. Die weitere Abnahme des Lösungsmittelanteils führt schließlich – oft über lösungsmittelfreie Kristalle – zum lösungsmittelfreien Kristall.

Lyotrope Mesogene sind als Amphiphile aus löslichen (solvatophilen) und unlöslichen (solvatophoben) Molekülteilen aufgebaut. Alkalimetallseifen oder Alkylammoniumsalze mit langketigen Alkylgruppen sind typische Beispiele für diesen Strukturtyp. Sie aggregieren in wässriger Lösung oberhalb der kritischen Micellbildungskonzentration (CMC) zu Micellen, die kugel-, zylinder- oder plattenförmig sind (Abb. 8). Intermicellare Wechselwirkungen führen bei Kugelmicellen zu kubischen Mesphasen und bei Zylindermicellen zu nematischen N_c - sowie columnaren Mesphasen. Plattenmicellen können in einen weiteren Typ von nematischen Phasen (N_L) sowie in lamellare Mesphasen übergehen^[40]. Die Typen lyotroper Mesphasen werden demnach nicht unmittelbar wie die thermotroper Phasen durch die Struktur des Einzelmoleküls (Mesogens) bestimmt, sondern durch die Struktur der Micelle^[41] oder des Aggregats. Die Form der Micelle hängt von Faktoren wie der Temperatur und der Konzentration sowie der Struktur des Amphiphils ab. Das hydrophil/hydrophoben Verhältnis von Kopfgruppe zu Kette des Amphiphils sowie dessen Geometrie spielen hierbei eine große Rolle^[42]. Von den meisten Amphiphilen existieren mehrere Micellformen und somit oft mehrere Mesphasentypen.

Diese Komplexität des Aggregationsverhaltens regte wesentlich dazu an, die Strukturen amphiphiler Verbindungen zu variieren. Daher wird bei der Synthese supramolekularer Systeme neuerdings intensiv versucht, über die molekulare Architektur amphiphiler niedermolekularer und polymerer Verbindungen Form, Größe und Stabilität der Aggregate zu beeinflussen. Zwei Wege sind bisher verfolgt worden (Abb. 9).

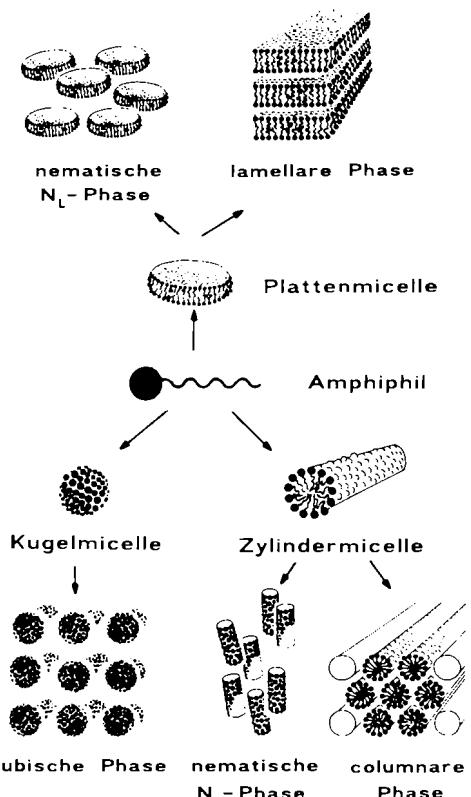


Abb. 8. Aggregation von Amphiphilen zu Micellen und Bildung lyotroper Überstrukturen aus diesen Micellen.

Klassisches Amphiphil

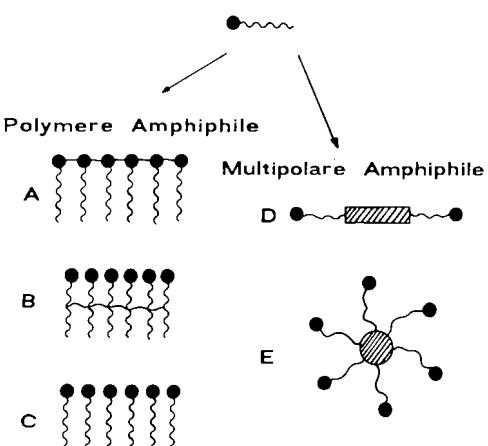


Abb. 9. Molekulare Architektur von polymeren (A, B, C) und multipolaren (D, E) Amphiphilen.

Der erste Weg geht von polymeren Amphiphilen aus. Obwohl solche bereits lange bekannt sind, wurde die Variation ihrer Struktur im Hinblick auf die gezielte Aggregations- und Mesphasenbildung bisher kaum untersucht. Wie in Abbildung 9 angedeutet, können Amphiphile die polymerisierbare Einheit in der Kopfgruppe, in der hydrophoben Kette oder am Ende der hydrophoben Kette enthalten. Ihre Polymerisation führt zu Polymeren des Typs A, B bzw. C, in denen der Bewegungsspielraum des nun polymerisierten Amphiphils im Vergleich zu dem des Monomers äußerst unterschiedlich beeinflusst ist. Dies lässt ein unterschiedliches Aggregations- und Mesphasenverhalten erwarten. Von den bisher wenigen Beispielen^[43] wurden

den die Erwartungen bezüglich des Mesophasentyps nur teilweise erfüllt. Dagegen ließen sich Konzentrations- und Temperaturbereich der Mesophasen durch die Polymerisation ausdehnen, wie in Abbildung 10 für ein amphiphiles Polymer vom Typ C gezeigt wird^[43a]. Monomer **1** und das entsprechende Polymer bilden in Wasser nur lamellare Phasen. Das Monomer ist über einen maximalen Konzentrationsbereich von 65 bis 88 Gew.-% lyotrop-flüssigkristallin, das Polymer hingegen über einen Bereich von 37 bis 100 Gew.-%. Die maximale Klärtemperatur der lyotropen Mesophase des Monomers ist 87°C, die der lyotropen Mesophase des Polymers dagegen 185°C.

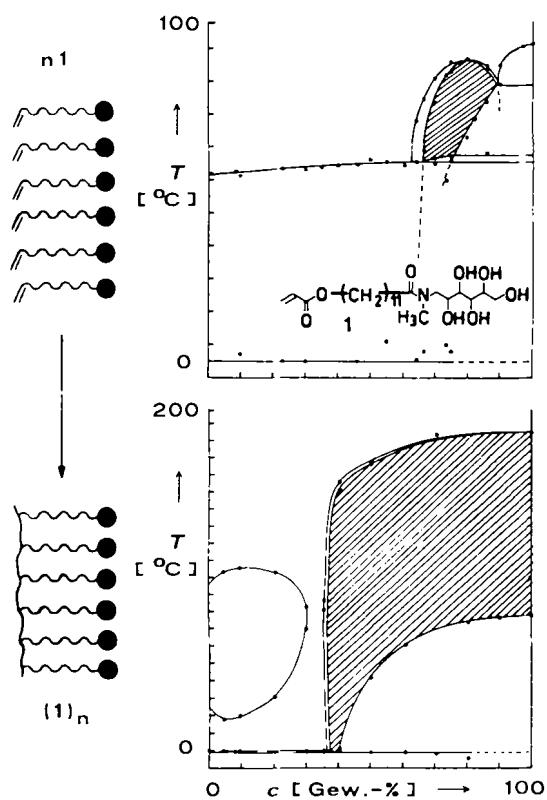


Abb. 10. Erweiterung des Konzentrations- und Temperaturbereichs der lyotropen Mesophase (schraffiert) von **1** durch Polymerisation [43a].

Der zweite Weg, der gezielt zu bestimmten Mesphasentypen führen soll, geht von Amphiphilen mit neuartiger Struktur aus. In diesen sind die Bauprinzipien thermotroper und lyotroper Mesogene vereint (vgl. Abschnitt 3.3): die formanisotropen, meist aromatischen Molekülteile (stab-, scheibenförmig) der thermotropen Flüssigkristalle mit dem amphiphilen Charakter der lyotropen Flüssigkristalle (Abb. 9, Typ D und E). Einige dieser multipolaren Amphiphile zeigen Abbildung 11. Ersetzt man z. B. die Alkylketten stabförmiger thermotroper Flüssigkristalle durch hydrophile Ketten^[43i, k, 44], so erhält man stabförmige bipolare Amphiphile (z. B. **2**, **3**). Verbindung **2** bildet in Wasser nur Plattenaggregate, die sich im Konzentrationsbereich von 53–84 Gew.-% bei Temperaturen von 8.7°C bis 33.5°C zu einer lamellaren (smektischen) Phase ordnen^[43i].

Durch Einführung hydrophiler Ketten in discotische Triphenylen- oder Benzolderivate erhält man scheibenförmige multipolare Amphiphile (z. B. **4**–**7**). Eine einfache

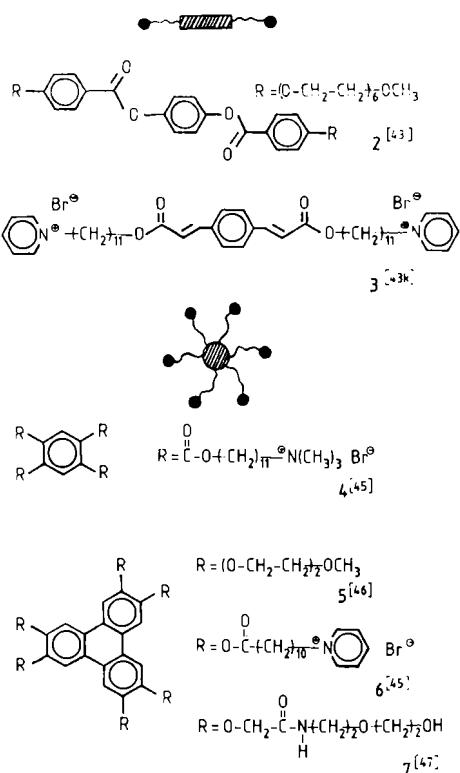
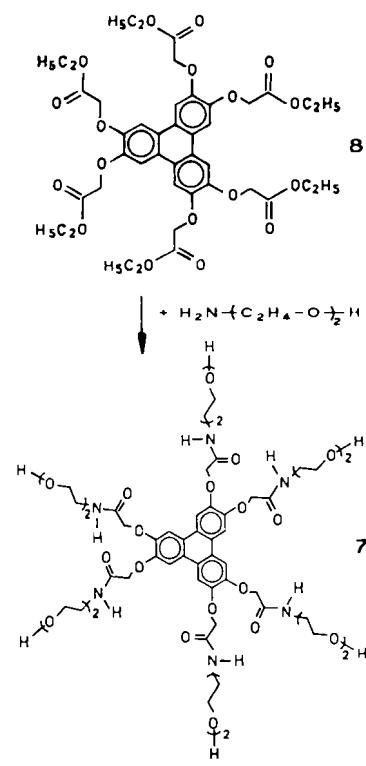


Abb. 11. Strukturbeispiele für multipolare Amphiphile (Typ D und E aus Abb. 9).

Thermotrope discotische Phase ($k = 122 \text{ D}_{\text{ho}} = 172 \text{ i}$)



Lyotrope columnare Phase (in Wasser)

Abb. 12. Umwandlung eines thermotropen discotischen Mesogens in ein multipolares Amphiphil [47] ($k = \text{kristallin}$). Kolumnenabstände in der thermotropen Phase (vgl. Abb. 5C) bei 140°C: 19.2 Å; in der wässrigen lyotropen Phase (vgl. Abb. 8) bei 20°C, 60 Gew.-%: 28 Å.

Reaktion, die den Übergang von einer Verbindung mit thermotrop-discotischer zu einer mit lyotrop-discotischer Mesophase ermöglicht, ist die Amidierung des Triphenylenhexayl-hexaesters **8** mit Aminoalkoholen zu Hexamiden^[47] wie **7** (Abb. 12). Die strukturelle Ähnlichkeit der thermotropen und der lyotropen Mesogene führt in beiden Fällen zu columnaren Mesophasen; dabei bilden sich die lyotropen Mesophasen aus den in isotroper Lösung vorhandenen zylinderförmigen Aggregaten, die sich zwangsläufig aus dem discoiden Amphiphil **7** bilden.

3.3. Amphotrope Systeme – Verbindungen, die vieles können

Während in lyotropen Mesophasen die Kombination von Ordnung und Beweglichkeit durch das Lösungsmittel erreicht wird, beruht die Bildung thermotroper Mesophasen auf der temperaturinduzierten Beweglichkeit von formanisotropen Molekülen in der Schmelze.

Amphotrope Moleküle (ampho=beide, auf zwei Wege; trepein=richten, wenden) sind nun Verbindungen, die sich aufgrund ihrer Struktur nach mindestens zwei Prinzipien ordnen lassen. Abbildung 13 erläutert dies an einem Beispiel aus dem Bereich flüssigkristalliner Verbindungen. Es gibt bereits zahlreiche Beispiele für amphotropes Verhalten^[39b, 43a, 48], ohne daß der Begriff amphotrope Flüssigkristalle bisher verwendet worden wäre. So konnte z. B. für mehrere Phospholipide^[48a], für alkylierte Mono-

saccharide^[48b,c] und für amphiphile Metallsalze^[39b, 48d] nachgewiesen werden, daß sie sowohl lyotrope als auch thermotrope Phasen bilden. Diese Moleküle sind von ihrem molekularen Aufbau her normale Amphiphile, zeigen aber bereits amphoter Verhalten.

Durch den Einbau von stab- oder scheibenförmigen, d.h. für thermotrope Flüssigkristalle typischen Bausteinen in Amphiphile, läßt sich die Palette amphotroper Verbindungen stark erweitern. So untersuchten *Kunitake* et al. eine große Anzahl amphiphiler Substanzen, deren hydrophobe Ketten stabsförmige Mesogene wie Biphenyl-, Azobenzol- oder Diphenylazomethineinheiten enthielten^[48e]. Neben verschiedenen Ordnungsstrukturen im wäßrigen Medium wurde für einige dieser Verbindungen thermotrop-flüssigkristallines Verhalten gefunden. Auch einige Polymere zeigen amphotrope Eigenschaften^[43a, 48f,g,h]; z.B. lassen sich modifizierte Hydroxycellulosederivate^[48f,g] und einige Polyisocyanate^[48h] sowohl lyotrop als auch thermotrop orientieren.

Aussichtsreiche Perspektiven für amphotrope Moleküle ergeben sich im Bereich der Langmuir-Blodgett(LB)-Multischichten^[49, 50], für die bereits eine Vielzahl von technischen Anwendungsmöglichkeiten diskutiert wird. Als Beispiele seien hier nur die Verwendung von Multischichten zur Herstellung von Elektronenstrahl^[51] und Photorests^[52], ihre Anwendung in der nichtlinearen Optik^[53] und der reversiblen Informationsspeicherung^[54] sowie ihre Eignung zum Bau von Bio- und Immunosensoren^[55-82] erwähnt.

LB-Multischichten weisen – bedingt durch den schrittweisen Übertragungsmechanismus – eine perfekte Schichtstruktur in vertikaler Richtung auf. Allerdings bilden die Amphiphile innerhalb jeder Schicht ein zweidimensionales Kristallgitter mit ausgeprägter Domänenstruktur (Abb. 14).

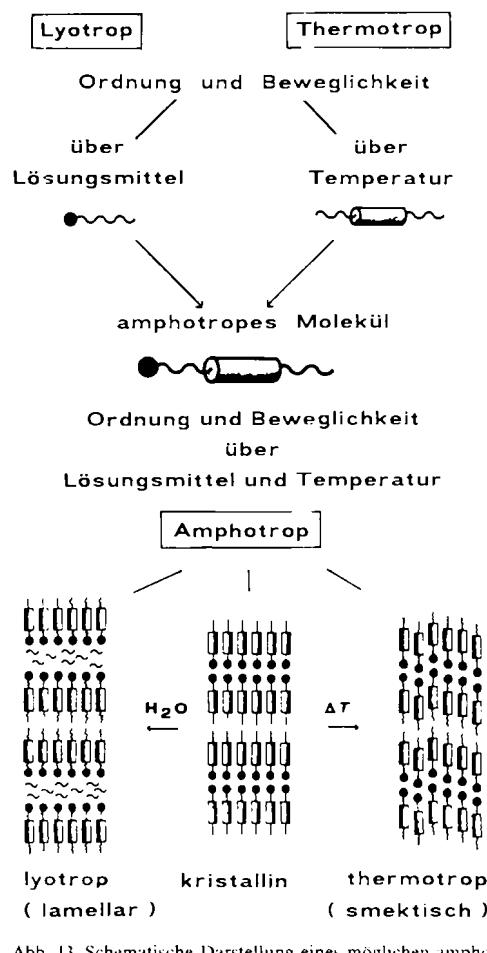


Abb. 13. Schematische Darstellung eines möglichen amphotropen Systems.

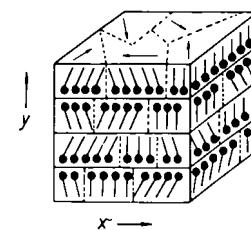


Abb. 14. Struktur von LB-Multischichten: Perfekte Schichtanordnung in vertikaler Richtung *y*: unregelmäßige Domänenstruktur in horizontaler Richtung *x*.

Die kristalline Packung der Moleküle in den Schichten und die damit verbundene starke Einschränkung der molekularen Beweglichkeit ließ bisher keine gezielte nachträgliche Manipulation der molekularen Ordnung zu. So war es insbesondere nicht möglich, homogene, domänenfreie, d.h. gleichmäßig ausgerichtete Lipidschichten zu erzeugen. Zwar gelingt es innerhalb gewisser Temperaturbereiche, durch Erwärmen der Multischichten eine geringe Beweglichkeit der Moleküle und damit eine minimale Umorientierung zu induzieren. Das Aufschmelzen der Schichten jedoch führt normalerweise zum irreversiblen Zusammenbruch der Ordnung^[56]. Die Verwendung von amphotropen Molekülen, die einerseits amphiphil, d.h. zum Aufbau von LB-Multischichten befähigt, andererseits durch den Einbau von mesogenen Bauelementen auch thermotrop-flüssigkristallin sind (vgl. Abb. 13), könnte ein Weg sein, die für die nachträgliche Manipulation notwendige Beweglichkeit in Multischichten einzuführen. Die Orienta-

tierung der Moleküle innerhalb der Schichten könnte dann z. B. mit elektrischen oder magnetischen Feldern durchgeführt werden (Abb. 15).

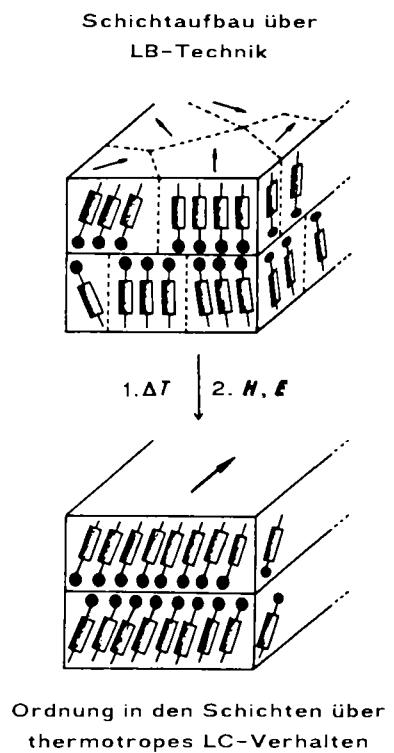
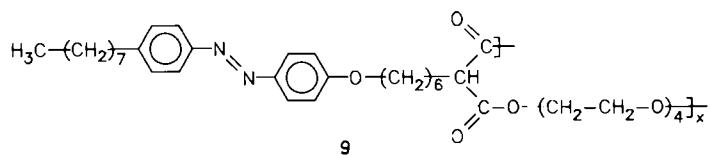


Abb. 15. LB-Multischichten aus amphoterpen Molekülen: Schichtaufbau und nachträgliche Orientierung innerhalb der Schichten durch elektrische (E) und magnetische Felder (H).

Mesogene Gruppen enthaltende polymere Amphiphile wurden bereits in Multischichten untersucht^[57]. Hier soll an einem Beispiel demonstriert werden, daß amphoterpe Moleküle tatsächlich in der Lage sind, thermische Beweglichkeit in Multischichten zu induzieren. Der polymere Malonester **9** enthält als mesogene Gruppen Azobenzoleinheiten und als hydrophiles Bauelement eine Ethylenglycolhauptkette^[58]. **9** ist in Substanz flüssigkristallin ($g - 27\text{ s}$



55 i) und bildet an der Gas/Wasser-Grenzfläche festanaloge Monoschichten, die sich nach der LB-Technik in Multischichten überführen lassen. Die Schichtanordnung läßt sich durch Röntgen-Kleinwinkelstreuung bei Raumtemperatur nachweisen (Abb. 16).

Schon bei einer leichten Temperaturerhöhung auf etwa 50°C verschwindet der Streureflex im Röntgenbeugungsdiagramm. Die Multischicht „schmilzt auf“, die hochgeordnete Struktur geht verloren. Entscheidend ist jedoch, daß die Fähigkeit zur Reorientierung erhalten bleibt: Beim Abkühlen auf 20°C tritt der Streureflex erneut mit seiner ursprünglichen Intensität auf. Selbst nach einem Erwärmen auf 150°C wird bei Raumtemperatur die Multi-

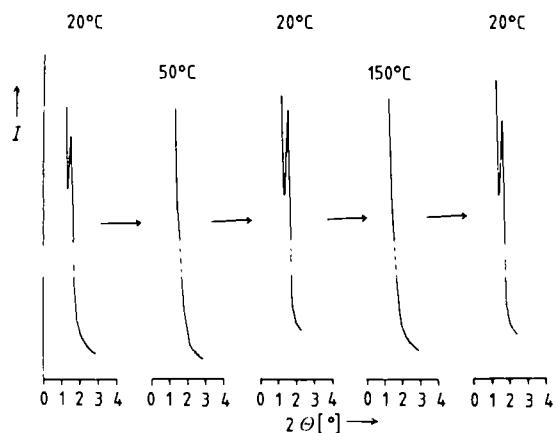
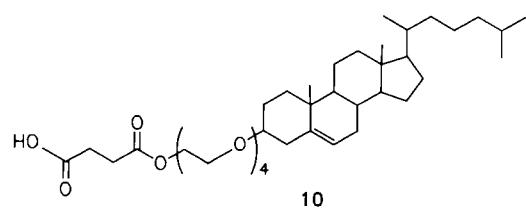


Abb. 16. Temperaturabhängige Röntgen-Kleinwinkelstreuung an 30 Schichten des Polymers **9** auf einem Polyethylenterephthalatträger: Wiederauftreten der Schichtstruktur bei 20°C nach dem Erwärmen über 50°C.

schichtstruktur zurückgebildet. Die Einführung der mesogenen Bausteine in das amphiphile System und die Polymerfixierung scheinen also ein direktes, isotropes Schmelzen zu verhindern. Die Schichtkorrelation geht zwar verloren, aber die parallele Ausrichtung der polymerfixierten mesogenen Amphiphile bleibt erhalten (vgl. Abb. 13).

Das Feld der molekularen Variationen bei thermotrop- und lyotrop-flüssigkristallinen Verbindungen ist weit. Die Suche nach Verbindungen, die zur Selbstorganisation unter Bildung spezieller supramolekularer Strukturen befähigt sind, wird in der nächsten Zeit sicherlich zu zahlreichen neuen Substanzgruppen führen. Erste Beispiele wurden bereits publiziert^[48d, 59].

Eine Verbindung, die in vielfältiger Weise zur Selbstorganisation befähigt – und damit amphoterp – ist, ist das Cholesterinderivat **10**, dessen Orientierungsmöglichkeiten in Abbildung 17 beschrieben sind^[60]. **10** bildet aufgrund



seiner Formanisotropie zwischen -28°C und 113°C eine thermotrope Mesophase vom Typ „Bilayer smektisch S_A“ ($g - 28\text{ s}_A$ 113 i). Beim langsamen Abkühlen erstarrt die Substanz bei -28°C als anisotropes Glas, das auch nach langem Tempern nicht kristallisiert. Da **10** auch amphiphil ist, kann es außerdem im wäßrigen Medium zahlreiche supramolekulare Strukturen aufbauen: lyotrope LC-Phasen, Liposomen, Micellen und geordnete Monoschichten. Eine lyotrope lamellare Phase erhält man durch Quellen in Wasser oder sogar in wasserfreiem Diethylenglycol. In beiden Medien entstehen bei weiterer Verdünnung aus den lamellaren Phasen spontan sphärisch geschlossene Lipiddoppelschichten (Liposomen). pH-Variationen führen darüber hinaus reversibel zur Bildung von Micellen. Die CMC liegt mit $1.6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9.3) im Bereich der CMC normaler Detergentien. Die Liposomenbildung

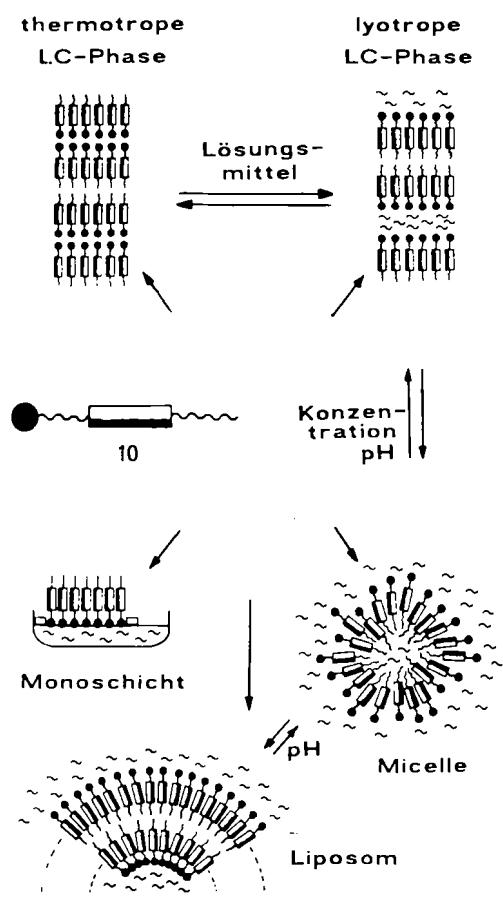


Abb. 17. Beispiel eines amphotenten Systems: Möglichkeiten der Selbstorganisation des amphiphilen Cholesterinderivats **10** [60].

wurde durch Einschluß eines wasserlöslichen Fluoreszenzmarkers sowie durch Phasenkontrast- und Elektronenmikroskopie nachgewiesen. Trocknen der wäßrigen Aggregate führt zurück zum thermotropen Flüssigkristall.

Derartige Ethylenoxidcholesterinderivate^[60, 61] haben eine für vesikelbildende Moleküle untypische Struktur, denn üblicherweise handelt es sich beim hydrophoben Anteil doppelschichtbildender Lipide um Fettsäureketten. Auf die molekulare Architektur dieser „normalen“ Lipide wird im folgenden Abschnitt näher eingegangen.

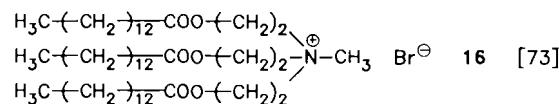
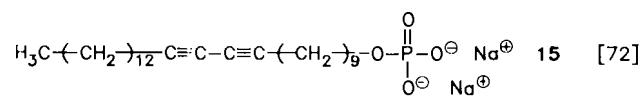
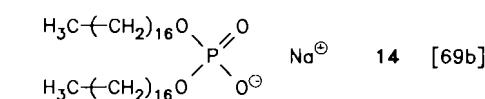
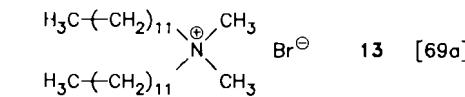
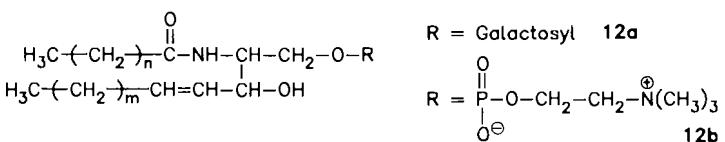
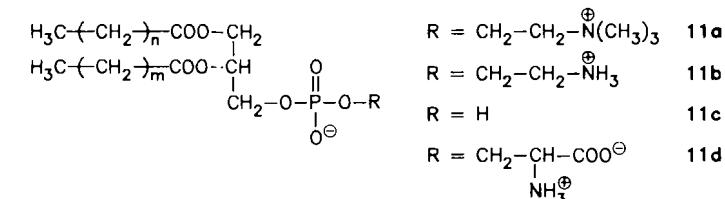
3.4. Lipide als doppelschichtbildende Amphiphile

Während die in Abschnitt 3.2 besprochenen micellenbildenden Amphiphile noch relativ gut wasserlöslich sind (CMC ca. $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), haben membranbildende Lipide eine CMC von nur ca. $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Lipidmoleküle, d.h. doppelketige Amphiphile, sind die Grundbausteine aller biologischen Membranen^[62,63]. Ihre Selbstorganisation in Wasser beruht wie bei den Detergentien auf dem hydrophoben Effekt^[64] und ist ebenfalls von dem hydrophil/hydrophob-Verhältnis von Kopfgruppen zu Alkylketten abhängig^[42].

Das Phasendiagramm der Mischung eines typischen Leцитinlipids wie Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) mit Wasser weist die Lipiddoppelschicht als Grundstruktur in einem sehr großen Temperatur- und Konzentrations-

bereich auf^[65]. In Abhängigkeit vom Wassergehalt existieren homogene smektische Phasen aus parallelen Lipiddoppelschichten (lyotrope Phasen) und heterogene Dispersions multilamellarer oder einschaliger Liposomen. Bei niedrigem Wassergehalt und hohen Temperaturen treten weitere lyotrope LC-Phasen wie die hexagonale, die kubische und die Bänderphase auf.

Entsprechend der Bedeutung der Lipide beim Aufbau von Biomembranen hat die Natur viele Möglichkeiten, die molekulare Architektur ihrer membranbildenden Amphiphile zu variieren (Schema 1). Die meisten natürlichen Lipide sind zwitterionisch (z. B. Lecithine **11a**, Kephaline **11b**) oder negativ geladen (z. B. Phosphatidsäuren **11c** oder Phosphatidylserine **11d**). Daneben existieren auch ungeladene Lipide, z. B. Glycolipide wie **12a**^[66]. Neben der Kopfgruppenstruktur werden auch die hydrophoben Bereiche in großem Maß variiert. Je nachdem, ob sehr steife oder flexible Membranen gebraucht werden, sind gesättigte bzw. ungesättigte Fettsäureketten eingebaut. Wasserstoffbrücken im Kopfgruppenbereich wie bei den Sphingolipiden (z. B. **12**) führen zu einer zusätzlichen Verstärkung der Membran^[67].



Schema 1. Beispiele von natürlichen und synthetischen doppelschichtbildenden Amphiphilen.

Viele der in der Natur vorkommenden Lipide sind auch synthetisch zugänglich^[68]. Von Kunitake et al. wurden 1977 vollsynthetische, einfach gebaute Amphiphile vorgestellt, die ebenfalls Doppelschichtmembranen bilden. Typische Beispiele hierfür sind quartäre Ammoniumsalze wie **13** oder Dialkylphosphate wie **14**, jeweils mit zwei langen Ketten^[69]. Die Erkenntnis, daß auch derartig einfache am-

phophile Verbindungen Membrandoppelschichten bilden können, führte bald zu einer großen Zahl künstlicher, membranbildender Lipide^[70], zu denen auch chirale Verbindungen^[71], wie sie in der Natur die Regel sind, gehören. Neben den hier diskutierten zweikettigen „klassischen“ Lipiden existieren synthetische doppelschichtbildende Amphiphile mit nur einer langen Kette (z. B. **15**)^[72] oder mit drei hydrophoben Alkylketten (z. B. **16**)^[73]. Darüber hinaus gibt es membrandurchspannende Lipide; einige derartige natürliche und künstliche Amphiphile werden in Abschnitt 4.7 vorgestellt.

4. Stabilisierung und Oberflächenvariation von Modellmembranen

4.1. Die Architektur von Biomembranen^[74, 75]

Die Selbstorganisation von Amphiphilen zur Plasmamembran war ein entscheidender Schritt zur Entwicklung der frühen Formen des Lebens. Nach welchen Prinzipien auch immer aus Purinen, Pyrimidinen oder Aminosäuren Makromoleküle geformt wurden, ihre Selbstreproduktion wäre ohne die schützende Hülle der Lipidmembran nicht möglich gewesen. Die Zellmembran ist bei allen essentiellen biologischen Phänomenen von zentraler Bedeutung. Hierzu gehören der biologische Transport, der Energiemetabolismus, die Zellteilung und die Synthese von Makromolekülen. Speziell die Zelloberfläche spielt eine wesentliche Rolle bei vielen Aspekten der Zellbiologie, der Immunologie, der Zell-Zell-Wechselwirkung sowie Zelldifferenzierung und auch bei der Transformation von normalen in maligne Zellen.

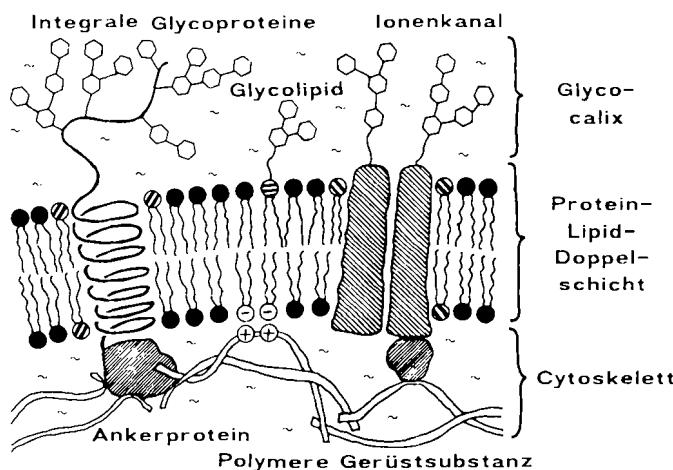


Abb. 18. Schematische Darstellung einer Biomembran mit Gliederung in drei miteinander verbundene Schichten: Glycocalix, Protein-Lipid-Doppelschicht, Cytoskelett.

Die Biomembran lässt sich in drei miteinander verbundene Schichten gliedern: Glycocalix, Protein-Lipid-Doppelschicht und Cytoskelett (Abb. 18). Die zentrale, proteinhaltige Lipiddoppelschicht ist die eigentliche kompartimentierende Komponente der Biomembran^[76]. Sie wirkt darüber hinaus als aktiver Filter und ist an Bewegungs- und Transportprozessen beteiligt.

Diese Phospholipidmembran wird auf ihrer Außenseite von der Glycocalix umhüllt. Dies ist eine kohlenhydratrei-

che Schicht, die vorwiegend von den Oligosaccharidkopfgruppen der meist in die Membran eingelagerten Glycoproteine und Glycolipide gebildet wird. Die Oberflächenerkennung von Zellen wird durch die Glycocalix bestimmt: Die Oligosaccharidseitenketten wirken z. B. als antigene Determinanten bei Immunreaktionen (vgl. Abschnitt 5). Bei Pflanzenzellen ist die Glycocalix eine feste, geschlossene Zellwand, in der die Zuckermoleküle (Polysaccharide) zusätzlich als Gerüstsubstanzen dienen (vgl. Abschnitt 4.8.1). Bei Bakterien schließlich sind die Polysaccharidketten noch durch Oligopeptidketten quervernetzt und bilden so den sehr stabilen Mureinmantel, der ein einziges, vernetztes Makromolekül ist.

Bei tierischen Zellen wird die Zellmembran überwiegend durch das Cytoskelett stabilisiert, das an die Innenseite der zentralen Lipiddoppelschicht gekoppelt ist (vgl. Abschnitt 4.8.2). Vom Standpunkt der Polymerwissenschaften ist gerade das Cytoskelett als polymeres Netzwerk ein idealer Ausgangspunkt für Simulationsexperimente: Reversible Vernetzung, Fixierung von Netzwerken an Membranen, dynamische Prozesse in Gelen – all das exerziert die Zelle vielfältig bei ihren Membranvorgängen vor.

Um einen tieferen Einblick in Struktur und Funktion von Biomembranen zu erhalten, sind vielfältige bioorganische Untersuchungen notwendig. Hier liegt ein reizvolles und weites Betätigungsfeld für den präparativ arbeitenden Chemiker, denn wegen der hohen Komplexität natürlicher Membranen ist es zum Studium der Eigenschaften einzelner Membranbestandteile notwendig, sich zunächst auf einfacher gebaute Modellmembranen mit definierter chemischer Zusammensetzung zu beschränken.

