



Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Naturwissenschaftliche Fakultät II

Institut für Chemie

Physikalische Chemie

Dissertation

**Chirale und achirale Polymere in
Wechselwirkung mit
Phospholipid-Monolayern und -Bilayern**

vorgelegt von **Frau Dipl.-Chem. Peggy Scholtysek**

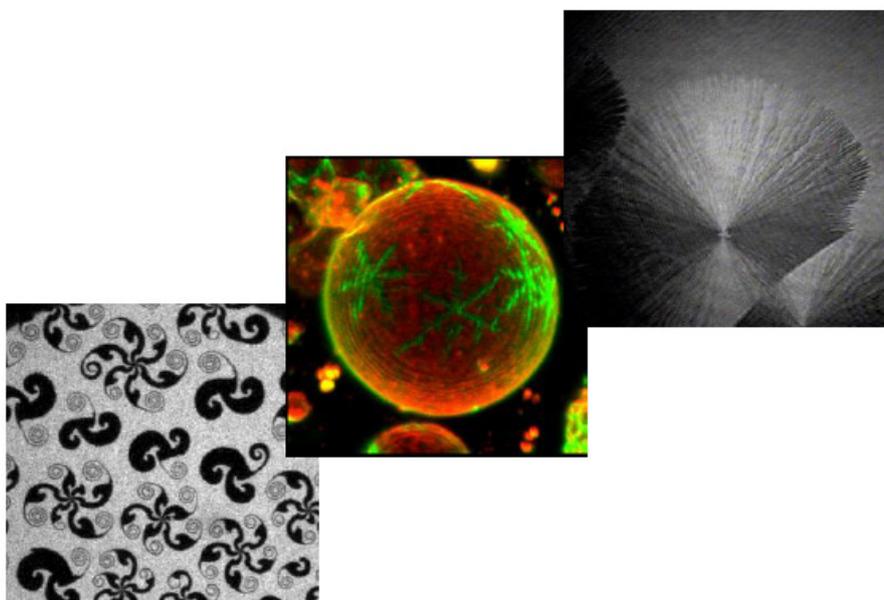
geboren am 02.07.1985 in Halle/Saale

Gutachter:

1. Prof. Dr. Alfred Blume
2. Prof. Dr. Jörg Kreßler
3. Prof. Dr. Thomas Wolff

Halle/Saale, den 17.10.2014

Diese Arbeit wurde innerhalb des DFG-Projektes **Forscherguppe FOR 1145**
„Strukturbildung von synthetischen polyphilen Molekülen mit Lipidmembranen“ angefertigt.



Forscherguppe FOR 1145

Für meine Eltern.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Alfred Blume danke ich für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe „Biophysikalische Chemie“ und die Überlassung des hier bearbeiteten Themas. Ich bedanke mich für die wegweisende wissenschaftliche Anleitung und für die Freiheiten, die ich während meiner Forschungsarbeit genießen konnte; ebenso für die Möglichkeiten, meine Forschungsergebnisse auf internationalen Konferenzen zu präsentieren und in anerkannten Journalen zu veröffentlichen. Desweiteren bekam ich durch die Mitarbeit in der Forschergruppe FOR 1145 die Möglichkeit, mit Kollegen aus verschiedenen Arbeitsgruppen zusammenzuarbeiten und somit Einsicht in verschiedene Arbeitsbereiche und Kenntnis über andere Arbeitsweisen zu erhalten. Und natürlich möchte ich mich ganz herzlich für die Möglichkeit, an Arbeitsgruppenausflügen und -feiern, welche wie die alljährliche Weihnachtsfeier bereits zur Tradition geworden sind, teilzunehmen.

Herrn Prof. Dr. Jörg Kreßler danke ich zum einen für die Bereitstellung der Polymere durch seinen ehemaligen Mitarbeiter Herrn Dr. Zheng Li. Zum anderen ermöglichte mir die Kooperation von Herrn Prof. Dr. Kreßler mit Herrn Prof. Dr. Frey eine Erweiterung meiner wissenschaftlichen Arbeit auf eine zweite Gruppe von Polymeren. Daher danke ich beiden Professoren für die Universitäts- und Arbeitsgruppen-übergreifende Kooperation und die Möglichkeit zur wissenschaftlichen Publikation. Im gleichen Zuge danke ich Herrn Dr. Zheng Li und Frau Dipl.-Chem. Sophie Müller für die Synthese der in dieser Arbeit verwendeten Polymere, sowie Frau Dr. Regina Schöps für die CLSM-Messungen an Lipid:Polymer-Gemischen und natürlich allen für die gute Zusammenarbeit.

Bei Frau Jun.-Prof. Dr. Kirsten Bacia bedanke ich mich für die Zusammenarbeit im Rahmen der elektronenmikroskopischen Messungen und der Forschergruppentätigkeiten auf dem Gebiet der Fluoreszenzmikroskopie.

Frau PD Dr. Annette Meister danke ich für die Durchführung zahlreicher TEM-Messungen, sowie für cryo-TEM-Messungen, die damit zusammenhängenden wissenschaftlichen Diskussionen und ganz besonders für den rechten Rat zur rechten Zeit.

Herrn Prof. Dr. Kay Saalwächter, Frau Prof. Dr. Katarina Edwards, Frau Dr. Claudia-Viktoria Hoffmann, Herrn Dipl.-Chem. Bob-Dan Lechner und Frau Dipl.-Phys. Anja Achilles danke ich für die gute Zusammenarbeit im Rahmen der A6/6-Publikation.

Ein weiterer Dank gilt Herrn Dr. Andreas Kerth für wissenschaftliche Ratschläge und die Organisation von Laborgeräten und Chemikalien.

Bei der gesamten Arbeitsgruppe um Herrn Prof. Dr. Blume möchte ich mich für die freundliche und familiäre Arbeitsatmosphäre und für die jederzeit gute Zusammenarbeit bedanken, ebenso für die zahlreichen gemeinsamen Feiern und Ausflüge.

Meinem Einstein danke ich für seine Liebe und seine Geduld, sowie für Rückenhalt und Ablenkung. Zusammen mit seiner herzlichen Familie hat er mir ein zweites zu Hause gegeben.

Und natürlich gilt ein ganz besonderer und herzlicher Dank meinen Eltern für ihre jederzeit wichtige Liebe und Unterstützung in allen Lebensbereichen.

Inhaltsverzeichnis

0. Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole	2
1. Einführung	5
1.1. Lipide und Phospholipide	5
1.2. Lipidmonolayer und Lipidbilayer	7
1.2.1. Monolayer	7
1.2.2. Bilayer	9
1.3. Verwendete Polymere und ihre Eigenschaften	10
1.3.1. PGMA-Derivate	10
1.3.2. Block-Copolymer-Systeme mit Cholesterol-Anker	12
2. Aufgabenstellung und Motivation	17
3. Theoretische Grundlagen der verwendeten Methoden	20
3.1. Tensiometrie - Langmuir- und Gibbs-Monolayer	20
3.1.1. Zeitabhängige Adsorption von Molekülen aus der Subphase	21
3.1.2. Detektion von Kompressionsisothermen	23
3.1.3. Epi-Fluoreszenzmikroskopie in Kombination mit der Messung von Kompressionsisothermen	24
3.2. Bilayer-Untersuchungen	27
3.2.1. Differential-Scanning Kalorimetrie	27
3.2.2. Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie an Giant Unilamellar Vesicles	28
4. Durchführung der Experimente	30
4.1. Verwendete Materialien	30
4.2. Tensiometrie - Langmuir- und Gibbs-Monolayer	31
4.2.1. Zeitabhängige Detektion von Adsorptionsprozessen	31
4.2.2. Flächenabhängige Isothermen	33

4.2.3. Epi-Fluoreszenzmikroskopie in Kombination mit der Messung von Kom- pressionsisothermen	35
4.3. Bilayer-Untersuchungen	38
4.3.1. Differential-Scanning Kalorimetrie	38
4.3.2. Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie an Giant Unilamellar Vesicles .	39
5. Ergebnisse und Diskussion	41
5.1. PGMA-Derivate	41
5.1.1. Tensiometrie - Langmuir- und Gibbs-Monolayer	41
5.1.2. Epi-Fluoreszenzmikroskopie in Kombination mit der Messung von Kom- pressionsisothermen	66
5.1.3. Bilayer-Untersuchungen	79
5.2. Hyperverzweigte Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker	85
5.2.1. Tensiometrie - Langmuir- und Gibbs-Monolayer	85
5.2.2. Epi-Fluoreszenzmikroskopie an gemischten Phospholipid:Polymer mit Cholesterol-Anker-Systemen	108
5.2.3. Bilayer-Untersuchungen	118
6. Zusammenfassung und Ausblick	126
Literaturverzeichnis	130
A. Bildtafeln	II
Lebenslauf	XVII
Konferenzbeiträge	XIX
Veröffentlichungen	XXI
Eigenständigkeitserklärung	XXII

0. Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole

Die verwendeten Abkürzungen und Symbole sind in alphabetischer Reihenfolge aufgelistet.

A	Fläche
AFM	Raster-Kraft-Mikroskopie, auch Atomic Force Microscopy
BP	Bandfilter, auch band pass
BSA	bovines Serumalbumin
b_w	Breite des Wilhelmy-Plättchens
c	Konzentration
5CB	5-Cyanobiphenyl
CHCl₃	Chloroform
C_p	isobare Wärmekapazität
cryo-TEM	cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie
CLSM	Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie
CPK-Modell	Kalottenmodell
DiO	3,3'-Dioctadecyloxacarbocyanin Perchlorat
D-DPPC	2,3-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-1-phosphatidylcholin
DLPC	1,2-Dilauroyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
DMPC	1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
DOPC	1,2-Dioleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
DSC	Differential-Scanning Kalorimetrie, auch Differential Scanning Calorimetry
DSPE-PEG	1,2-Distearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphoethanolamin-N-[biotinyl(polyethylen glycol)-2000] Ammoniumsalz
G	freie Enthalpie
G	gasanaloge Phase
Γ	Sättigungskonzentration bzw. Adsorptionsdichte

G_M	Gewichtskraft des Meniskus' am Wilhelmy-Plättchen
GUV	Giant Unilamellar Vesicle
$\Delta_u H$	Umwandlungsenthalpie der Phasenumwandlung
hb	hyperverzweigt, auch hyperbranched
HE	high efficiency
HPLC	Hochleistungsflüssigkeits-chromatographie, auch high-performance li- quid chromatography
IC	Internal Conversion
ISC	Intersystem Crossing
ITO-Zelle	Indium-Zinnoxid-Zelle, auch indium tin oxide-Zelle
L_α	flüssig-kristalline Lipid-Bilayerphase
$L_{\beta'}$	Gelphase, geordnete Lipid-Bilayerphase mit getilteten Fettsäureketten
L_c	Gelphase, hoch geordnete Tieftemperatur-Lipid-Bilayerphase
$\lambda_{ex/em}$	Anregungs- bzw. Emissionswellenlänge
LC	flüssig-kondensiert, auch liquid condensed
L-DPPC	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
LE	flüssig-expandiert, auch liquid expanded
MeOH	Methanol
μM	$\mu mol\ l^{-1}$
mM	$mmol\ l^{-1}$
n	Stoffmenge
NBD C₁₂-HPC	2-(12-(7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino)dodecanoyl-1- hexadecanoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
p	Druck
$P_{\beta'}$	Ripple-Phase, Gelphase des Lipid-Bilayers mit getilteten Fettsäureketten
PEG	Poly-(ethylenglycol)
PG	Poly-(glycerol)
PGMA	Poly-(glycerol-methylmethacrylat)
π	lateraler Oberflächendruck
POPC	1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
POPG	1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylglycerol
R	Universelle Gaskonstante
rac-DPPC	racemische 1:1-Mischung von L- und D-DPPC (Stoffmengenverhältnis)

Rhodamin-DHPE/Rho-DHPE	1,2-Dihexadecanoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylethanolamin-N-(lissamin rhodamin B sulfonyl)
ROI	region of interest
S	solid, auch fest-analog
σ	Oberflächenspannung
σ_0	Oberflächenspannung des Wassers bei der ausgewählten Temperatur
T	Temperatur
TEM	Transmissions-Elektronenmikroskopie
θ	Kontaktwinkel des Wassermeniskus' mit dem Wilhelmy-Plättchen
θ	Temperaturangabe in °C
TOC	total organic carbon
$\text{UO}_2(\text{COOCH}_3)_2$	Uranylacetat
z_w	Dicke des Wilhelmy-Plättchens

1. Einführung

Die vorliegende Arbeit mit dem Titel „Chirale und achirale Polymere in Wechselwirkung mit Phospholipid-Monolayern und -Bilayern“ ist eine Dissertation mit den Schwerpunkten Biophysikalische Chemie, sowie Grenzflächen- und Polymerchemie. Wie im Kapitel „Aufgabenstellung und Motivaton“ näher beleuchtet, liegt das Hauptaugenmerk auf der Interaktions-Aufklärung von Phospholipid-Modellsystemen und synthetischen Polymeren. Diese Arbeit beschreibt physiko-chemische Analysen und die Interpretation der gefundenen Resultate für die interessantesten der untersuchten Rein- und Mischsysteme. In diesem einleitenden Kapitel werden zunächst die entsprechenden Phospholipid- und Polymersysteme vorgestellt.

1.1. Lipide und Phospholipide

Die für die vorliegende Dissertation verwendeten Lipide, speziell Phospholipide, wurden ausgewählt, da sie eine der Hauptkomponenten biologischer Membranen darstellen. Phospholipide kommen u.a. im menschlichen und tierischen Organismus vor und wurden daher bereits umfangreich charakterisiert. [1]-[5] Die hier verwendeten Phospholipid-Modellsysteme stellen also eine ideale Basis dafür dar, bei Zugabe modellfremder Moleküle deren Einfluss auf das bereits bekannte Lipid-System zu identifizieren. Auf diese Weise ist es möglich, einige der physiko-chemischen Eigenschaften der Fremdsbstanzten in Wechselwirkungen mit anderen Systemen aufzuklären.

Phospholipide sind amphiphile Moleküle. Das bedeutet, dass sie sowohl über einen hydrophilen als auch über einen hydrophoben Anteil verfügen. Die Lipide besitzen ein Glycerol-Grundgerüst, an das eine hydrophile Phosphatidyl-Gruppe, in diesem Fall die zwitterionische Phosphatidylcholin-Gruppe, und zwei Fettsäureketten gebunden sind. Es können zwei gleiche Acylgruppen angebunden sein. Diese Anordnung wird als symmetrisch bezeichnet. Bei einer asymmetrischen Anordnung sind zwei verschiedene Fettsäureketten mit dem Glycerolgerüst

verbunden. Sie können sich in der Länge, in ihrem Sättigungsgrad oder in beidem voneinander unterscheiden. Der hydrophile Anteil der Fettsäure-Einheiten wird zum hydrophilen Kopf des Moleküls gezählt, während die gesättigten bzw. ungesättigten Kohlenwasserstoffanteile der Fettsäureeinheiten die hydrophobe Schwanzkette bildet. Aufgrund der Amphiphilie und der daraus folgenden Oberflächenaktivität der Moleküle assoziieren die Lipide auf verschiedene, der Molekülgeometrie entsprechenden, Weise, um energetisch ungünstige Kontakte mit anderen Medien zu minimieren. Durch die Anlagerung oberflächenaktiver Substanzen an die Luft-Wasser-Grenzfläche werden die Wassermoleküle von der Grenzfläche in das Volumen verdrängt. Die Ausbildung der Monoschichten an der Luft-Wasser-Grenzfläche und der substanztypischen Aggregate im Volumen minimiert die Kontaktflächen hydrophober Moleküleinheiten mit dem umgebenden Wasser. Dieses Verhalten wird auch als „hydrophober Effekt“ bezeichnet.

Entsprechend der Anordnung der Phosphatidylcholin- und der Fettsäure-Gruppen am Glycerol-Grundgerüst weist ein Phospholipid eine Stereochemie auf. Abbildung 1.1 zeigt die chemische Struktur der in dieser Arbeit verwendeten Phospholipide 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (L-DPPC), 2,3-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-1-phosphatidylcholin (D-DPPC) und 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (POPC). Während L-DPPC das natürlich vorkommende Enantiomer ist, kann D-DPPC nur auf synthetischem Wege erzeugt werden. Mischt man beide Stereoisomere im molaren Verhältnis 1:1, so erhält man ein racemisches DPPC-Gemisch, das im Folgenden als rac-DPPC bezeichnet wird. [6, 7] L-DPPC ist eines der experimentell meist verwendeten Phospholipide, da es in der natürlichen Membran zu einem sehr hohen Anteil vorkommt, [2] so z. B. als eines der wichtigsten Bestandteile des Lipidmonolayers auf Lungen-Alveoli, welcher diese während der Atmung vor einem Kollaps bewahren soll. [8]-[10] L-DPPC ist ein gesättigtes Phosphatidylcholin symmetrischen Molekülaufbaus, bei dem die zwei gesättigten Palmitoyl-Fettsäureketten an die *sn*-1- und *sn*-2-Positionen, die hydrophile Kopfgruppe an die *sn*-3-Position des Glycerol-Grundgerüsts angebunden sind. Bei D-DPPC sind die Fettsäureketten an die *sn*-2- und *sn*-3-Positionen gebunden, die Kopfgruppe an die *sn*-1-Position.

Zusätzlich zu den DPPC-Enantiomeren wurde das ungesättigte Phospholipid POPC getestet. Bei diesem handelt es sich um ein einfach ungesättigtes, asymmetrisches Phospholipid. Die Oleoyl-Fettsäurekette besitzt eine Doppelbindung und ist um zwei Kohlenwasserstoff-Einheiten länger als die benachbarte Palmitoylkette. Obwohl sich die beiden Lipide DPPC und POPC nur in einer Fettsäurekette unterscheiden, ist ihr Phasenverhalten dennoch sehr

unterschiedlich, was im Verlaufe der Ergebnisinterpretation deutlich wird. Da die Phasenumwandlung des POPC aufgrund der ungesättigten Fettsäureketten zu sehr niedrigen Temperaturen verschoben ist ($-2\text{ }^{\circ}\text{C}$), ist eine Untersuchung des zweiten Lipid-Enantiomers unnötig. Es ist vor allem das Phasenumwandlungsverhalten der Lipide, welches den Ausgangspunkt für die experimentellen Forschungsansätze bildet. Desweiteren sind physiko-chemische Messungen unterhalb des Gefrierpunktes mit den hier verwendeten Methoden nicht möglich.