4.2. Modellmembranen als supramolekulare Systeme

Zur Untersuchung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen einzelner Membranbausteine (Lipide oder Proteine) auf supramolekularer Ebene müssen Modellmembranen herangezogen werden. An ihnen können die physikalischen Eigenschaften von Membranen untersucht werden, die nur aus Lipiden (rein oder in Mischungen) bestehen. Darüber hinaus lassen sich bei Rekonstitutionsexperimenten Membranproteine in eine physikalisch und chemisch definierte Umgebung einbauen, in der die von ihnen bewirkten Prozesse als Einzelereignisse studiert werden können. Abbildung 19 gibt eine Übersicht über die derzeit üblichen Modellmembranen. Sie sollen im folgenden kurz vorgestellt werden.

Monoschichten^[49c, 77] entstehen beim Spreiten eines Lipids auf einer Gas/Wasser-Grenzfläche und entsprechen der Hälfte der Lipiddoppelschicht einer Zellmembran. Damit scheinen die monomolekularen Filme – verglichen mit anderen Modellmembranen – am entferntesten vom Vorbild Biomembran zu sein. Aber Monoschichtuntersuchungen können präzise Informationen über die molekulare Packung und Orientierung von Amphiphilen liefern, die über andere Modellmembranen nicht zugänglich sind. Mit Hilfe einer Filmwaage lassen sich monomolekulare Filme durch Schub-Flächen-Diagramme (Isothermen) charakterisieren. Diese sehr empfindliche Meßmethode reagiert auf kleinste Änderungen in der Struktur der Lipide. Anhand der Isothermen lassen sich Aussagen über das Orientie-

rungsverhalten von Amphiphilen, ihre Beweglichkeit in Membranen, aber auch über Wechselwirkungen mit in der Subphase gelösten Stoffen (z. B. Proteinen; vgl. Abschnitte 5.2 und 5.3) machen. Darüber hinaus können fluoreszenzmikroskopisch Entmischungsphänomene in der Monoschicht direkt sichtbar gemacht werden^[78].

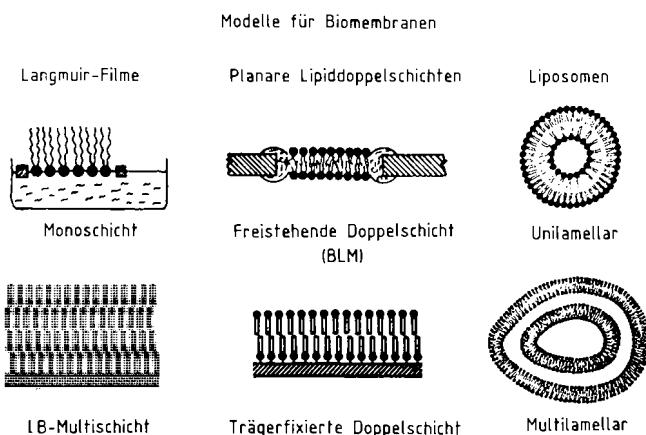


Abb. 19. Übersicht über Modellmembranen.

Durch Übertragung von Monoschichten auf feste Substrate gelangt man zu den hochgeordneten, ultradünnen Langmuir-Blodgett(LB)-Filmen^[49,50,79]. Multischichten sind weniger als Modellmembranen von Interesse, sondern mehr als technische funktionale Membranen (vgl. Abschnitt 3.3).

Planare Lipiddoppelschichten ähneln in ihrem Aufbau eher einer Biomembran. Sie lassen sich entweder als freistehende (Black Lipid Membrane, BLM) oder als trägerfixierte Doppelschicht (Supported Planar Membrane) präparieren.

BLMs^[80] sind Lipiddoppelschichten, die – ein Loch in einer Trennwand überspannend – zwei wäßrige Kompartimente voneinander trennen. Sie sind damit z. B. ideal für elektrische Messungen geeignet, aus denen sich Rückschlüsse auf Membrankapazität, -dicke und -leitfähigkeit ziehen lassen. Daher werden BLMs oft für die Untersuchung von Transportvorgängen (z. B. von Ionen) durch Lipidmembranen herangezogen^[81]. Planare Membranen, die auf festen Trägern fixiert sind, erweitern das Spektrum der anwendbaren Meßmethoden^[82]. Befindet sich z. B. eine solche planare Membran auf einem Quarzsubstrat, so können TIRF-spektroskopisch (TIRF = Total Internal Reflection Fluorescence) spezifisch diejenigen Fluoreszenzsonden detektiert werden, die sich in der direkten Nachbarschaft der Lipiddoppelschicht befinden. Daher sind trägerfixierte Modellmembranen insbesondere für das Studium von Oberflächenerkennungsreaktionen geeignet^[82,83,163b].

Bei Liposomen (Vesikeln)^[84] handelt es sich um sphärisch geschlossene Lipiddoppelschichten, die in Analogie zur Zellmembran ein wäßriges Kompartiment umschließen. In Abhängigkeit von der verwendeten Methode^[84h,85] entstehen vollkommen verschiedene Vesikel, die sich sowohl im Durchmesser (zwischen 20 nm und 100 µm) als auch in der Anzahl der Lamellen unterscheiden. So führt etwa die Beschallung von Lipidsuspensionen in Wasser zu kleinen unilamellaren Vesikeln (20–100 nm, SUV), während aus gequollenen Lipidfilmen uni- oder multilamellare Vesikel von Zellgröße entstehen. Liposomen eignen sich

für eine Vielzahl von biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen, z. B. zur Messung der Permeabilität von Membranen^[84a], zur Rekonstitution aktiver Membranproteine^[86] sowie zum Studium von Oberflächenerkennungsreaktionen^[84d,e] oder dynamischen Membranprozessen^[155]. Darüber hinaus wird auch die Verwendung von Liposomen als Drug-Carrier^[87,114a] diskutiert.

Die folgenden Abschnitte 4.3 bis 4.8 befassen sich überwiegend mit Liposomen als Modellmembranen. Hierbei werden neben der Oberflächenvariation Strategien zur Herstellung polymerisierter Liposomen diskutiert, die einerseits zu stabilen Modellmembranen führen und andererseits die Simulation von Stabilisierungselementen der Biomembran ermöglichen sollten.

4.3. Oberflächenvariation von Modellmembranen

Neben der gezielten Variation der Membranbausteine spielt in der Natur auch die chemische Oberflächenvariation von Zellmembranen eine wichtige Rolle: Der Aufbau unsymmetrischer Membranen oder Variationen der Glyco-calix sind wichtige Beispiele. In Analogie dazu kann die molekulare Architektur von Lipiden auch in Modellmembranen nachträglich durch chemische Reaktionen innerhalb der supramolekularen Struktur variiert werden. Chemische Reaktionen in oder an geordneten Systemen sind von Interesse, da die hochorganisierte Lipidmatrix Reaktionen spezifisch beeinflussen kann. Unterschiede im Reaktionsablauf gegenüber dem in isotropen Lösungen beruhen auf der Orientierung oder der lokalen Konzentration der beteiligten Moleküle^[88]. Derartige Reaktionen können nicht nur als Modell für Umwandlungen in Biomembranen aufgefaßt werden, sondern allgemeiner auch als Modell für die enzymatische Katalyse^[89]. Bei Verwendung von Vesikeln als Modellmembran ist zusätzlich eine Kompartimentierung in verschiedene Reaktionsorte (eingeschlossenes Volumen, hydrophobes Membraninneres, Membranoberfläche, wäßriges Außenvolumen) zu beachten^[70c]. Die dadurch mögliche räumliche Trennung von Reaktionspartnern ließ Vesikel auch für das Studium von „künstlichen Photosyntheseprozessen“ interessant werden^[90]. Außerdem ermöglicht die Bildung von sphärisch geschlossenen Lipiddoppelschichten aus reaktiven Lipidmolekülen eine gezielte Reaktion mit wasserlöslichen Agentien nur an der äußeren Membranoberfläche. Auf diesem Wege sind Vesikelmembranen mit unsymmetrischer Anordnung der Kopfgruppen zugänglich^[70c,90a]. Einige Beispiele für Oberflächenreaktionen an geordneten Membranen sollen im folgenden vorgestellt werden.

Die Umwandlung einer negativ geladenen in eine positiv geladene Membranoberfläche unter milden Bedingungen wurde in der Monoschicht untersucht^[91]. Als reaktives Lipid wurde das Maleinsäuremonoamid 17 mit einer Carbonsäurekopfgruppe verwendet. Die *cis*-ständige Carboxygruppe von 17 kann im Sauren eine intramolekulare Hydrolyse der Amidbindung katalysieren^[92], bei der aus dem anionischen Lipid das Dioctadecylammonium-Jon entsteht. Zur Beobachtung der Spaltungsreaktion wurde 17 auf saurer Subphase gespreitet. Die Isothermen der Säure sowie des nach der Amidspaltung entstandenen Ammoniumsalzes sind in Abbildung 20 gezeigt.

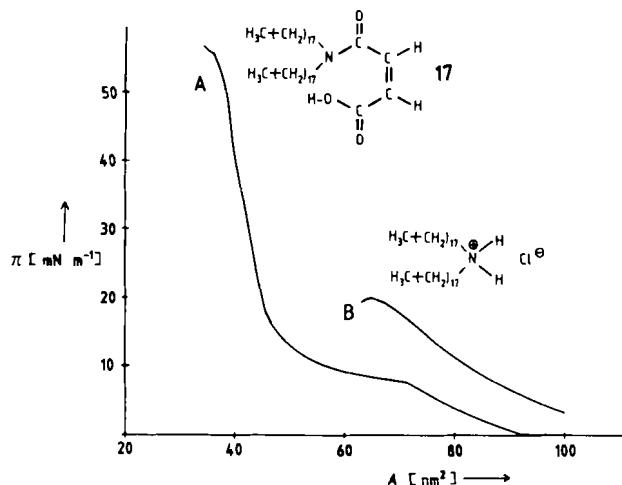


Abb. 20. Variation der Kopfgruppenladung in einer Monoschicht [91]: A) Isotherme des Maleinsäureamids **17** ($T=31^\circ\text{C}$, pH der Subphase=2). B) Isotherme eines Films aus dem Amid **17** nach Kopfgruppenspaltung unter Bildung des Diocetylammmoniumsalzes. Die Spaltung erfolgte durch 14ständiges Stehenlassen des Films bei 0 mN m^{-1} und 31°C auf der sauren Subphase. π = Oberflächendruck, A = Fläche pro Molekül.

Während **17** neben einer flüssiganalogen auch eine festanaloge Phase aufweist (Kurve A), spricht die Isotherme des Ammoniumsalzes – in Übereinstimmung mit der Isotherme einer authentischen Probe von Diocetylamin – nur noch für einen flüssiganalogen Film (Kurve B). Die Bildung des Amins in der Monoschicht konnte auch dünnenschichtchromatographisch und massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Die intramolekulare Kopfgruppenspaltung ist strukturabhängig; sie erfolgt beispielsweise beim analogen Bernsteinsäuremonoamid nicht.

Membraneigenschaften lassen sich auch photochemisch verändern^[93, 94]. Einige Möglichkeiten für photochemische Reaktionen an Modellmembranen sind in Abbildung 21 zusammengefaßt. Die Veränderung von Membranpermeabilitäten durch photochemische *cis/trans*-Isomerisierung amphiphiler Farbstoffe wurde bereits beschrieben^[94]. Über photochemisch initiierte Polymerisationen zur Stabilisie-

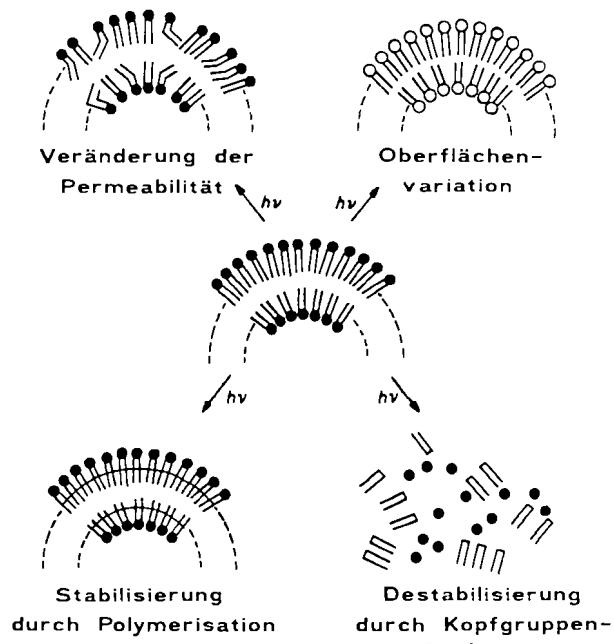
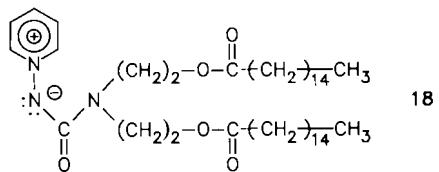


Abb. 21. Möglichkeiten zur photochemischen Variation von Membraneigenschaften.

lung von Modellmembranen wird in Abschnitt 4.5.1 berichtet. Die photochemische Oberflächenvariation und Destabilisierung von Monoschichten und Liposomen wurde an Lipiden mit zwitterionischen, photoreaktiven *N*-(1-Pyridinio)amidat-Kopfgruppen wie **18** untersucht^[95].



Photochemisch kann aus diesem Ylid entweder unter Ringerweiterung ein 1,2-Diazepin oder unter Pyridinabspaltung intermediär ein Nitren im hydrophilen Kopfgruppenbereich erzeugt werden^[96]. Werden Vesikel aus **18** mit UV-Licht bestrahlt, entsteht die Diazepinkopfgruppe in hoher Ausbeute (Abb. 22). Obwohl die Hydrophilie der

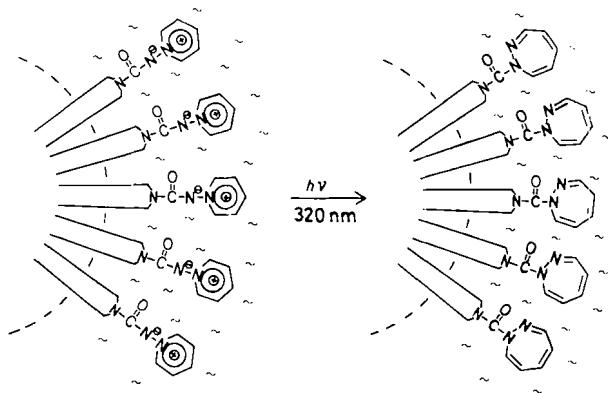
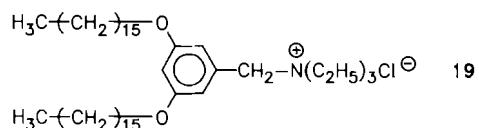


Abb. 22. Photochemische Erniedrigung der Kopfgruppenhydrophilie in Liposomenmembranen: Umwandlung von *N*-(1-Pyridinio)amidat-Kopfgruppen in Diazepinkopfgruppen [95].

entstehenden Diazepinkopfgruppe sehr gering ist, bilden sich während der Photoreaktion weder Vesikelaggregate noch Niederschläge. Die photochemisch erzeugten Diazepinliposomen sind aber aufgrund der geringen Kopfgruppenhydrophilie metastabil und können durch mechanischen Stress, z. B. durch Scherkräfte, zerstört werden. Aus dem isolierten Photoprodukt lassen sich nachträglich keine Vesikel mehr herstellen. Durch die photochemische Oberflächenvariation sind somit Vesikelmembranen aus Molekülen zugänglich, die von sich aus keine derartigen supramolekularen Systeme bilden.

Eine andere Photoreaktion, bei der die Abspaltung der hydrophilen Kopfgruppen die Lipidmoleküle zerstört, ist die Photolyse der quartären Benzylammonium-Kopfgruppe^[97] des Lipids **19**. Bei der UV-Bestrahlung von **19** in



Monoschichten oder Liposomen entsteht überwiegend das entsprechende Toluolderivat, wobei die geordneten Membranen unter Bildung von Kristallen kollabieren (Abb. 23).

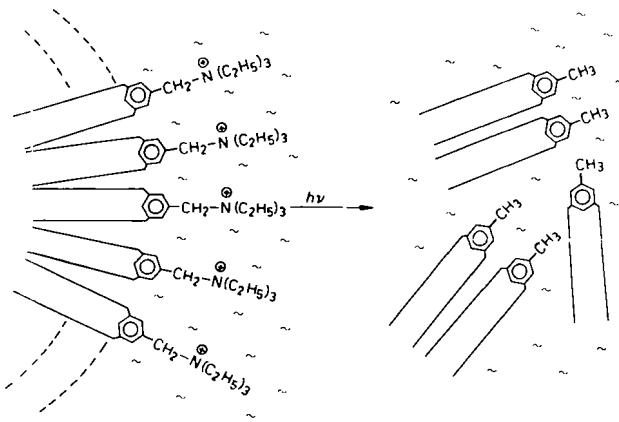


Abb. 23. Photochemische Zersetzung von Liposomen aus Benzylammoniumlipiden [93a].

Dieser Vorgang wurde außer an Monoschichten und kleinen unilamellaren Vesikeln auch an Riesenliposomen im Phasenkontrastmikroskop untersucht^[93a]. Bei längeren Bestrahlungszeiten (ca. 40 s) beobachtete man auch in diesen Modellsystemen die Bildung von Kristalliten aus den Liposomen. Kurze Bestrahlungszeiten (ca. 2 s), die keinen quantitativen Umsatz der reaktiven Kopfgruppen zur Folge haben, führen bei Riesenvesikeln zur Abspaltung von kleinen Liposomen. Auf diesen Prozeß der Fission von Liposomen wird in Abschnitt 6.2 (Abb. 61) noch einmal kurz eingegangen.

4.4. Strategien zur Stabilisierung von Modellmembranen

In den letzten Jahren wurden etliche Methoden zur Stabilisierung von Modellmembranen entwickelt, die über-

wiegend auf der Erzeugung von Polymersystemen basieren. Eine Übersicht über die Möglichkeiten des molekularen Aufbaus stabilisierter Liposomen gibt Abbildung 24.

Am intensivsten wurde die Polymerisation von Lipiden vor oder nach deren Orientierung studiert (vgl. Abschnitt 4.5). Als Alternative ist auch die Polykondensation von Lipidmolekülen beschrieben worden (vgl. Abschnitt 4.6). Außerdem durch derartige kovalente Verknüpfungen von Lipidmolekülen können Lipiddoppelschichten auch durch nichtkovalente Bindung von Polymeren an die Membranoberfläche stabilisiert werden (vgl. Abschnitt 4.8). So können wasserlösliche Polymere nach der Derivatisierung mit wenigen Alkylketten in der Membran von Liposomen verankert werden. Bei Membranen aus geladenen Lipiden besteht die Möglichkeit, Polymere elektrostatisch an die Membranoberfläche zu binden. Eine Methode, um eine Stabilisierung ohne Beteiligung von Polymeren zu erreichen, basiert auf dem Einbau von membrandurchspannenden Lipiden in die Lipidmembran (vgl. Abschnitt 4.7).

4.5. Geordnete Membranen aus monomeren polymerisierbaren und aus präpolymerisierten Amphiphilen

Zum Aufbau geordneter polymerisierter Modellmembranen existieren zwei Wege, die in Abbildung 25 schematisch dargestellt sind. Aus polymerisierbaren Amphiphilen können zunächst geordnete, monomere Modellmembranen aufgebaut werden, die dann in polymerisierte Modellmembranen überführt werden (Weg A). Die Einführung einer Spacergruppe zur Entkopplung der ungeordneten Polymerkette von der geordneten Membran oder aber die Verwendung oligomerer Amphiphiler ermöglicht auch den

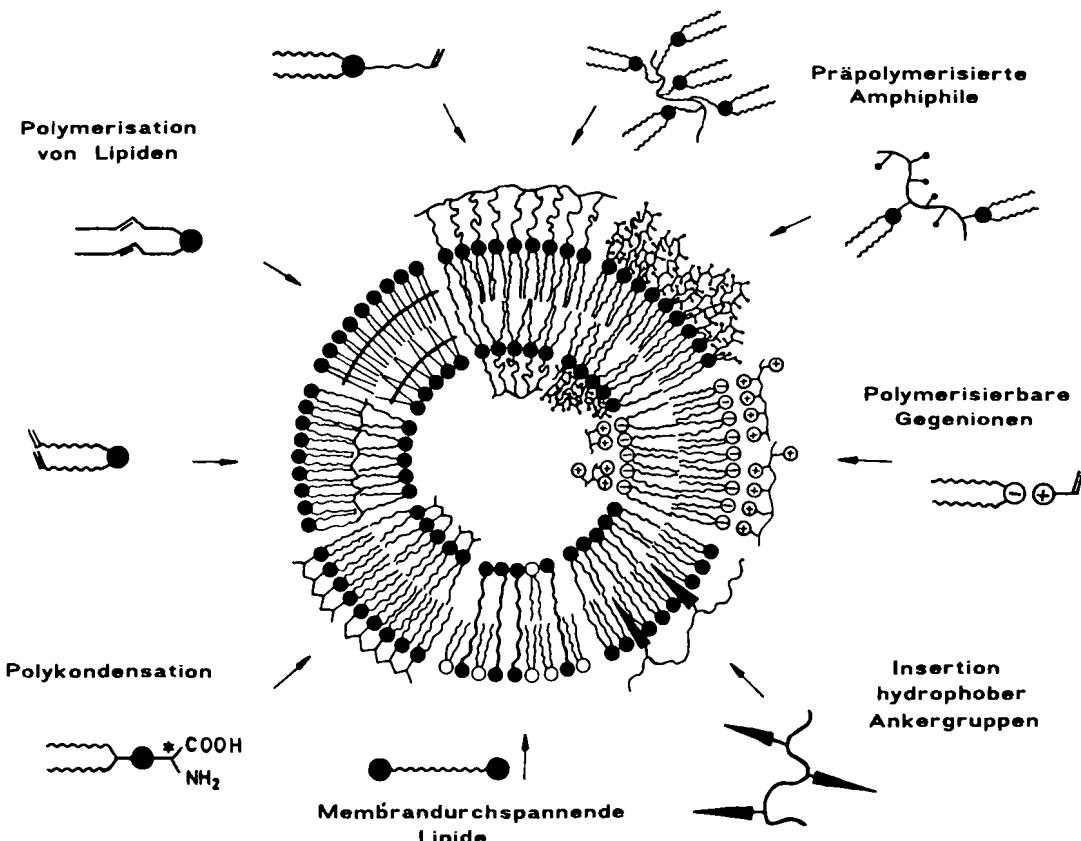


Abb. 24. Strategien zur Stabilisierung von Lipidmembranen.

Aufbau von Membranen aus präpolymerisierten Amphiphilen (Weg B)^[98].

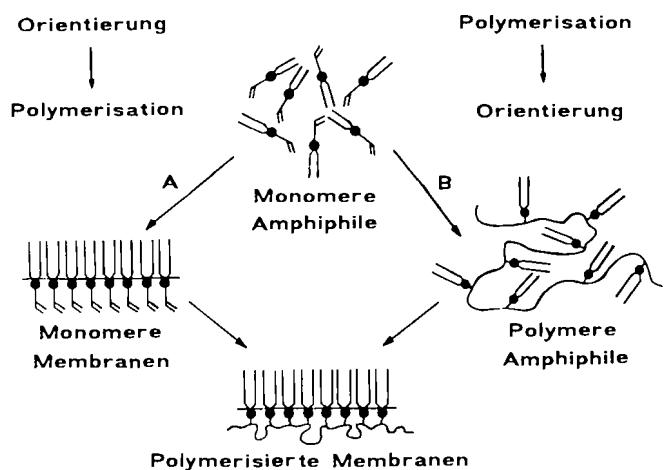
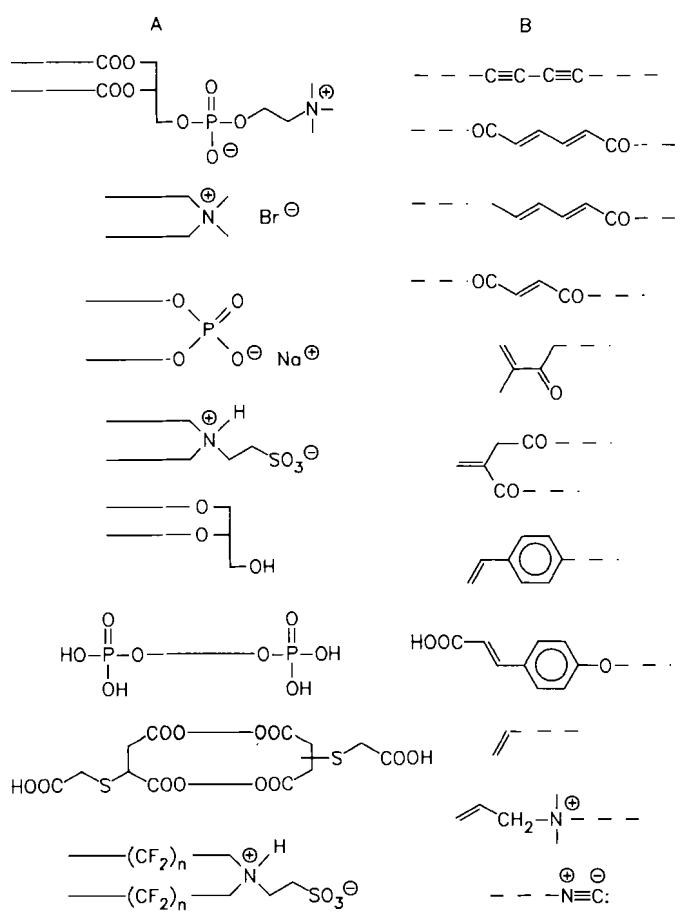


Abb. 25. Strategien zum Aufbau polymerisierter Modellmembranen. A) Monomerorientierung mit nachfolgender Polymerisation. B) Polymerisation und nachfolgende Orientierung der polymeren Amphiphile.

4.5.1. Polymerisierbare Lipide

Das Polymerisationsverhalten von Amphiphilen mit polymerisierbaren Einheiten wurde zunächst an monomolekularen Schichten untersucht^[99]. 1979 wurde dann zum ersten Mal die Herstellung von polymerisierten Vesikeln aus einem Lipid, das Butadiineinheiten enthielt, erwähnt^[100].



Schema 2. Baukasten für polymerisierbare Lipide: A) Lipidstrukturen; B) polymerisierbare Gruppen.

Inzwischen wurden viele polymerisierbare Gruppen in unterschiedliche Lipidstrukturen eingebaut und diese zur Bildung von polymerisierten Liposomen verwendet. Die Breite der synthetischen Möglichkeiten wird aus Schema 2 ersichtlich. Von der Vielzahl polymerisationsfähiger Lipide zeigt Schema 3 einige charakteristische Beispiele.

Die Strukturspielerei mit polymerisierbaren Amphiphilen (Lipiden, Detergentien) und die aus diesen Amphiphilen durch Selbstorganisation aufgebauten Monoschichten, Liposomen und Multischichten haben die Monomer- und Polymerlandschaft belebt und Hoffnungen geweckt. Da über diese Verbindungen und ihre mögliche Anwendung bereits einige Übersichten^[114] vorliegen, wird hier nicht näher darauf eingegangen.

4.5.2. Modellmembranen aus präpolymerisierten Amphiphilen

Ein neueres Konzept zum Aufbau polymerisierter Membranen basiert auf der Verwendung von bereits polymerisierten Amphiphilen. Auf den ersten Blick überrascht es, daß dieser Weg erst viel später beschritten wurde als der über die Monomere. Dies hat etwas mit dem Problem der zweidimensionalen Orientierbarkeit von dreidimensionalen Polymerknäueln zu tun: Während ein einzelnes Lipidmolekül, frei beweglich, sich leicht in eine Membran einordnen kann, ist für die entsprechenden polymerfixierten Moleküle die Einordnung als kooperativer Prozeß erschwert. Damit sich die membranbildenden Alkylketten trotz der ungeordneten Struktur der Polymerkette zu einer geordneten Mono- oder Doppelschicht anordnen können, muß entweder mit nicht zu hohen Polymerisationsgraden gearbeitet werden, oder es ist notwendig, einen beweglichen Spacer zur Entkopplung der unterschiedlichen Bewegungs- und Ordnungsprozesse zwischen die Alkylketten und die Polymerhauptkette einzubauen. Das Spacerkonzept wird in der Natur vielfältig und immer dann genutzt, wenn es darum geht, funktionelle Gruppen ohne Einschränkung ihrer Beweglichkeit in räumlicher Nähe zu halten. Bereits auf pharmakologisch aktive Polymere angewendet^[115], ist ein ähnliches Konzept auch zur gezielten Synthese von flüssigkristallinen Polymeren erfolgreich gewesen^[28, 29].

Für polymere Amphiphile existieren drei Möglichkeiten zum Einbau eines Spacers (Abb. 26)^[116]. Aus Lipiden, die

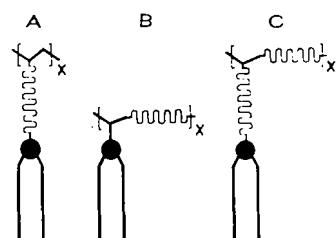
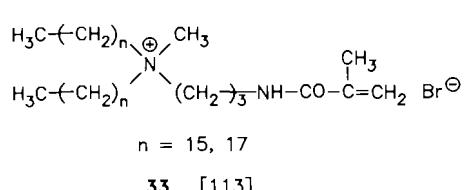
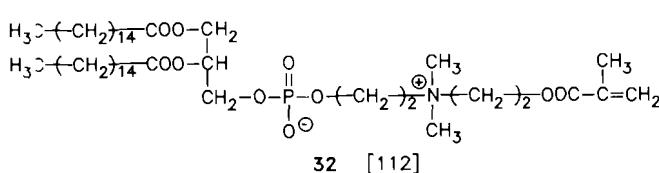
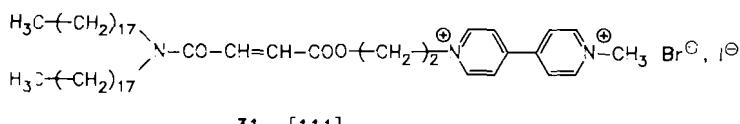
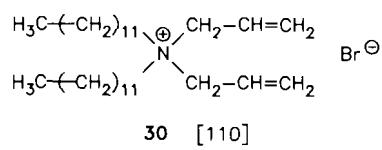
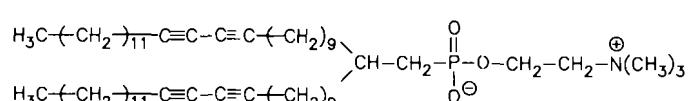
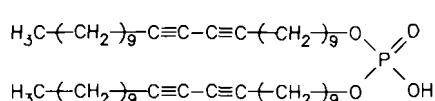
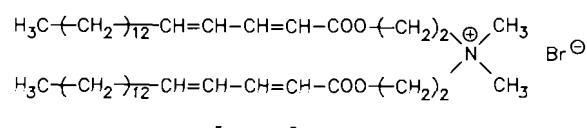
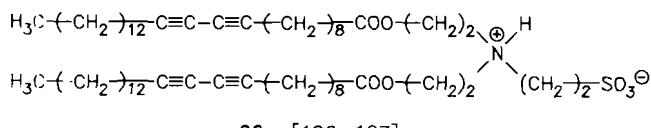
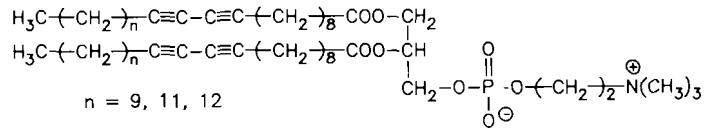
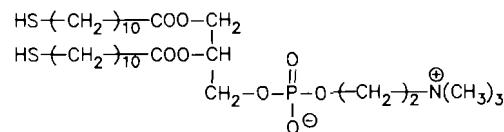
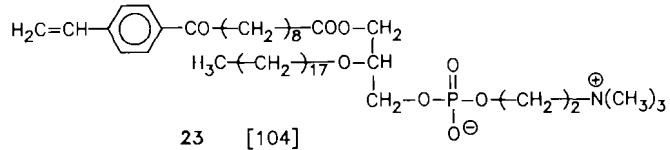
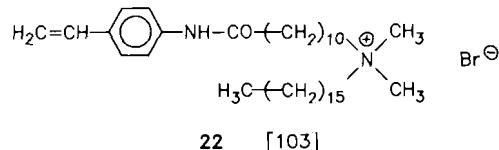
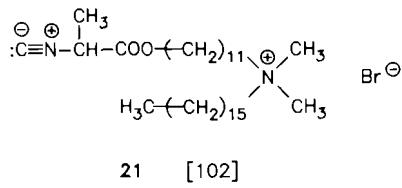
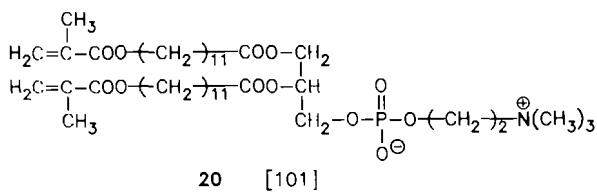


Abb. 26. Bauprinzipien für amphiphile Polymere mit hydrophilen Spacergruppen [116]. A) Seitengruppenspacer; B) HauptkettenSpacer; C) Hauptketten und Seitengruppenspacer.

eine hydrophile Spacergruppe zwischen dem membranbildenden amphiphilen Molekülteil und der polymerisierbaren Einheit tragen, wurden Homopolymere mit Seiten-

gruppenspacer (A) synthetisiert^[98]. Durch Copolymerisation einfacher Lipide mit hydrophilen Comonomeren lassen sich amphiphile Copolymere mit Hauptkettenspacer (B) herstellen. Die Kombination beider Spacertypen (C) lässt sich durch die Copolymerisation von Lipiden mit Spa-

ist in Abbildung 27 skizziert. Die Herstellung von Vesikeln aus präpolymerisierten Lipiden wurde bisher nur für Typ-A-Polymer (Abb. 26) beschrieben^[98]. Darüber hinaus wird die Orientierung eines Polyionens zu einer Vesikelmembran diskutiert^[98a].



Schema 3. Typische Beispiele für liposomenbildende, polymerisierbare Lipide.

cergruppe mit hydrophilen Comonomeren realisieren^[116]. Die Selbstorganisation derartiger amphiphiler Copolymere mit Spacergruppen zu polymerisierten Modellmembranen

Von Fendler et al. wurde die Copolymerisation von Maleinsäurederivaten wie 31 in einer geordneten Vesikelmembran mit isotrop in der wässrigen Phase gelöstem

Acrylnitril als Comonomer beschrieben^[90a, 111]. Diese Art der Copolymerisation führt ebenfalls zu Polymeren mit Hauptkettenspacern.

Durch Spreiten von präpolymerisierten Lipiden (Abb. 27) konnten hochgeordnete stabile Monoschichten erhalten werden.

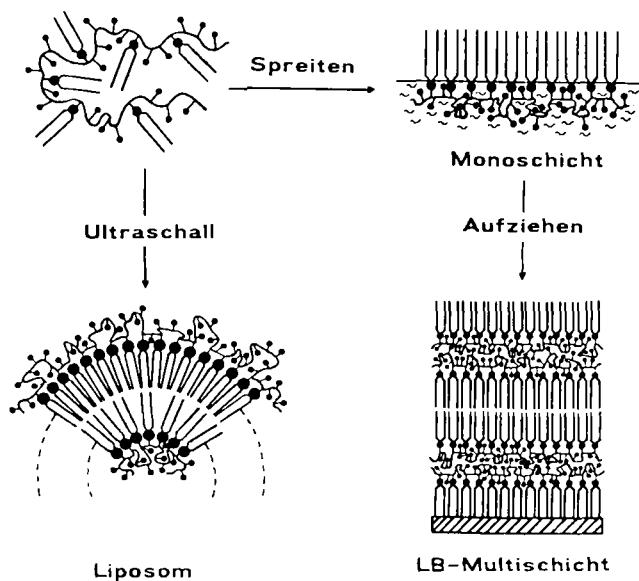


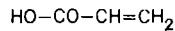
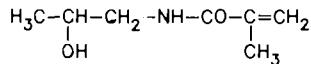
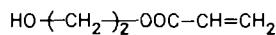
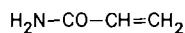
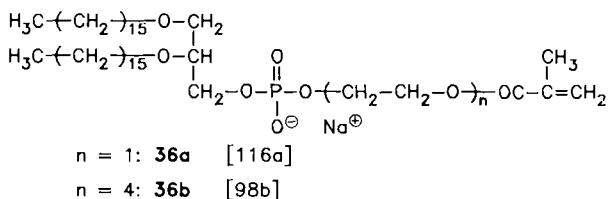
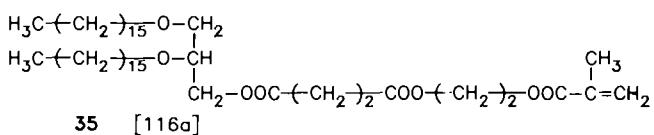
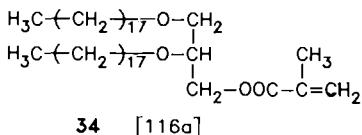
Abb. 27. Aufbau von Modellmembranen aus Copolymeren mit hydrophilen Comonomereinheiten.

ten und untersucht werden. Aus ihnen lassen sich durch Übertragen auf feste Träger nach der LB-Technik auch polymerisierte LB-Filme aus präpolymerisierten Amphiphilen herstellen^[116–119].

In Schema 4 sind einige Monomere gezeigt, aus denen amphiphile Homo- und Copolymeren mit Hauptketten-, Seitengruppen- oder kombinierten Spacern synthetisiert wurden. Ein weiteres interessantes System sind alternierende Copolymeren aus Maleinsäureanhydrid und z.B. langkettigen Vinylthern oder Olefinen, die insbesondere von Hodge et al. untersucht wurden^[119].

Den Sinn der Einführung eines entkoppelnden Spacers zeigen die Isothermen von monomerem und polymerisiertem **34** (Abb. 28). Das monomere Lipid **34** bildet einen stabilen Film mit festanalogen Packung (Kurve M). Nach Polymerisation in der geordneten Monoschicht zeigt die Isotherme ein ähnliches Verhalten mit einer etwas erhöhten Stabilität des Films (Kurve **P_M**). Wird das spacerlose Lipid jedoch in isotroper Lösung polymerisiert und dann gespreitet, so ist dieses präpolymerisierte Lipid nicht mehr in der Lage, einen hochgeordneten festanalogen Film zu bilden (Kurve **P_S**). Eine entscheidende Rolle hierbei spielen sicherlich das Molekulargewicht und die Taktizität^[118c, 120]. Es ist zu erwarten, daß das Schub-Flächen-Diagramm eines in isotroper Lösung polymerisierten Lipids dem des monomeren Lipids ähnlich wird, wenn das Molekulargewicht niedrig und der syndiotaktische Anteil hoch ist.

Die Erhaltung von Beweglichkeit und Orientierbarkeit der Alkylseitengruppen in einem Copolymer mit Hauptkettenspacer zeigen die Isothermen in Abbildung 29. Während das monomere Lipid **35** mit kurzem Seitengruppen-



Schema 4. A) Polymerisierbare Lipide, B) hydrophile Comonomere zum Aufbau von amphiphilen Copolymeren mit Spacergruppen.

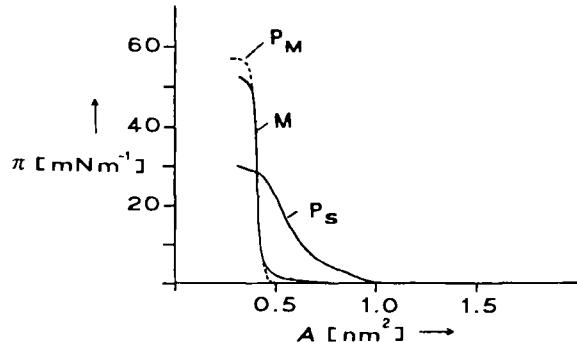
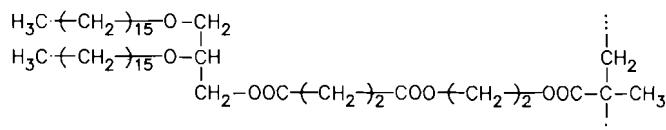
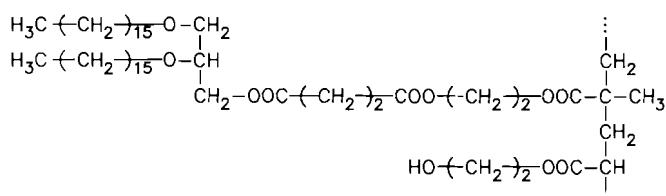


Abb. 28. Vergleich des Spreitungsverhaltens des monomeren und des polymerisierten spacergruppenfreien Amphiphils **34** [116a]. M) Das monomere Lipid bildet eine hochgeordnete Monoschicht mit festanalogen Phase. **P_M**) Nach Polymerisation in der geordneten Monoschicht leicht erhöhte Stabilität der festanalogen Phase. **P_S**) Beim Spreiten des Polymers nach Polymerisation in isotroper Lösung wird nur noch eine flüssig-analoge Phase gebildet. π = Oberflächendruck, A = Fläche pro Molekül.

spacer eine flüssig- und eine festanaloge Phase bilden kann (Abb. 29A), ist das entsprechende, in Lösung präpolymerisierte Lipid **37** nur noch zur Bildung einer festanalogen Phase in der Lage (Abb. 29B). Durch die Polymerisation des Lipids im Kopfgruppenbereich wird die Alkylkettenbeweglichkeit stark eingeschränkt. Der Einbau von hydrophilen Comonomereinheiten erhöht sie jedoch wieder:



37



38

Schon bei einem äquimolaren Anteil an Hydroxyethylacrylat als hydrophilem Comonomer (38) entstehen wieder flüssig analoge Phasen (Abb. 29C).

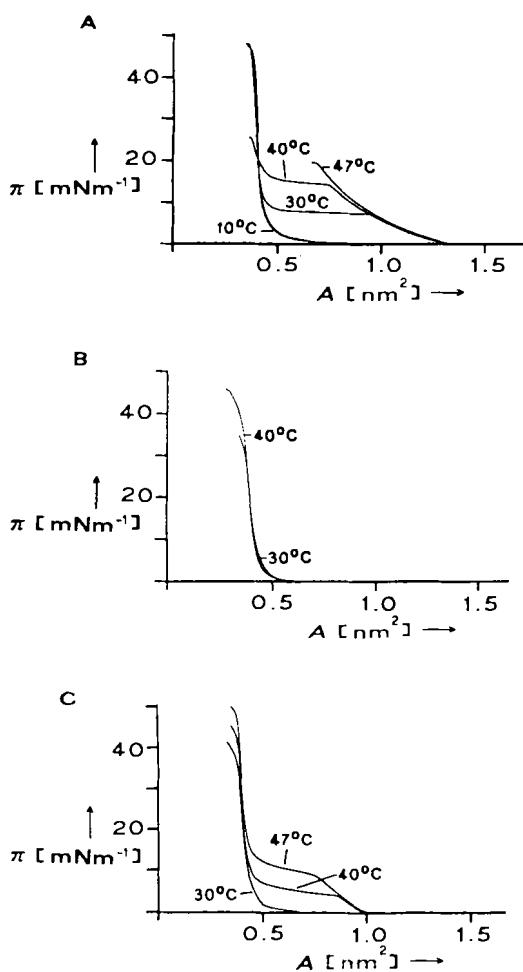
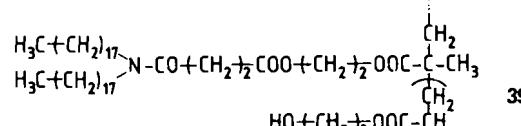


Abb. 29. Vergleich der Schub-Flächen-Diagramme von monomeren und polymeren Methacrylaten [116a]. A) Das monomere Methacrylat 35 mit kurzem Seitengruppenspacer bildet temperaturabhängig fest- und flüssig analoge Phasen. B) Das homopolymere Methacrylat 37 ($= (35)_n$) bildet nur festanaloge Phasen. C) Das statistische 1:1-Copolymer 38 aus 35 und Hydroxyethylacrylat als Hauptkettenspacer bildet wie das Monomer 35 temperaturabhängige fest- und flüssig analoge Phasen. π = Oberflächendruck, A = Fläche pro Molekül.

In geordneten Multischichten entstehen bei der Polymerisation von Amphiphilen^[121] meist Defektstellen^[52, 122]. Da man aus Monoschichten von amphiphilen Polymeren mit Spacergruppen LB-Filme aufbauen kann, lassen sich poly-



39

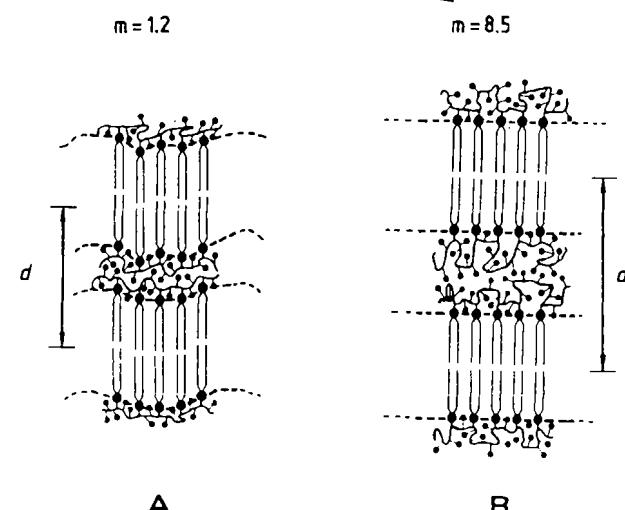


Abb. 30. Multischichten aus dem amphiphilen Copolymer 39 [116a]. Schematische Darstellung der Schichtdicken d und der Schichtkorrelationen mit zunehmendem Comonomergehalt. A) Gehalt an Hydroxyethylacrylat $m = 1.2$ (kurzer hydrophiler HauptkettenSpacer); kleiner Schichtabstand, geringe Schichtkorrelation. B) Gehalt an Hydroxyethylacrylat $m = 8.5$ (langer hydrophiler HauptkettenSpacer); größerer Schichtabstand, gute Schichtkorrelation.

merisationsinduzierte Defekte in den Filmen auf diesem Weg elegant vermeiden. Der Einfluß des Gehalts an hydrophilem Comonomer auf die Struktur der LB-Schicht ist in Abbildung 30 am Beispiel des Copolymers 39 illustriert. Mit zunehmendem Comonomergehalt wird der Schichtabstand in der Multischicht größer, wie sich durch Röntgen-Kleinwinkelstreuung zeigen läßt^[116a]. Darüber hinaus ermöglicht ein größerer Anteil an Hydroxyethylacrylat eine höhere Ordnung des Schichtgitters.

4.6. Polypeptidliposomen – Doppelschichten aus polykondensierbaren Lipiden

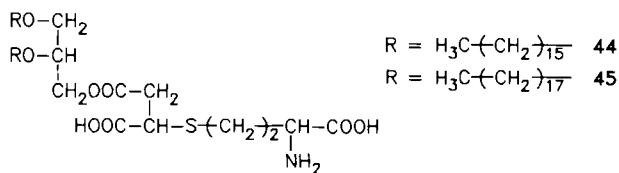
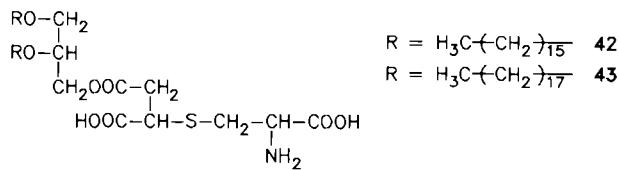
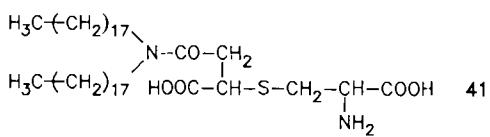
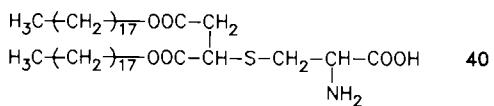
Im Hinblick auf Liposomen als Drug-Carrier-Systeme^[87, 114a] ist der Aufbau stabilisierter, aber biologisch abbaubarer Systeme reizvoll. Erste Versuche zur Herstellung biologisch abbaubarer polymerisierte Liposomen wurden von Regen et al. für die reversibel polymerisierte Dimercaptolécithine (vgl. Lipid 24, Schema 3) beschrieben^[105]. In diesem Zusammenhang erscheinen auch Polypeptidliposomen vielversprechend.

Es existieren erst wenige Arbeiten über Polykondensationsreaktionen an geordneten Systemen. Die erste wurde

allerdings bereits 1948 von Katchalsky et al. publiziert und beschreibt die Kondensation von Octadecyl- und Hexadecylestern von Glycin und Alanin in LB-Multischichten^[123]. Einfach durch Stehenlassen wurden in den Filmen die Ester aminolysiert und die entsprechenden Polyaminosäuren erhalten. Da unter vergleichbar milden Bedingungen in isotroper Lösung keine Reaktion zu beobachten ist, muß man die erhöhte Reaktivität der Amphiphile in der Multischicht auf deren Orientierung zurückführen. Diese Untersuchungen wurden später von Fukuda et al. fortgeführt^[124]. Andere Versuche zur Polykondensation in geordneten Systemen basieren auf der Vernetzung von langketten Harnstoffderivaten mit Formaldehyd^[125] oder von Glycolipiden mit Epichlorhydrin oder Divinylsulfon^[126].

Die Aminolyse langketiger Aminosäureester konnte auch auf Vesikelmembranen übertragen werden. Allerdings führte die Umwandlung von freien Aminogruppen im Amidgruppierungen zu einer derartigen Verringerung der Hydrophilie der Lipidkopfgruppen, daß die gebildeten Polypeptidliposomen ausfielen^[127]. Bei der Verwendung von langketten Leuchtschen Anhydriden zur Polykondensation in Vesikelmembranen sind sowohl Edukte als auch Produkte nicht zur Vesikelbildung befähigt, so daß auf Mischmembranen mit Lipiden wie dem Phosphatidylcholin DPPC ausgewichen werden muß^[128].

Zur Erzeugung stabiler Polypeptidliposomen wurden daher von Neumann et al. Aminodicarbonsäurelipide eingeführt^[129]. Beispiele für polykondensierbare Aminosäure- und Aminodicarbonsäurelipide sind die Verbindungen **40** bzw. **41–45**. Aufgrund der zusätzlichen hydrophilen Carboxygruppe bleiben Liposomen aus den Lipiden **41–45** auch nach Polykondensation in Lösung (Abb. 31).



Die Lipide **40–45** wurden durch Addition von Cystein oder Homocystein an Maleinsäurederivate synthetisiert. Sie bilden bei Ultrabeschallung in Wasser Vesikel; durch Quellen lassen sich aus den Glycerinetherderivaten **42–45** außerdem Riesenvesikel präparieren. Die Polykondensation in Liposomen wurde durch Beschallen der Lipide **41–**

45 in Gegenwart eines wasserlöslichen Carbodiimids bei pH=6.5 erreicht. Die Bildung von Amidbindungen unter diesen Bedingungen kann FTIR-spektroskopisch verfolgt werden. Dampfdruckosmometrische Messungen zeigen, daß bei den Polykondensationsreaktionen Oligopeptide mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 4 entstehen.

Zur Charakterisierung der Permeabilität der monomeren und oligomeren Aminosäurevesikel wurde die Freisetzung von in Vesikeln eingeschlossenen Markern gemessen^[129b].

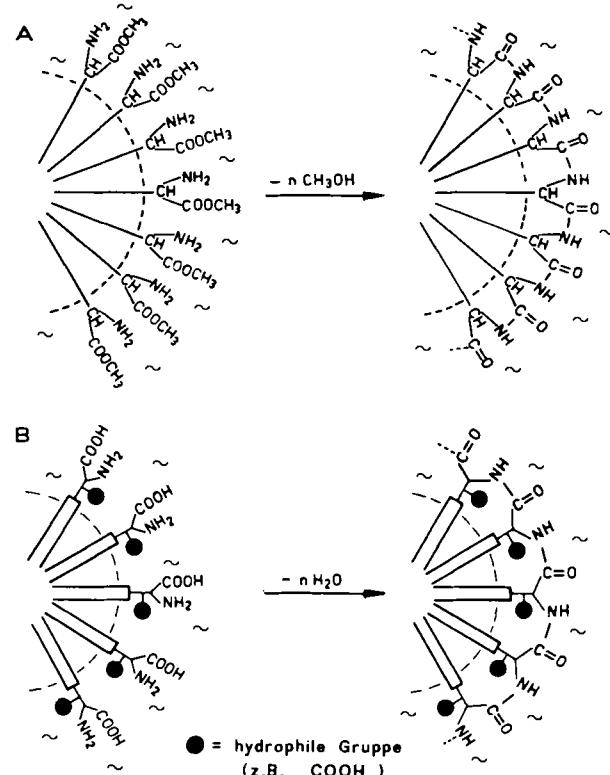


Abb. 31. Herstellung von Peptidliposomen. A) Aminolyse von Aminosäureestern unter Verminderung der Kopfgruppenhydrophilie führt zum Ausfallen der Liposomen [127]. B) Kondensation von Aminodicarbonsäuren: durch die zusätzliche hydrophile Kopfgruppe (COOH) bleiben derartige Peptidliposomen in Lösung [129].

Hierzu dienten sowohl der zweifach negativ geladene Fluoreszenzfarbstoff 6-Carboxyfluorescein (6-CF) als auch [³H]Glucose. Es zeigte sich, daß die monomeren Liposomen gegenüber den beiden Markern eine erstaunlich geringe Permeabilität aufweisen. So werden beispielsweise vom relativ großen, geladenen Marker 6-CF bei Raumtemperatur nach 30 Stunden weniger als 0.1% aus den Vesikeln freigesetzt. Dieser Wert ist nach der Polykondensation deutlich größer, aber trotzdem noch sehr gering: Nach 30 Stunden haben diese Vesikel etwa 1.5% 6-CF verloren. Wie zu erwarten, diffundiert [³H]Glucose als ungeladener Marker schneller durch die Liposomenmembran als 6-CF. Dieses Freisetzungskinetiken ist für das Lipid **43** in Abbildung 32 gezeigt. Zum Vergleich ist außerdem die Freisetzungskinetik von Distearoylphosphatidylcholin(DSPC)-Vesikeln wiedergegeben. DSPC wurde gewählt, da es, genau wie die monomeren und kondensierten Aminosäurelipide, bei Raumtemperatur unterhalb des Phasenübergangs vorliegt.

Aus Abbildung 32 geht hervor, daß auch bei Verwendung von [³H]Glucose als Marker die monomeren Aminosäureliposomen eine geringe Permeabilität aufweisen; es ist die geringste, die für monomere Vesikeln gefunden wurde. Auch hier wird die Permeabilität durch die Kondensationsreaktion erhöht, d.h. die Packungsdichte der Lipide wird durch die Oligopeptidbildung gestört. Trotzdem liegt die Freisetzungsgeschwindigkeit bei den polykondensierten Liposomen noch deutlich unter der von DSPC-Vesikeln.

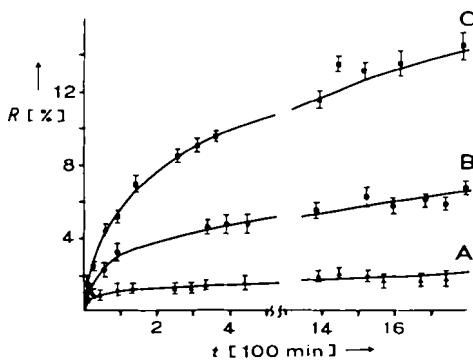
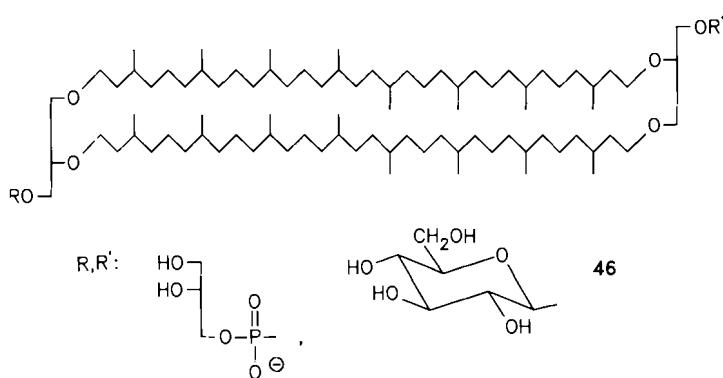


Abb. 32. Vergleich der Freisetzung R von [3 H]Glucose aus verschiedenen Aminosäureliposomen bei 24°C [129b]. A) Liposomen aus dem monomeren Aminosäurelipid 43. B) Peptidliposomen aus dem Lipid 43. C) Liposomen aus DSPC.

Analog zu der in Abschnitt 4.5.2 bereits diskutierten Herstellung von geordneten Polymermembranen aus prä-polymerisierten Amphiphilen können Liposomen auch aus den isolierten Oligoaminosäuren durch Beschallen erhalten werden. Die Peptide der Lipide **42–45** vermögen sogar in Mischung mit Cholesterin Riesenliposomen zu bilden.

4.7. Stabilisierung durch membrandurchspannende, polymerisierbare Lipide

Membranen extremer Stabilität findet man in der Natur bei den Archaeabakterien, die unter extremen Bedingungen überleben und somit ökologische Nischen füllen können. So gedeihen thermophile Archaeabakterien bei Temperaturen bis 110°C, acidophile Bakterien bei pH-Werten um 1

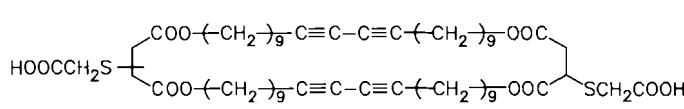
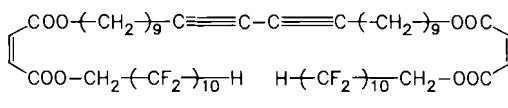
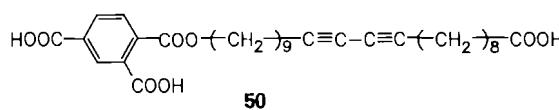
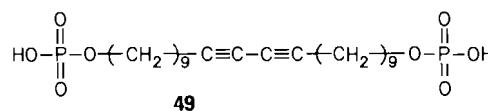
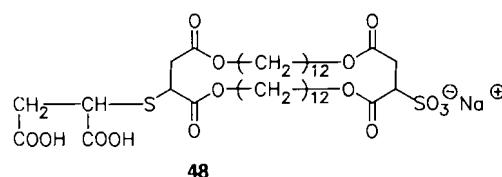
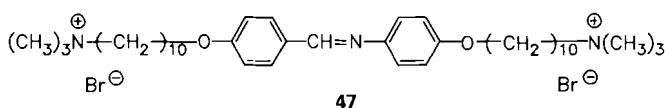


und halophile auch in gesättigter Kochsalzlösung. Ihre Membranbestandteile zeigen in Anpassung an diese ungewöhnlichen Lebensräume ebenso ungewöhnliche Struktu-

ren^[130]. Die wichtigste Membranlipidfraktion dieser Mikroorganismen besteht aus membran durchspannenden bipolaren Lipiden (z. B. 46), in denen zwei isoprenoide Di-phytanyl(C₄₀)-Ketten über säurestabile Etherbindungen an Glycerineinheiten zu makrocyclischen Tetraethern verknüpft sind.

Ein unsymmetrischer Aufbau der Bakterienmembranen wird dadurch erreicht, daß die Makrocyclen zwei verschiedene Kopfgruppen tragen. Häufig vorkommende polare Kopfgruppen sind Phosphatidylglycerin und Mono- oder Oligosaccharide. Einige der artenreichen Archaeabakterien verfügen nicht einmal über eine Zellwand, so daß die Zellmembran die einzige Begrenzung zum aggressiven Außenmilieu ist.

Für die membrandurchspannenden Bestandteile von Archaeabakterienmembranen wurden synthetische Analoga wie die Verbindungen 47-52 hergestellt. Okahata und Ku-



nitake konnten aus einkettigen, bipolaren Ammoniumsalzen wie **47** erstmals einschichtige Vesikelmembranen erzeugen^[44]. Von *Fuhrhop* et al. wurden unter der Bezeichnung „*Bolaamphiphile*“ zahlreiche vesikelbildende bipolare, doppelkettige (makrocyclische) Lipide (z. B. **48**) beschrieben^[131].

Polymerisierbare, bipolare Amphiphile mit Butadiineinheiten wie **49–52** wurden von Bader et al. vorgestellt^[132]. Wegen der Möglichkeit, aus ihnen polymerisierte Monoschichtvesikeln herzustellen, soll auf diese Lipide kurz eingegangen werden. Das einkettige bipolare Amphiphil **49** bildet in Gegenwart von Cholesterin Vesikelmembranen, die durch UV-Bestrahlung bei 0°C polymerisierbar sind^[132a]. Aus der makrocyclischen Dicarbonsäure **52** entstehen bei Ultrabeschallung kleine, bei Quellung große Vesikel. Sie liegen im fluiden Zustand vor und weisen bis 4°C keinen Phasenübergang zum festanalogen Zustand auf. Da die topochemische Butadiinpolymerisation nur in der festanalogen Phase abläuft^[164], ist es nicht möglich, Vesikel aus dem Makrocyclus **52** in die polymere Form zu überführen.

Aus den bipolaren Amphiphilen mit unterschiedlich großen Kopfgruppen (**48**, **50**) sollten unsymmetrische Vesikelmembranen erhalten werden können, da sich die unsymmetrischen Amphiphile in kleinen Liposomen bevorzugt so orientieren werden, daß die kleineren Kopfgruppen nach innen und die größeren nach außen weisen (Abb. 33). Dieses Konzept wurde zuerst von Fuhrhop et al. realisiert^[131b].

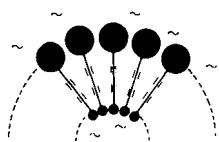


Abb. 33. Unsymmetrische Membranen kleiner, unilamellarer Vesikel aus membrandurchspannenden Butadiinlipiden mit verschiedenen großen Kopfgruppen.

Durch Beschallen in Gegenwart von 20–30 Mol-% eines Amins (*N*-Methylmorpholin, Cyclohexylamin) zur Erhöhung der Kopfgruppenhydrophilie lassen sich aus **50** Vesikel herstellen, in denen die Packung den Anforderungen für eine topochemische Polymerisation genügt. Durch Bestrahlung mit UV-Licht bei 0°C lässt sich die klare, farblose Vesikellösung von **50** in die tiefblaue Lösung der polymerisierten Vesikel überführen^[132b]. Die Anreicherung der raumfüllenden Trimellitsäurekopfgruppe an der Vesikelaußenseite wurde NMR-spektroskopisch durch die Linienvorbreiterung der Signale der aromatischen Protonen bei nachträglicher Mn²⁺-Zugabe bewiesen.

Liposomen aus einer einzigen Lipidkomponente sind zum Studium von Membraneigenschaften von Interesse; eine bessere Annäherung an die Komplexität natürlicher Membranen allerdings sind Mischungen strukturell verschiedener Lipide. Baut man Mischmembranen aus membrandurchspannenden Amphiphilen und konventionellen Lipiden auf, so ist anzunehmen, daß, wie in Abschnitt 4.4 (Abb. 24) schematisch angedeutet, stabilisierte Membranen entstehen. Nach diesem Prinzip sind Archaeabakterienmembranen aufgebaut, und es ist vergleichbar mit der Stabilisierung von Biomembranen durch integrale Proteine. Tatsächlich zeigt die Gefrierbruchelektronenmikroskopie, daß Mischliposomen aus dem membrandurchspannenden makrocyclischen Amphiphil **52** und Dimyristoylphosphatidylcholin (DMPC) (1:1) homogen gemischte Membra-

nen aufweisen^[132b]. Die unterschiedlichen Kopfgruppen und Kettenlängen führen nicht zu einer Phasenseparierung (keine DMPC-Domänen durch Ripple-Strukturen nachweisbar; vgl. hierzu Abschnitt 4.8.1, Abb. 39 und Abschnitt 6.3.2, Abb. 64). Die thermische Stabilität dieser Vesikel wird durch die membrandurchspannende Komponente erhöht, wie temperaturabhängige Permeabilitätsmessungen mit 6-CF als eingeschlossenem Fluoreszenzmarker zeigen^[132b].

4.8. „Liposomen im Netz“ – Stabilisierung von Modellmembranen durch polymere Gerüstsubstanzen

Während Modellmembranen durch Polymerisationen oder Polykondensationen, d. h. durch kovalente Verknüpfung der Lipidmoleküle, stabilisiert werden können, verwendet die Natur völlig andere Strategien zur Stabilisierung ihrer Membranen. Polymere Gerüstsubstanzen, die an die Biomembran gekoppelt sind, verleihen ihr Elastizität und Festigkeit. Je nach Zelltyp unterscheiden sich diese Stützelemente, die meist nur an eine Seite der Membran gebunden sind, stark. Typische Beispiele sind das Cytoskelett der Erythrozyten oder die Zellwände von Pflanzenzellen und Bakterien.

Lassen sich Modellmembranen analog zum natürlichen Vorbild auch durch „polymere Gerüstsubstanzen“ stabilisieren?

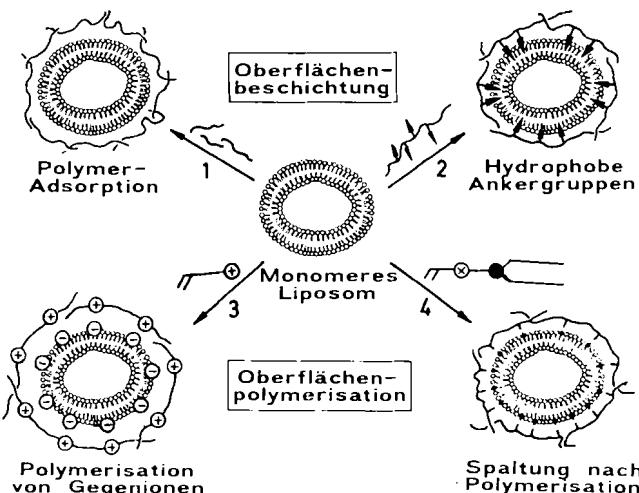


Abb. 34. Wege zur Herstellung von „Liposomen im Netz“.

Die vier in Abbildung 34 gezeigten Wege zur Bindung von Polymeren an die Außenseite von Liposomenmembranen, die auch die Natur verwendet, sind:

1. Wasserlösliche Polymere können durch hydrophile oder ionische Wechselwirkungen an Vesikelmembranen gebunden werden. Beispiele hierfür sind die Stabilisierung von Lecithinvesikeln durch Adsorption von Carboxymethylchitin^[133] oder die Bindung von Polylysin an negativ geladene Vesikeloberflächen^[134]. Von Tirrell et al. wurde die Wechselwirkung von synthetischen Polyelektrolyten mit Liposomenmembranen untersucht^[135].

- Wasserlösliche Polymere lassen sich durch Derivatisierung mit Fettsäuren oder Cholesterin hydrophobisieren. Durch die Insertion dieser hydrophoben Ankergruppen in Membranen können micellar wasserlösliche polymere Amphiphile an Membranoberflächen gebunden werden. Diese Methode wurde von Sunamoto et al. zur Stabilisierung von Liposomen durch Beschichtung mit Polysacchariden angewendet^[136]. Auf derartige „künstliche Zellwände“ wird in Abschnitt 4.8.1 näher eingegangen.
- Zur Fixierung von Polyelektrolyten an Membranoberflächen können zunächst geladene Monomere ionisch an die membranbildenden Lipidmoleküle gebunden werden. Durch eine nachfolgende „Matrixpolymerisation“ werden die Polymere direkt an der Membranoberfläche erzeugt^[137]. (Durch Einführung von polymerisierbaren Gegenionen nur an der Innenseite von Vesikeln können polymere Netzwerke im Vesikelinnern erzeugt werden. Derartige Cytoskelettmodelle werden in Abschnitt 4.8.2 diskutiert.)
- Liposomen können auch aus polymerisierbaren Lipiden präpariert werden, die einen spaltbaren Spacer (x) zwischen dem Lipidteil und der polymerisierbaren Gruppe tragen. Durch Spaltung dieses Spacers im polymerisierten Liposom kann die kovalente Bindung zwischen Liposomenmembran und dem umhüllenden Polymernetz gelöst werden. Derartige Systeme sind bisher noch nicht beschrieben worden.

4.8.1. Künstliche Zellwände oder „Perücken“ für Liposomen

Zur Simulation pflanzlicher Zellwände lassen sich – wie bereits erwähnt – wasserlösliche Polymere über hydrophobe Reste, z.B. Alkylketten, in Membranen verankern (Abb. 35). Triebkraft für die Insertion der Ankergruppen ist dabei der Energiegewinn beim Übergang der hydrophoben Reste von einem dynamischen micellaren System mit partiell solvensexponierten Alkylketten in die hydrophobe, geordnete Umgebung innerhalb der Membran.

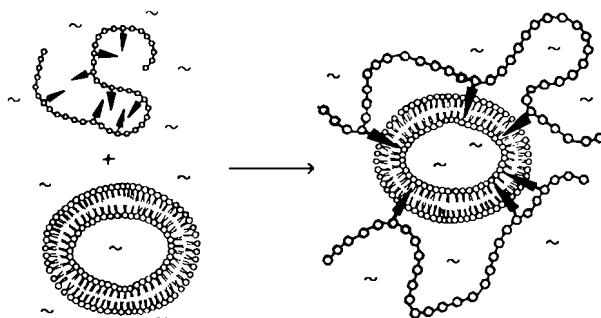


Abb. 35. Schematische Darstellung der Wechselwirkung zwischen einem micellenbildenden, wasserlöslichen Polymer mit hydrophoben Ankergruppen und einer Liposomenmembran.

Beispiele für eine derartige Wechselwirkung von Polymeren mit Membranen sind schon länger bekannt: So wurde die Adsorption synthetischer Polymere mit hydrophoben Ankergruppen an Zellmembranen bereits 1964 beschrieben^[138]. Erste Versuche mit *O*-Stearoylderivaten des

Polysaccharids Dextran wurden bald darauf durchgeführt^[139]. Wolf et al.^[140] verwendeten ähnliche Polymere, um die laterale Diffusion von ein- und angelagerten Polymeren in BLMs und Zellen zu studieren. Von Sunamoto et al.^[136, 141] wurden 1984 polysaccharidumhüllte Liposomen als Träger für Pharmaka vorgestellt. Es handelt sich hierbei um kleine, uni- oder multilamellare Liposomen, die mit palmitoyl- oder cholestrylderivatisierten Polysacchariden (Pullulan, Amylopectin) überzogen sind. Diese unsymmetrisch beschichteten Liposomen zeigen eine verringerte Permeabilität für den Fluoreszenzfarbstoff 6-CF und eine erhöhte Stabilität gegen enzymatischen Abbau durch Phospholipase D. Von Kobayashi et al.^[142] sind Mischliposomen aus DPPC und synthetischem *O*-Octadecyldextran beschrieben worden.

Die Belegung von Liposomen mit Polymeren führt jedoch nicht nur zur Stabilitätserhöhung, sondern auch zu einer Oberflächenvariation. So wurde gezeigt, daß eine Polysaccharidbeschichtung von Liposomen eine geänderte Körperverteilung bewirkt^[136, 141, 143]. In jüngster Zeit wurden neben hydrophoben Ankergruppen auch Fragmente monoklonaler Antikörper an ein Polysaccharid gebunden^[144]. Die daraus erhältlichen „Immunliposomen“ werden in vitro an speziellen Zellen viel stärker gebunden als die vergleichbaren antikörperfreien Liposomen.

Hydrophobisierte Polysaccharide treten auch mit BLMs in Wechselwirkung. So fanden Möllerfeld et al.^[145] eine drastische Erhöhung der mechanischen Stabilität von BLMs aus Glycerinmonooleat. Die übrigen Membraneigenschaften wie der Transport des lipophilen Dipikrylamins wurden dagegen durch diese Stabilisierungsmethode nur wenig beeinflußt.

Bis jetzt ist über Versuche, eine künstliche Zellwand zu simulieren, nur mit den Modellsystemen der BLMs und der SUVs berichtet worden. Will man jedoch den Insertionsprozeß und seine Auswirkungen auf die Membran, z.B. Änderungen der Systemmorphologie, direkt sichtbar machen, muß man die im Lichtmikroskop beobachtbaren, formflexiblen Riesenliposomen^[146] als Modellmembranen heranziehen. Als amphiphile Polymere für diese Untersuchungen wurden *O*-Palmitoylderivate des natürlichen, linearen Polysaccharids Dextran synthetisiert (Abb. 36)^[160].