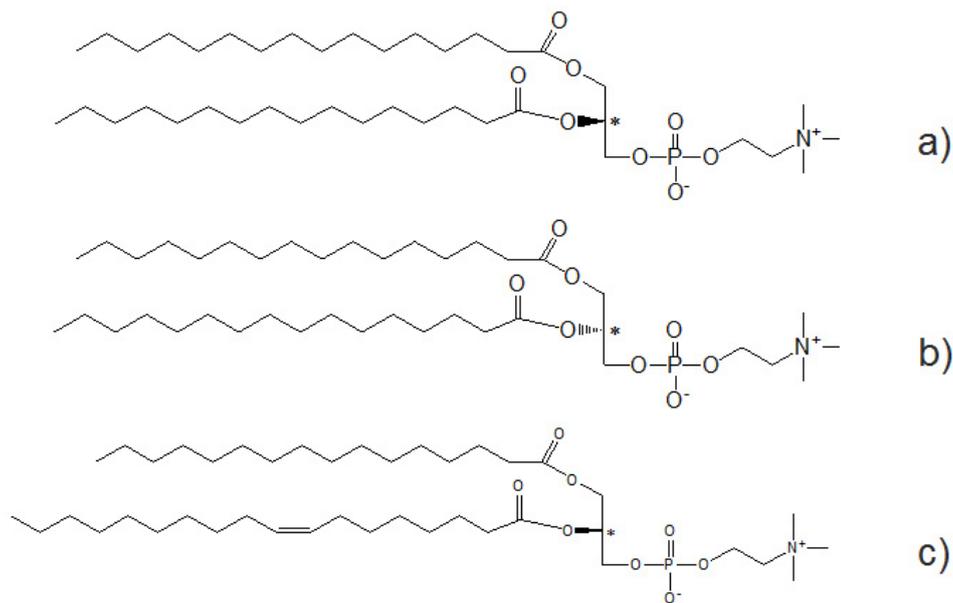


Abbildung 1.1.: Chemische Strukturen der Phospholipide a) 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (L-DPPC); b) 2,3-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-1-phosphatidylcholin (D-DPPC); c) 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (POPC).

1.2. Lipidmonolayer und Lipidbilayer

1.2.1. Monolayer

Unter dem Begriff Spreiten versteht man das Absetzen eines Tropfens einer Lipidprobe in einem möglichst mit Wasser unmischaeren organischen Lösungsmittel auf eine Wasseroberfläche. Nachdem das Lösungsmittel verdampft ist, verbleiben die Lipidmoleküle aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaften an der Wasseroberfläche. Die hydrophilen Kopfgruppen tauchen in die wässrige Phase ein, während die hydrophoben Schwanzgruppen den Kontakt mit dem Wasser meiden und in die Luft ragen. Je näher die Lipidmoleküle sich dabei an der

Wasseroberfläche kommen, d. h. je geringer die Fläche ist, die jedem einzelnen Molekül an der Wasseroberfläche zur Verfügung steht, desto stärker richten sich die Fettsäureketten an der Luft-Wasser-Grenzfläche auf. Betrachtet man das Wechselwirkungsverhalten der DPPC-Moleküle untereinander bei Raumtemperatur an dieser Grenzfläche bei steigendem lateralen Druck, so folgen aufeinander die gasanaloge Phase (G), die flüssig-expandierte Phase (LE), die flüssig-kondensierte Phase (LC), sowie die fest-analoge Phase (S) (siehe Abbildung 1.2). Wird der laterale Druck durch mechanische Belastung des so gebildeten Lipidfilms weiterhin erhöht, folgt auf die letztgenannte fest-analoge Phase der Kollaps der Schicht. In der genannten Reihenfolge kommt es zur Umwandlung der vorwiegend gauche-konformierten Lipid-Fettsäureketten (LE-Phase) in eine immer stärker all-trans-konformierte Anordnung (LC-Phase) bis hin zu einer nahezu kristallinen Ordnung im fest-analogen Zustand. Erfolgt der Kollaps, zerbricht die Lipidschicht.

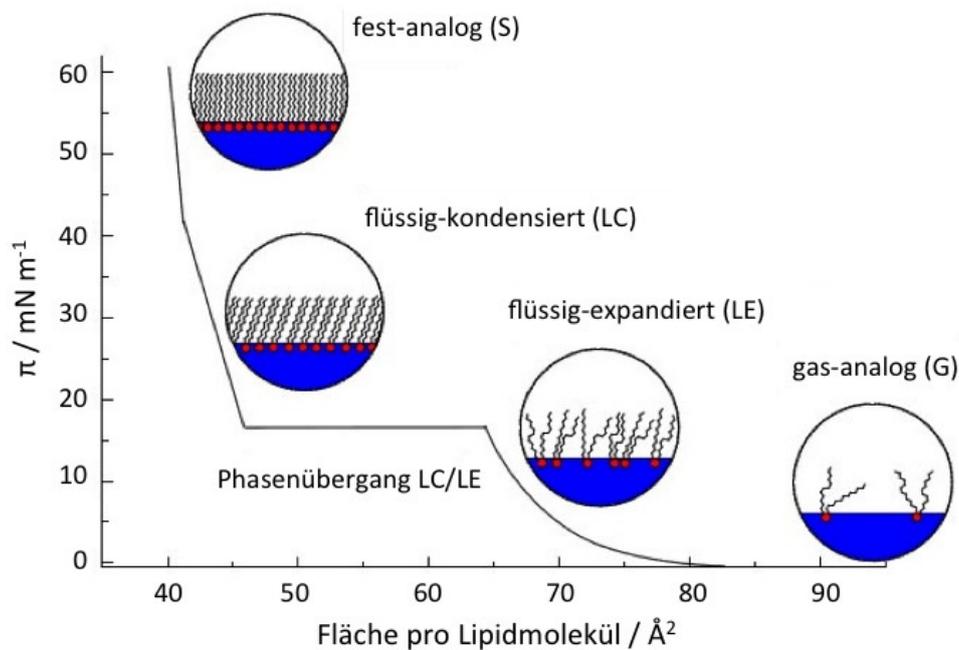


Abbildung 1.2.: Schematische Darstellung der Phasenumwandlung von Phospholipiden an der Luft-Wasser-Grenzfläche bei kontinuierlicher Kompression des Lipidmonolayers. Verändert nach [11].

Die Fettsäureketten des POPC wandeln sich bei Raumtemperatur lediglich vom gasanalog in den flüssig-expandierten Zustand um, bevor der Kollaps des Monolayers eintritt. Grund hierfür ist eine Doppelbindung in einer der beiden POPC-Fettsäureketten, welche zu einer größeren Unordnung im hydrophoben Bereich des Monolayers führt.

1.2.2. Bilayer

Die beschriebenen Monoschichtsysteme sind deshalb so interessant, da sie als Hälfte einer Membran-Doppelschicht interpretiert werden können. [12, 13] Sie sind, wie später genauer beschrieben wird, gut kontrollierbare Modelle und experimentell einfacher zu handhaben als ein Doppelschichtsystem. Mono- und Doppelschichten sind zwar grundsätzlich verschiedene Modelle, sodass ihre Eigenschaften nicht gleichgesetzt werden können. Dennoch weisen sie bestimmte Ähnlichkeiten in ihrem jeweiligen Phasenverhalten auf. Bei einem lateralen Moleküldruck des DPPC von $30,0 \text{ mN m}^{-1}$ z. B. ist ein analoger Flächenbedarf von Mono- und Doppelschicht postuliert. [12] Phospholipide bilden je nach der Geometrie ihres Molekülaufbaus planare oder gekrümmte Doppelschichten in der wässrigen Umgebung aus. Dabei ist das Verhältnis des Flächenquerschnitts der hydrophilen Kopfgruppe zum Flächenquerschnitt der hydrophoben Schwanzgruppe, beides aus der Draufsicht betrachtet, entscheidend. Verwendet man DPPC, so bilden sich Vesikel, auch als Liposomen bezeichnet. Aufgrund der großen Differenz der Kopf- und Schwanzgruppen-Querschnittsflächen können die Schwanzgruppen dichter gepackt werden als die Kopfgruppen, sodass es zur Ausbildung gekrümmter Doppelschichten kommt. Die äußere Lage der Membran weist eine größere Anzahl Lipidmoleküle als die innere Lage auf.

Betrachtet man das Phasenverhalten der DPPC-Liposomen bei ansteigender Temperatur, so beobachtet man eine Hauptphasenumwandlung bei $41,62 \text{ }^\circ\text{C}$ von einer Gel-Phase, in welcher die Fettsäureketten zu einer hohen Anzahl all-trans-konformiert vorliegen und in ihrer Bewegung eingeschränkt sind, in eine flüssig-kristalline Phase mit einer erhöhten Anzahl an gauche-Konformeren, deren Fettsäureketten gut beweglich sind. Diese Phasenumwandlung ist in Abbildung 1.3 schematisch am Beispiel des binären Systems DPPC in Wasser dargestellt. Die Gel-Phase kann in die verschiedenen Sub-Gel-Phasen L_c , $L_{\beta'}$ und die Ripple-Phase $P_{\beta'}$ unterteilt werden. Die Umwandlung in die Ripple-Phase $P_{\beta'}$ ist im DSC-Thermogramm als Vorumwandlung abzulesen. Die Neigung der Fettsäureketten um einen Winkel von 30° zur Membranebene ist auf die Größenunterschiede von Kopfgruppe und Schwanzkette des DPPC zurückzuführen. Hierdurch wird die Dicke der Membran verringert und zugleich werden die Zwischenräume im Fettsäurekettenbereich minimiert. Durch die hohe Anzahl an gauche-Konformeren der Fettsäureketten in der flüssig-kristallinen L_α -Phase erhält die Doppelschicht nicht nur fluide Eigenschaften, sondern ist auch um einige nm dünner als die Gel-Phase. Ein Einbau von Fremdmolekülen in eine Lipid-Doppelschicht ist umso leichter, je fluider die Membran ist. Für einen biologischen Organismus ist besonders dieser flüssig-kristalline Zustand

bedeutend und lebenswichtig. Das beschriebene temperaturabhängige Phasenverhalten der in Wasser eingebrachten DPPC-Moleküle wird als „lyotroper und thermotroper Polymorphismus“ bezeichnet.