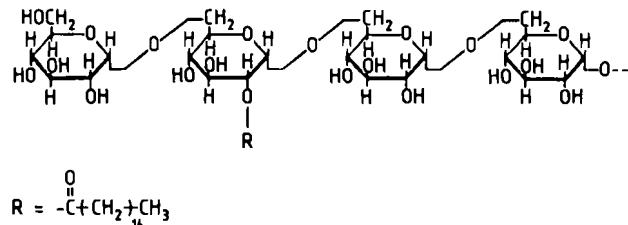


Abb. 36. *O*-Palmitoyldextrane [60] mit mittleren Molekulargewichten von 43 000 bis 160 000 und Substitutionsgraden zwischen 3 und 6 Mol-% wurden für die im Text beschriebenen Studien mit Riesenliposomen verwendet. Diese Dextrane weisen 15 bis 40 Ankergruppen pro Polymerkette auf.

Für die Messungen wurde eine temperierbare Spülkammer^[148] konstruiert, in der Riesenliposomen (ca. 20 µm Durchmesser) direkt durch Quellen eines Lipidfilms erzeugt werden. Mit einer Spritze kann das Medium ausge-

tauscht oder es können weitere Komponenten zugespült werden (Abb. 37).

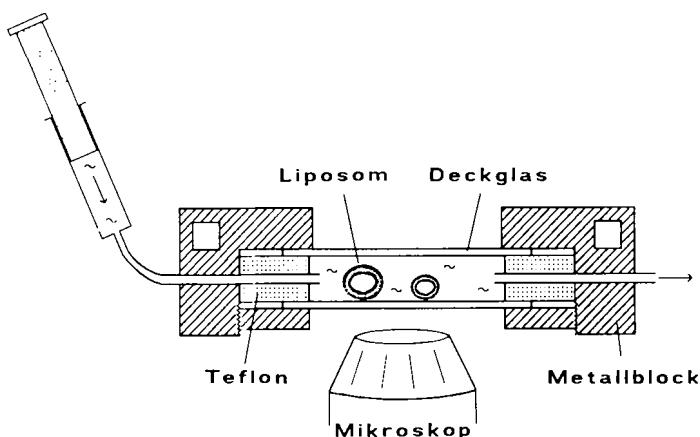


Abb. 37. Schematischer Aufbau einer Spülkammer zur Beobachtung von Riesenliposomen (Querschnitt) [148]. Das Volumen der Kammer beträgt 200 µL, der Metallblock ist thermostasiert. Mit der Spritze ist ein langsames Austauschen des Mediums möglich. Beobachtet wird mit einem Inversen Mikroskop unter Phasenkontrastdurchlicht oder unter Auflichtfluoreszenz.

Wird nun zu einer Liposomenpräparation eine Lösung eines amphiphilen Polymers gespült, ist oberhalb einer Grenzkonzentration eine deutliche Umwandlung der Morphologie der Liposomen zu erkennen: Schlauchartige Liposomen bekommen Einschnürungen, die zu perlenkettenartigen Strukturen entlang der ursprünglichen Längsachse des Liposomenschlauchs führen (Abb. 38). Diese morphologischen Veränderungen sind auf die Insertion der hydro-

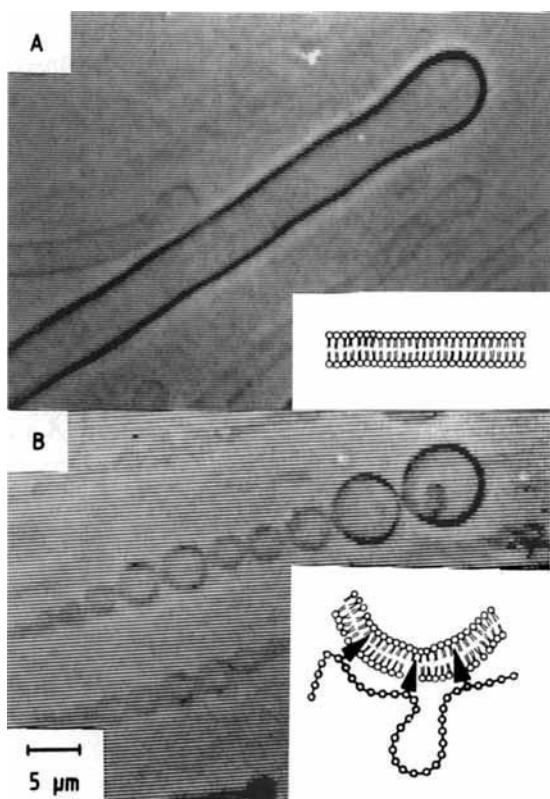


Abb. 38. Änderung der Morphologie eines schlachtförmigen Liposoms durch Wechselwirkung mit einem hydrophobisierten Dextran (phasenkontrastmikroskopische Aufnahme und schematische Erklärung) [60, 147]. A) vor, B) nach dem Zuspülen des micellaren Polymers.

phoben Ankergruppen zurückzuführen, denn Dextran ohne hydrophobe Reste bewirkt keine Änderungen, während mit hydrophobisiertem und fluoreszenzmarkiertem Dextran eine deutliche membranassoziierte Fluoreszenz zu erkennen ist. Die Grenzkonzentration, oberhalb der die Perlenketten gebildet werden, sinkt mit steigendem Hydrophobisierungsgrad und steigendem Molekulargewicht der Dextranserivate^[147].

Eine Erklärung für die Perlenkettenbildung ist in Abbildung 38 neben den entsprechenden phasenkontrastmikroskopischen Aufnahmen schematisch dargestellt: eine durch die Insertion der Ankergruppen nur in die äußere Membranhälfte induzierte Krümmung. Es handelt sich hierbei um einen eindeutigen Polymereffekt. Unsubstituierte Dextrane lösen diesen Prozeß nicht aus, und bei niedermolekularen Tensiden tritt er erst bei etwa fünf Größenordnungen höheren Konzentrationen auf. Dieser Polymereffekt beruht darauf, daß es durch die lokal hohe Konzentration der Ankergruppen zu einer kooperativen Insertion innerhalb kleiner Membranbereiche kommt.

Ähnliche Einschnürungsprozesse spielen in der Natur bei der receptorvermittelten Endozytose eine große Rolle. Hierbei führt die Anlagerung des Proteins Clathrin an die Innenseite der Zellmembran zu den „coated pits“ und zur Abschnürung der „coated vesicles“, denen eine wichtige Transportfunktion bei der Aufnahme von LDL (low-density lipoproteins) zukommt^[149]. Auf derartige Biomembranprozesse wird in Abschnitt 6 noch näher eingegangen.

Die Insertion der hydrophoben Ankergruppen in die äußere Membran von Liposomen aus DMPC wurde durch Gefrierbruchelektronenmikroskopie^[150] direkt nachgewiesen^[60, 147]. Mit dieser Methode lassen sich Oberflächenstrukturen von Membranen im Transmissionselektronenmikroskop sichtbar machen. Bei Liposomen aus natürlichen Lecithinen treten nach Tempern zwischen Vor- und Hauptphasenübergang typische Ordnungsstrukturen auf. Diese werden aufgrund ihres Erscheinungsbildes als Ripple-Phase bezeichnet^[151]. Eine Liposomenmembran aus reinem DMPC zeigt in dieser Phase einheitliche Ripple-Abstände von 12 ± 2 nm. Schon ein geringer Anteil Fremd-

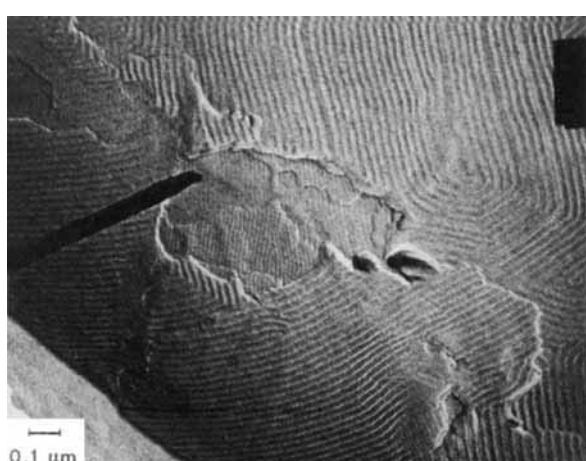


Abb. 39. Gefrierbruchelektronenmikroskopische Aufnahme [204] eines multi-lamellaren DMPC-Liposoms nach Insertion eines hydrophobisierten Polyvinylpyrrolidonderivats [60] in die äußere Membran; aufgeweitete und gestörte „Ripple“ in der äußeren Lipiddoppelschicht, ungestörte „Ripple“ in den inneren Membranschichten.

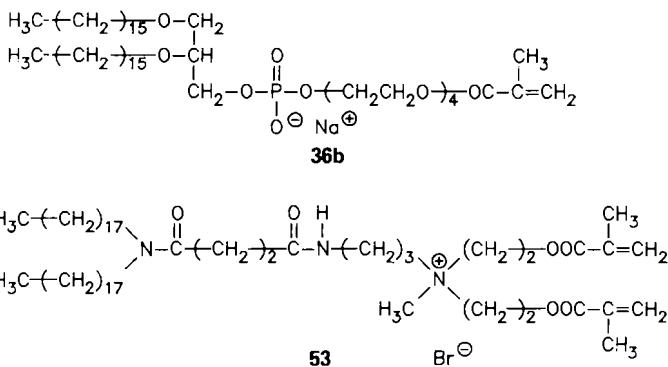
substanz in der Membran stört die Ripple-Strukturen deutlich^[152]. Abbildung 39 zeigt den Effekt der Insertion der hydrophoben Ankergruppen sehr anschaulich am Beispiel der Wechselwirkung eines hydrophobisierten Polyvinylpyrrolidonderivats mit DMPC-Liposomen^[60]. Wrend an der äußeren Oberfche des Liposoms eine gestörte und aufgeweitete Ripple-Struktur zu erkennen ist, findet man an den durch Aufbrechen sichtbar gewordenen inneren Membranoberfchen des multilamellaren Vesikels die perfekte, unveränderte Ripple-Struktur des DMPCs. Dies beweist, daß die zugegebenen amphiphilen Polymere, wie in Abbildung 35 schematisch dargestellt, nur mit der äußeren Liposomenoberfche wechselwirken und die Membran nicht passieren können. Auf ein weiteres Experiment zur Insertion amphiphiler Verbindungen in Liposomenmembranen wird in Abschnitt 5.4 eingegangen.

4.8.2. Cytoskelettmodelle oder die Stabilisierung von innen

Bei tierischen Zellen wird das sehr stark strukturierte Zellinnere von einem dreidimensionalen Proteinnetzwerk, dem Cytoskelett, durchspannt. Es dient unter anderem als statisches Innengerüst der Zelle und sorgt so für die Aufrechterhaltung der Zellsform und für die Stabilisierung der Plasmamembran. Ein Musterbeispiel für die stabilisierende Funktion des Cytoskeletts ist das Spectringerüst der Erythrocyten^[153]. Flexibilität und Stabilität werden bei der Erythrocytenmembran dadurch erreicht, daß ein zweidimensionales Proteinnetzwerk an der Innenseite der Lipiddoppelschicht verankert ist (vgl. Abb. 18). Das Proteinnetzwerk ist aus fadenförmigen Spectrinmolekülen aufgebaut. Tetramere dieses Proteins werden durch ein anderes Protein, Actin, miteinander vernetzt. Einige dieser Vernetzungspunkte sind durch ein „Ankerprotein“, Ankyrin, an das cytoplasmatische Ende eines integralen Membranproteins (Bande III) gebunden. Eine ähnliche Bindung besteht auch zwischen dem Cytoskelett und dem membrandurchspannenden Protein Glycophorin^[153a]. Darüber hinaus sind die filamentösen Spectrinmoleküle wahrscheinlich auch elektrostatisch an negativ geladene Lipide der inneren Membranhälfte gebunden^[154].

Wegen dieser hohen Komplexität der Wechselwirkung von Plasmamembran und Cytoskelett ist ein Verstehen der mechanischen und strukturellen Eigenschaften der Erythrocytenmembran ohne parallele Modelluntersuchungen kaum möglich.

Ein erstes, einfaches Modell einer Erythrocytenmembran konnte aus einer Mischung von DMPC mit dem polymerisierbaren Lipid **36b** aufgebaut werden^[154, 155], bei dem



die polymerisierbare Methacrylateinheit durch den langen hydrophilen Ethylenoxidspacer (vgl. Abschnitt 4.5.2) weit in der wässrigen Phase gehalten wird^[98b].

Durch Polymerisation derartiger Mischliposomen lassen sich an den Membranoberflächen lineare Makromoleküle erzeugen. Durch Zusatz des Lipids 53 mit zwei polymerisierbaren Einheiten im Kopfgruppenbereich können diese Makromoleküle miteinander quervernetzt werden. Dies führt zu Liposomen, deren Membranen auf beiden Seiten kovalent mit einem polymeren Netzwerk verbunden sind (Abb. 40).

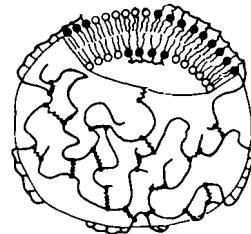


Abb. 40. Schematische Darstellung eines Mischliposoms, bei dem in die monomere Lipidmatrix polymerisierte Lipide eingelagert sind. Zusätzlich sind die Polymerketten miteinander vernetzt [155].

Eine noch bessere Annäherung an das Cytoskelett der Zelle stellen Liposomen dar, bei denen Polymernetzwerke gezielt nur im Vesikelinnern erzeugt werden. Hierbei lassen sich entweder zweidimensionale Netzwerke an die Membraninnenseite anheften, oder man kann das Vesikelinnere mit dreidimensional vernetzten Polymergelen füllen.

Solche dreidimensionalen Netzwerke, die das gesamte Liposomeninnere durchspannen, sind leicht durch die Polymerisation von eingeschlossenen hydrophilen Monomeren zugänglich. So wurden z. B. vernetzte Polyacrylamidgele im wäßrigen Innenraum von Liposomen hergestellt^[156]. Nach Zerstörung der Lipiddoppelschichten durch Tensidzugabe sind die Gelpartikel elektronenmikroskopisch sowie durch Lichtstreuung immer noch nachweisbar.

Zweidimensionale Polymernetzwerke, die über elektrostatische Wechselwirkungen nur an die innere oder äußere Oberfläche von Vesikelmembranen gebunden sind, lassen sich durch den Austausch der Gegenionen an der Außenseite von SUVs herstellen^[157]. Abbildung 41 zeigt dies schematisch.

In die Realität überführt wurde dieses Konzept mit den Salzen **54–57** aus anionischem Lipid und polymerisierbarem Gegenion^[157]. Bei **54** und **56** ist an den negativ geladenen Lipidteil (Dihexadecylphosphat bzw. dem Anion der Dimyristoylphosphatidsäure (DMPA)) als Gegenion Methacrylsäurecholinester (Cholinmethacrylat) gebunden, das zu linearen Polymerketten führt. Um Polymernetzwerke an den Membranoberflächen erzeugen zu können, wurden außerdem die Salze **55** und **57** mit vernetzbaren Gegenionen hergestellt. Die in Abbildung 41 gezeigten Möglichkeiten zur Synthese von Vesikeln mit ionisch gebundenen Polymeren aus diesen Lipiden seien im folgenden kurz vorgestellt.

Polymerisierbare Gegenionen an der Außenseite von Vesikelmembranen werden durch den Austausch von Na^+ gegen Alkylammonium-Ionen mit Methacrylatteilstruktur

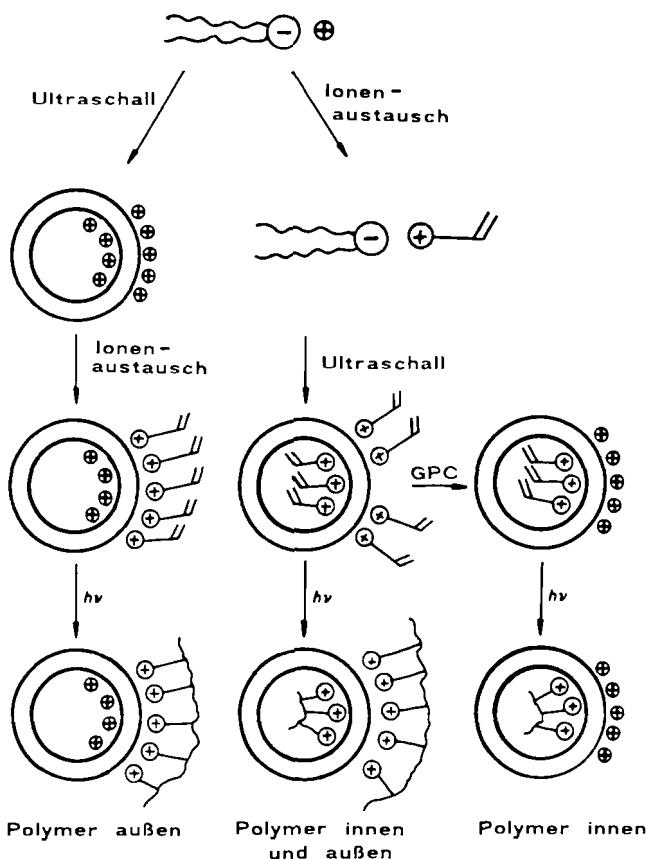
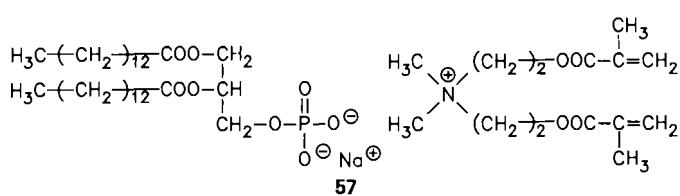
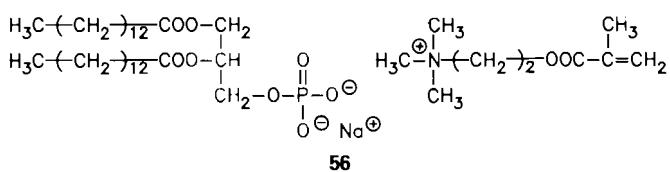
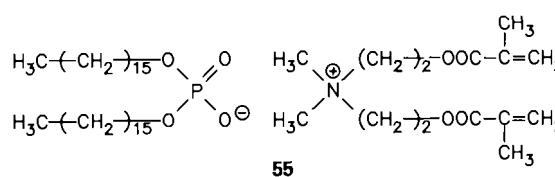
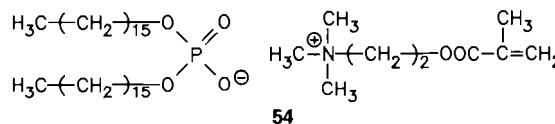


Abb. 41. Herstellung von Vesikelmembranen mit unsymmetrisch oder symmetrisch gebundenen Polyelektryten aus Lipiden mit polymerisierbaren Gegenionen [157]. GPC = Gelpermeationschromatographie.

eingeführt, was sich UV-spektroskopisch verfolgen läßt. Durch Bestrahlung mit UV-Licht können die so an der Außenseite eingeführten Gegenionen polymerisiert werden.



Zur Erzeugung von Makromolekülen an der Innenseite von Vesikeln werden zunächst – entsprechend Abbildung 41 – Vesikel mit polymerisierbaren Gegenionen auf beiden Seiten der Lipiddoppelschichten hergestellt. Gelchromatographisch können dann die an die äußere Membranoberfläche gebundenen polymerisierbaren Gegenionen gegen Na^+ ausgetauscht werden. Die Polymerisation dieses Vesikelsystems führt z. B. bei 55 zu einem hochverzweigten Polymernetzwerk, das nur an die Innenseite der Vesikelmembran gebunden ist.

Die Phasenübergangstemperaturen der Lipidmembranen hängen drastisch von der Art der Gegenionen ab. Dies sei am Beispiel von DMPA-Vesikeln mit symmetrischer Anordnung der Gegenionen erklärt. Liposomen aus 56 weisen gegenüber Liposomen aus dem Dinatriumsalz von DMPA eine von 50°C auf 31°C erniedrigte Phasenübergangstemperatur auf. Durch Polymerisation der Kationen von 56 an den Membranoberflächen wird die Phasenübergangstemperatur wiederum erhöht^[157]. Analoge Ergebnisse wurden für Dihexadecylphosphat-Vesikel erhalten^[158].

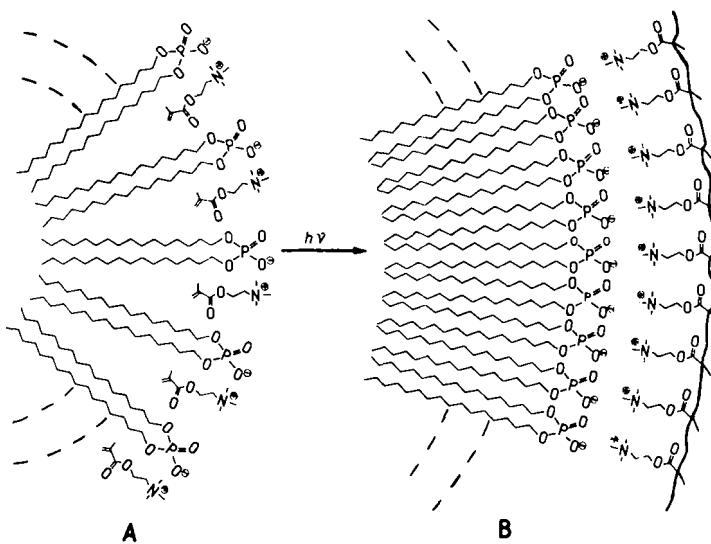


Abb. 42. Schematische Darstellung des Einflusses von Cholinmethacrylat-Gegenionen auf die Packung von Lipiden in der Membran [158]. A) Die monomeren Gegenionen sind zum Teil in die Membran inseriert und stören so die Packung der Lipide. B) Das Polymer ist nicht in die Membran inseriert, so daß die Lipidmoleküle dichter gepackt sein können.

Abbildung 42 veranschaulicht eine mögliche Erklärung für den starken Einfluß der Polymerisation des Gegenions auf den Phasenübergang. Demnach bewirkt das monomere Cholinmethacrylat-Gegenion durch eine partielle Insertion in die Lipiddoppelschicht eine Fluidisierung der Membran. Die Polymerisation der Gegenionen erfolgt aber außerhalb der Membran, so daß das Polymer nicht mehr in die Membran eingeschlossen ist. Die nun dichtere Packung der Lipidmoleküle bewirkt eine Erhöhung der Phasenübergangstemperatur. Dieses Modell wird durch Ergebnisse von Permeabilitätsmessungen gestützt^[158]. Außerdem wurden die Stabilitäten symmetrischer Vesikel aus dem Anion von 54 mit monomeren und polymeren Gegenionen verglichen.

chen. Turbiditätsmessungen zeigen, daß im Gegensatz zu den unpolymerisierten Vesikeln die Liposomen im Polymernetz sogar in 60proz. Methanol stabil sind.

Ein weiterer Schritt zur Simulation des Spectringerüsts ist die zusätzliche kovalente Verankerung eines ionogen gebundenen, polymeren Netzwerks in der Membraninnenseite. Dies läßt sich durch Einbau von vernetzbaren Lipiden (z. B. 53) in die Vesikelmembran erreichen (Abb. 43). Ein derartiges „künstliches Cytoskelett“ wurde aus Mischvesikeln der beiden Lipide 53 und 54 hergestellt^[158]. Nach Abtrennung der polymerisierbaren Gegenionen nur von der äußeren Vesikeloberfläche wurden die Cholinmethacrylat-Gegenionen der inneren Membranhälfte durch UV-Bestrahlung mit dem Vernetzer-Lipid 53 copolymerisiert. So entstand an der Membraninnenseite ein zweidimensionales Polyelektrolytnetzwerk, das elektrostatisch und kovalent an die Lipiddoppelschicht gebunden ist.

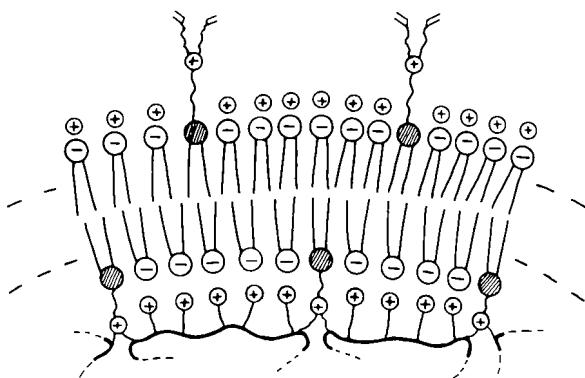


Abb. 43. „Künstliches Cytoskelett“ an der Innenseite von Vesikelmembranen, folgendermaßen erzeugt [158]: 1. Herstellung von Liposomen aus 90 Mol-% 54 (polymerisierbare Gegenionen) und 10 Mol-% 53 als Vernetzer (kovalent gebundene Methacrylatgruppen). 2. Entfernung der polymerisierbaren Gegenionen von der Außenseite. 3. Copolymerisation der an der Membraninnenseite ionisch oder kovalent gebundenen Methacrylate führt zum künstlichen Cytoskelett.

Vergleichende Freisetzungsmessungen mit [³H]Glucose an monomeren und polymerisierten Vesikeln ergaben, daß durch das ionogene Netzwerk im Vesikel und dessen cytoskelettartige Verankerung in der Membran deren Permeabilität nicht verändert wird. Damit ist die Lipiddoppelschicht und nicht das Polymergerüst die eigentliche Permeabilitätsbarriere^[158]. Dies bedeutet, daß sich derartige polymerisierte Vesikel formal wie Erythrocyten verhalten: Das Spectringerüst bestimmt die physikalische Stabilität und die Form, die Protein-Lipid-Doppelschicht die Permeabilität.

5. Das Studium biologischer Erkennungsreaktionen mit Modellmembranen

Die komplexen molekularen Vorgänge in biologischen Systemen können nur dann geregelt ablaufen, wenn sie selektiv gesteuert werden. So ist die Entwicklung vielzelliger Organismen ohne die Fähigkeit zur interzellulären Kommunikation kaum denkbar. Der entscheidende Schritt bei

einer derartigen Informationsübertragung ist die Bindung eines Signalmoleküls an einen meist membranständigen spezifischen Rezeptor. Analoge Erkennungsreaktionen sind auch für das Immunsystem der Wirbeltiere, das eingedrungene Organismen und Substanzen erkennen und beseitigen muß, von außerordentlicher Bedeutung. Hierbei ist vor allem die Unterscheidung zwischen körpereigenen und körperfremden Stoffen wichtig, ohne die es zu Autoimmunreaktionen kommt. Daher ist das Interesse von Zellbiologen, Biochemikern und Biophysikern an Struktur und Funktion biologischer Membranen sowie deren Wechselwirkung mit Signalmolekülen sehr groß. Für solche Untersuchungen sind in den letzten Jahren neben den komplexen Biomembranen auch verstärkt einfachere Modellmembranen verwendet worden^[82, 159]. Die Oberflächenwechselwirkungen von Liposomen mit biologischen Systemen sind auch für den gezielten Pharmakontransport (drug targeting) von entscheidender Bedeutung^[187].

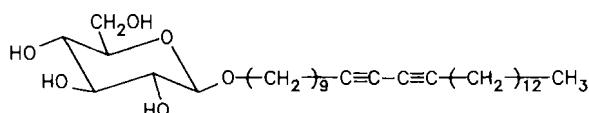
Welche Substanzklassen spielen nun eine Rolle bei den vielfältigen Erkennungsreaktionen in der Natur? Der bekannteste und wohl am besten untersuchte Steuerungsvorgang ist die Replikation und Transkription von DNA und die Translation von RNA^[160]. Die Erkennungsreaktion ist hierbei die Basenpaarung von Nucleinsäuren. Modellexperimente, in denen diese Reaktion angewendet wird, werden in Abschnitt 5.2 diskutiert. Die für die Oberflächenerkennung wichtigsten Membrankomponenten sind die Glycoproteine und Glycolipide^[66] als Bestandteile der Glycocalix. Sie haben in der natürlichen Zellmembran lebenswichtige Funktionen und Eigenschaften wie Zellerkennung, Antigenität, Histokompatibilität und Lectinaffinität. Über Experimente zur Erkennung von Zuckerstrukturen in Modellmembranen durch Lectine oder Antikörper wird in den Abschnitten 5.1, 5.3 und 5.4 berichtet.

5.1. Reversible Zucker-Lectin-Wechselwirkung mit polymerisierten Liposomen

Membrangebundene Zuckerstrukturen können unter anderem von Lectinen erkannt werden. Diese ursprünglich nur in Pflanzen gefundenen Proteine weisen spezifische Bindungsstellen für bestimmte Zucker auf^[161]; gut untersucht ist Concanavalin A (Con A), das α -Glucopyranoside und α -Mannopyranoside binden kann. Es ist ein tetrameres Protein mit einer Bindungsstelle pro Untereinheit. Von niedermolekularen Zuckern können die Bindungsstellen des Proteins abgesättigt werden, ohne daß eine Aggregation auftritt. Sind jedoch mehrere Zuckereinheiten Teil eines supramolekularen Systems, z. B. einer Zelle, so bewirkt Lectinzugabe Agglutination und Ausfällung. Die kompetitive Besetzung der Bindungsstellen durch niedermolekulare Zucker löst den Niederschlag unter Bildung der ursprünglichen Zelldispersion wieder auf^[162].

Sollen nun derartige biologische Erkennungsreaktionen mit polymerisierten Membransystemen durchgeführt werden, kann man entweder ein natürliches Lipid mit Erkennungsstruktur in eine Polymermembran einbauen oder polymerisierbare Lipide mit Erkennungsstruktur in der Kopfgruppe synthetisieren. So wurden bereits vor einigen Jahren Glycolipide mit verschiedenen Zuckerkopfgruppen

pen, z. B. **58**, hergestellt, die eine Butadiineinheit als polymerisierbare Gruppe in der hydrophoben Kette enthalten^[163].



58

Die Wechselwirkung des Glucosederivats **58** mit Con A wurde in Monoschichten^[163] und in Liposomen untersucht^[114a,b]. Liposomen aus **58** lassen sich durch UV-Bestrahlung polymerisieren und zeigen dabei den für Butadiinderivate üblichen Farbwechsel^[72, 164] von farblos über blau nach rot. Das Experiment mit Con A und zuckertragenden polymerisierten Liposomen ist in Abbildung 44

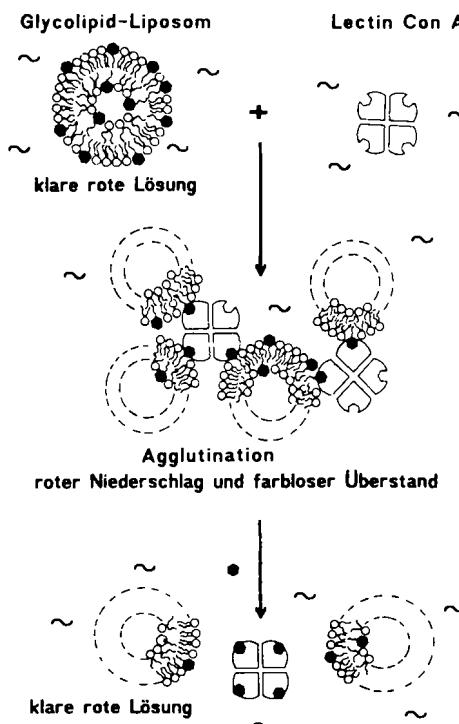


Abb. 44. Schematische Darstellung der reversiblen Wechselwirkung von Con A mit polymerisierten Glycolipid-Liposomen aus **58**. ● = Zuckergruppe.

skizziert. Nach Zugabe von Con A zu einer tiefroten Lösung des polymerisierten Liposoms aus **58** tritt innerhalb weniger Sekunden Agglutination ein: Es entsteht ein roter Niederschlag mit einem farblosen Überstand. Wird nun α -Methylmannopyranosid zugegeben, das stärker an Con A bindet, wird der Niederschlag redispersiert, und man erhält wieder die ursprüngliche klare rote Lösung der Liposomen. Es kommt also zur kompetitiven Verdrängung der liposomal gebundenen Zuckermoleküle durch die niedermolekularen Zuckermoleküle.

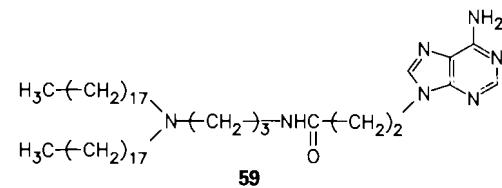
Überträgt man ein qualitatives Experiment dieser Art auf synthetische, biologisch relevante Zuckerstruktur-

ren^[165], oder verwendet man natürliche Glycolipide (siehe Abschnitt 5.4), so eignen sich derartige Modelle z. B. zur Simulation immunologischer Phänomene und deren Anwendung in der Medizin (Affinitätschemotherapie^[166]).

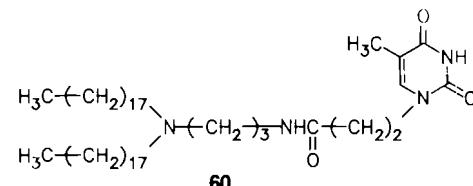
5.2. Nucleolipid-Nucleobasen-Wechselwirkung an Monoschichten

Eine weitere Erkennungsreaktion in der Natur ist die Basenpaarung der DNA. Zum besseren Verständnis dieser Base-Base-Wechselwirkung und der Beziehung zwischen Struktur und Funktion der DNA wurden viele Polynucleotidanaloga synthetisiert^[167]. Die häufigsten Modelle sind lineare, ungeladene Polymere mit Nucleobasen als Seitengruppen. Hierbei wurden spezifische Wechselwirkungen gefunden^[167, 168]. Allerdings lagen bei keiner Untersuchung der Base-Base-Wechselwirkung an synthetischen Polymeren die Nucleobasen orientiert vor. Daher wurden neuerdings in dem Bemühen, die Spezifität der Basenpaarung für Oberflächenreaktionen zu nutzen, auch Nucleolipide in Monoschichten orientiert und ihre Wechselwirkungen mit Nucleobasen untersucht^[169]. An solchen geordneten Nucleolipidmonoschichten zeigten Kornberg et al.^[170], daß bestimmte Rezeptorproteine, z. B. die B1-Untereinheit der Ribonucleotid-Reduktase, spezifisch gebunden werden und zweidimensionale Kristallstrukturen bilden können.

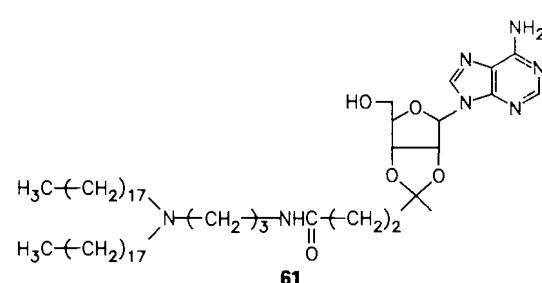
59–62 sind Beispiele für neue ungeladene Nucleolipide, die geordnete Strukturen wie Monoschichten und Liposomen bilden^[169b, 171]. Diese Nucleolipide ergeben trotz ihrer



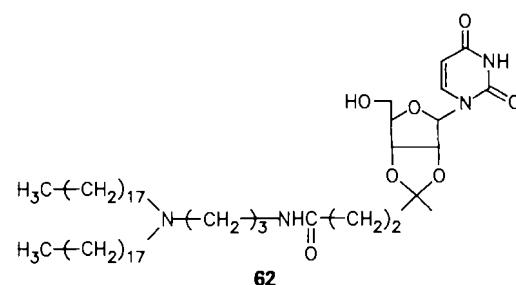
59



60



61



62

durchweg großen und nur schwach hydrophilen Kopfgruppen stabile, festanaloge Monoschichten, bei denen die Nucleobasekopfgruppen in die Subphase ragen. Bei einer Wechselwirkung mit komplementären und nicht komplementären Nucleobasen als Substraten in der Wasserphase ist ein Einfluß auf das Schub-Flächen-Verhalten zu erwarten. Exemplarisch sei dies für gelöste monomere Nucleobasen am Schub-Flächen-Verhalten des Uridinlipids **62** gezeigt (Abb. 45).

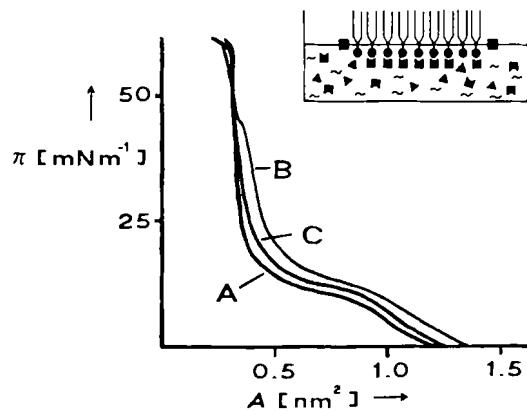


Abb. 45. Schub-Flächen-Diagramme des Uridinlipids **62** bei 20°C auf verschiedenen Subphasen [169b]. A) Wasser; B) 0.01 M Adenin (komplementär (\blacksquare)); C) 0.01 M Thymin (nicht komplementär (\blacktriangle)). π = Oberflächendruck, A = Fläche pro Molekül.

Das charakteristische Phasenverhalten des Nucleolipids **62** (Kurve A) wird durch die gelösten Nucleobasen nicht grundsätzlich verändert. Es werden sowohl die flüssigana-
logie als auch die festanaloge Phase gebildet, wobei der Flächenbedarf nach Zugabe der Basen etwas größer ist. Dabei macht sich der Einfluß von Adenin, das zum Nucleolipid komplementär ist (Kurve B), stärker bemerkbar als der von Thymin (Kurve C).

Die Wechselwirkung einer Nucleolipidmonoschicht mit polymeren Nucleotidbasen ist am Beispiel des Adenosinlipids **61** gezeigt (Abb. 46). Merkliche Unterschiede im Einfluß der beiden in die Subphase gegebenen Polynucleotide treten bei einem Oberflächendruck von mehr als 15 mN m⁻¹ auf. Das nicht komplementäre Poly-Adenin-Nucleotid (Poly(A)) wird schon bei einem Schub von 40–50 mN m⁻¹ aus dem Kopfgruppenbereich verdrängt und verliert damit jeden Einfluß auf die festanaloge Packung der Lipidschicht (Kurve C). Dagegen zeigt die zur Lipidkopfgruppe komplementäre Poly(U)-Base auch noch bei hohen Oberflächendrücken eine erhebliche Wechselwirkung mit der Monoschicht (Kurve B).

Bei Mischliposomen aus Nucleolipiden und dem Phosphatidylcholin DPPC (3:1) läßt sich keine eindeutige Wechselwirkung mit monomeren Nucleobasen nachweisen.

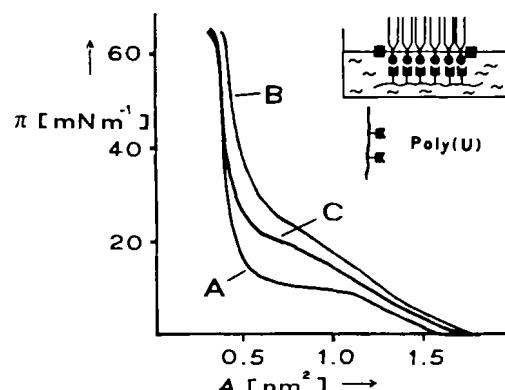
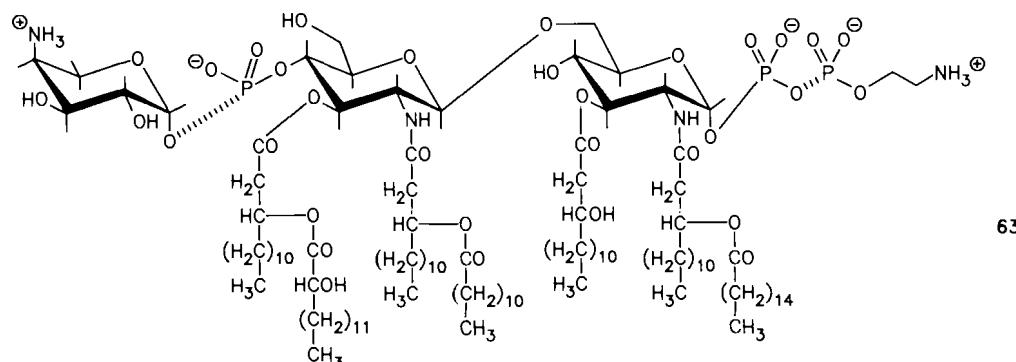


Abb. 46. Schub-Flächen-Diagramme des Adenosinlipids **61** [169b] (Subphase: Puffer, pH = 7.3, 1.5×10^{-5} M). A) Ohne polymere Nucleobase; B) 1.5×10^{-5} mol Base L⁻¹ Poly(U) (komplementär); C) 1.5×10^{-5} mol Base L⁻¹ Poly(A) (nicht komplementär). π = Oberflächendruck, A = Fläche pro Molekül.

sen. Dagegen ist eine deutliche Wechselwirkung zwischen diesen Liposomen und polymeren Nucleobasen erkennbar. Die gemessenen Hypochromieeffekte^[169b] (Erniedrigung der Extinktion bei Basenkopplung) ergeben allerdings keinen signifikanten Unterschied zwischen spezifischer und unspezifischer Wechselwirkung. Dies ist eventuell darauf zurückzuführen, daß die schwache Base-Base-Wechselwirkung durch die stärkere ionische Wechselwirkung des Polynucleotids mit DPPC überlagert wird (vgl. Abschnitt 4.8).

5.3. Untersuchungen zur Wechselwirkung zwischen Bakterienzelle und Komplementsystem an Modellmembranen

Bei der Immunabwehr wird die äußere Membran gram-negativer Bakterien durch die Reaktionen des Komplementsystems C und die dadurch entstehenden hydrophilen Poren geschädigt, was zum Tod des Bakteriums führt. Die Komplementkaskade besteht aus mindestens 14 Serumproteinen, die in einer bestimmten Reihenfolge aktiviert werden^[172]. Der klassische Weg der C-Aktivierung wird durch die Adsorption der ersten Komponente C1 an die Bakterienoberfläche eingeleitet, wobei die C1-Subkomponente C1q vornehmlich an das Lipid A **63** in der äußeren Membran gram-negativer Bakterien bindet^[173]. Dieser erste



Schritt der Komplementkaskade kann mit Modellmembranen untersucht werden. So wurde Lipid A 63, der membranständige Lipidanker des Lipopolysaccharids, bereits mehrfach in Modellmembranen eingebaut^[174]. In Kooperation mit der Arbeitsgruppe Loos wurde die Wechselwirkung der Komplementkomponente C1q mit Lipid A 63 in Monoschichten und Liposomen im Detail untersucht^[175]. Lipid A 63 enthält sieben hydrophobe Alkylketten unterschiedlicher Länge und eine hydrophile Kopfgruppe aus drei Glucosaminheiten, die zusätzliche Phosphat- und Ammoniumgruppen aufweisen^[176]. C1q ist aus sechs kollagenartigen, fibrillären Strängen aufgebaut, die durch eine Zentraleinheit verbunden sind (Abb. 47). Die freien Enden tragen globuläre Kopfgruppen, die als Erkennungsstellen fungieren. Insgesamt besteht das C1q-Molekül aus 18 Peptidketten und hat ein Molekulargewicht von 410000 D^[177].

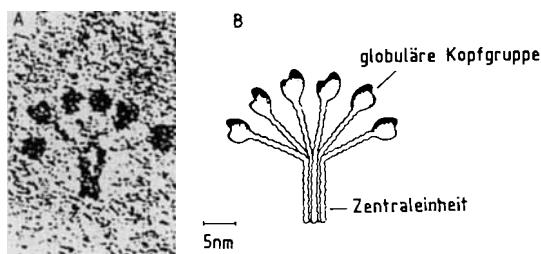


Abb. 47. A) Elektronenmikroskopische, B) schematische Darstellung der Komplementkomponente C1q [177].

Abbildung 48 zeigt die Isothermen von gereinigtem, oligomerartigem Lipid A 63 bei mehreren Temperaturen. Lipid A 63 bildet in der Monoschicht flüssig- und festanaloge Phasen, die auch noch bei 37°C bemerkenswert stabil sind. Der Flächenbedarf in der festanalogen Phase liegt mit ca. 1.3 nm² pro Molekül in dem für ein Lipid mit sieben Alkylketten erwarteten Bereich.

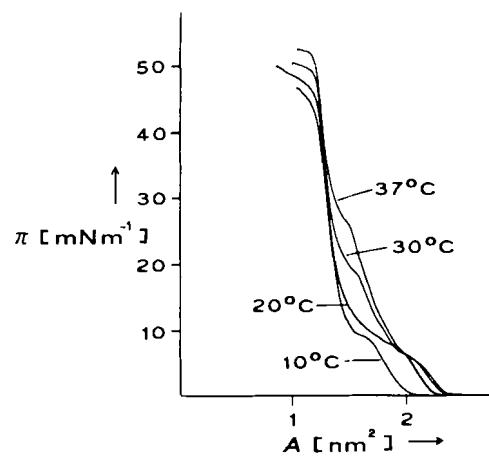


Abb. 48. Schub-Flächen-Diagramme von Lipid A 63 bei 10, 20, 30 und 37°C (Subphase: Wasser). π = Oberflächendruck, A = Fläche pro Molekül.

Zur Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Lipid A 63 und C1q wurden Monoschichten aus Lipid A 63 unter konstantem Druck gehalten und C1q in die Subphase injiziert. Der Flächenbedarf ist nach der Injektion von C1q deutlich erhöht, wenn die Monoschicht im flüssiganalogen Zustand vorliegt (2 mN m⁻¹, Abb. 49). Wird dagegen die

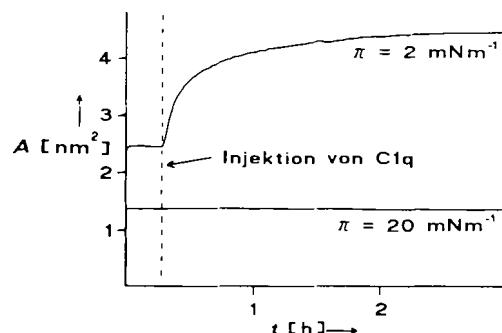


Abb. 49. Wechselwirkung des Proteins C1q (1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) mit Lipid-A-Monoschichten bei 20°C (Flächen-Zeit-Diagramm): Injektion von C1q (----) in die Subphase von Lipid-A-Monoschichten bei 20 mN m⁻¹ (festanaloge Packung) und bei 2 mN m⁻¹ (flüssiganaologe Packung); sichtbare Wechselwirkung (Expansion der Monoschicht) nur mit dem fluiden Film. A = Fläche pro Molekül.

Monoschicht konstant unter einem höheren Druck (20 mN m⁻¹) gehalten, ändert sich der Flächenbedarf nicht. In der festanalogen Phase sind die Lipid-A-Moleküle offensichtlich so dicht gepackt, daß die C1q-Kopfgruppen nicht in die Monoschicht eindringen können. Für eine Erkennungsreaktion scheint also neben der Spezifität der Partner auch das Vorliegen einer flüssiganaologen Phase, wie sie in biologischen Membranen gefunden wird^[178], eine wichtige Rolle zu spielen.

Die Bindung von C1q an Lipid-A-Monoschichten wurde durch Untersuchungen mit einem fluoresceinmarkierten Anti-C1q-Antikörper^[179] bestätigt. Diese Experimente wurden mit einer Filmwaage durchgeführt, die mit einem Fluoreszenzmikroskop kombiniert war^[180] (Abb. 50). Mi-

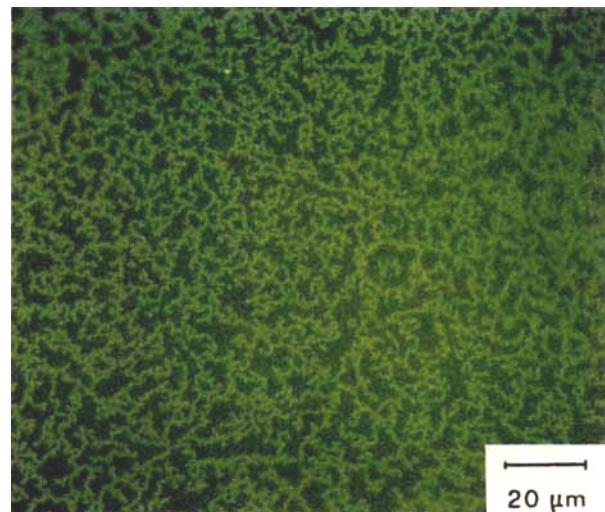


Abb. 50. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme zum Nachweis der Bindung von C1q an eine Monoschicht aus Lipid A 63 und DPPC (1:4) (vgl. Abb. 51). Nach Injektion eines fluoresceinmarkierten Antikörpers gegen C1q (Anti C1q-FITC-IgG, FITC = Fluoresceinisothiocyanat) in die Subphase der Monoschicht mit gebundenum C1q tritt strukturierte Fluoreszenz durch Bindung des FITC-Antikörpers an den membranfixierten C1q-Lipid-A-Komplex auf.

schungskurven haben die vollständige Mischbarkeit von Lipid A 63 und DPPC gezeigt. Ob die in Abbildung 50 ebenfalls erkennbare Phasenseparation (vgl. Abschnitt 6.1) bereits durch die Adsorption von C1q an die Lipid-A-Monoschicht oder erst durch die C1q-Antikörper-Wechselwir-

kung bedingt wird, ist nach diesen Experimenten noch nicht zu entscheiden. Da nach heutigem Wissen C1q über seine globulären Kopfstrukturen an Lipid A 63 bindet, kann man versuchen, die geschilderten Monoschichtergebnisse mit einem vereinfachten Modell gemäß Abbildung 51 zu erklären.

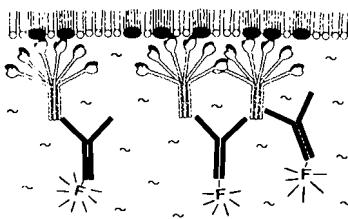
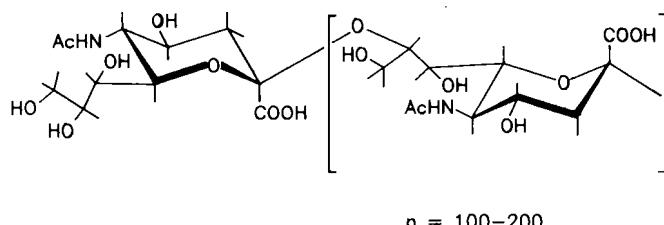


Abb. 51. Schematische Darstellung der Adsorption von C1q an eine Lipid-A-DPPC-Monoschicht und des Nachweises durch Bindung des fluoresceinmarkierten Antikörpers Anti-C1q-FITC-IgG. F bedeutet Fluoresceinisothiocyanat.

Auch an Riesenliposomen konnte die Wechselwirkung zwischen C1q und Lipid A 63 mit FITC-markierten Antikörpern nachgewiesen werden (zur Methode vgl. Abschnitt 5.4). Hier zeigte sich ebenfalls, daß der Antikörper nach C1q-Zugabe nur diejenigen Liposomen im Fluoreszenzmikroskop sichtbar macht, deren Membran Lipid A 63 enthält.

5.4. Induktion von Membranprozessen durch Erkennungsreaktionen an Vesikeloberflächen

Ein weiteres Beispiel für eine Erkennungsreaktion an der Membranoberfläche ist die Bindung eines spezifischen Antikörpers an das entsprechende, in der Membran verankerte Antigen. Als Modellsystem für solche Oberflächenreaktionen wurde mit *Bitter-Suermann et al.*^[181] das Polysaccharid K1 64 aus *E. coli* untersucht^[60]. Es besteht aus



α -(2-8)-verknüpften N-Acetylneuraminsäureeinheiten^[182], die an einen Lipidrest gebunden sind.

64 gehört zu den sauren Kapselpolysacchariden, denen als Bestandteil der äußeren Bakterienmembran eine Rolle in der Serum- und Phagocytoseresistenz gram-negativer Bakterien zugeschrieben wird^[181a]. Zum Nachweis des Einbaus von 64 in Modellmembranen wurden Riesenliposomen aus dem Phosphatidylcholin DMPC in der in Abbildung 37 gezeigten Spülkammer verwendet. Zu einer solchen Liposomenpräparation wurde eine micellare Lösung von 64 gespült (Abb. 52A). Nach der Insertion der Lipidanker in die Liposomenmembran (Abb. 52B, vgl. Abschnitt 4.8.1) wurde der fluoreszenzmarkierte Anti-K1-Antikörper^[181b] zugegeben. Die Erkennungsreaktion zwischen Antigen und Antikörper (Abb. 52C) zeigt sich daran, daß die ursprünglich diffuse Fluoreszenz des gelösten Antikörpers nun auf die Liposomenoberfläche konzentriert ist.

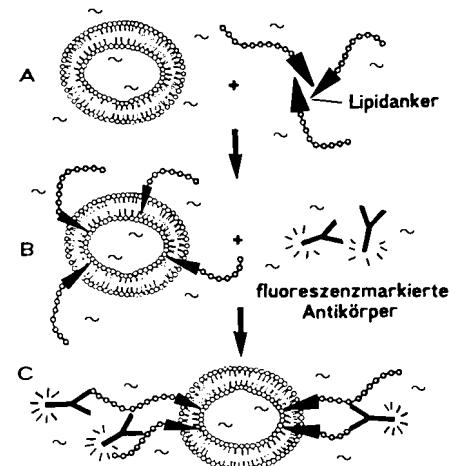
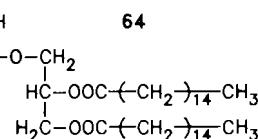


Abb. 52. Schematische Darstellung des Experiments zum Nachweis der Insertion von K1 64 in Liposomenmembranen durch Immunfluoreszenz. A, B) Insertion der Lipidanker von K1 in die Lipiddoppelschicht. C) Bindung des fluoreszenzmarkierten Anti-K1-Antikörpers und Induktion einer Phasenseparation durch Vernetzung (Patching) der K1-Moleküle.

Der Vergleich einer phasenkontrastmikroskopischen Aufnahme (Abb. 53A) und einer Aufnahme in Auflichtfluoreszenz derselben Stelle (Abb. 53B) zeigt, daß die Fluoreszenz des Antikörpers eindeutig membranassoziiert ist, also 64 an der Membran nachgewiesen werden kann. Darüber hinaus wird aber auch deutlich, daß die Fluoreszenz – abhängig von Zeit und Konzentration – nicht mehr homogen über die Membran verteilt ist: Es ist ein Patching^[183] zu erkennen. Dies kann als Fällungsreaktion im Zweidimensionalen interpretiert werden, hervorgerufen durch die Reaktion zwischen einem multivalennten Antigen, das zu lateraler Diffusion innerhalb der Membran befähigt ist, und einem bivalenten Antikörper. Es findet also nicht nur eine einfache Erkennungsreaktion zwischen Antigen und Antikörper statt, sondern es kommt letztlich zur Zu-



sammenlagerung einer Membrankomponente zu Clustern, d.h. bereits zu einem einfachen Membranprozeß (vgl. Abschnitt 6.1).

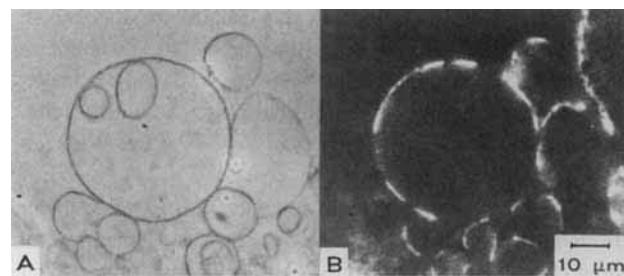


Abb. 53. Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis von 64 in DMPC-Liposomen [60]. A) Phasenkontrastmikroskopische, B) auflichtfluoreszenzmikroskopische Aufnahme derselben Stelle (Patching entsprechend Abb. 52C).

6. Simulation der Dynamik von Biomembranen

Die Dynamik von Biomembranen (Formfluktuationen, Membraninstabilitäten), wesentlich für Bewegungs- und Transportprozesse, ist faszinierend und von großer biologischer Bedeutung. Es ist eine reizvolle Aufgabe, zelluläre Ereignisse durch phänomenologische physikalische Eigenchaften der Plasmamembran zu erklären^[155a].

Die Plasmamembran mit ihren vielfältigen Funktionen ist wesentlich mehr als nur eine passive Permeabilitätsbarriere zur Abgrenzung des Cytosols gegen die Umwelt. Einerseits sorgen membranständige Transportproteine oder Ionencarrier für einen „lokalen“ geregelten Stoffaustausch in beiden Richtungen. Andererseits sind wichtige „großflächige“ Transportvorgänge durch die Membran dank dynamischer Prozesse möglich. Beispiele hierfür sind die Aufnahme- und Abgabeprozesse der Zelle (Abb. 54).

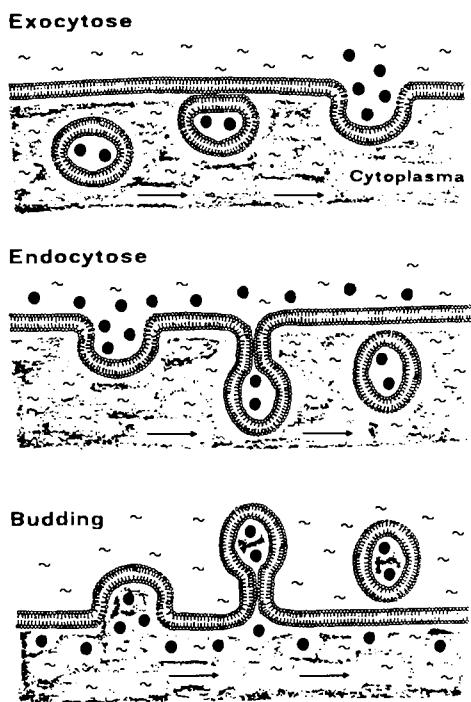


Abb. 54. Schematische Darstellung wichtiger vesikulärer Transportprozesse der Biomembran [184]: Exocytose, Endocytose und Budding.

So können Makromoleküle durch eine Zelleinschnürung in das Zellinnere geschleust werden (Endocytose)^[185]. Zur Abgabe von Stoffen des Cytosols an die Außenwelt existieren analoge Mechanismen: Bei der Exocytose wird durch Fusion kleiner Vesikel aus dem Zellinnern mit der Plasmamembran der Vesikelinhalt an das Zelläußere abgegeben. Es können jedoch auch Ausstülpungen der Plasmamembran nach außen abgeschnürt werden, so daß die abgegebene Fracht von einer Lipiddoppelschicht umhüllt bleibt. Dieses „Budding“ spielt z. B. beim Verlassen der Wirtszellen durch Viren eine Rolle.

All diese Vorgänge setzen dynamische Prozesse in der Biomembran voraus, die z. B. zur lokalen Domänenbildung (Entmischung) führen (Patching und Capping). Der Mechanismus derartiger dynamischer Zellprozesse wird in der Membranbiologie normalerweise als äußerst komplex, meist an Proteine gebunden und energiegetrieben be-

schrieben. Entmischungsphänomene können jedoch auch in reinen Lipiddoppelschichten gegenionen- oder temperaturabhängig ausgelöst werden^[186]. Vereinfachte Membranmodelle helfen daher bei der Beantwortung der Frage, was die Minimalanforderungen sind, damit ein bestimmter Prozeß in einem gegebenen System überhaupt ablaufen kann. Die folgenden Abschnitte sollen illustrieren, wie an rein synthetischen, polymeren Modellsystemen dynamische Vorgänge induzierbar sind, die den Biomembranprozessen zumindest formal entsprechen.

6.1. Patching und Capping in polymerisierten Mischliposomen

Einfache, durch laterale Diffusion bedingte dynamische Prozesse der Biomembran sind das Patching und Capping (Abb. 55). Sie werden an der Zelloberfläche durch Antigen-Antikörper-Wechselwirkung ausgelöst und lassen sich bei Verwendung fluoreszenzmarkierter Antikörper im Lichtmikroskop direkt sichtbar machen^[183, 187]. Nach Bindung der fluoreszenzmarkierten Antikörper an die Antigene auf der Zelloberfläche (Abb. 55A) tritt zunächst eine diffuse, über die gesamte Zellmembran verteilte Fluoreszenz auf. Durch die bivalenten Antikörper werden die Antigene quervernetzt, was rasch zu einer Phasenseparation in der Membran und damit zu fluoreszierenden Patches führt (Abb. 55B). Ein Beispiel für diesen Patching-Prozeß in einer Vesikelmembran wurde bereits in Abschnitt 5.4 vorgestellt. Bei der Zelle wandern anschließend die einzelnen Domänen innerhalb einiger Minuten zu einem großen Bereich, dem „Cap“, zusammen (Abb. 55C). Während das Patching lediglich eine Fähigkeit zur lateralen Diffusion voraussetzt, wird angenommen, daß die nachfolgende Aggregation zu einer einzigen Kappe („cap formation“) ein energiegetriebener Prozeß ist^[183, 187].

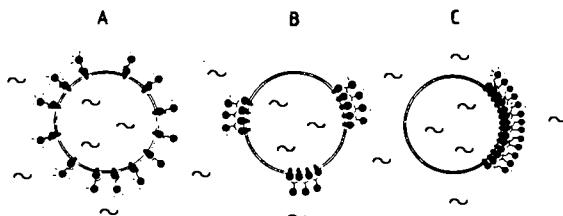


Abb. 55. Schematische Darstellung der durch bifunktionelle (fluoreszenzmarkierte) Antikörper induzierten Aggregation von Membranrezeptoren. A) Gleichmäßig verteilte gebundene Antikörper (diffuse Fluoreszenz). B) Bildung von Domänen (Patching). C) Aggregation der Domänen (Capping).

Durch Polymerisation ungesättigter Lipide in Mischmembranen mit natürlichen Lipiden läßt sich eine Phasen-separation induzieren, durch die die immunologisch wichtigen Prozesse des Patching und darüber hinaus des Capping an Riesenliposomen imitiert werden^[188]. Solche Experimente wurden an Mischliposomen aus dem polymerisierbaren Lipid 27 (Schema 3) und DMPC (1:1) durchgeführt; dabei wurde die Membran-dynamik durch Beimischung geringer Anteile eines Fluoreszenzlipids sichtbar gemacht. In den aus den monomeren Komponenten aufgebauten Liposomen sind alle drei Lipide vollständig mischbar, wie an der diffusen Fluoreszenz der Riesenliposomen

zu erkennen ist. Nach Photopolymerisation von **27** bei 40 °C (immer noch diffuse Fluoreszenz, Abb. 56A) und Ab-

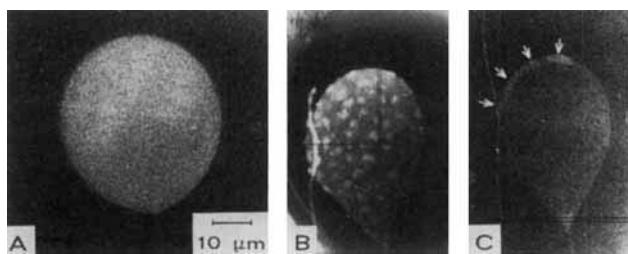


Abb. 56. Simulation des Patching- und Capping-Prozesses mit polymerisiertem Riesenliposomen. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von Riesenliposomen aus einer 1:1-Mischung des Butadienderivats **27** und DMPC (0.1 Mol-% Fluoreszenzlipid als Marker). A) Homogen verteilte Fluoreszenz im polymerisierten Liposom bei 40°C. B) Entmischung zu fluoreszierenden Domänen im selben Liposom bei 28°C, d.h. nach Abkühlung unter die Phasenübergangstemperatur des polymeren Lipids. C) Bildung einer einzigen fluoreszierenden Kappe in diesem Liposom nach einigen Minuten [188a].

kühlung der jetzt partiell polymerisierten Liposomen unter die Phasenübergangstemperatur des polymeren Lipids treten isolierte Bereiche intensiver Fluoreszenz auf (Abb. 56B), da das niedermolekulare DMPC zusammen mit dem Fluoreszenzfarbstoff aus der Polymermatrix herausgedrängt wird. Innerhalb einiger Minuten „fließen“ die sichtbaren Patches zu einer einzigen Membrankappe zusammen (Abb. 56C). Geschwindigkeit und Erscheinungsbild dieser im Fluoreszenzmikroskop direkt beobachteten Aggregation sind analog zu denen des biologischen Vorbilds, z.B. des Capping von bivalenten Antikörpern auf der Membran von Zellen.

6.2. Formumwandlungen von Riesenliposomen

Die Transportmechanismen der Endozytose und des Budding beinhalten eine lokale Ein- bzw. Ausstülzung der Membran mit nachfolgender Abtrennung eines kleinen Vesikels (vgl. Abb. 54). Bei diesen zweistufigen Prozessen ist der erste, reversible Schritt eine lokale Veränderung der Membrankrümmung. Der zweite Schritt, die Abschnürung des Vesikels, ist dann irreversibel. Abbildung 57 zeigt schematisch, wie dieser Vorgang in der Natur bei Erythrocyten ausgelöst wird. Hier kommt es – wahrscheinlich durch eine laterale Kontraktion des Cytoskeletts – zu einer lokalen Änderung der spontanen Krümmung der Membran^[154].

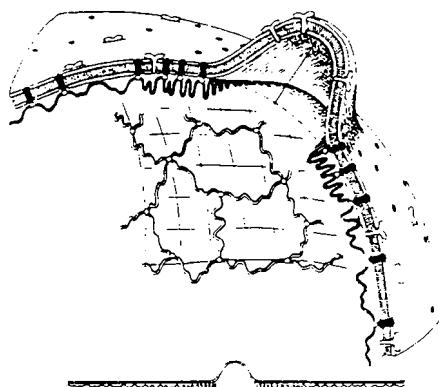


Abb. 57. Schematische Darstellung der Ausstülzung einer Erythrozytenmembran, hervorgerufen durch eine lokale Entkopplung des Cytoskeletts von der Lipid-Protein-Doppelschicht [154].

Auch in synthetischen Modellsystemen können Ausstülpungen durch laterale Phasenseparation hervorgerufen werden. Wird ein Riesenliposom aus einer Mischung von DMPC und dem polymerisierbaren Spacerlipid **36b** (Schema 4) durch UV-Bestrahlung polymerisiert, treten aus der anfangs glatten Oberfläche (Abb. 58A) im Lichtmikroskop deutlich sichtbare Ausstülpungen hervor (Abb. 58B). Sie wachsen auch noch kurz nach dem Abschalten des UV-Lichts weiter, außerdem steigt ihre Zahl mit dem Anteil an polymerisierbarem Lipid. Dies deutet darauf hin, daß es zu einer Phasenseparation zwischen dem gebildeten Polymerlipid und DMPC kommt, wie dies in Abbildung 58C schematisch gezeigt ist.

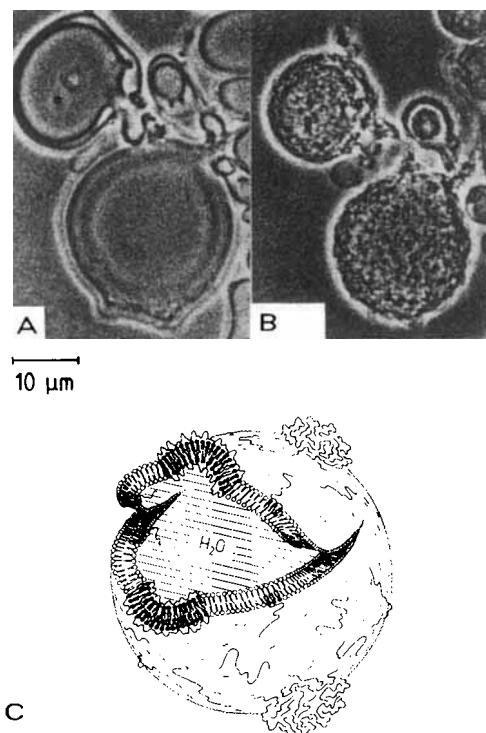


Abb. 58. Phasenkontrastmikroskopische Aufnahmen von Riesenvesikeln aus DMPC und **36b** (1:1) A) vor, B) nach UV-Polymerisation (100 s). C) Schematische Darstellung der Struktur der Membran nach der Polymerisation; laterale Entmischung führt in der monomeren Lipidmatrix zu Domänen des Polymerlipids mit höherer spontaner Krümmung [154].

Ein recht bekanntes Beispiel für einen reversiblen Übergang zwischen unterschiedlichen Zellmorphologien sind die Formumwandlungen der Erythrozyten, die durch äußere Einflüsse, wie Veränderung von pH-Wert, Temperatur, Ionenstärke oder Pharmaka, erreicht werden können^[189]. In den letzten Jahren ist eine Reihe von theoretischen Arbeiten erschienen, um das Auftreten der beobachteten Zellformen zu erklären^[190]. Vor allem ist das Modell von *Svetina* und *Zeks*^[190d] zu nennen, das die Stabilität der verschiedenen Zellformen ohne jede Annahme über die Struktur der Zellmembran erklärt. Es basiert auf der Idee, daß die beiden Hälften der Zellmembran unabhängig voneinander expandieren und sich kontrahieren können. Kommt es aber zu einer unterschiedlichen Flächenänderung der beiden Doppelschichthälften, verändert dies die Membrankrümmung und damit die Form der Zelle.

Dieses Konzept konnte durch das Studium unilamellarer Riesenliposomen bestätigt werden^[155b]. Abbildung 59

zeigt eine Serie von reversiblen Formumwandlungen, die ein Riesenvesikel aus dem Ammoniumlipid **27** in Abhängigkeit von der Temperatur in unmittelbarer Nähe der Phasenübergangstemperatur (42°C) erfährt. Bei 42°C liegt das Vesikel in einer discoiden Form vor (A). Bei Erwärmung auf 43°C entsteht über eine Ausstülpung (B) eine Vesikelabschnürung (C). Bei Abkühlung auf 41°C hingegen findet eine Einstülpung statt (D, E). Diese dynamischen Membranprozesse ähneln formal Budding bzw. Endozytose und sind vollständig reversibel. Sie können unter der Annahme einer unterschiedlichen Ladungsverteilung an der inneren und äußeren Membranhälfte mit dem Modell von Svetina und Zeks erklärt werden^[155b].

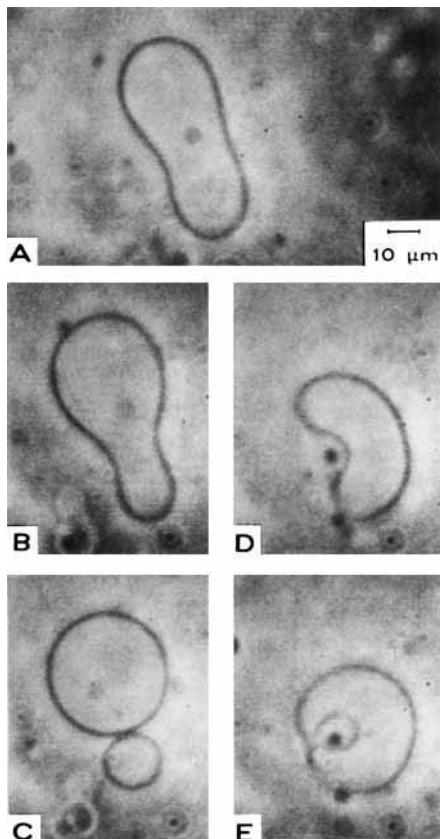


Abb. 59. Phasenkontrastmikroskopische Aufnahmen von temperaturinduzierten, reversiblen Formumwandlungen eines Riesenvesikels aus dem Ammoniumlipid **27** [155b]. A B C: Abschnürung eines Vesikels aus einem discoiden Riesenvesikel durch Temperaturerhöhung. A-D E: Bildung einer Einstülpung durch Abkühlen desselben discoiden Riesenvesikels. A) 42°C ; B) 42.5°C ; C) 43°C ; D) 41.5°C ; E) 41°C .