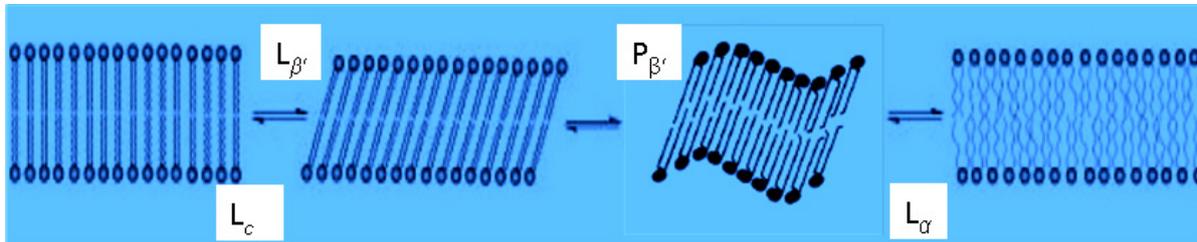


Abbildung 1.3.: Schematische Darstellung der temperaturabhängigen Phasenumwandlung von Phospholipid-Doppelschichten am Beispiel von DPPC in Wasser. Verändert nach [14, 15].

1.3. Verwendete Polymere und ihre Eigenschaften

1.3.1. PGMA-Derivate

Die erste Polymergruppe, die für diese Arbeit in Wechselwirkung mit Phospholipiden untersucht wurde, ist die Poly-(glycerol-methylmethacrylat)-(PGMA-)Homopolymer-Gruppe und ihre semitelechelische, an einem Ende mit einer Perfluoralkylkette versehene, Derivat-Gruppierung. Es wurden jeweils Polymere mit verschiedenen Polymerisationsgraden, also einer unterschiedlichen Anzahl aneinander gebundener Monomere, verwendet. PGMA ist bedeutend für medizinische und biochemische Anwendungen. So ist es z. B. relevant als Teil von drug delivery-Systemen, DNA-Trägern, Enzym-Immobilisierungs-Technologien und Peptid-Separation. [16]-[22] PGMA-Polymere werden ebenfalls als Hydrogele oder zur Herstellung von Kontaktlinsen verwendet. [17, 23]

Die chemischen Strukturen der PGMA-Homopolymere und ihrer semitelechelischen PGMA-Makromoleküle des Typs $PGMA_n(c)-F_9$ sind in Abbildung 1.4 gezeigt, die CPK-Modelle der Molekülstrukturen in Abbildung 1.5. Hierbei bezeichnet n den Polymerisationsgrad des jeweiligen Makromoleküls. Für die Derivate mit Perfluoralkylkette wurden Moleküle mit $n = 14, 40$ und 90 verwendet, für die Homopolymere standen nur Moleküle der Längen $n = 40$ und 90 zur Verfügung. Die PGMA-Makromoleküle weisen jeweils ein stereogenes Zentrum in

allen Seitenketten auf. Dieses ist in der Summenformel mit einem c bezeichnet.

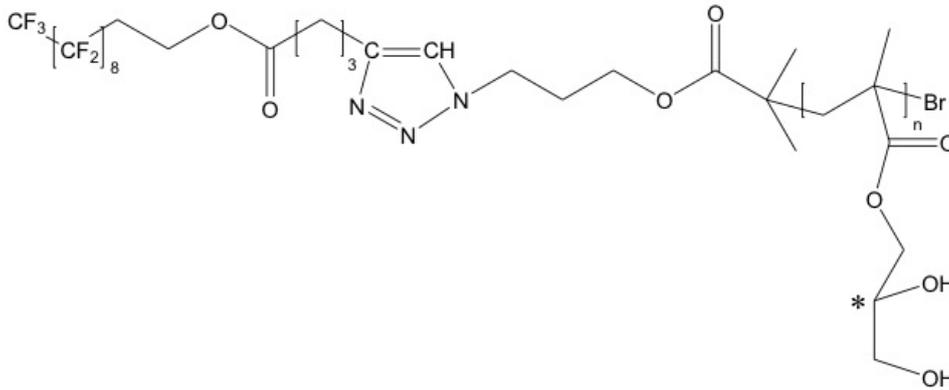


Abbildung 1.4.: Chemische Struktur der semitelechelischen PGMA-Derivate des Typs $PGMA_n(c)-F_9$. $n = 14, 40, 90$, $c = R, S$.

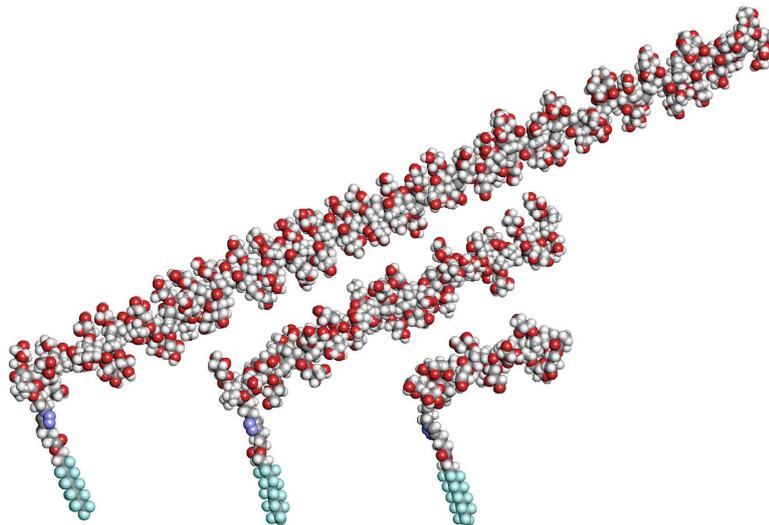


Abbildung 1.5.: CPK-Modell der chemischen Strukturen der semitelechelischen PGMA-Derivate des Typs $PGMA_n(c)-F_9$. $n = 14, 40, 90$, $c = R, S$.

PGMA-Homopolymere sind überwiegend hydrophile Moleküle. Ihre chemische Struktur weist jedoch auch hydrophobe Anteile auf, sodass diese Polymere genau wie die zuvor besprochenen Phospholipide als Amphiphile gelten. Die perfluorierte Seitenkette der semitelechelischen Verbindungen bringt neben der Hydrophilie und -phobie eine dritte Funktionalität in die PGMA-Struktur ein. Infolge dessen werden die perfluorierten PGMA-Derivate auch als Polyphile bezeichnet. Die Perfluoralkylkette zeichnet sich durch ihre chemische und thermische Stabilität, hohe Elektronendichte, die geringe Polarisierbarkeit der perfluorierten

Kohlenwasserstoff-Einheiten und die nur geringe biologische Abbaubarkeit aus. Aufgrund der genannten Eigenschaften neigen Perfluoralkylverbindungen stark zur Selbstassoziation. [24]-[34] Besonders im medizinisch-pharmazeutischen Bereich stoßen perfluorierte Verbindungen auf besonderes Interesse. So könnten sie z. B. auf dem Gebiet der Lungenfunktionalität heilsame Wirkungen erzielen. [26, 27, 28, 30, 34] Sie sind unter anderem in der Lage, Membranen zu stabilisieren [29]-[31] und können zum Aufbau von drug carrier-Systemen verwendet werden. [35] Eine weitere mögliche Anwendung ist die Proteinkristallisation. [36] Perfluorierte Verbindungen sind auch für Anwendungen im technischen Bereich interessant, z. B. zur Bearbeitung von Oberflächen und zur Anwendung im mikro-elektronischen Bereich. [6, 36, 37]

Eine Vielzahl polymerer Systeme sind interessant für die Forschung. Eine bereits häufig untersuchte Polymergruppe stellen die Pluronics dar, die u. A. auch als Poloxamere bezeichnet werden. [38] Es handelt sich dabei um amphiphile Systeme, die aus hydrophilen Poly-(ethylenoxid)- (PEO) und hydrophoben Poly-(propylenoxid)- (PPO) Blöcken unterschiedlicher Blocklänge aufgebaut sind. Pluronics sind kommerziell erhältliche wasserlösliche Substanzen, die, obwohl ihre Wechselwirkungsmechanismen mit Phospholipidmembranen nicht vollständig verstanden wurden, bereits eine Vielzahl von pharmazeutischen Einsatzmöglichkeiten gefunden haben. So z. B. verschließen und reparieren sie beschädigte biologische Membranen, [39] wirken als Emulgatoren für andere Wirkstoffe und sind in der Lage, die Wirkung von Myokard-Infarkten im Tierexperiment zu verringern, also das Herz des Tieres zu schützen. [40] Aufgrund ihrer Fähigkeit zur Assemblierung zu Mizellen in wässriger Lösung werden sie dazu eingesetzt, wasserunlösliche Medikamente als drug carrier-Systeme zu umschließen und zu transportieren. [41] Es existiert eine Vielzahl von Block-Copolymeren, die unter dem Überbegriff der Pluronics zusammengefasst werden. Ihre jeweiligen Eigenschaften sind abhängig vom hydrophil-hydrophob-Verhältnis innerhalb der Makromoleküle, das durch die Länge der PEO- bzw. PPO-Blöcke festgelegt wird. Aufgrund der komplexen Eigenschaften der Pluronics sowie ihres unterschiedlichen Wechselwirkungsverhaltens mit den expandierten bzw. den kondensierten Phospholipidphasen [38] bieten diese Substanzen auch weiterhin ein großes Forschungspotential.

1.3.2. Block-Copolymer-Systeme mit Cholesterol-Anker

Die zweite Polymergruppe, die im Rahmen der vorliegenden Dissertation untersucht wurde, sind die Block-Copolymer-Systeme mit Cholesterol-Anker. Sie bestehen aus einer endstän-

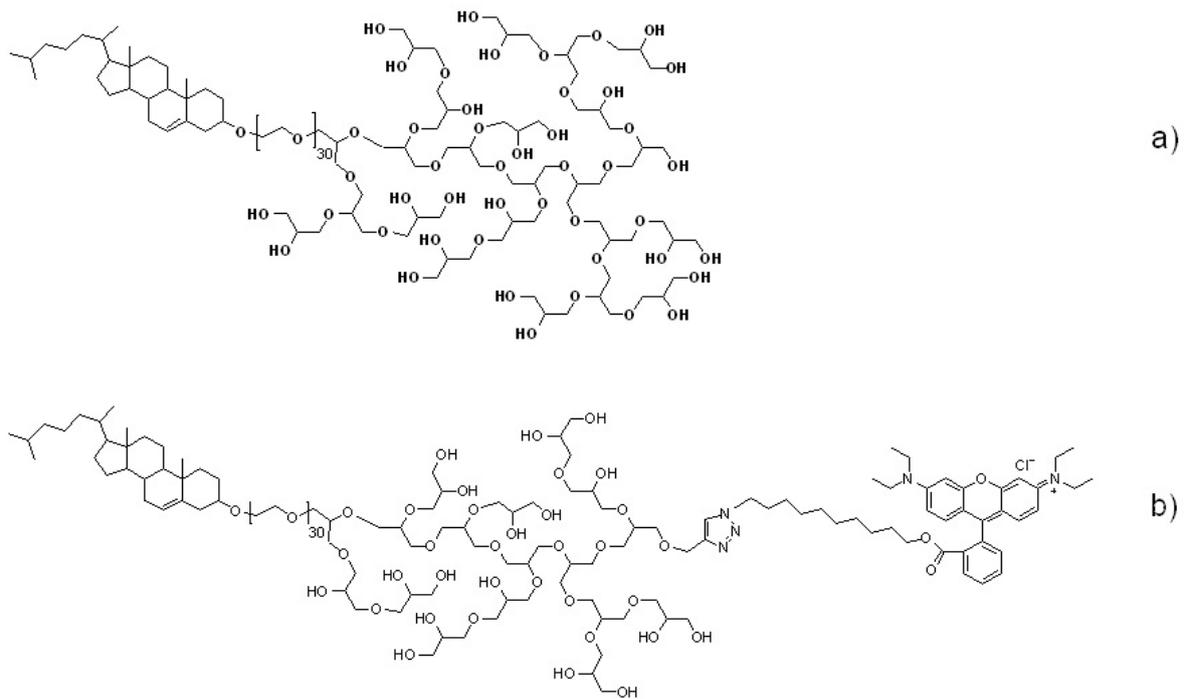


Abbildung 1.6.: Chemische Struktur der hyperverzweigten Block-Copolymer-Systeme mit Cholesterol-Anker a) Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ und b) Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho.

digen Cholesterol-Einheit, an die eine 30 Einheiten umfassende Poly-(ethylenglycol)(PEG)-Kette kovalent gebunden ist. Auf diese folgt ein hyperverzweigter Block, der aus 17 bzw. 23 Poly-(glycerol)(PG)-Einheiten besteht (siehe Abbildung 1.6). An das Makromolekül mit 17 PG-Einheiten wurde statistisch eine hydrophile, fluoreszierende Rhodamin-Einheit angehängt. Durch diese soll das Polymer in Fluoreszenzmikroskopischen oder -spektroskopischen Experimenten, vor allem in Mischungen, leichter identifiziert und seine Eigenschaften besser aufgeklärt werden. Es müssen keine weiteren Fremdfarbstoffe, also keine störenden Fremdmoleküle, zum experimentellen System zugegeben werden, um eine Fluoreszenz zu erhalten. Theoretisch sollte dadurch eine Veränderung der System-Eigenschaften durch ebendiese Fremdmoleküle ausgeschlossen werden. Weiterhin werden Mehrkanalexperimente möglich, bei denen nicht nur der polymereigene Farbstoff im Fokus des Experimentes steht, sondern auch ein zweiter oder dritter Farbstoff, welche sich z. B. in einem anderen Teil des Systems anreichern könnten und zusätzliche Informationen liefern. Problematisch könnte die kovalente Bindung eines Fluoreszenzfarbstoffes an ein Makromolekül jedoch dann werden, wenn dessen Anteil im Vergleich zur Anzahl der Makromoleküle zu groß wird. Wie in Kapitel 5 erklärt wird, trifft ebendieser Fall auf das hier verwendete Polymer Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho (siehe

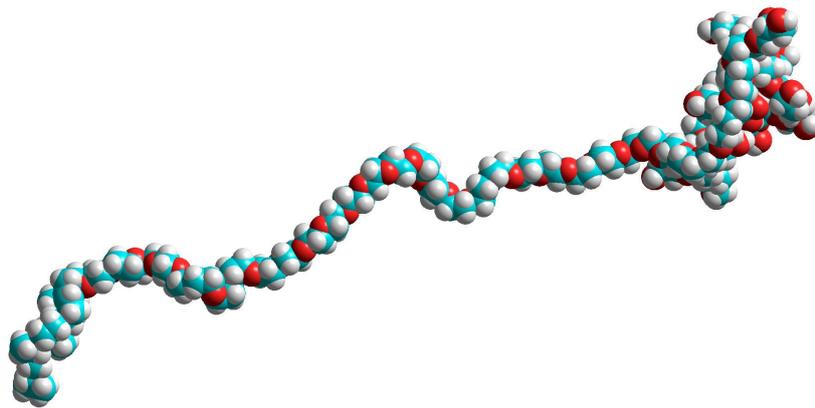


Abbildung 1.7.: CPK-Modell der chemischen Struktur von Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃.

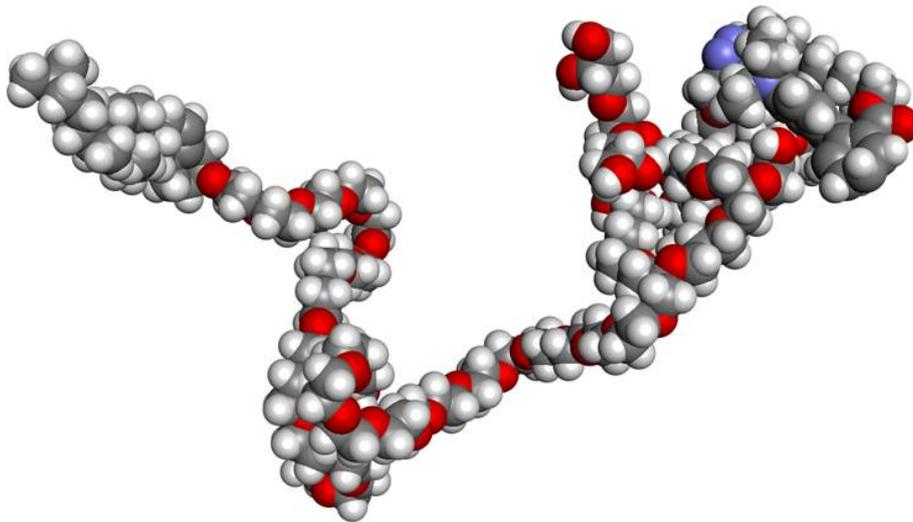


Abbildung 1.8.: CPK-Modell der chemischen Struktur von Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho.

Abbildung 1.6 b) zu. Statistisch gesehen ist ca. ein Farbstoffmolekül an jedes Makromolekül gebunden. Da dieser Farbstoff sehr voluminös ist, besteht aufgrund des Vergleiches mit den experimentellen Daten des Polymers ohne Fluoreszenzfarbstoff Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ (siehe Abbildung 1.6 a) der Verdacht, dass die physiko-chemischen Eigenschaften des gelabelten Makromoleküls stark durch dessen Rhodamin-Einheit beeinflusst wird. Die CPK-Modelle der beiden Polymere sind in den Abbildungen 1.7 und 1.8 dargestellt.

Besonders interessant sind diese Polymere aufgrund ihrer Polyphilie und der stereogenen Zentren, die der hydrophobe Cholesterol-Rest der Moleküle aufweist. Man erkennt aus der Struktur hydrophile und hydrophobe Molekülsegmente. Da diese unterschiedlich stark hydrophil bzw. hydrophob wirken, kann man verschiedene Eigenschaften und Wechselwirkungen mit polymerfremden Systemen erwarten.

Die Cholesterol-Einheit besitzt nicht nur die angesprochenen stereogenen Zentren, sondern ist für biophysikalische Untersuchungen besonders interessant. Cholesterol selbst ist neben den Phospholipiden einer der Hauptbestandteile biologischer Membranen. [42] So kommt es zu hohen Anteilen von 4-50 mol-% in eukaryotischen Zellen vor. [1, 7, 43, 44] Es ist aufgrund seiner terminal an die hydrophobe Struktur angebondenen hydrophilen Hydroxydgruppe ein schwaches Amphiphil. Desweiteren bildet das Cholesterol-Molekül das Grundgerüst für eine Vielzahl chemischer Substanzklassen. Es dient z. B. der biochemischen Synthese von Gallensalzen, [45] diversen Steroidverbindungen und Hormonen. Cholesterol war und ist eines der interessantesten Membranmoleküle in der chemischen und biochemischen Forschung. So ist bekannt, dass es sich in den hydrophoben Bereich von biologischen Membrandoppelschichten einbaut und so z. B. an der Bildung von sogenannten Lipid Rafts beteiligt ist. Unter Lipid Rafts versteht man phasenseparierte Bereiche innerhalb einer Membran, die reich an all-trans-konformierten Lipiden, Sphingomyelinen und Cholesterol sind. Durch den Einbau des flachen und recht starren Cholesterol-Moleküls wird die Membran versteift. [46] Da die Cholesterol-Einheit terminal an die hier vorgestellten hyperverzweigten Block-Copolymere angebonden ist, wird davon ausgegangen, dass die Cholesterol-Reste sich in die Phospholipid-Modellmembranen einbauen und die Polymerblöcke auf diese Weise garantiert in die räumliche Nähe der Lipidmodellsysteme bringt und direkte Wechselwirkungen ermöglicht.