An Riesenvesikeln aus DMPC und dem Spacerlipid **36b** (4 : 1) kann ebenfalls eine Membraneinstülpung induziert werden (Abb. 60), jedoch nicht durch eine Temperaturänderung, sondern vielmehr durch UV-Polymerisation einer Membrankomponente. Hier kommt es nicht zu einer Ausstülpung von phasensepariertem Polymer (vgl. Abb. 58), da der Anteil des polymerisierbaren Lipids nur 20 Mol-% beträgt. Der beobachtete Membranprozeß ist die einer Endozytose analogen Membraneinstülpung. Sie ist ebenfalls mit dem Svetina-Zeks-Modell erklärbar: Man kann annehmen, daß die Konzentration des Spacerlipids **36b** wegen dessen sehr großer Kopfgruppe in der äußeren Membranhälfte geringfügig höher ist als in der inneren. Die Polymerisation, die mit einer Verringerung der Fläche pro Molekül einhergeht, führt dann zu einer stärkeren Reduktion der

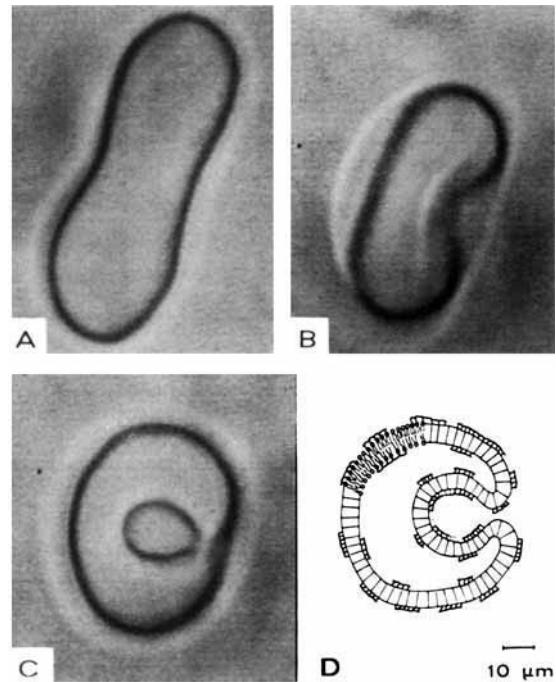


Abb. 60. Endocytoseartige Formumwandlung eines Riesenvesikels aus DMPC und **36b** (4 : 1) durch UV-Polymerisation [155a]. A) Monomeres Vesikel bei 29°C . B, C) Formumwandlung nach 2 min UV-Bestrahlung. D) Schematische Darstellung der Entstehung der Einstülpung durch unsymmetrische Lipidverteilung (höherer Anteil des polymerisierbaren Lipids **36b** in der äußeren Membranhälfte); die Polymerisation führt zu einer größeren Reduktion der Fläche der äußeren Membranhälfte und damit zur Einstülpung.

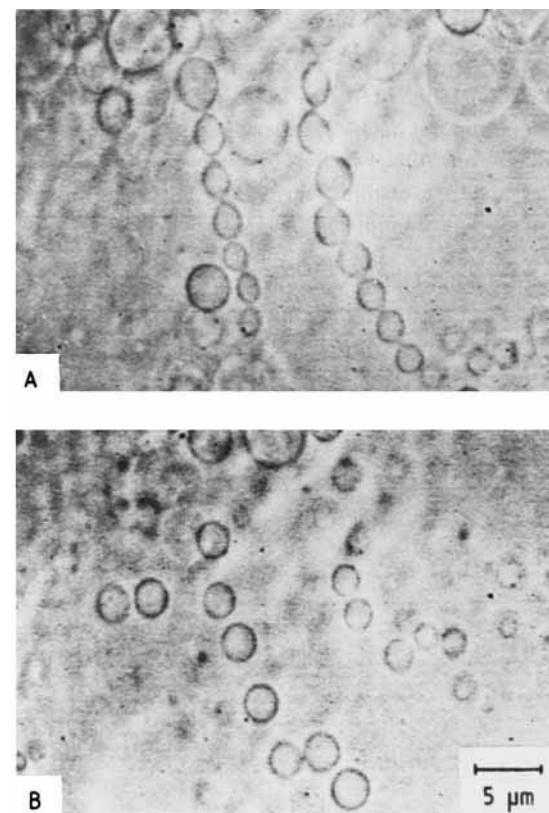


Abb. 61. Photochemisch induzierte Spaltung zusammenhängender Vesikel aus dem Benzylammoniumlipid **19** [155b, 191]. A) Vor der Bestrahlung; B) nach 2 s Bestrahlung mit UV-Licht.

Die geschilderten Experimente zeigen, daß die für Transportvorgänge in Zellen wichtigen Formumwandlungen schon durch geringe Veränderungen in der Membran oder deren Umgebung ausgelöst werden können. Der zweite, irreversible Schritt der Abtrennung von Vesikeln erfordert jedoch mehr als nur eine Krümmungsänderung. In Abschnitt 4.3 wurde bereits ein photoreaktives System vorgestellt, mit dem dieser Prozeß im Modell nachvollzogen werden kann: Die kurzzeitige Bestrahlung von miteinander verbundenen Riesenvesikeln (Abb. 61A) aus dem Benzylammoniumlipid **19** führt über eine photoinduzierte Phasenseparation zu einer Trennung der Vesikel (Abb. 61B)^[155b, 191].

6.3. Selektive Öffnung von phasenseparierten Liposomen

6.3.1. Tod einer Tumorzelle – ist der Prozeß simulierbar?

Die Vielfalt von Biomembranprozessen und das Zusammenspiel von molekularen und zellulären Ereignissen zeigt sich in faszinierender Weise am Tod einer Tumorzelle, die dem Immunsystem des Körpers nicht entkommen kann (Abb. 62^[192]). Die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme zeigt den Angriff eines aktiven Makrophagen auf eine Tumorzelle (Abb. 62A).

Das molekulare Ereignis: Das tumorspezifische Antigen auf der Zelle wird über einen Antikörper durch den aktvierten Makrophagen erkannt.

Die zellulären Ereignisse: Es kommt vermutlich zum Patching der Antigen-Antikörper-Komplexe. Der dann fol-

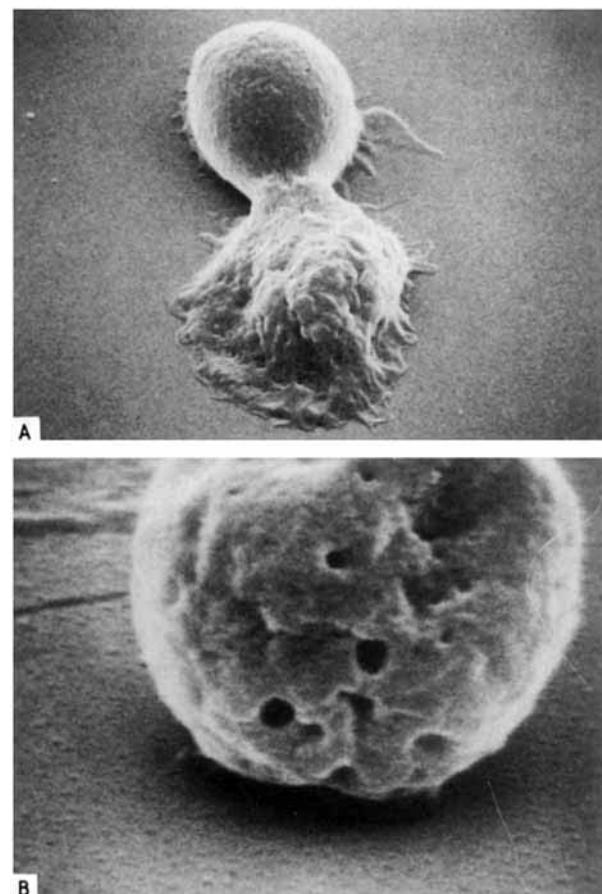


Abb. 62. Elektronenmikroskopische Aufnahmen des Angriffs eines aktiven Makrophagen auf eine Tumorzelle [192]. A) Die Tumorzelle (oben) wird von einem aktiven Makrophagen (unten) attackiert. B) Vom Makrophagen „gebohrte“ Löcher in der Membran der Tumorzelle.

gende Membranprozeß, der den Tod der Tumorzelle herbeiführt, schädigt lokal die Zellmembran, so daß der Zellinhalt ausläuft; zurück bleibt eine Ghost-Zelle (Abb. 62B). Der Makrophage kann also Löcher in die Lipiddoppelschicht „bohren“.

Ist dieser Prozeß simulierbar, und was ist dazu erforderlich? Zwei Aspekte sind zu beachten: 1. Trotz der sichtbaren Löcher kollabiert die Lipid-Protein-Doppelschicht nicht; dies beweist ihre Stabilität, um deren Simulation es in diesem Beitrag schon mehrfach ging. 2. Die Löcher müssen durch lokale Prozesse an der entmischten Membran entstehen. Denkbar ist, daß der Makrophage an den Kontaktstellen durch einen lokalen Endocytoseprozeß seiner Membran die Membran der Tumorzelle aufreißt. Eine andere Möglichkeit ist, daß ein vom Makrophagen induzierter, über das Cytoskelett der Tumorzelle gesteuerter Öffnungsprozeß die Löcher erzeugt. Ein weiterer Weg wäre die Lyse von Domänen durch eine enzymatische Spaltung der Phospholipide zu wasserlöslichen Lysophospholipiden, die dann aus der Membran herausgelöst würden. Der wirkliche Verlauf ist noch unbekannt.

In den folgenden Abschnitten soll am einfachen Modell der phasenseparierten polymerisierten Liposomen die formale Simulation dieses Prozesses beschrieben werden.

6.3.2. Domänenbildung in Vesikelmembranen

Zur Simulation des Lochbildungsprozesses in Zellen, der „Entkorkung“, eignen sich phasenseparierte Liposomen. Um eine totale Zerstörung derartiger Liposomen durch die Entkorkung zu vermeiden, ist es notwendig, daß das Liposom überwiegend aus einer polymerisierten Lipidmatrix besteht. In diese stabile Matrix sind als labile Domänen niedermolekulare Lipide eingelagert (Abb. 63).

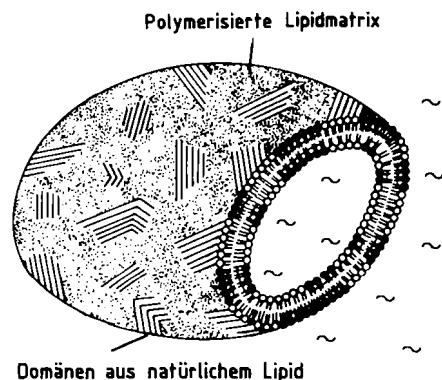
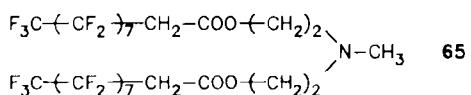


Abb. 63. Schematische Darstellung von phasenseparierten Liposomen; polymerisierte Lipide bilden die stabile Polymermatrix, in die Domänen aus nicht mit dem Polymer mischbaren natürlichen Lipiden eingelagert sind.

Die Induktion einer Phasenseparation durch Polymerisation wurde bereits in Abschnitt 6.1 vorgestellt. Alternativ kann die Domänenbildung durch die Wahl nicht verträglicher Lipidmischungen von vornherein vorgegeben werden. Beispiele hierfür sind Mischungen von Lipiden mit Kohlenwasserstoffketten und Lipiden mit Fluorkohlenstoffketten^[193]. Mischliposomen aus DMPC und dem damit nicht mischbaren fluorierten Amin **65** weisen z. B. bei DSC(Differential Scanning Calorimetry)-Messungen zwei Phasen-



Übergänge auf, deren Temperaturen identisch mit denen der Liposomen aus den reinen Lipiden sind^[193a]. Gefrierbruchelektronenmikroskopie zeigt, daß aus der Lipidmischung tatsächlich phasenseparierte Liposomen mit Domänen der einzelnen Lipide und nicht zwei unterschiedliche Liposomenpopulationen entstehen. So wurde anhand der für Lecithinliposomen typischen Ripple-Struktur (vgl. Abschnitt 4.8.1) die Domänenbildung in den Mischmembranen aus DMPC und **65** (95:5) direkt sichtbar gemacht (Abb. 64).

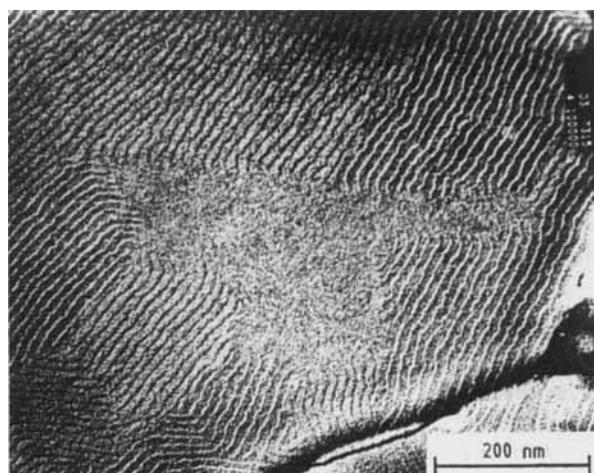
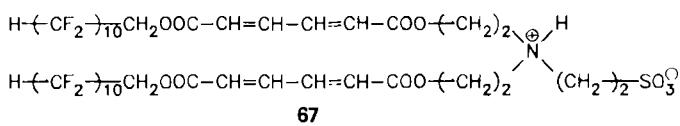
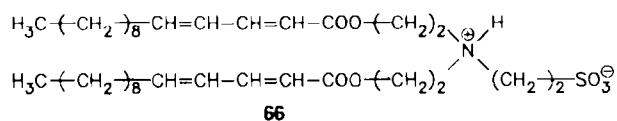


Abb. 64. Elektronenmikroskopische Aufnahme (Gefrierbruchtechnik) einer Liposomenmembran (95 Mol-% DMPC, 5 Mol-% fluoriertes Lipid **65**) mit entmischten Bereichen (Domänen). Die Ripple-Textur zeigt das Vorliegen von DMPC-Bereichen an, während die glatte Oberfläche von einer Domäne des fluorierten Lipids hervorgerufen wird [193a].

Zum Aufbau der stabilen Polymermatrix für Entkorngungsversuche an Mischliposomen (Abschnitt 6.3.4) wurden als polymerisierbare Lipide die zwitterionischen Amphiphile **66** und **67** mit Taurinkopfgruppen verwendet. Sie



enthalten als hydrophobe Einheiten CH_2 - bzw. CF_2 -Ketten und als polymerisierbare Gruppen Pentadiensäure- bzw. Muconsäureeinheiten. Aus beiden polymerisierbaren Lipiden können durch Beschallen kleine unilamellare Liposomen hergestellt werden. Die Dichtigkeit der Polymermatrix von Vesikeln aus **66** wurde durch zeitabhängige Freisetzungsmessungen mit Eosin als Fluoreszenzmarker überprüft. Abbildung 65 zeigt die Eosin-Freisetzung von monomeren und polymerisierten Vesikeln des Lipids **66**. Während die monomeren Vesikel bereits nach fünf Stunden die

Hälfte des Farbstoffs freigesetzt hatten, hatte das Polymer selbst nach 30 Stunden nur ca. 10% seines Inhalts verloren.

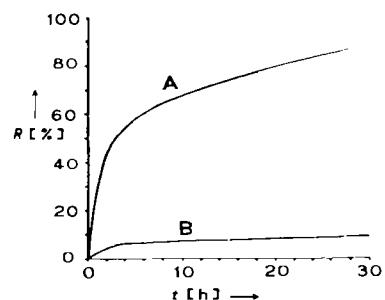


Abb. 65. Freisetzung R von Eosin aus Liposomen (SUV) von **66** [200]. A) Monomer; B) polymerisiert (5 Mol-% Azobisisobutyronitril, 60°C, 12 h).

6.3.3. Korkenzieher für verkorkte Liposomen^[194]

Es existieren bereits zahlreiche Vorschläge zur Destabilisierung von Liposomenmembranen. Hierzu gehören photochemische Permeabilitätserhöhungen^[194], temperaturabhängige Öffnungen, z. B. durch Überschreiten der Phasenübergangstemperatur^[195], oder die Verwendung pH-sensibler Liposomen^[196]. Diese Untersuchungen wurden ausschließlich an niedermolekularen Liposomen durchgeführt.

Um den in Abbildung 62 beim Angriff des Makrophagen auf eine Tumorzelle gezeigten Prozeß zu simulieren, gilt es, durch membrandestabilisierende Prozesse nicht das gesamte Liposom zu zerstören, sondern lediglich selektiv Domänen aus einer Lipidmatrix herauszulösen^[197]. Abbildung 66 faßt Verfahren zur selektiven Öffnung von stabilisierten, phasenseparierten Liposomen zusammen.

Die polymeren Bestandteile derartiger Mischliposomen sind die stabilisierende, formerhaltende Matrix. Zum Herauslösen der labilen niedermolekularen Lipidbereiche sind zumindest zwei Methoden denkbar: die Lipidlösung, d. h. das Herauslösen niedermolekularer Lipiddomänen mit Detergenten unter Bildung von Mischmicellen oder direkt mit organischen Lösungsmitteln (z. B. Aceton oder Ethanol) oder, nach dem Vorbild der Natur, die Lipidspaltungen. Die enzymatische Hydrolyse von Phospholipiden zu Lysophospholipiden durch Phospholipasen (vgl. Abb. 75) ist eines der Verfahren der Natur zum Auf- und Abbau von Membranen^[198]. Seine Übertragbarkeit auf polymere Modellsysteme konnte von Büschl et al. bereits vor einigen Jahren nachgewiesen werden^[199].

Die Simulation von Lipidspaltungen durch chemische Verfahren eröffnet zahlreiche Wege zur lokalen Öffnung von niedermolekularen Lipiddomänen in polymerisierten Liposomen. Zwei Prinzipien sind in Abbildung 66 ange deutet: Kopfgruppenspaltung an zweikettigen Lipiden oder Kettenpaltung an membrandurchspannenden Lipiden führen jeweils zu zwei Detergensmolekülen. Zur Umsetzung dieser Prinzipien in chemische Reaktionen wurden die doppelkettigen oder membrandurchspannenden Lipide **68** und **69** bzw. **70** mit einer Disulfidgruppe als spaltbarer Einheit synthetisiert^[200]. Die reduktive Spaltung der wasserunlöslichen Disulfide z. B. mit Dithiothreitol (DTT) führt zu den entsprechenden partiell wasserlöslichen, einkettigen Thiolen [Gl. (a)].

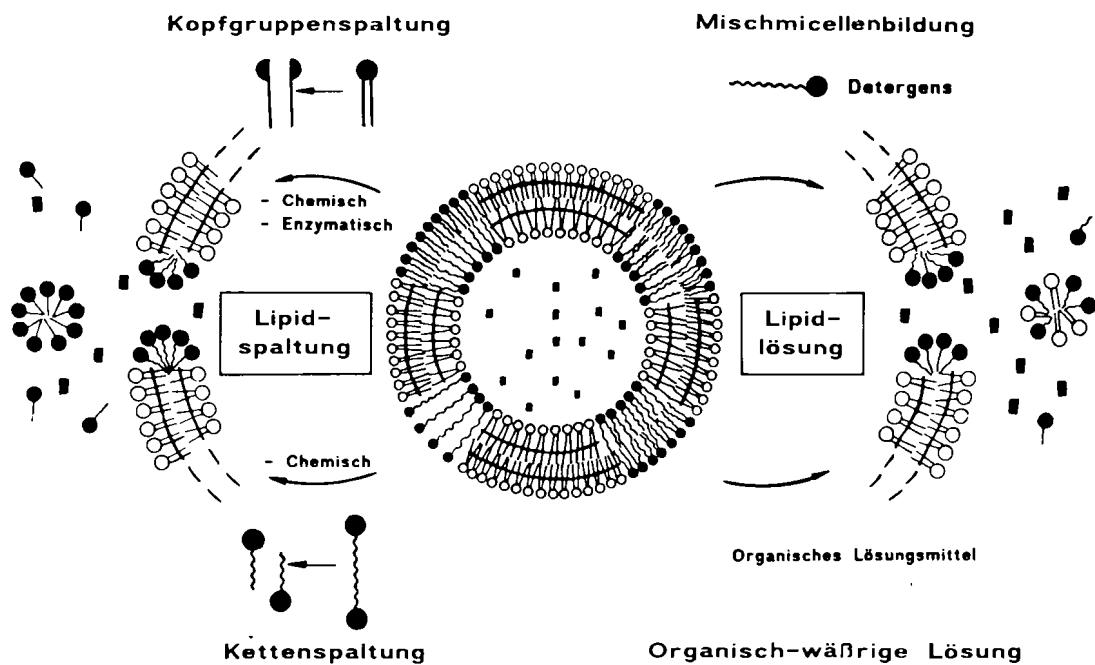
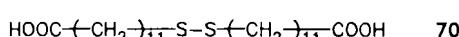
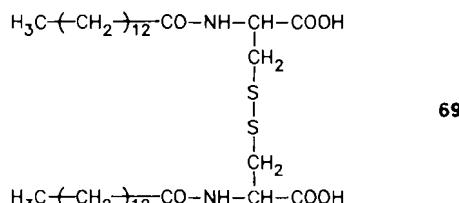
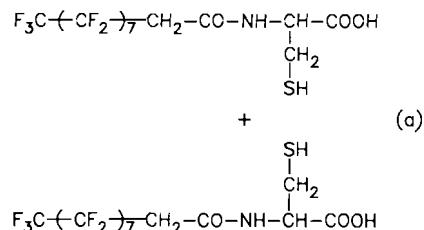
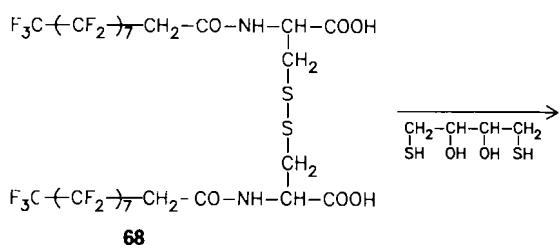


Abb. 66. Methoden zur Öffnung phasenseparierter Liposomen, die aus einer stabilen Matrix aus polymerisierten Lipiden und labilen niedermolekularen Domänen bestehen.



Die Cystinlipide **68** und **69** bilden bei Beschallen Liposomen. Geht man von eosingefüllten Liposomen aus **68** aus, so lässt sich die Membranzerstörung durch Zugabe von Reduktionsmitteln fluoreszenzspektroskopisch verfol-

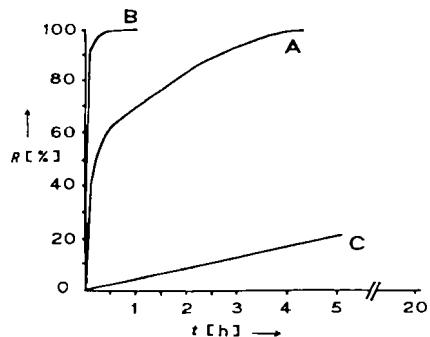


Abb. 67. Freisetzung R von Eosin aus Liposomen (SUV) des fluorierten Cystinderivats **68** bei pH = 9 [200]. A) Spaltung der Disulfidbindung mit 0.1 mM Na₂O₄. B) Spaltung mit DTT (2 mg mL⁻¹). C) Ohne Spaltungsreagens.

gen (Abb. 67). Die Spaltung der Disulfidbindung im Cystinlipidliposom mit DTT läuft bedeutend schneller ab als die mit Natriumsulfit. DTT wurde daher für die weiteren Öffnungsreaktionen als „Korkenzieher“^[201] verwendet.

6.3.4. Chemische und enzymatische Öffnung von polymerisierten Mischliposomen

Die Kombination der in Abschnitt 6.3.3 diskutierten polymerisierbaren Taurinlipide **66** und **67** mit korkenbildenden Amphiphilen (**68–70**) ergibt die gewünschten stabilen Polymerliposomen mit spaltbaren „Korken“-Domänen. Die Öffnung der labilen Domänen in Mischliposomen, die durch Beschallen oder durch Quellen hergestellt wurden, wurde sowohl elektronenmikroskopisch als auch durch die Freisetzung von eingeschlossenem Eosin nachgewiesen^[202]. Der Öffnungsprozess ist in Abbildung 68 skizziert.

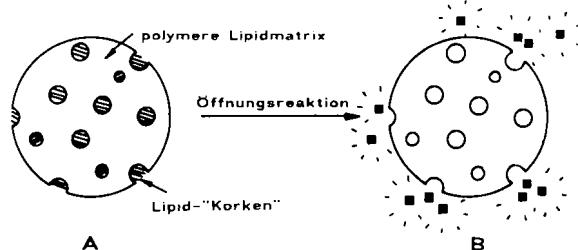


Abb. 68. Nachweis der Lochbildung in polymerisierten Vesikeln mit labilen Domänen mittels fluoreszenzfarbstoffen. A) Keine Fluoreszenz des eingeschlossenen Markers aufgrund von Selbstlöschung. B) Fluoreszenz des freigesetzten und damit verdünnten Markers nach der Lochbildung.

Kopfgruppenspaltung an Lipiden: Um den Effekt der Lochbildung in phasenseparierten Liposomen auf die Freisetzung von eingeschlossenen Markern beurteilen zu können, wurden zum Vergleich Liposomen mit homogener, d.h. nicht phasenseparierter Verteilung der Korkenkomponente untersucht. Hierzu wurden Mischliposomen aus dem polymerisierbaren Lipid **66** und dem damit mischbaren Cystinlipid **69** (9:1) verwendet (Abb. 69). Ohne DTT als

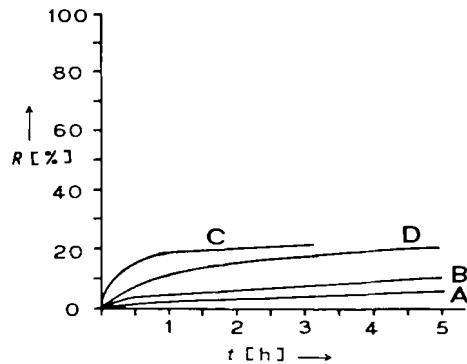


Abb. 69. Freisetzung R von Eosin aus domänenfreien monomeren und polymerisierten Liposomen (SUV) [200] (90 Mol-% **66**, 10 Mol-% **69**, pH=9). A) Polymerisierte Liposomen ohne Spaltungsreagens. B) Monomere Liposomen ohne Spaltungsreagens. C) Polymerisierte Liposomen nach Zugabe von DTT (1 mg mL^{-1}). D) Monomere Liposomen nach Zugabe von DTT (1 mg mL^{-1}).

Spaltungsreagens für die Disulfidgruppe von **69** unterscheiden sich die Geschwindigkeiten der Freisetzung aus den monomeren (Kurve B) und polymerisierten Liposomen (A) nur unwesentlich. Die Spaltung der Lipide durch DTT kann nicht zur Lochbildung führen, da die spaltbaren Lipide in der Membran homogen verteilt sind und die aus ihnen gebildeten verträglichen Lysolipide nicht aus der Membran herausgedrängt werden. Nach kurzer Zeit verläuft daher die Freisetzung (C, D) vergleichbar zu der ohne DTT.

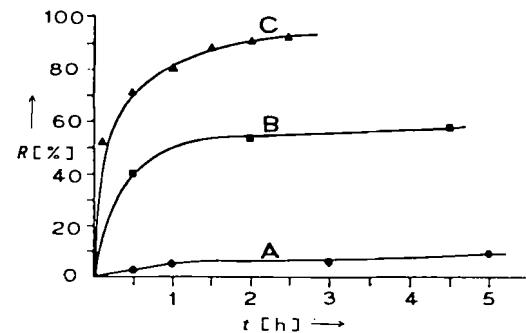


Abb. 70. Freisetzung R von Eosin aus phasenseparierten, domänenhaltigen Liposomen (SUV) [200] (90 Mol-% **66**, 10 Mol-% **68**, pH=9). A) Polymerisierte Liposomen ohne Spaltungsreagens. B) Monomere Liposomen nach Zugabe von DTT (1 mg mL^{-1}). C) Polymerisierte Liposomen nach Zugabe von DTT (1 mg mL^{-1}).

Das Freisetzungsverhalten ändert sich drastisch, wenn man zu den domänenhaltigen Liposomen aus dem gleichen polymerisierbaren Lipid **66** und dem domänenbildenden „Fluorkorken“ **68** (9:1) übergeht (Abb. 70). In diesem Fall werden bei der Disulfidspaltung an den unpolymatisierten Liposomen die Domänenbereiche aus **68** durch DTT rasch zerstört. Durch laterale Diffusion kön-

nen jedoch die monomeren Lipide nachdiffundieren, so daß die Membranstörungen relativ schnell ausheilen. Nach Spaltung der gesamten Korkenkomponente (ca. 1 h) geht das Freisetzungsverhalten (B) auf das ohne DTT (Kurve A) zurück. DTT-Zugabe zu den polymerisierten Liposomen entkorkt die diffusionsträge Polymermatrix, und Eosin wird rasch und nahezu vollständig freigesetzt (C).

Kommt es in diesen Modellsystemen wirklich zu der in Abbildung 62 für die Zelle gezeigten Lochbildung in der Membran? Dies konnte elektronenmikroskopisch nach zwei Verfahren bestätigt werden. Abbildung 71 zeigt die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen eines phasenseparierten, polymerisierten Liposoms aus dem Taurinlipid **66** und dem spaltbaren Cystinlipid **68** vor und nach der Zerstörung der labilen Domänen. Eindeutig zu erkennen ist, daß es nicht zum Kollabieren der Lipiddoppelschichten kommt. Die Funktion des Cytoskeletts der Zelle, nämlich die Stabilisierung der Membran, wird also von der Polymermatrix der Liposomen wahrgenommen.

Die beobachtete Porenbildung ist kein Artefakt der Präparation für die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme. Dies beweisen gefrierbruchelektronenmikroskopische Untersuchungen von phasenseparierten Mischliposomen derselben Zusammensetzung (Abb. 72). Abbildung 72A zeigt die glatte, unstrukturierte Oberfläche des polymeren Mischliposoms vor der Entkorkung. In Abbildung 72B sind die Löcher in der Membran nach erfolgter Spaltung des Korkenlipids wiederum klar zu erkennen. Die unterschiedliche Größe der Löcher in den entkorkten Liposomen (Abb. 71B und 72B) ist auf unterschiedliche Domänen-

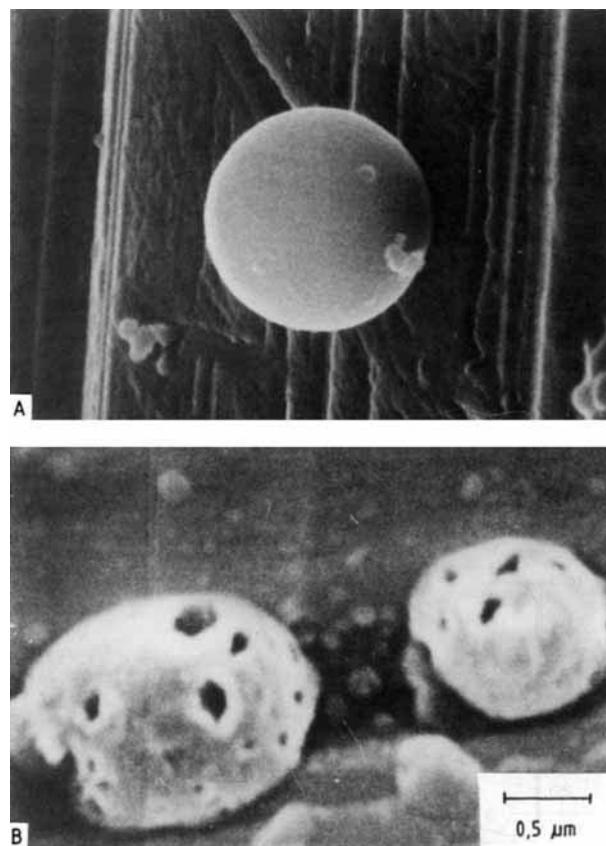


Abb. 71. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von phasenseparierten, polymerisierten Liposomen (90 Mol-% **66**, 10 Mol-% **68**) [200, 203]. A) Liposom vor der Spaltungsreaktion. B) Löchrige Membran nach erfolgter Kopfgruppenspaltung.

größen – bedingt durch unterschiedliche Temperzeiten der Mischliposomen vor deren Polymerisation – zurückzuführen.

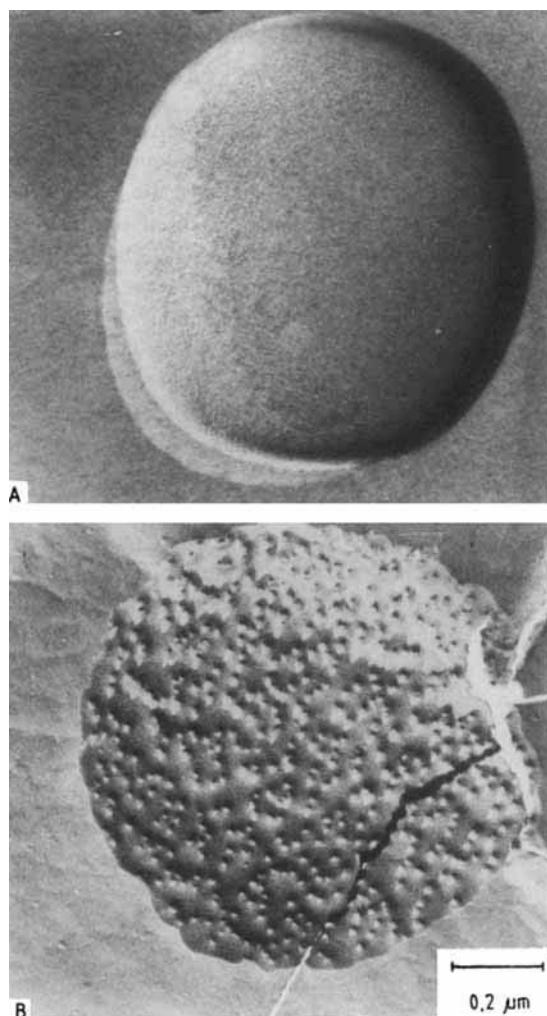


Abb. 72. Gefrierbruch-Elektronenmikroskopische Aufnahmen von phasenseparierten, polymerisierten Liposomen (vgl. Legende zu Abb. 71) [200, 204].

Kettenspaltung an Lipiden: Die bisher diskutierten Experimente wurden mit dem Cystinderivat **68** als Korkenlipid durchgeführt. Doch auch das bipolare Disulfid-Amphiphil **70** eignet sich als Korkenlipid. Die Freisetzungsgeschwindigkeiten von Eosin aus entmischten Liposomen, die aus diesem spaltbaren Lipid und dem fluorierten Muconsäurederivat **67** bestehen, sind in Abbildung 73 gezeigt.

Polymerisierte Vesikel mit 10 Mol-% des wahrscheinlich membrandurchspannenden Korkens aus **70** zeigen vor der Spaltung wiederum eine geringe Eosinfreisetzung (Kurve A). Die Zugabe von DTT führt auch hier zur raschen Freisetzung des Fluoreszenzmarkers, die allerdings langsamer ist als bei den Spaltungsexperimenten mit dem Cystinlipid **68**. Dies ist verständlich, da das Spaltungsreagens nicht an der Kopfgruppe angreift, sondern erst in die Membran diffundieren muß. Das Resultat der Spaltung ist im übrigen bei beiden Systemen (zweikettige oder membrandurchspannende spaltbare Lipide) elektronenmikroskopisch dasselbe (Abb. 74).

Herauslösen des Korkens ohne Spaltung: Wie in Abbildung 66 bereits skizziert, sollte neben einer Spaltungsreaktion auch das simple Herauslösen von niedermolekularen

Domänen aus einer polymeren Matrix die Porenbildung in einer Vesikelmembran bewirken können^[200]. Diese An-

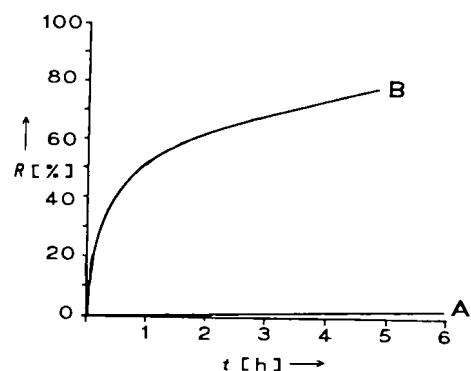


Abb. 73. Freisetzung R von Eosin aus phasenseparierten, domänenhaltigen Liposomen (SUV) [200] (90 Mol-% **67**, 10 Mol-% **70**, pH = 9). A) Polymerisierte Liposomen ohne Spaltungsreagens. B) Polymerisierte Liposomen nach Zugabe von DTT (1 mg mL⁻¹).

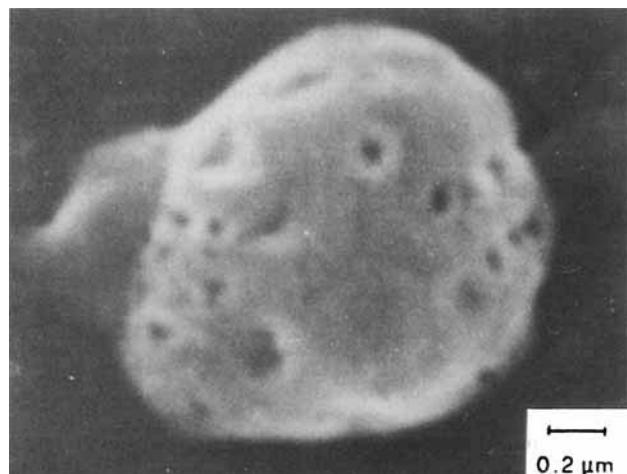


Abb. 74. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von phasenseparierten, domänenhaltigen Liposomen (90 Mol-% **67**, 10 Mol-% **70**) nach der Zugabe von DTT als Spaltungsreagens [200].

nahme basiert auf der Tatsache, daß polymerisierte Vesikel eine größere Stabilität gegenüber Tensiden oder Lösungsmitteln zeigen als ihre monomeren Analoga^[72, 205].

Um Liposomen durch Behandlung mit Lösungsmitteln zu öffnen, wurden Mischmembranen aus dem polymerisierbaren Ammoniumlipid **27** und dem fluorierten Amin **65** (9 : 1) hergestellt.

Nach Verdünnen der Lösung, die die polymerisierten Vesikel enthielt, mit Aceton (1 : 1) konnte ein Herauslösen der Domänen des fluorierten Lipids rasterelektronenmikroskopisch nachgewiesen werden. Es kommt auch hier zu einer Lochbildung im Vesikel, bei der die polymerisierte Lipidmatrix ihre Struktur behält. Über ähnliche Untersuchungen berichteten in der Zwischenzeit auch *Tsuchida et al.*^[206].

Enzymatische Entkorkung^[207]: Während die bisher besprochenen Öffnungsreaktionen unter unphysiologischen Bedingungen und mit relativ hohen Konzentrationen an Spaltungsreagentien ablaufen, ermöglicht die biochemische Öffnung von Vesikeln mit Phospholipasen das Arbeiten unter physiologischen Bedingungen und mit geringen Enzymkonzentrationen. Das Enzym Phospholipase A₂ katalysiert hochspezifisch die Hydrolyse der Esterbindung in C-2-Stellung von L- α -Glycerophospholipiden (Abb. 75).

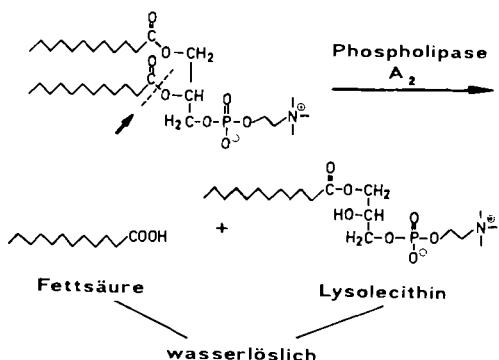
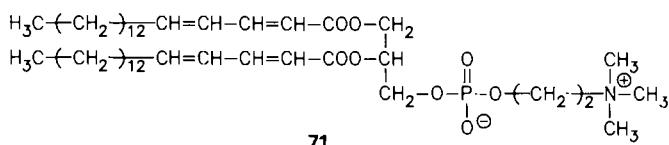


Abb. 75. Enzymatische Spaltung der Esterbindung in C-2-Stellung eines Lecithins durch Phospholipase A₂. Die Spaltpprodukte (Fettsäure und Lysolecithin) sind wasserlösliche Tenside.

Die Übertragbarkeit dieser enzymatischen Reaktion auf Mischsysteme aus polymerisierten und natürlichen Lipiden wurde zuerst an Monoschichten nachgewiesen^[199].

Zur Untersuchung dieser Spaltungsreaktion an Liposomen^[208] wurden Mischmembranen aus dem polymerisierbaren Lecithin 71 und DPPC (1:1) verwendet, wobei DPPC der enzymatisch spaltbare Korken ist. Die Liposomen aus den beiden monomeren Lipiden zeigen keine Domänen, da 71 und DPPC homogen mischbar sind. Die Polymerisation allerdings induziert eine Phasenseparation.



Es muß hervorgehoben werden, daß die Phospholipase A₂ aufgrund ihrer Spaltungsspezifität die Esterbindung von **71** weder in dessen monomerer noch in dessen polymerer Form angreift: Liposomen nur aus **71** bleiben nach Zugebung des Enzyms unverändert dicht und setzen kein Eosin frei. Daher beruht die Freisetzung von 6-CF aus den Mischliposomen (Abb. 76) eindeutig auf der Spaltung des gesättigten Lecithins DPPC.

Ohne Enzymzugabe wird sowohl von den monomeren als auch von den polymeren Liposomen im betrachteten Zeitraum weniger als 1% 6-CF freigesetzt (Kurve A). Nach Zugabe von Phospholipase A₂ zu den Vesikellösungen erhält man unterschiedliche Freisetzungsgeschwindigkeiten.

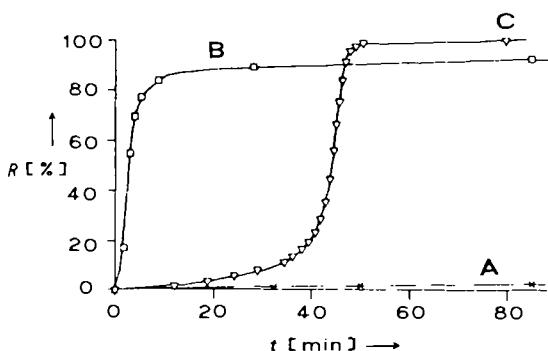


Abb. 76. Freisetzung R von '6-CF aus monomeren und polymerisierten Mischliposomen (SUV) [208] (50 Mol-% 71, 50 Mol-% DPPC). A) Monomere und polymerisierte Liposomen ohne Enzymzugabe. B) Polymerisierte Liposomen nach Zugabe von Phospholipase A₂ (30 µg mL⁻¹). C) Monomere Liposomen nach Zugabe von Phospholipase A₂ (30 µg mL⁻¹).

Die polymerisierten, phasenseparierten Vesikel verlieren den eingeschlossenen Marker sehr schnell: Schon nach 10 min sind 90% des Vesikelinhalts freigesetzt (B). Das analoge monomere System weist dagegen eine „Inkubationszeit“ von ca. 40 min auf. Anschließend wird auch in diesem Fall der Marker innerhalb weniger Minuten schnell und nahezu vollständig freigesetzt (C). Wie lassen sich diese Unterschiede erklären?

Die anfänglich nur langsame Freisetzung von 6-CF aus der homogenen gemischten Membran der monomeren Liposomen ist darauf zurückzuführen, daß sich die gebildeten Lysolipide in der Membran homogen lösen und deren Aufbau zunächst nur wenig stören. Da das Verhältnis von spaltbarem zu nicht spaltbarem Lipid 1:1 beträgt, wird nach einer gewissen Inkubationszeit (40 min) der Gehalt an Lysolipiden und Fettsäuren in der Membran derart hoch, daß die Liposomen unter Bildung von Mischmicellen spontan zerfallen. Eine Erklärung für den Unterschied zwischen dem monomeren und dem polymerisierten Mischsystem liegt in der polymerisationsinduzierten Entmischung. Experimente an Monoschichten analoger Systeme haben gezeigt, daß Phospholipase A₂ phasenseparierte Membranen sehr viel rascher angreift als die entsprechenden homogenen Mischungen^[199]. Aufgrund der Phasenseparation kommt es also zum schnellen Herauslösen der lysolipid- und fettsäurerichen Domänen. Möglicherweise wegen des hohen Anteils von 50 Mol-% an spaltbarem DPPC in der Mischmembran kann sich jedoch in diesen Systemen keine stabile Polymermatrix bilden. Auch die polymerisierte Liposomenmembran wird deshalb bei der Spaltungsreaktion – unter Bildung von Mischmicellen völlig destabilisiert. Diese Vorstellungen werden gestützt durch die Ergebnisse von Freisetzungsmessungen an Mischliposomen derselben Zusammensetzung, jedoch mit unterschiedlichen Polymerisationsumsätzen^[208]. Wie in Abbildung 77 gezeigt, hängt die Inkubationszeit bis zur

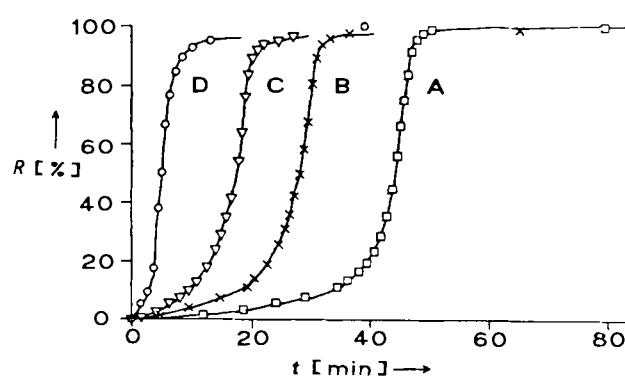


Abb. 77. Enzymatische Freisetzung von 6-CF aus partiell polymerisierten Liposomen (SUV) [208] (50 Mol-% 71, 50 Mol-% DPPC, 30 µg mL⁻¹ Phospholipase A₂). Abhängigkeit der Freisetzungskinetik vom Polymerisationsumsatz: A) 0%; B) 15%; C) 45%; D) 85%.

spontanen Destabilisierung von dem Anteil an Polymer in der Membran ab. Dies kann damit erklärt werden, daß der Anteil an spaltbarem Lipid in den monomeren Bereichen durch die polymerisationsinduzierte Phasenseparation mit fortschreitender Polymerisation zunimmt.

Synthetische Korkenzieher für Zellen? Die bisher diskutierten Experimente zeigen, daß es möglich ist, den biolog-

gischen Prozeß der lokalen Zellmembranöffnung mit domänenhaltigen, partiell polymerisierten Liposomen formal zu simulieren. Und doch sind diese Experimente noch weit vom biologischen Vorbild entfernt. Abbildung 78 führt zurück zum biologischen Geschehen und zeigt nicht etwa ein weiteres polymerisiertes Liposom vor und nach der Entkorkung. Diese rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen Leukämiezellen einer Zellkultur vor (A) und nach (B) der Behandlung mit speziellen Detergentien,

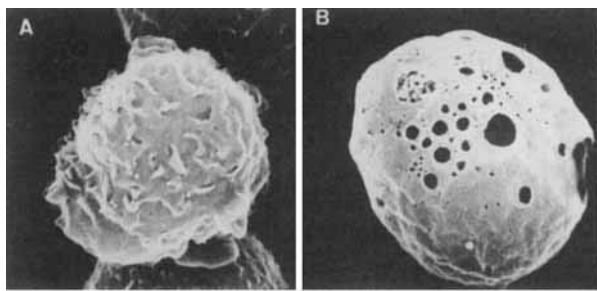


Abb. 78. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zur Lochbildung an Leukämiezellen. A) Unbehandelte Leukämiezelle. B) Leukämiezelle nach der Behandlung mit *O*-Methyllysolecithin [209].

nämlich den Methyletherderivaten von Lysophospholipiden, die derzeit auch als Antitumormittel diskutiert werden^[68a, 209]. Das Ergebnis der Entkorkung durch das synthetische Lysolipid ist deutlich zu erkennen. Wie immer der natürliche Prozeß der Entkorkung von Zellen durch aktivierte Makrophagen (vgl. Abb. 62) auch ablaufen mag, er ist zumindest auch bei Zellen mit Detergentien simulierbar.

7. Schlußbemerkungen: Wohin soll die Reise gehen?

Viele Teile dieses Überblicks und der in ihm vorgestellten Fakten und Überlegungen sind sicher unvollständig – teils durch mangelnde Einsicht der Autoren verursacht, teils spiegelt dies den aktuellen Forschungsstand wider. Der Leser sollte diesen Beitrag deshalb nicht als lupenreine Präsentation von Fakten und Definition von Problemen, sondern als Denkmodell akzeptieren^[210]. Er ist ein Versuch, vor dem Hintergrund der Selbstorganisation die molekulare Architektur supramolekularer Systeme von Flüssigkristallen über Micellen und Liposomen bis hin zu Biomembranen als gemeinsames Problem zu diskutieren.

Der Versuch, von der Tradition her getrennte Gebiete gemeinsam zu betrachten, ist allerdings stets ein Risiko: Es geht nicht ohne Verallgemeinerungen, und man setzt sich damit – zu Recht – dem Vorwurf der Oberflächlichkeit aus^[211]. Allerdings hat Georg Christoph Lichtenberg bereits vor 200 Jahren geschrieben: „Wer nichts als Chemie versteht, versteht auch diese nicht recht“. Ursprünglich sicherlich im philosophischen Sinne gemeint, gilt dies heute, in einer Zeit immer größerer Spezialisierung, auch wortwörtlich. Hinzu kommt, daß durch moderne Meßmethoden und eine ausgefeilte Computertechnik immer genauer gemessen und immer ordentlicher ausgewertet werden kann: Verifizieren wird intensiv gelehrt und gelernt – was allzu oft auf der Strecke bleibt, ist die Intuition^[212]! Dazu gerade aber könnten das Studium und die Forschung in Grenzgebieten anregen. In einem erfrischend aufmuntern-

den Beitrag hat kürzlich Roald Hoffmann in dieser Zeitschrift die „Begegnung von Chemie und Physik im Festkörper“ beschrieben^[213a] und hierbei besonders die Intuition als Stärke der Chemiker hervorgehoben. Auch das Grenzgebiet der Festkörperchemie und -physik ist nur interdisziplinär zu erschließen und ein ähnlich spannendes Kapitel der modernen Materialwissenschaften wie die Untersuchung von funktionellen supramolekularen Systemen.

Die Faszination, die von biologischen Prozessen ausgeht, ist alt. Die Faszination, diese Prozesse zu simulieren und sie in die Technik zu übertragen, hat gerade erst begonnen. Das Feld ist offen und die Chemie kann hier einen entscheidenden Beitrag leisten. Wohin soll die Reise gehen? Zur Zeit können die Materialwissenschaften sicherlich viel mehr von den Biowissenschaften lernen als umgekehrt. Die biologischen Membranen, die Spezifität ihrer Erkennungs- und Translokationsreaktionen haben noch kein auch nur annähernd ebenbürtiges technisches Analogon gefunden – trotz der Vielfalt synthetischer Polymermembranen. Es hat nicht an Versuchen gefehlt, dem natürlichen Vorbild nachzueifern, und in diesem Beitrag sind einige Beispiele erwähnt. Die Durchbrüche jedoch fehlen noch: Das grundlegende Wissen ist da, die Innovation läßt auf sich warten.

Gerade im Hinblick auf die nächste Generation von technischen Membranen – schaltbar, funktionell, asymmetrisch und für spezifischen und selektiven Transport geeignet – sollte man das Feld der organisierten supramolekularen Systeme nicht den Physikern und Biologen allein überlassen. Die einen messen am liebsten an „zu einfachen“ Modellen und die anderen lehnen am liebsten alles ab, was nicht dem „zu komplizierten“ Vorbild der Natur entspricht. Sowohl die Organische als auch die Makromolekulare Chemie können hier eine Mittlerrolle spielen. Ein Hinweis darauf ist der in diesem Heft abgedruckte Nobel-Vortrag von J.-M. Lehn^[214d]. Die molekulare Erkennung organischer und anorganischer Substanzen^[212c, 213] ist ein erster Schritt zur Simulation der hochspezifischen Erkennungsreaktionen in der Biologie. Es wird auch spannend sein zu sehen, welche Möglichkeiten sich durch synthetische Glycolipide und Glycoproteine vom Typ tumorspezifischer Antigene eröffnen, die eine Brücke zwischen Organischer Chemie und Immunologie schlagen können^[214].

Die Kunst, höchst komplexe Moleküle zu bauen und sie perfekt zu charakterisieren, hat schwindelnde Höhen erreicht und erschließt eigentlich dem Gebiet der molekularen Architektur ungeahnte Möglichkeiten. Diese Kunst mag der Bereicherung des chemischen Wissens dienen, aber genügt das? C. Frejacques vertritt in einem aggressiv, aber optimistisch geschriebenen Beitrag („Chemical Needs and Possibilities at the End of the Century“) die Ansicht, daß trotz einer enorm steigenden Anzahl neuer Verbindungen die Zahl von Innovationen in den letzten Jahren ständig abgenommen hat^[215]. Er weist darauf hin, daß über die Chemie der kovalenten Bindungen hinaus sich heute eine supramolekulare Chemie entwickelt, die auf dem Aufbau von chemischen Systemen durch Selbstorganisation beruht. Wie auch in diesem Beitrag gezeigt werden sollte, führen derartige chemische Systeme entsprechend den biologischen Vorbildern zu neuen Funktionseinheiten, die sowohl zum Verständnis biologischer Prozesse als auch zur Entwicklung neuer Materialien beitragen können.

Tradition und Innovation sind also gefragt. In den Grenzgebieten zwischen den Wissenschaften locken die Abenteuer. Hier ist weder unkritischer Optimismus, noch hemmender Pessimismus gerechtfertigt. Die Freude am Aufbruch und die Bereitschaft zu enger Kooperation sind Grundvoraussetzungen. Das Wissen ist vorhanden, es muß nur angewendet werden.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Bundesministerium für Forschung und Technologie und dem Fonds der Chemischen Industrie für die Unterstützung unserer Arbeiten. Und wie steht es mit dem Dank an die Mitarbeiter? Siehe [216]!

Eingegangen am 29. September 1987 [A 653]

- [1] B. Brecht: *Geschichten*, Bibliothek Suhrkamp, Frankfurt am Main 1962, S. 167. Herr K. war sicher Wissenschaftler! Oder?
- [2] H. Mark, *Angew. Chem.* 93 (1981) 309; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 303.
- [3] a) Für Ronald Searle, den britischen Karikaturisten, in seiner bissigen Anschaulichkeit galt schon bei den alten Goldgräbern, daß das Suchen von Schätzen in den Hauptstraßen der Abenteurerstädte ein schwieriges Unterfangen ist (siehe [3b], S. 25):



Bereits 1788 (!) läßt es in dieser Hinsicht auch Georg Christoph Lichtenberg, der kritische Göttinger Philosoph und Physiker, an bildlicher Klarheit nicht fehlen, wenn er in seinen Sudelbüchern schreibt: „er hing noch auf dortiger Universität wie ein schöner Kronleuchter, auf dem aber seit Jahren kein Lichtlein mehr gebrannt hatte“. b) R. Searle: *From Frozen North to Filthy Lucre*. Viking Press, New York 1964.

- [4] Erwin Chargaff, der Biochemiker und kritische Essayist, drückt das so aus: „In der Wissenschaft der Gegenwart werden immer kleinere Zimmer immer luxuriöser und kompletter eingerichtet“ (E. Chargaff: *Bemerkungen*, Klett-Cotta, Stuttgart 1981, S. 33).
- [5] A. Dress, H. Hendrichs, G. Küppers: *Selbstorganisation Die Entstehung von Ordnung in Natur und Gesellschaft*, Piper, München 1986.
- [6] a) H. Haken: *Erfolgsgesetzmisse der Natur Synergetik: Die Lehre vom Zusamenwirken*, Deutsche Verlags-Anstalt, Stuttgart 1986; b) B.-O. Küppers (Hrsg.): *Ordnung aus dem Chaos. Prinzipien der Selbstorganisation und Evolution des Lebens*, Piper, München 1987.
- [7] Es ist wissenschaftshistorisch hochinteressant zu verfolgen, wie sich oft aus der Divergenz von Meinungen und Schulen neue Forschungsdisziplinen entwickeln. Die Kontroverse in den zwanziger Jahren zwischen der etablierten Kolloidchemie (W. Ostwald) und der aufkommenden Makromolekularen Chemie (H. Staudinger) ist dafür ein Beispiel. Es ging um den Streit schwache Wechselwirkungen und Aggregatbildung (Kolloide) gegen kovalent aufgebaute große Moleküle. Heute ist aus diesen konkurrierenden Konzepten längst und ganz zwangsläufig eine Symbiose geworden – nicht zuletzt demonstriert in den supramolekularen Systemen der biologischen Membranen. Interessant ist allerdings auch, daß sich die Kolloidchemie in Deutschland lange nicht von dieser Kontroverse erholt. Sie wurde über Jahrzehnte von den Hochschulen verdrängt und gewann die heutige große Beachtung eindeutig erst über ihre industrielle Bedeutung wieder.

a) H. Morawetz, *Angew. Chem.* 99 (1987) 95; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 93; b) *Polymers. The Origins and Growth of a Science*, Wiley, Chichester 1985; c) E. Jostkleigrewe (Hrsg.): *Makromolekulare Chemie Das Werk Hermann Staudingers in seiner heutigen Bedeutung*, Schnell und Steiner, München 1987.

- [8] a) J. D. Barnal, *Trans. Faraday Soc.* 29 (1933) 1022; b) *The Physical Basis of Life*, Routledge and Kegan, London 1951.
- [9] a) G. H. Brown, J. J. Wolken: *Liquid Crystals and Biological Structures*, Academic Press, New York 1979; b) D. M. Small, *J. Colloid Interface Sci.* 58 (1977) 581; c) D. Chapman in F. D. Saeva (Hrsg.): *Liquid Crystals: The Fourth State of Matter*, Dekker, New York 1979, S. 305; d) Y. Bouligand in L. Liebert (Hrsg.): *Liquid Crystals (Solid State Phys. Suppl.)* 14 (1978) 259.
- [10] Die oft beschworene Bereitschaft der Wissenschaftler zur Kooperation sieht Ronald Searle eher skeptisch: Jeder baut sein eigenes kleines Blockhäuschen (siehe [3b], S. 14):



- [11] Der Mut zum Aufbruch, aber auch die Bereitschaft, sich „umzusehen“, sind Grundvoraussetzungen für das Abenteuer Wissenschaft (siehe [3b], S. 21):



- [12] „Übermolekeln“ (supermolecules) wurden bereits um 1937 von K. L. Wolf definiert, um die auf der Organisation beruhende Funktion von Molekülassoziaten zu beschreiben: a) K. L. Wolf, F. Frahm, H. Harms, *Z. Phys. Chem. Abt. B* 36 (1937) 17; b) K. L. Wolf, R. Wolff, *Angew. Chem.* 61 (1949) 191. Besonders von Jean-Marie Lehn ist in den letzten Jahren der Begriff „Supramolecular Chemistry“ immer mehr mit Leben gefüllt worden: c) J.-M. Lehn, *Science (Washington)* 227 (1985) 849; d) *Angew. Chem.* 100 (1988) 91; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) Nr. 1.

In diesem Beitrag sollen unter supramolekularen Systemen nicht nur einzelne Molekülkomplexe (z.B. Substrat-Rezeptor-Komplexe), sondern auch große Moleküllaggregate verstanden werden, deren Funktion durch die Organisation bedingt ist. Ein Idealbeispiel dafür ist die Biomembran.

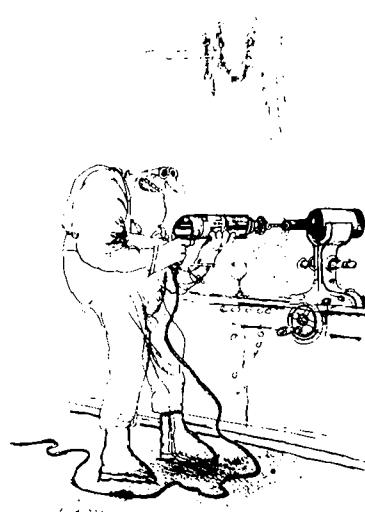
- [13] a) H. Kelker, R. Hatz: *Handbook of Liquid Crystals*, Verlag Chemie, Weinheim 1980; b) D. Demus, H. Demus, H. Zaschke: *Flüssige Kristalle in Tabellen, Band 1/Band 2*, VEB Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig 1974/1984.
- [14] H. Sackmann, *Prog. Colloid Polym. Sci.* 69 (1984) 73.
- [15] W. Maier, A. Saupe, *Z. Naturforsch. A* 14 (1959) 882; *ibid.* 15 (1960) 287.
- [16] P. J. Flory, G. Ronca, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 54 (1979) 311.
- [17] F. Reinitzer, *Monatsh. Chem.* 9 (1888) 421.
- [18] S. Chandrasekhar, B. K. Sadashiva, K. A. Suresh, *Pramana* 9 (1977) 471; *Chem. Abstr.* 88 (1978) 30566y.

- [19] a) C. Destrade, P. Foucher, H. Gasparoux, Nguyen Huu Tinh, A.-M. Levelut, J. Malthête, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 106 (1984) 121; b) A.-M. Levelut, *J. Phys. Lett.* 40 (1979) L 81.
- [20] J.-M. Lehn, J. Malthête, A.-M. Levelut, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1985, 1794.
- [21] a) H. Zimmermann, R. Poupko, Z. Luz, J. Billard, *Z. Naturforsch. A* 40 (1985) 149; b) J. Malthête, A. Collet, *Nouv. J. Chim.* 9 (1985) 151.
- [22] a) J. Malthête, A.-M. Levelut, Nguyen Huu Tinh, *J. Phys. Lett.* 46 (1985) L 875; b) Nguyen Huu Tinh, C. Destrade, A.-M. Levelut, J. Malthête, *J. Phys.* 47 (1986) 553.
- [23] a) O. Herrmann-Schönherr, J. H. Wendorff, H. Ringsdorf, P. Tscherner, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 7 (1986) 791; b) H. Ringsdorf, P. Tscherner, O. Herrmann-Schönherr, J. H. Wendorff, *Makromol. Chem.* 188 (1987) 1431; c) M. Ballauff, G. F. Schmidt, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 8 (1987) 93.
- [24] a) J. L. White, *J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp.* 41 (1985) 3; b) E. T. Samulski, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 79 (1985) 7.
- [25] a) C. Robinson, *Trans. Faraday Soc.* 52 (1956) 571; b) P. W. Morgan, *Macromolecules* 10 (1977) 1381; c) S. L. Kwolek, P. W. Morgan, J. R. Schaefer, L. W. Gulrich, *ibid.* 10 (1977) 1390; d) T. I. Bair, P. W. Morgan, F. L. Killian, *ibid.* 10 (1977) 1396; e) M. Panar, L. F. Beste, *ibid.* 10 (1977) 1401.
- [26] a) W. J. Jackson, H. F. Kuhfuss, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 14 (1976) 2043; b) W. J. Jackson, *Br. Polym. J.* 12 (1980) 154.
- [27] P. G. de Gennes, C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. Ser. B 281 (1975) 101.
- [28] A. Roviello, A. Sirigu, *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.* 13 (1975) 455.
- [29] a) H. Finkelmann, H. Ringsdorf, J. H. Wendorff, *Makromol. Chem.* 179 (1978) 273; b) V. P. Shibaev, N. A. Platé, Ya. S. Freidzon, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 17 (1979) 1655.
- [30] a) A. Ciferri, W. R. Krigbaum, R. B. Meyer (Hrsg.): *Polymer Liquid Crystals*, Academic Press, New York 1982; b) M. Gordon, N. A. Platé (Hrsg.): *Liquid Crystal Polymers Vol. I-III* (*Adv. Polym. Sci.* 59/60-61 (1984)); c) A. Blumstein (Hrsg.): *Polymer Liquid Crystals*, Plenum, New York 1985.
- [31] a) A. Blumstein, J. Asrar, R. B. Blumstein in A. C. Griffin, J. F. Johnson (Hrsg.): *Liquid Crystals and Ordered Fluids*, Vol. 4, Plenum, New York 1984, S. 311; b) H. Finkelmann, *Angew. Chem.* 99 (1987) 840; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 816; c) S. K. Varshney, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys.* C26 (1986) 551.
- [32] W. Kreuder, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 4 (1983) 807.
- [33] a) W. Kreuder, H. Ringsdorf, P. Tscherner, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 6 (1985) 367; b) O. Herrmann-Schönherr, J. H. Wendorff, W. Kreuder, H. Ringsdorf, *ibid.* 7 (1986) 97; c) G. Wenz, *ibid.* 6 (1985) 577.
- [34] a) F. Hessel, H. Finkelmann, *Polym. Bull.* 14 (1985) 375; b) *ibid.* 15 (1986) 349; c) F. Hessel, R.-P. Herr, H. Finkelmann, *Makromol. Chem.* 188 (1987) 1597; d) Q. Zhou, H. Li, X. Feng, *Macromolecules* 20 (1987) 233.
- [35] S. Berg, V. Krone, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 7 (1986) 381.
- [36] W. Kreuder, H. Ringsdorf, O. Herrmann-Schönherr, J. H. Wendorff, *Angew. Chem.* 99 (1987) 1300; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 1249.
- [37] a) M. Ballauff, *Macromolecules* 19 (1986) 1366; b) *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 7 (1986) 407.
- [38] a) B. Beck, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 6 (1985) 291; b) *ibid.* 7 (1986) 389.
- [39] a) G. W. Gray, P. A. Winsor (Hrsg.): *Liquid Crystals and Plastic Crystals*, Vol. I, II, Ellis Horwood, Chichester 1974; b) G. J. T. Tiddy, *Phys. Rep.* 57 (1980) 1; c) B. J. Forrest, L. W. Reeves, *Chem. Rev.* 81 (1981) 1.
- [40] H. Hoffmann, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 88 (1984) 1078, zit. Lit.
- [41] P. Fromherz, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 85 (1981) 891.
- [42] a) J. N. Israelachvili, S. Marcelja, R. G. Horn, *Q. Rev. Biophys.* 13 (1980) 121; b) J. N. Israelachvili in V. Degiorgio, M. Corti (Hrsg.): *Physics of Amphiphiles: Micelles, Vesicles and Microemulsions*, North-Holland Physics Publishing, Amsterdam 1985, S. 24; c) D. F. Evans, B. W. Ninham, *J. Phys. Chem.* 90 (1986) 226.
- [43] a) H. Finkelmann, M. A. Schafheutele, *Colloid Polym. Sci.* 264 (1986) 786; b) E. Jahns, H. Finkelmann, *ibid.* 265 (1987) 304; c) B. Lüthmann, H. Finkelmann, G. Rechage, *Angew. Makromol. Chem.* 123/124 (1984) 217; d) J. Herz, F. Reiss-Husson, P. Rempp, V. Luzzati, *J. Polym. Sci. Part C4* (1964) 1275; e) A. Schmitt, R. Varoqui, A. Skoulios, C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. Ser. C268 (1969) 1469; f) R. Thundathil, J. O. Stoffer, S. F. Friberg, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 18 (1980) 2629; g) R. Keller, *Diplomarbeit*, Universität Mainz 1982; h) S. M. Hamid, D. C. Sherrington, *Polymer* 28 (1987) 332; i) H. Finkelmann, M. A. Schafheutele, 17. Arbeitstagung Flüssigkristalle, Freiburg 1987, Abstr.; j) B. Lüthmann, H. Finkelmann, *Colloid Polym. Sci.* 265 (1987) 506; k) M. Wibbing, *Diplomarbeit*, Universität Mainz 1986.
- [44] Y. Okahata, T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 5231.
- [45] R. Keiller-Griffith, H. Ringsdorf, A. Vierengel, *Colloid Polym. Sci.* 264 (1986) 924.
- [46] N. Boden, R. J. Bushby, L. Ferris, C. Hardy, F. Sixl, *Liq. Cryst. I* (1986) 109.
- [47] a) H. Ringsdorf, R. Wüstefeld, *Int. Conf. Liq. Cryst. Polym. Bordeaux*, 1987, Abstr.; b) R. Wüstefeld, *Diplomarbeit*, Universität Mainz 1986.
- [48] a) D. Chapman in [39a], Vol. I, S. 288; b) G. A. Jeffrey, *Acc. Chem. Res.* 19 (1986) 168; c) M. A. Marcus, P. L. Finn, *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Lett. Sect. 2* (1985) 159; d) D. W. Bruce, D. A. Dunmur, E. Lalinde, P. M. Maitlis, P. Styring, *Nature (London)* 323 (1986) 791; e) T. Kunitake, Y. Okahata, M. Shimomura, S. I. Yasunami, K. Takarabe, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 5401; f) S. L. Tseng, A. Valente, D. G. Gray, *Macromolecules* 14 (1981) 715; g) G. V. Laivins, P. Sixou, D. G. Gray, *J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed.* 24 (1986) 2779; h) S. M. Aharoni, *Macromolecules* 12 (1979) 94.
- [49] a) I. Langmuir, *Trans. Faraday Soc.* 15 (1920) 62; b) K. B. Blodgett, *J. Am. Chem. Soc.* 57 (1935) 1007; c) G. L. Gaines: *Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces*, Wiley Interscience, New York 1966; d) G. G. Roberts, *Adv. Phys.* 34 (1985) 475; e) M. Sugi, *J. Mol. Electron. I* (1985) 3.
- [50] *Thin Solid Films* 132 134 (1985); *ibid.* 99 (1983); *ibid.* 68 (1980).
- [51] R. Jones, C. S. Winter, R. H. Tredgold, P. Hodge, A. Hoofar, *Polymer* 28 (1987) 1619.
- [52] A. Barraud, *Thin Solid Films* 99 (1983) 317.
- [53] a) J. Zyss, *J. Mol. Electron. I* (1985) 25; b) D. Lupo, W. Prass, U. Scheunemann, A. Laschewsky, H. Ringsdorf, I. Ledoux, *J. Opt. Soc. Am. B Opt. Phys.*, im Druck.
- [54] M. Eich, J. H. Wendorff, B. Beck, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 8 (1987) 59.
- [55] a) M. G. McNamee, E. L. M. Ochoa, *Neuroscience* 7 (1982) 2305; b) T. M. Ginnai, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 24 (1985) 188.
- [56] a) J. P. Rabe, J. D. Swalen, J. F. Rabolt, *J. Chem. Phys.* 86 (1987) 1601; b) D. D. Saperstein, *J. Phys. Chem.* 90 (1986) 1408.
- [57] a) A. J. Vickers, R. H. Tredgold, P. Hodge, E. Khoshdel, I. Girling, *Thin Solid Films* 134 (1985) 43; b) R. Jones, R. H. Tredgold, A. Hoofar, R. A. Allen, P. Hodge, *ibid.* 134 (1985) 57.
- [58] A. Schuster, *Diplomarbeit*, Universität Mainz 1986.
- [59] a) N. Boden, R. J. Bushby, C. Hardy, *J. Phys. Lett.* 46 (1985) L 325; b) J.-H. Fuhrhop, D. Fritsch, B. Tesche, H. Schmiday, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 1998.
- [60] G. Decher, *Dissertation*, Universität Mainz 1986.
- [61] a) K. R. Patel, M. P. Li, J. R. Schuh, J. D. Baldeschwieler, *Biochim. Biophys. Acta* 814 (1985) 256; b) *ibid.* 797 (1984) 20.
- [62] M. S. Bretscher, *Spektrum Wiss.* 1985, Nr. 12, S. 90.
- [63] a) H. Hauser, *Chimia* 39 (1985) 252; b) P. R. Cullis, M. J. Hope, B. de Kruijff, A. J. Verkleij, C. P. S. Tilcock in J. F. Kuo (Hrsg.): *Phospholipids and Cellular Regulation*, Vol. I, CRC Press, Boca Raton, FL, USA 1985, S. 1; c) J. N. Hawthorne, G. B. Ansell (Hrsg.): *Phospholipids (New Compr. Biochem.* 4 (1982)).
- [64] C. Tanford: *The Hydrophobic Effect*, 2. Auflage, Wiley, New York 1980.
- [65] a) E. Sackmann, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 78 (1974) 929; b) *ibid.* 82 (1978) 891.
- [66] a) H. Wiegandt (Hrsg.): *Glycolipids (New Compr. Biochem.* 10 (1985)); b) J. N. Kanfer, S. Hakomori (Hrsg.): *Sphingolipid Biochemistry /Handbook of Lipid Research*, Vol. III, Plenum, New York 1983.
- [67] a) I. Pascher, *Biochim. Biophys. Acta* 455 (1976) 433; b) W. Curatolo, A. Bali, C. M. Gupta, *J. Pharm. Sci.* 74 (1985) 1255; c) T. Kunitake, N. Yamada, N. Fukunaga, *Chem. Lett.* 1984, 1089; d) Y. Murakami, A. Nakano, A. Yoshimatsu, K. Uchitomi, Y. Matsuda, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 3613; e) Y. Murakami, J. Kikuchi, T. Takaki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 59 (1986) 3145.
- [68] a) H. Fibl, *Angew. Chem.* 96 (1984) 247; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 257; b) M. Kates in E. D. Korn (Hrsg.): *Methods in Membrane Biology*, Vol. 8, Plenum, New York 1977, S. 219.
- [69] a) T. Kunitake, Y. Okahata, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 3860; b) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 51 (1978) 1877.
- [70] a) T. Kunitake, *J. Macromol. Sci. Chem. A* 13 (1979) 587; b) J. H. Fendler: *Membrane Minicore Chemistry*, Wiley, New York 1982; c) J.-H. Fuhrhop, J. Mathieu, *Angew. Chem.* 96 (1984) 124; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 100.
- [71] a) D. Marr-Leisy, R. Neumann, H. Ringsdorf, *Colloid Polym. Sci.* 263 (1985) 791; b) J.-H. Fuhrhop, P. Schnieder, J. Rosenberg, E. Boekema, *J. Am. Chem. Soc.* 109 (1987) 3387; c) T. Kunitake, N. Nakashima, M. Shimomura, Y. Okahata, K. Kano, T. Ogawa, *ibid.* 102 (1980) 6642.
- [72] B. Hupfer, H. Ringsdorf, H. Schupp, *Chem. Phys. Lipids* 33 (1983) 355.
- [73] T. Kunitake, N. Kimizuka, N. Higashi, N. Nakashima, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 1978.
- [74] B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J. D. Watson: *Molecular Biology of the Cell*, Garland, New York 1983; *Molekularbiologie der Zelle*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1986.
- [75] a) G. Benga (Hrsg.): *Structure and Properties of Cell Membranes*, Vol. I-III, CRC Press, Boca Raton, FL, USA 1985; b) J. B. Finean, R. H. Michell (Hrsg.): *Membrane Structure (New Compr. Biochem.* 1 (1981)); c) D. Chapman (Hrsg.): *Biological Membranes*, Vol. 4, Academic Press,