In früheren physiko-chemischen Untersuchungen an verwandten Polymeren wurde deren hohe Oberflächenaktivität und Einbaufähigkeit in Lipid-Doppelschichten postuliert, [45, 47, 48, 49, 50] weshalb diese vielversprechenden Polymere für die Interaktionstests mit den bekannten Phospholipid-Modellsystemen ausgewählt wurden. Nicht nur die Cholesterol-Einheit besitzt interessante Eigenschaften. PEG-beschichtete Vesikel zeigen durch die sterische Hinderung der Lipidbewegung eine erhöhte Stabilität gegenüber einer Vesikelaggregation. Sie werden außerdem in höherem Maße von der Leber aufgenommen und verbleiben eine längere Zeit im Blutkreislauf. [50]-[52] Lipidvesikel ohne verankerte PEG-Gruppen haben im Blutkreislauf eines Organismus' nur eine Lebensdauer von wenigen Stunden. Die Anwendung des Lipidvesikels als drug carrier für eine länger andauernde Anwendung in biologischen

Systemen wird durch das PEG-Coating insofern verbessert, als nun ein Verlust der pharmazeutischen Wirkstoffe bereits im Blut verhindert wird und die Verabreichung vermehrt am eigentlichen Zielorgan stattfinden kann. Ein weiterer Vorteil polymerer PEG-Verbindungen gegenüber zuckerhaltigen Lipidstabilisatoren ist ihre geringe Toxizität. [52]

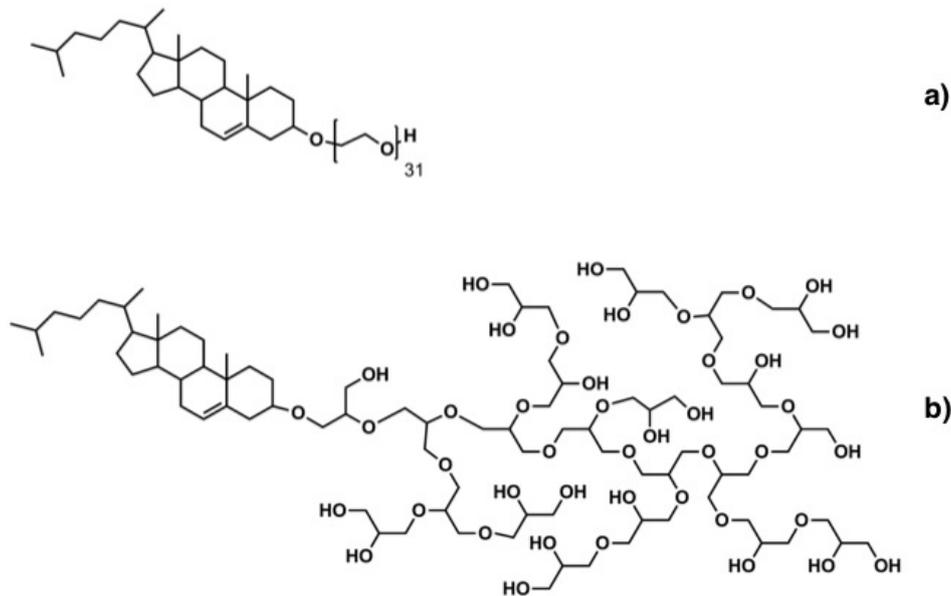


Abbildung 1.9.: Chemische Struktur der „Teilpolymere“ mit Cholesterol-Anker a) Ch-PEG₃₁ und b) Ch-hbPG₂₁.

Um zusätzliche Informationen zu erhalten, wurden die „Teilpolymere“ Ch-PEG₃₁ und Ch-hbPG₂₁ herangezogen (siehe Abbildung 1.9), welche beide die hydrophobe Cholesterol-Einheit enthalten. Diese Makromoleküle besitzen jedoch jeweils nur einen der zwei großen Blöcke, entweder die PEG-Kette oder den hyperververzweigten Block, welche kovalent an die Cholesterol-Einheit gebunden sind. Diese „Teilpolymere“ wurden für Kontrollmessungen synthetisiert und sind für weiterführende Anwendungen vermutlich wenig interessant.

2. Aufgabenstellung und Motivation

Das Thema der vorliegenden Dissertation „Chirale und achirale Polymere in Wechselwirkung mit Phospholipid-Monolayern und -Bilayern“ ist ein Forschungsthema, welches im Rahmen der Forschergruppe FOR 1145 „Strukturbildung von synthetischen und polyphilen Molekülen mit Lipidmembranen“ bearbeitet wurde. Membranen sind komplex aufgebaute biologische Systeme, die in jedem lebenden Organismus existieren und eine Vielfalt biochemischer Funktionen erfüllen. In dieser Dissertation sollte der Grundfragestellung nachgegangen werden, ob und wie sich synthetisch hergestellte, mehrfach funktionalisierte Moleküle in Membransysteme einbauen. Da die Einzelwirkung polymerer Fremdstoffen auf diese komplizierten Molekülanordnungen grundlegend nur mit stark vereinfachten Modellen aufgeklärt werden kann, wurden zur biophysikalischen Wechselwirkungs-Aufklärung bereits umfassend charakterisierte Membranmodelle als Untersuchungsbasis herangezogen. Hierfür dienten ausschließlich aus Phospholipiden aufgebaute Mono- und Bilschichten. Aufgrund der synthetischen Beschaffenheit der ausgewählten Polymere war der Einbau in diese amphiphilen Membranen sehr wahrscheinlich. Sowohl der Einfluss des jeweils gesamten polymeren Moleküls als auch einzelner Funktionalitäten sollte mit Hilfe verschiedener physiko-chemischer Experimentiermethoden so weit aufgeklärt werden, dass nun für jede der hier untersuchten Polymergruppen abschließende Modelle der Phospholipid-Makromolekül-Wechselwirkungen präsentiert werden können. Könnten z. B. die hier verwendeten Makromoleküle in die Bilschicht von Lipidvesikeln inseriert oder sogar in die vesikulären Systeme inkludiert werden, wären Transportvorgänge im lebenden Organismus und damit spätere pharmazeutische Anwendungen im Bereich der drug carrier-Systeme denkbar.

Ein Schwerpunkt der Untersuchungen lag ebenfalls auf der Fragestellung, ob die Lipidmembran-Chiralität, welche in Monolayern an der Luft-Wasser-Grenzfläche beobachtet werden kann, durch stereogene Zentren der verwendeten Makromolekül-Strukturen beeinflusst wird. Chirale Wiedererkennungsprozesse treten in sehr vielen Bereichen des Organismus' auf, so z. B. an den Grenzflächen von Zellen, Geweben und Organen. [53] Die wichtigsten zellulären Bausteine wie Phospholipide, Aminosäure, Proteine, Zucker, Steroide usw. besitzen stereo-

gene Zentren. Eine mögliche chirale Wiedererkennung könnte im Zusammenwirken natürlich vorkommender Phospholipide und synthetisch hergestellter Polymere interessante neue Medikamentierungen ermöglichen. Um eine möglichst effektive pharmazeutische Wirkung zu erzielen, ist die Verwendung chiraler Substanzen für die Entwicklung neuer Medikamente vorteilhaft. [54] Es wäre z. B. denkbar, dass nicht nur ein einfacher Substanztransport im Organismus, sondern eine gezielte Platzierung von Wirkstoffen am Zielorgan erreicht werden könnte. Es wäre denkbar, mit der Untersuchung chiral-chiraler Wechselwirkungen medikamentöse Nebenwirkungen auf den Körper abzuschwächen und damit medizinische Behandlungen unkomplizierter zu gestalten. Ein nicht zu vernachlässigender Fakt bei der Verwendung chiraler Pharmazeutika ist jedoch die teilweise gegenteilige Wirkung der jeweiligen Stereoisomere. Weist z. B. nur eines der beiden Enantiomere die gewünschten medizinischen Eigenschaften auf, kann das zweite Enantiomer bei gleicher Anwendung eventuell weniger aktiv oder sogar toxisch wirken. [55, 56] Im Rahmen dieser Dissertation kann auf die pharmazeutischen Eigenschaften der Substanzen allerdings nicht eingegangen werden. Es soll zunächst lediglich grundlegend aufgeklärt werden, ob die Chiralität der verwendeten Makromoleküle die bereits bekannten Phospholipid-Modellsysteme beeinflussen kann. Die Experimente an Monolayer-Modellen sind besonders interessant, da die Chiralität von Grenzflächenfilmen vielversprechend für Anwendungen in der heterogenen Katalyse oder für chirale Separations-Vorgänge sein können. [22, 53, 57]

Zur physiko-chemischen Charakterisierung der hier ausgewählten Lipid:Polymer-Systeme standen die Grenzflächenuntersuchungen an gemischten Monoschichten an der Luft-Wasser-Grenzschicht im Vordergrund. Auf diesem Weg der sehr gut zu kontrollierenden Experimente nach Langmuir und Gibbs können eine Vielzahl von Informationen wie z. B. der Oberflächenaktivität wasserlöslicher Substanzen, Kompressions- und Expansionsverhalten an der Luft-Wasser-Grenzfläche, Layer-Stabilitäten und Weiteres erhalten und interpretiert werden. Ausgehend von Einkomponenten-Monolagen wurde der Bogen zu gemischten Systemen geschlagen. Ergänzt um die Fluoreszenzmikroskopie konnte ein weiterer Interpretationsschwerpunkt in den Fokus der Arbeit gestellt werden. Die Sichtbarmachung des Substanz-Wechselwirkungsverhaltens und die Aufklärung eventueller chiraler Einflüsse waren dabei das Forschungsziel. Trotz der nur bedingten Übertragbarkeit des Monoschicht-Verhaltens der ausgewählten Stoffe auf Bichichtsysteme sollte nicht auf Bulk-Untersuchungen verzichtet werden. Mit Hilfe der Differential-Scanning Kalorimetrie sollte das Membran-Phasenumwandlungsverhalten des Phospholipids DPPC mit verschiedenen Zugabe-Mengen ausgewählter Polymere im Vergleich zum reinen Phospholipid-Phasenverhalten untersucht werden. Für die

zweite Polymergruppe kamen zusätzliche Einbauexperimente in Giant Unilamellar Vesicles in Frage, die mit Hilfe der Konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie verfolgt werden konnten.

3. Theoretische Grundlagen der verwendeten Methoden

In diesem Kapitel sollen die für diese Dissertation verwendeten physiko-chemischen Methoden zur Charakterisierung der Substanzeigenschaften an der Luft-Wasser-Grenzfläche und im wässrigen Volumen kurz umrissen werden.

3.1. Tensiometrie - Langmuir- und Gibbs-Monolayer

Zur Untersuchung von Substanzeigenschaften und Wechselwirkungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche existieren verschiedene experimentelle Ansätze. Es werden drei Methoden beschrieben, die unter Verwendung von Teflon-beschichteten Langmuir-Trögen das Verhalten von Monoschichten an der Luft-Wasser-Grenzfläche aufklären sollen. Diese Grenzflächentechniken sind zurückzuführen auf die deutsche Wissenschaftlerin Agnes Pockels und den US-amerikanischen Chemiker und Physiker Irving Langmuir (Nobelpreis für Chemie 1932).

Unter einer Monoschicht versteht man eine Lage, welche aus gleichartigen oder verschiedenen amphiphilen Substanzen aufgebaut ist. Diese ordnen sich auf der durch die Geometrie des Langmuir-Troges vorgegebenen Wasseroberfläche so an, dass der hydrophile Molekülteil unter Wasser und der hydrophobe Anteil über Wasser vorliegen. Dabei ordnen sich die Moleküle nicht übereinander an, sondern planar nebeneinander, sodass nur eine einzige Molekülschicht an der Luft-Wasser-Grenze vorliegt. Die Höhe der so ausgebildeten Schicht ist im Vergleich zu ihrer Fläche vernachlässigbar klein, sodass man ein zweidimensionales System annimmt. Monoschichten werden außerdem in Langmuir- und Gibbs-Schichten unterteilt. Einen Langmuir-Monolayer definiert man als eine Monoschicht, die aus wasserunlöslichen Amphiphilen aufgebaut ist. Bei einem Gibbs-Monolayer dagegen wird die Monolage aus wasserlöslichen Substanzen aufgebaut, die sowohl in der wässrigen Subphase als auch an der

Luft-Wasser-Grenzfläche vorliegen und miteinander in einem dynamischen Gleichgewicht stehen.

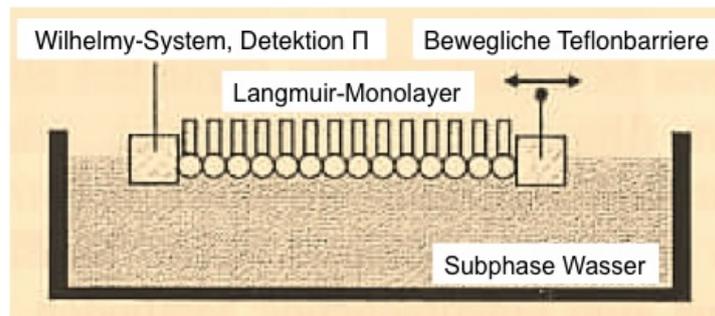


Abbildung 3.1.: Schematische Darstellung der Oberflächendruckmessung einer Monoschicht an der Luft-Wasser-Grenzfläche in einem Langmuir-Trog. Verändert nach [58].

Ein Langmuir-Trog ist ein flaches, temperierbares Becken, das rechteckig oder rund sein kann (Schema eines rechteckigen Troges siehe Abbildung 3.1). Zumeist ist es aus Messing gefertigt und mit dem wasser- und ölabweisenden Material Teflon beschichtet, sodass sich das Arbeitsgerät leicht reinigen lässt. Teflon ist chemisch inert und beeinflusst das zu untersuchende System nicht. Auf materielle Details und die exakten Durchführungen der Versuche wird im Kapitel 4 näher eingegangen.

3.1.1. Zeitabhängige Adsorption von Molekülen aus der Subphase

In einen Langmuir-Trog, der zumeist mit Wasser als Subphase befüllt ist, wird eine wasserlösliche, aber amphiphile Substanz einer bestimmten Konzentration unter die Luft-Wasser-Grenzfläche injiziert. Die wässrige Probe vermischt sich mit dem Volumen der Trog-Subphase, wodurch die injizierte Probe verdünnt wird. Die Experimente werden so geplant, dass bei der Injektion in die Subphase eine bestimmte Probenkonzentration des Amphiphils entsteht. Im Allgemeinen beginnt man die Adsorptionsversuche mit geringen Probenkonzentrationen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die in Wasser suspendierbaren Polymere in die Subphase des Langmuir-Troges eingebracht. Sie verteilten sich mit Hilfe eines Magnetrührers im gesamten Subphasen-Volumen und erreichten somit über Diffusions- bzw. Konvektionsprozesse die Luft-Wasser-Grenzfläche. Mit Hilfe eines Wilhelmy-Systems wird der Ober-

flächendruck π und damit indirekt die Oberflächenspannung σ gemessen. Ist die injizierte Substanz oberflächenaktiv, sodass die Wassermoleküle von der Oberfläche in das wässrige Volumen hineinverdrängt werden, während sich die amphiphilen Moleküle an deren Stelle dort anlagern, wird die Veränderung des Oberflächendruckes detektiert. Der Anlagerungsprozess der Moleküle erreicht ein dynamisches Gleichgewicht, sobald eine substanzspezifische Sättigungskonzentration Γ , auch Adsorptionsdichte genannt, an der Luft-Wasser-Grenzfläche vorliegt. Das dynamische Gleichgewicht besteht zwischen den oberflächenaktiven Amphiphilen im wässrigen Volumen und den Amphiphilen an der Grenzfläche. Die Moleküle lagern sich mit gleicher Geschwindigkeit an der Oberfläche an, mit welcher sie von der Oberfläche wieder in die Subphase übergehen. Die Sättigungskonzentration Γ kann mit folgender Gleichung beschrieben werden, bei der n_i der adsorbierten Stoffmenge und A der Trog-Oberfläche entspricht: [59]

$$\Gamma = \frac{n_i}{A} \quad (3.1)$$

Die Sättigungskonzentration kann mit der Gibbs'schen Adsorptionsisotherme in Verbindung gebracht werden, wobei R die Universelle Gaskonstante, T die Temperatur, σ die Oberflächenspannung und c die Konzentration ist: [59]

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \left(\frac{d\sigma}{d \ln c} \right) \quad (3.2)$$

In einer anderen Experimentieranordnung werden vor der Injektion der wasserlöslichen Substanzen in die Subphase des Troges Langmuir-Filme verschiedener Oberflächendrücke an der Luft-Wasser-Grenzfläche vorgelegt. In dieser Arbeit sind es Monoschichten bestehend aus den Phospholipidtypen DPPC und POPC. Wurden die Langmuir-Schichten auf die Wasseroberfläche aufgebracht, injiziert man z. B. bei jedem Versuch das gleiche Volumen der Probe, um bei gleicher Amphiphil-Menge eventuell unterschiedliche Verhaltensweisen zu identifizieren. Die hier genannten Adsorptionsprozesse werden zeitabhängig betrachtet. Ihre Dauer beträgt zwischen mehreren Minuten und wenigen Stunden. Je langsamer die Amphiphile das Adsorptions-Gleichgewicht erreichen, desto länger dauert der Versuch. Wird eine Veränderung des Oberflächendruckes beobachtet, kann der Grund hierfür eine Anlagerung der Amphiphile an den Langmuir-Film sein oder sogar eine Insertion zwischen die einzelnen Lipidmoleküle.

3.1.2. Detektion von Kompressionsisothermen

Eine Monoschicht ist ein gut kontrollierbares System. Bekannt sind zu Beginn des Experimentes die Probenkonzentration, die Oberfläche des Troges und die anfängliche Fläche pro Molekül. Diese legt der Experimentierende aufgrund des Molekulargewichtes und der Größe der jeweiligen Substanz selbst fest. Die Anfangsfläche pro Molekül wird so ausgewählt, dass benachbarte Moleküle noch nicht miteinander wechselwirken. Aufgrund dieser Daten wird das zu spreitende Volumen berechnet, sodass auch die Anzahl der Moleküle, die sich auf der Wasseroberfläche befinden, bekannt ist.