- London 1982; d) *Biomembrane Structure and Function*, Verlag Chemie, Weinheim 1984.
- [76] S. J. Singer, G. L. Nicolson, *Science (Washington)* **175** (1972) 720.
- [77] D. A. Cadenhead in [75a], Vol. III, S. 21.
- [78] a) M. Lösche, E. Sackmann, H. Möhwald, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **87** (1983) 848; b) V. von Tscharner, H. M. McConnell, *Biophys. J.* **36** (1981) 409; c) P. Meller, *Dissertation*, Technische Universität München 1985; d) K. Beck in J. Bereiter-Hahn, O. R. Anderson, W.-E. Reif (Hrsg.): *Cytomechanics*, Springer, Berlin 1987, S. 79.
- [79] H. Kuhn, D. Möbius, *Angew. Chem.* **83** (1971) 672; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **10** (1971) 620.
- [80] a) P. M. Vassilev, H. Ti Tien in [75a], Vol. III, S. 63; b) H. Ti Tien: *Biomolecular Lipid Membranes. Theory and Practice*, Dekker, New York 1974; c) M. K. Jain: *The Bimolecular Lipid Membrane: A System*, Van Nostrand, New York 1972; d) R. Latorre, O. Alvarez, X. Cecchi, C. Vergara, *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **14** (1985) 79.
- [81] P. Läuger, *Angew. Chem.* **97** (1985) 939; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **24** (1985) 905.
- [82] H. M. McConnell, T. H. Watts, R. M. Weis, A. A. Brian, *Biochim. Biophys. Acta* **864** (1986) 95.
- [83] V. Hladky, R. A. van Wageningen, J. D. Andrade in J. D. Andrade (Hrsg.): *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers*, Vol. 2, Plenum, New York 1985, S. 81.
- [84] a) A. D. Bangham, M. W. Hill, N. G. A. Miller in E. D. Korn (Hrsg.): *Methods in Membrane Biology*, Vol. 1, Plenum, New York 1974, S. 1; b) D. W. Deamer, P. Uster in [75a], Vol. III, S. 103; c) A. D. Bangham (Hrsg.): *Liposome Letters*, Academic Press, London 1983; d) M. J. Ostro (Hrsg.): *Liposomes*, Dekker, New York 1983; e) *Liposomes: From Biophysics to Therapeutics*, Dekker, New York 1987; f) G. Gregoridis, A. C. Allison (Hrsg.): *Liposomes in Biological Systems*, Wiley, Chichester 1980; g) G. C. Knight (Hrsg.): *Liposomes: From Physical Structure to Therapeutic Applications*, Elsevier, Amsterdam 1981; h) G. Gregoridis (Hrsg.): *Liposome Technology*, Vol. I III, CRC Press, Boca Raton, FL, USA 1984.
- [85] F. Szoka, D. Papahadjopoulos, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* **9** (1980) 467.
- [86] Z. I. Cabantchik, A. Darmon in [75a], Vol. III, S. 123.
- [87] a) D. A. Tirrell, L. G. Donaruma, A. B. Turek (Hrsg.): *Macromolecules as Drugs and as Carriers for Biologically Active Materials* (*Ann. NY Acad. Sci.* **446** (1985)); b) T. N. Palmer, H. M. Patel, L. E. Readings (Hrsg.): *Use of Liposomes in Medicine* (*Biochem. Soc. Trans.* **12** (1984) 331); c) G. Poste, *Biol. Cell* **47** (1983) 19; d) siehe hierzu auch [84], insbesondere d)-g) sowie h), Vol. III.
- [88] a) N. J. Turro, G. S. Cox, M. A. Paczkowski, *Top. Curr. Chem.* **129** (1985) 57; b) V. Ramamurthy, *Tetrahedron* **42** (1986) 5753; c) D. G. Whitten, *Angew. Chem.* **91** (1979) 472; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **18** (1979) 440; d) H. Koch, A. Laschewsky, H. Ringsdorf, K. Teng, *Makromol. Chem.* **187** (1986) 1843; e) [70b], S. 293.
- [89] a) T. Kunitake, S. Shinkai, *Adv. Phys. Org. Chem.* **17** (1980) 435; b) [70b], S. 235.
- [90] a) P. Tundo, K. Kurihara, D. J. Kippenberger, M. Politi, J. H. Fendler, *Angew. Chem.* **94** (1982) 73; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **21** (1982) 81; b) [70b], S. 492; c) D. H. P. Thompson, W. C. Barrette, J. K. Hurst, *J. Am. Chem. Soc.* **109** (1987) 2003; d) Y.-M. Tricot, J. H. Fendler, *ibid.* **106** (1984) 2475.
- [91] B. Schlarb, *Diplomarbeit*, Universität Mainz 1983.
- [92] a) M. L. Bender, *J. Am. Chem. Soc.* **79** (1957) 1258; b) W.-C. Shen, H. J.-P. Ryser, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **102** (1981) 1048; c) P. J. G. Butler, J. I. Harris, B. S. Hartley, R. Leberman, *Biochem. J.* **103** (1967) 78 p.
- [93] a) M. Haubs, H. Ringsdorf, *Nouv. J. Chim.* **11** (1987) 151; b) D. A. Holden, H. Ringsdorf, V. Deblauwe, G. Smets, *J. Phys. Chem.* **88** (1984) 716; c) D. A. Holden, H. Ringsdorf, M. Haubs, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 4531.
- [94] a) D. F. O'Brien, *Photochem. Photobiol.* **29** (1979) 679; b) K. Kano, Y. Tanaka, T. Ogawa, M. Shimomura, T. Kunitake, *ibid.* **34** (1981) 323; c) C. Pidgeon, C. A. Hunt, *ibid.* **37** (1983) 491.
- [95] M. Haubs, H. Ringsdorf, *Angew. Chem.* **97** (1985) 880; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **24** (1985) 882.
- [96] J. Streith, J.-M. Cassal, *Angew. Chem.* **80** (1968) 117; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **7** (1968) 129.
- [97] M. A. Ratcliff, J. K. Kochi, *J. Org. Chem.* **36** (1971) 3112.
- [98] a) T. Kunitake, N. Nakashima, K. Takarabe, M. Nagai, A. Tsuge, H. Yanagi, *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 5945; b) R. Elbert, A. Laschewsky, H. Ringsdorf, *ibid.* **107** (1985) 4134.
- [99] a) G. Gee, *Trans. Faraday Soc.* **32** (1936) 187; b) A. Cemel, T. Fort, J. B. Lando, *J. Polym. Sci. Part A-1* **10** (1972) 2061; c) R. Ackermann, O. Inacker, H. Ringsdorf, *Kolloid-Z. Z. Polym.* **249** (1971) 1118; d) G. Scheibe, H. Schuller, *Z. Elektrochem.* **59** (1955) 861.
- [100] D. Day, H.-H. Hub, H. Ringsdorf, *Isr. J. Chem.* **18** (1979) 325.
- [101] S. L. Regen, A. Singh, G. Oehme, M. Singh, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 791.
- [102] M. F. M. Roks, R. S. Dezentjé, V. E. M. Kaats-Richters, W. Drenth, A. J. Verkleij, R. J. M. Nolte, *Macromolecules* **20** (1987) 920.
- [103] W. Reed, L. Guterman, P. Tundo, J. H. Fendler, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 1897.
- [104] a) E. Hasegawa, Y. Matsushita, K. Eshima, N. Nishide, E. Tsuchida, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **5** (1984) 779; b) Y. Matsushita, E. Hasegawa, K. Eshima, H. Ohno, E. Tsuchida, *ibid.* **8** (1987) 1.
- [105] N. K. P. Samuel, M. Singh, K. Yamaguchi, S. L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.* **107** (1985) 42.
- [106] a) H.-H. Hub, B. Hupfer, H. Koch, H. Ringsdorf, *Angew. Chem.* **92** (1980) 962; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **19** (1980) 938; b) B. Hupfer, H. Ringsdorf, *Chem. Phys. Lipids* **33** (1983) 263; c) J. Leaver, A. Alonso, A. A. Durran, D. Chapman, *Biochim. Biophys. Acta* **732** (1983) 210; d) D. S. Johnston, S. Sanghera, M. Pons, D. Chapman, *ibid.* **602** (1980) 57; e) E. Lopez, D. F. O'Brien, T. H. Whitesides, *ibid.* **693** (1982) 437; f) *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 305.
- [107] a) H. Koch, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem.* **182** (1981) 255; b) N. Wagner, K. Dose, H. Koch, H. Ringsdorf, *FEBS Lett.* **132** (1981) 313; c) R. Pabst, H. Ringsdorf, H. Koch, K. Dose, *ibid.* **154** (1983) 5.
- [108] A. Akimoto, K. Dorn, L. Gros, H. Ringsdorf, H. Schupp, *Angew. Chem.* **93** (1981) 108; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **20** (1981) 90.
- [109] B. Ostermayer, O. Albrecht, W. Vogt, *Chem. Phys. Lipids* **41** (1986) 265.
- [110] D. Babilis, P. Dais, L. H. Margaritis, C. M. Paleos, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **23** (1985) 1089.
- [111] P. Tundo, D. J. Kippenberger, M. J. Politi, P. Klahn, J. H. Fendler, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 5352.
- [112] A. Kusumi, M. Singh, D. A. Tirrell, G. Oehme, A. Singh, N. K. P. Samuel, J. S. Hyde, S. L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.* **105** (1983) 2975.
- [113] a) K. Dorn, F. V. Patton, R. T. Klingbiel, D. F. O'Brien, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **4** (1983) 513; b) K. Dorn, R. T. Klingbiel, D. P. Specht, P. N. Tyminski, H. Ringsdorf, D. F. O'Brien, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 1627; c) R. Ebelhäuser, H. W. Spiess, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **5** (1984) 403; d) *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **89** (1985) 1208.
- [114] a) I. Gros, H. Ringsdorf, H. Schupp, *Angew. Chem.* **93** (1981) 311; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **20** (1981) 305; b) H. Bader, K. Dorn, B. Hupfer, H. Ringsdorf, *Adv. Polym. Sci.* **64** (1985) 1; c) J. H. Fendler, *Science (Washington)* **223** (1984) 888; d) J. H. Fendler, P. Tundo, *Acc. Chem. Res.* **17** (1984) 3; e) D. F. O'Brien, R. T. Klingbiel, D. P. Specht, P. N. Tyminski, *Ann. NY Acad. Sci.* **446** (1985) 282; f) S. L. Regen in [84c], S. 73.
- [115] a) H. P. Kim, S. M. Byum, Y. T. Ylom, S. W. Kim, *J. Pharm. Sci.* **72** (1983) 225; b) H. Ringsdorf, *J. Polym. Sci. Polym. Symp.* **51** (1975) 135; c) J. B. Lloyd, R. Duncan, J. Kopeček, *Biochem. Soc. Trans.* **14** (1986) 391.
- [116] a) A. Laschewsky, H. Ringsdorf, G. Schmidt, J. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **109** (1987) 788; b) A. Laschewsky, H. Ringsdorf, J. Schneider, *Angew. Makromol. Chem.* **145/146** (1986) 1; c) W. Frey, J. Schneider, H. Ringsdorf, G. Schmidt, J. Schneider, *Thin Solid Films* **152** (1987) 207.
- [117] E. Orthmann, G. Wegner, *Angew. Chem.* **98** (1986) 1114; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **25** (1986) 1105.
- [118] a) T. Kawaguchi, H. Nakahara, K. Fukuda, *Thin Solid Films* **133** (1985) 29; b) S. J. Mumby, J. D. Swalen, J. F. Rabolt, *Macromolecules* **19** (1986) 1054; c) G. Duda, A. J. Schouten, T. Arndt, G. Lieser, G. F. Schmidt, C. Bubeck, G. Wegner, *Thin Solid Films*, im Druck.
- [119] a) P. Hodge, E. Khoshdel, R. H. Tredgold, A. J. Vickers, C. S. Winter, *Br. Polym. J.* **17** (1985) 368; b) R. H. Tredgold, A. J. Vickers, A. Hoofar, P. Hodge, E. Khoshdel, *J. Phys. D Appl. Phys.* **18** (1985) 1139.
- [120] a) N. Beredjick, H. E. Ries, *J. Polym. Sci.* **62** (1962) S 64; b) D. Naegle, H. Ringsdorf in H. G. Elias (Hrsg.): *Polymerization of Organized Systems (Mid. Macromol. Monogr.* **3** (1977) 79).
- [121] a) M. Breton, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* **C21** (1981) 61; b) B. Tieke, *Adv. Polym. Sci.* **71** (1985) 79.
- [122] a) D. Naegle, J. B. Lando, H. Ringsdorf, *Macromolecules* **10** (1977) 1339; b) O. Albrecht, A. Laschewsky, H. Ringsdorf, *ibid.* **17** (1984) 937; c) *J. Membr. Sci.* **22** (1985) 187; d) A. Laschewsky, H. Ringsdorf, G. Schmidt, *Thin Solid Films* **134** (1985) 153; e) H. Cackovic, H.-P. Schwengers, J. Springer, A. Laschewsky, H. Ringsdorf, *J. Membr. Sci.* **26** (1986) 63; f) F. Grunfeld, C. W. Pitt, *Thin Solid Films* **99** (1983) 249; g) B. Tieke, G. Lieser, K. Weiss, *ibid.* **99** (1983) 95; h) J. P. Rabe, J. F. Rabolt, C. A. Brown, J. D. Swalen, *J. Chem. Phys.* **84** (1986) 4096.
- [123] A. Baniel, M. Frankel, I. Friedrich, A. Katchalsky, *J. Org. Chem.* **13** (1948) 791.
- [124] a) K. Fukuda, Y. Shibasaki, H. Nakahara, *J. Macromol. Sci. Chem.* **A 15** (1981) 999; b) *Thin Solid Films* **99** (1983) 87; c) *ibid.* **113** (1985) 39.
- [125] a) A. Barraud, A. Ruaudel-Texier, C. Rosilio, *Ann. Chim.* **70** (1975) 195; b) C. Rosilio, A. Ruaudel-Texier, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **13** (1975) 2459; c) A. Barraud, C. Rosilio, A. Ruaudel-Texier, *Thin Solid Films* **68** (1980) 7.
- [126] W. N. Emmerling, B. Pfannemüller, *Colloid Polym. Sci.* **261** (1983) 677.
- [127] T. Folda, L. Gros, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **3** (1982) 167.

- [128] A. Shibata, S. Yamashita, Y. Ito, T. Yamashita, *Biochim. Biophys. Acta* 854 (1986) 147.
- [129] a) R. Neumann, H. Ringsdorf, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 487; b) R. Neumann, H. Ringsdorf, E. V. Patton, D. F. O'Brien, *Biochim. Biophys. Acta* 898 (1987) 338.
- [130] a) S. C. Kushwaha, M. Kates, G. D. Sprott, I. C. P. Smith, *Science (Washington)* 211 (1981) 1163; b) T. A. Langworthy, *Curr. Top. Membr. Transp.* 17 (1982) 45.
- [131] a) J.-H. Fuhrhop, K. Ellermann, H. H. David, J. Mathieu, *Angew. Chem.* 94 (1982) 444; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 440; *Angew. Chem. Suppl.* 1982, 980; b) J.-H. Fuhrhop, J. Mathieu, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1983, 144; c) J.-H. Fuhrhop, H. H. David, J. Mathieu, U. Limann, H.-J. Winter, E. Boekema, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 1785; d) J.-H. Fuhrhop, D. Fritsch, *Acc. Chem. Res.* 19 (1986) 130.
- [132] a) H. Bader, H. Ringsdorf, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 20 (1982) 1623; b) *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 81 (1986) 329.
- [133] a) A. Kato, M. Arakawa, T. Kondo, *J. Microencapsulation* 1 (1984) 105; b) H. Izawa, M. Arakawa, T. Kondo, *Biochim. Biophys. Acta* 855 (1986) 243.
- [134] a) W. Hartmann, H.-J. Galla, E. Sackmann, *FEBS Lett.* 78 (1977) 169; b) W. Hartmann, H.-J. Galla, *Biochim. Biophys. Acta* 509 (1978) 474; c) B. de Kruijff, A. Rietveld, N. Telders, B. Vaandrager, *ibid.* 820 (1985) 295; d) D. Carrier, J. Dufourcq, J.-F. Faucon, M. Pézolet, *ibid.* 820 (1985) 131; e) D. Carrier, M. Pézolet, *Biochemistry* 25 (1986) 4167; f) A. Walter, C. J. Steer, R. Blumenthal, *Biochim. Biophys. Acta* 861 (1986) 319; g) A. E. Gad, G. Elyashiv, N. Rosenberg, *ibid.* 860 (1986) 314.
- [135] a) K. A. Borden, K. M. Eum, K. H. Langley, D. A. Tirrell, *Macromolecules* 20 (1987) 454; b) D. A. Tirrell, A. B. Turek, D. A. Wilkinson, T. J. McIntosh, *ibid.* 18 (1985) 1512; c) K. Seki, D. A. Tirrell, *ibid.* 17 (1984) 1692; d) D. Y. Takigawa, D. A. Tirrell, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 6 (1985) 653.
- [136] M. Takada, T. Yuzuriha, K. Katayama, K. Iwamoto, J. Sunamoto, *Biochim. Biophys. Acta* 802 (1984) 237.
- [137] a) K. V. Aliev, H. Ringsdorf, B. Schlarb, K.-H. Leister, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 5 (1984) 345; b) S. L. Regen, J.-S. Shin, K. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 2446; c) S. L. Regen, J.-S. Shin, J. F. Hainfeld, J. S. Wall, *ibid.* 106 (1984) 5756; d) H. Fukuda, T. Diem, J. Stefely, F. J. Kezdy, S. L. Regen, *ibid.* 108 (1986) 2321; e) J. F. Brady, D. F. Evans, B. Kachar, B. W. Ninham, *ibid.* 106 (1984) 4279.
- [138] T. Tsumita, M. Ohashi, *J. Exp. Med.* 119 (1964) 1017.
- [139] U. Hammerling, O. Westphal, *Eur. J. Biochem.* 1 (1967) 46.
- [140] a) D. E. Wolf, J. Schlessinger, E. I. Elson, W. W. Webb, R. Blumenthal, P. Henkart, *Biochemistry* 16 (1977) 3476; b) D. E. Wolf, P. Henkart, W. W. Webb, *ibid.* 19 (1980) 3893.
- [141] J. Sunamoto, K. Iwamoto, M. Takada, T. Yuzuriha, K. Katayama in E. Chiellini, P. Giusti (Hrsg.): *Polymers in Medicine*, Plenum, New York 1984, S. 157.
- [142] K. Kobayashi, H. Sumitomo, H. Ichikawa, *Macromolecules* 19 (1986) 529.
- [143] J. Sunamoto, M. Goto, T. Iida, K. Hara, A. Saito, A. Tomonaga in G. Gregoridis, G. Poste, J. Senior, A. Trout (Hrsg.): *Receptor-Mediated Targeting of Drugs*, Plenum, New York 1985, S. 359.
- [144] J. Sunamoto, T. Sato, M. Hirota, K. Fukushima, K. Hiratani, K. Hara, *Biochim. Biophys. Acta* 898 (1987) 323.
- [145] J. Möllerfeld, W. Prass, H. Ringsdorf, H. Hamazaki, J. Sunamoto, *Biochim. Biophys. Acta* 857 (1986) 265.
- [146] J. P. Reeves, R. M. Dowben, *J. Cell. Physiol.* 73 (1968) 49.
- [147] E. Kuchinka, *Diplomarbeit*, Universität Mainz 1986.
- [148] Analoge Konstruktion: K. Fricke, E. Sackmann, *Biochim. Biophys. Acta* 803 (1984) 145.
- [149] Siehe [74], S. 307ff bzw. 338ff.
- [150] R. Krbeck, C. Gebhardt, H. Gruler, E. Sackmann, *Biochim. Biophys. Acta* 554 (1979) 1.
- [151] a) C. Gebhardt, H. Gruler, E. Sackmann, *Z. Naturforsch.* C32 (1977) 581; b) E. J. Luna, H. M. McConnell, *Biochim. Biophys. Acta* 466 (1977) 381.
- [152] a) E. Sackmann, D. Rüppel, C. Gebhardt, *Springer Ser. Chem. Phys.* 11 (1980) 309; b) D. Rüppel, E. Sackmann, *J. Phys. (Les Ulis Fr.)* 44 (1983) 1025.
- [153] a) J. Darnell, H. Lodish, D. Baltimore: *Molecular Cell Biology*, Scientific American Books, Freeman, New York 1986, S. 592ff; b) K. Weber, M. Osborn, *Spektrum Wiss.* 1985, Nr. 12, S. 102; c) V. T. Marchesi, *J. Membr. Biol.* 51 (1979) 101; d) D. Branton, C. M. Cohen, J. Tyler, *Cell* 24 (1981) 24; e) C. Koszka, *Chem. Unserer Zeit* 20 (1986) 19.
- [154] E. Sackmann, P. Eggl, C. Fahn, H. Bader, H. Ringsdorf, M. Schollmeier, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 89 (1985) 1198.
- [155] a) E. Sackmann, H.-P. Duwe, H. Engelhardt, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 81 (1986) 287; b) E. Sackmann, H.-P. Duwe, K. Zeman, A. Zilker in E. Clementi, S. Chin (Hrsg.): *Structure and Dynamics of Nucleic Acids. Proteins and Membranes*, Plenum, New York 1986, S. 251.
- [156] V. P. Torchilin, A. L. Klibanov, N. N. Ivanov, H. Ringsdorf, B. Schlarb, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 8 (1987) 457.
- [157] a) H. Ringsdorf, B. Schlarb, *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.)* 27 (2) (1986) 195; b) *Makromol. Chem.*, im Druck.
- [158] H. Ringsdorf, B. Schlarb, P. N. Tyminski, D. F. O'Brien, *Macromolecules*, im Druck.
- [159] L. B. Margolis, *Biochim. Biophys. Acta* 779 (1984) 161.
- [160] Vgl. [74], S. 98ff bzw. 105ff, 217ff.
- [161] M. Monsigny, C. Kieda, A.-C. Roche, *Biol. Cell* 47 (1983) 95.
- [162] R. R. Rando, J. S. Slama, F. W. Bangerter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 2510.
- [163] a) H. Bader, H. Ringsdorf, J. Skura, *Angew. Chem.* 93 (1981) 109; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 91; b) H. Bader, R. van Wageningen, J. D. Andrade, H. Ringsdorf, *J. Colloid Interface Sci.* 101 (1984) 246.
- [164] B. Tieke, G. Lieser, G. Wegner, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 17 (1979) 1631.
- [165] a) R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* 98 (1986) 213; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25 (1986) 212; b) H. Kunz, *ibid.* 99 (1987) 297 bzw. 26 (1987) 294.
- [166] M. Wilchek, *Makromol. Chem. Suppl.* 2 (1979) 207.
- [167] K. Takemoto in C. G. Gebelein, C. E. Carraher (Hrsg.): *Bioactive Polymeric Systems*, Plenum, New York 1985, S. 417.
- [168] a) C. G. Overberger, Y. Inaki, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 17 (1979) 1739; b) J. Pitha, M. Akashi, M. Draminski in P. Goldberg, A. Nakajima (Hrsg.): *Biomedical Polymers*, Academic Press, New York 1980, S. 271.
- [169] a) H. Kitano, H. Ringsdorf, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 58 (1985) 2826; b) M. Ahlers, *Diplomarbeit*, Universität Mainz 1985.
- [170] a) H. O. Ribi, P. Reichard, R. D. Kornberg, *Biochemistry* 26 (1987) 7974; b) siehe auch E. E. Uzgiris, R. D. Kornberg, *Nature (London)* 301 (1983) 125.
- [171] a) H. Rosemeyer, M. Ahlers, B. Schmidt, F. Seela, *Angew. Chem.* 97 (1985) 500; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 501; b) zur Synthese der Kopfgruppen: F. Seela, F. Cramer, *Chem. Ber.* 108 (1975) 1329.
- [172] M. Loos, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 102 (1983) 1.
- [173] a) M. Loos, D. Bitter-Suermann, M. P. Dierich, *J. Immunol.* 112 (1974) 935; b) F. Clas, M. Loos, *Infect. Immun.* 31 (1981) 1138.
- [174] a) M. Ivanova, I. Panaiotov, M. Eshkenazy, R. Tekeliava, R. Ivanova, *Colloids Surf.* 17 (1986) 159; b) C. R. Alving, S. Shichijo, I. Mattsby-Baltzer in [84h], Vol. II, S. 157; c) B. Banerji, C. R. Alving, *J. Immunol.* 126 (1981) 1080.
- [175] M. Loos, M. Latsch, M. Ahlers, R. Nagata, H. Ringsdorf, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [176] a) E. T. Rietschel, H. Mayer, H.-W. Wollenweber, U. Zäbringer, O. Lüderitz, O. Westphal, H. Brade in J. Y. Homma (Hrsg.): *Bacterial Endotoxin*, Verlag Chemie, Weinheim 1984, S. 16; b) H.-W. Wollenweber, K. W. Broady, O. Lüderitz, E. T. Rietschel, *Eur. J. Biochem.* 124 (1982) 191.
- [177] a) K. B. M. Reid, R. Porter, *Biochem. J.* 155 (1976) 19; b) H. R. Knobel, W. Villiger, H. Isliker, *Eur. J. Immunol.* 5 (1975) 78.
- [178] Vgl. [74], S. 256ff bzw. 278ff.
- [179] F. Stemmer, M. Loos, *J. Immunol. Methods* 74 (1984) 9.
- [180] P. Meller, H. Ringsdorf, unveröffentlicht.
- [181] a) K. N. Timmis, G. J. Boulnois, D. Bitter-Suermann, F. C. Cabello, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 118 (1985) 197; b) M. Frosch, I. Göringen, G. J. Boulnois, K. N. Timmis, D. Bitter-Suermann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (1985) 1194.
- [182] E. J. McGuire, S. B. Binkley, *Biochemistry* 3 (1964) 247.
- [183] Vgl. [74], S. 276ff bzw. 302ff.
- [184] Vgl. [74], S. 303ff bzw. 332.
- [185] a) D. J. Morré in [75a], Vol. II, S. 181; b) J. Aggeler, Z. Werb, *J. Cell Biol.* 94 (1982) 613; c) M. K. Pratten, J. B. Lloyd, G. Hörpel, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem.* 186 (1985) 725.
- [186] a) E. Sackmann in W. Hoppe, W. Lohmann, H. Markl, H. Ziegler (Hrsg.): *Biophysik*, 2. Auflage, Springer, Berlin 1982, S. 439; b) H. Hauser, M. C. Phillips in D. A. Cadenhead, J. F. Danielli (Hrsg.): *Progress in Surface and Membrane Science*, Academic Press, New York 1979, S. 297.
- [187] G. Lenaz, G. P. Castelli in [75a], Vol. I, S. 93ff, 124.
- [188] a) H. Gaub, E. Sackmann, R. Büschl, H. Ringsdorf, *Biophys. J.* 45 (1984) 725; b) H. Gaub, R. Büschl, H. Ringsdorf, E. Sackmann, *Chem. Phys. Lipids* 37 (1985) 19.
- [189] M. Bessis: *Living Blood Cells and their Ultrastructure*, Springer, Berlin 1973.
- [190] a) E. A. Evans, *Biophys. J.* 14 (1974) 923; b) H. J. Deuling, W. Helfrich, *ibid.* 16 (1976) 861; c) M. P. Sheetz, S. J. Singer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71 (1974) 4457; d) S. Svetina, B. Zeks, *Biomed. Biochim. Acta* 42 (1983) 86.
- [191] M. Haubs, *Dissertation*, Universität Mainz 1986.
- [192] a) W. E. Fleming (Upjohn Company, USA), persönliche Mitteilung; b) siehe auch *Der Spiegel* 35 (1981) Nr. 7, S. 201.
- [193] a) R. Elbert, T. Folda, H. Ringsdorf, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 7687; b) T. Kunitake, S. Tawaki, N. Nakashima, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 56 (1983) 3235.
- [194] Die Fülle der Möglichkeiten, Liposomen selektiv zu öffnen, wird nur noch übertroffen von der Zahl der Verfahren, Weinflaschen zu entkorken. Das gilt auch für die vielfältigen Konzepte, ein wissenschaftliches Problem anzugehen, die durchaus in vielen Fällen die persönlichen und nationalen Züge des Bonvivants erkennen lassen, z. B. das

deutsche Verfahren (aus R. Searle: *Something in the Cellar... Wonderful World of Wine*, Souvenir Press, London 1986):



- [195] a) J. N. Weinstein, R. L. Magin, M. B. Yatvin, D. S. Zaharko, *Science (Washington)* 204 (1979) 188; b) S. M. Sullivan, L. Huang, *Biochim. Biophys. Acta* 812 (1985) 116.
- [196] a) M. B. Yatvin, W. Kreutz, B. A. Horwitz, M. Shinitzky, *Science (Washington)* 210 (1980) 1253; b) R. Nayar, A. J. Schroit, *Biochemistry* 24 (1985) 5967; c) D. A. Tirrell, D. Y. Takigawa, K. Seki, *Ann. NY Acad. Sci.* 446 (1985) 237; d) B. P. Devlin, D. A. Tirrell, *Macromolecules* 19 (1986) 2465; e) O. O. Petrukhina, N. N. Ivanov, M. M. Feldstein, A. E. Vasil'ev, N. A. Plate, V. P. Torchilin, *J. Controlled Release* 3 (1986) 137; f) J.-H. Fuhrhop, U. Liman, H. H. David, *Angew. Chem.* 97 (1985) 337; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 339.
- [197] a) R. Büschl, T. Folda, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem. Suppl.* 6 (1984) 245; b) H. Bader, H. Ringsdorf, B. Schmidt, *Angew. Makromol. Chem.* 123/124 (1984) 457.
- [198] M. Butler, L. G. Abood, *J. Membrane Biol.* 66 (1982) 1.
- [199] R. Büschl, B. Hupfer, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 3 (1982) 589.
- [200] T. Folda, *Dissertation*, Universität Mainz 1984.
- [201] Ein sehr schnelles Verfahren zur Entkorkung von Flaschen ist die „sizilianische Eröffnung“; vom Schachspiel bekannt, wird sie bisweilen auch in der Wissenschaft angewendet (aus [194]):



- [202] Zur Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen für die Messung des Frei- setzungsverhaltens von Liposomen siehe: a) J. N. Weinstein, S. Yoshi- kami, P. Henkart, R. Blumenthal, W. A. Hagins, *Science (Washington)* 195 (1977) 489; b) J. N. Weinstein, E. Ralston, L. D. Leserman, R. D. Klausner, P. Dragsten, P. Henkart, R. Blumenthal in [84h], Vol. III, S. 183.
- [203] Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden an der Case Western Reserve University in Cleveland, OH, USA, (Prof. J. B. Lando) durchgeführt.
- [204] Die gefrierbruchelektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden von C. Fahn im Physik Department der Technischen Universität München (Prof. E. Sackmann) durchgeführt.
- [205] a) W. F. Reed, L. R. Guterman, *J. Radiat. Curing* 1986, 18; b) R. L. Juliano, M. J. Hsu, S. L. Regen, M. Singh, *Biochim. Biophys. Acta* 770 (1984) 109.
- [206] H. Ohno, S. Takeoka, E. Tsuchida, *Polym. Bull.* 14 (1985) 487.
- [207] Obwohl auch in der Weinbranche enzymatische Prozesse nicht unüblich sind, werden normalerweise zum Korkenziehen physikalische Me-

thoden bevorzugt. Was die Eleganz des Verfahrens betrifft, ist die Schweizer Variante kaum zu überbieten (aus [194]):



- [208] R. Büschl, *Dissertation*, Universität Mainz 1984.
- [209] a) P. G. Munder, M. Modolell, W. Bausert, H. F. Oettgen, O. Westphal, *Prog. Cancer Res. Ther.* 16 (1981) 411; b) R. Andreesen, A. Schulz, U. Costabel, P. G. Munder, *Immunobiology* 163 (1982) 335; c) M. Modolell, R. Andreesen, W. Pahlke, U. Brugger, P. G. Munder, *Cancer Res.* 39 (1979) 4681; d) M. H. Runge, R. Andreesen, A. Pfeiderer, P. G. Munder, *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 64 (1980) 1301; e) R. Andreesen, M. Modolell, G. H. F. Oepke, P. G. Munder, *Exp. Hematol. (NY)* 11 (1983) 564.
- [210] „Das ist so, wie wenn jemand einen Stein schleppst und sagt: Ich bau‘ einen gotischen Dom.“
- [211] a) R. Hoffmann, *Angew. Chem.* 99 (1987) 871; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 846; b) Roald Hoffmann, einer der letzten, dem man Oberflächlichkeit vorwerfen kann, formuliert das Problem der Verallgemeinerung in aller Bescheidenheit so: „Typologien und Verallgemeinerungen spiegeln häufig weniger die Wirklichkeit wider als die Schwäche des Geistes, dem sie entspringen“. Dies gilt es zu akzeptieren!
- [212] Georg Christoph Lichtenberg in seinen Aphorismen: „Der Witz ist der Finder und der Verstand der Beobachter“. „Es verdient einmal recht ernstlich untersucht zu werden, warum die meisten Erfindungen durch Zufall müssen gemacht werden. Die Hauptursache ist wohl die, daß die Menschen alles so ansehen, wie ihre Lehrer und die Umgebung es ansieht. Deswegen müßte es nützlich sein, einmal eine Anweisung zu geben, wie man nach gewissen Gesetzen von der Regel abweichen könnte“. *Aphorismen*. Inseltaschenbuch/Suhrkamp, Frankfurt am Main 1979, S. 202 bzw. 204.
- [213] a) F. Vögtle, H.-G. Löhr, J. Franke, D. Worsch, *Angew. Chem.* 97 (1985) 721; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 727; b) F. Vögtle, E. Weber (Hrsg.): *Host Guest Complex Chemistry*, Vol. I-III (Top Curr. Chem. 98 (1981), 101 (1982), 121 (1984)); c) *Biomimetic and Bioorganic Chemistry*, Vol. I-III (Top. Curr. Chem. 128 (1985), 132 (1986), 136 (1986)); d) D. J. Cram, *Angew. Chem.* 98 (1986) 1041; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25 (1986) 1039.
- [214] Siehe [165] und zit. Lit.
- [215] C. Frejacques, *Chem. Ind. (London)* 1985, 780.
- [216] Gedankt sei allen Mitarbeitern für ihr uneigennütziges, emsiges und aufopferungsvolles ...!



Allerdings wußte man auch schon im alten China vor 2000 Jahren: Du lernst viel von deinen Lehrern, du lernst mehr von deinen Freunden, du lernst am meisten von deinen Schülern (Bild aus [3b], S. 101).