Im Kompressionsexperiment (siehe Abbildung 3.1) wird nun durch bewegliche Teflonbarrieren des Langmuir-Troges ein mechanischer lateraler Druck auf den Monolayer ausgeübt, der die Amphiphile in näheren Kontakt bringt und diese ab einem bestimmten Punkt anfangen zu wechselwirken. Neben der Veränderung der Fläche pro Molekül wird mit Hilfe eines Wilhelmy-Systems der laterale Oberflächendruck π gemessen, der innerhalb der Monoschicht herrscht. Durch die Messung des Oberflächendruckes kann indirekt die Oberflächenspannung σ der Substanzen in der Monolage bestimmt werden, indem die Differenz zwischen der Oberflächenspannung des reinen Wassers bei konstanter Temperatur σ_0 und der Oberflächenspannung des Monolayers σ gebildet wird. Hierbei gilt, dass die Oberflächenspannung der partiellen Ableitung der freien Enthalpie G nach der jeweiligen Oberfläche A bei konstanter Temperatur T und konstantem Druck p entspricht.

$$\pi = \sigma_0 - \sigma \quad (3.3)$$

$$\sigma = \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)_{p,T} \quad (3.4)$$

Das Wilhelmy-System, welches zur Messung des lateralen Oberflächendruckes verwendet wird, ist mit einem nicht-magnetischen Draht versehen, an den entweder ein Platinplättchen oder wie hier verwendet, ein kleines Filterpapier einer bestimmten Geometrie angehängt ist. Das Filterpapier ist aufgrund seiner Rauigkeit und seiner Saugfähigkeit besonders nützlich. Es taucht in die wässrige Subphase ein. Ein Meniskus bildet sich, dessen Gewicht entscheidend für die Messung des Oberflächendruckes ist. Das Filterpapier wird entsprechend der Gewichtskraft des Meniskus' in die Subphase hineingezogen. Das Wilhelmy-System muss dieser Gewichtskraft entgegenwirken, um das Filterpapier auf einer konstanten Höhe zu halten. Der Auftrieb wird bei dieser Betrachtung vernachlässigt. Für die Gewichtskraft des Meniskus' G_M

ergibt sich folgende Gleichung, wobei b_W die Breite und z_W die Dicke des Wilhelmy-Plättchens sind und θ der Kontaktwinkel des Meniskus' mit dem Wilhelmy-Plättchen ist:

$$G_M = 2(b_W + z_W)\sigma \cos \theta \quad (3.5)$$

Die Verwendung des Filterpapiers birgt mehrere Vorteile, auf deren Grundlage die eben genannte Gleichung stark vereinfacht werden kann. Die Dicke des Filterpapiers kann im Hinblick auf seine größere Länge und Breite vernachlässigt werden und durch die starke Oberflächenrauigkeit liegt der Wassermeniskus in einem extrem kleinen Winkel an dem Wilhelmy-Plättchen an. Der Kontaktwinkel wird als 0° angenommen. Daraus ergibt sich:

$$G_M = 2b_W\sigma \quad (3.6)$$

3.1.3. Epi-Fluoreszenzmikroskopie in Kombination mit der Messung von Kompressionsisothermen

Bei der Epi-Fluoreszenzmikroskopie in Kombination mit der Aufnahme von Kompressionsisothermen wird die eben beschriebene Technik der Langmuir-Kompressionsmessungen verwendet und mit der Mikroskopie kombiniert. Einzig die dringende Notwendigkeit der Verwendung eines Fluoreszenzlabels als Bestandteil des gespreiteten Monolayers ist unterschiedlich zur zuvor beschriebenen Methode der Isothermenmessung.

Die Vorsilbe „Epi-“ bezeichnet die senkrecht von oben auf die Filmwaagennormale ausgerichtete Anordnung des Mikroskops (siehe Abbildung 3.2). Von einer Lichtquelle des Gerätes, welche einen breiten Wellenlängenbereich des sichtbaren Lichtes abdeckt, wird ein Lichtstrahl auf einen dichroitischen Spiegel gesendet. Durch Abdunkelungsfiler ist es möglich, die Intensität des eingestrahnten Lichtes festzulegen. Der dichroitische Spiegel reflektiert den Strahl in einem Winkel von 90° auf die Wasseroberfläche. Auf diesem Weg passiert das Licht die für den jeweiligen Versuch eingestellten Anregungsbandfilter, die nur das Licht nahe dem Maximum der Anregungswellenlänge des jeweiligen Fluoreszenzlabels an der Luft-Wasser-Grenzfläche passieren lassen. [60] Die Anregungsfilter sind austauschbar und können so den Anforderungen des einzelnen Experimentes angepasst werden.

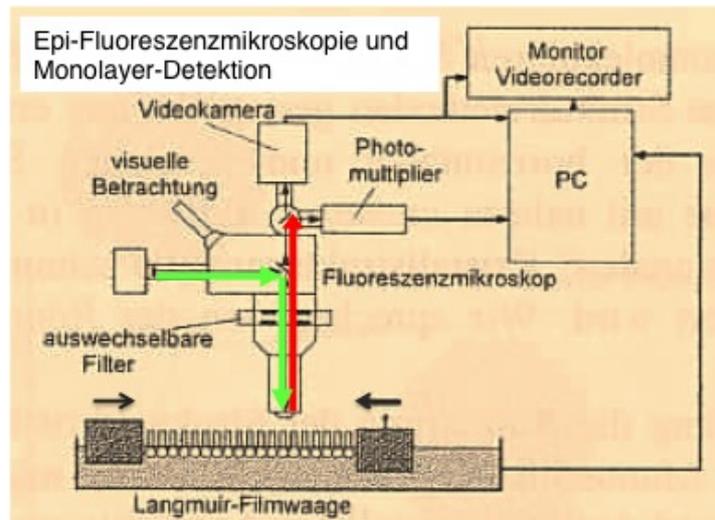


Abbildung 3.2.: Schematische Darstellung der Epi-Fluoreszenzmikroskopie, kombiniert mit Monoschichtexperimenten an der Luft-Wasser-Grenzfläche in einem Langmuir-Trog. Verändert nach [58].

Es ist möglich, nicht nur die Fluoreszenzemission eines einzigen Labels an der Luft-Wasser-Grenzfläche zu detektieren. Bei Verwendung eines Breitbandfilters passieren breitere Wellenlängenbereiche des Lichts den Filter und verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe, deren Anregungsmaxima bei unterschiedlichen Wellenlängen auftreten, können zur Emission von Fluoreszenzlicht angeregt werden. Diese Art der Experimente werden auch als Zwei- oder Mehrkanalexperimente bezeichnet. Sie dienen der mikroskopischen Visualisierung des Einlagerungsverhaltens verschiedener Fluoreszenzlabel mit unterschiedlichen chemischen Strukturen in die jeweiligen Phasen der Grenzflächenschicht.

Die Effekte der Fluoreszenz und Phosphoreszenz sind schematisch im Jablonski-Termschema dargestellt (siehe Abbildung 3.3). Die Fluoreszenzlabel, die zur Fluoreszenzmarkierung an der Luft-Wasser-Grenzfläche verwendet werden, weisen ein aromatisches System mit einer delokalisierten Elektronenwolke auf. Bei der Einstrahlung von Licht mit einer bestimmten Wellenlänge werden die Elektronen des aromatischen Systems angeregt, aus ihrem energetischen Grundniveau S_0 im Schwingungsgrundzustand ($v = 0$) in einen höheren Schwingungszustand ($v' = 1, 2$ oder höher) des ersten energetisch angeregten Zustands S_1 überzugehen. Nach erfolgter energetischer Anregung des Systems strebt es danach, wieder in den energetischen Grundzustand zu relaxieren. Zunächst erfolgt der Übergang in das Schwingungsgrundniveau $v' = 0$ des ersten angeregten elektronischen Zustandes S_1 . Dies erfolgt aufgrund der geringen energetischen Differenz zwischen den Schwingungsniveaus in Form von Wärmeabgabe.

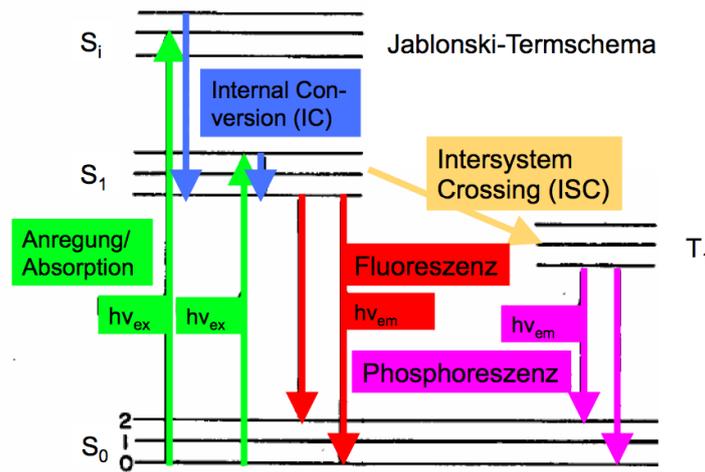


Abbildung 3.3.: Jablonski-Termschema.

Die Energiedifferenz zwischen dem angeregten Zustand S_1 ($v' = 0$) und dem Grundzustand S_0 ($v = 0$) ist zu groß, um die Energie in Form von Wärme an die Umgebung abzugeben. Stattdessen wird ein Lichtphoton emittiert. Dieser Vorgang wird als Internal Conversion (IC) bezeichnet. Die Lebensdauer des angeregten Zustandes im elektronischen Niveau S_1 beträgt 10^{-8} s. [60] Neben den quantenmechanisch erlaubten Phasenübergängen zwischen den Singulettzuständen verschiedener Energien treten auch verbotene Übergänge zwischen Singulett- und Triplettzuständen auf. Dies wird als Intersystem Crossing (ISC) bezeichnet. Bei Relaxation von einem energetisch erhöhten Triplettzustand in den Singulett-Grundzustand wird ebenfalls Energie in Form von Lichtquanten freigesetzt. Dieses Licht wird als Phosphoreszenzlicht bezeichnet. Der Vorgang des Intersystem Crossing dauert mit 10^{-6} s bis zu wenigen s erheblich länger als der der Internal Conversion. [60] Das von den Farbstoffmolekülen an der Luft-Wasser-Grenzfläche emittierte Fluoreszenzlicht wird zum Epi-Fluoreszenzmikroskop zurückgestrahlt und kann nun aufgrund der größeren Wellenlänge des emittierten Lichtes gegenüber der Wellenlänge des Anregungslichtstrahls den dichroitischen Spiegel passieren. Detektor und Mess-Computer nehmen das Licht schließlich auf und nun kann das Resultat ausgewertet werden.

Die Wahl des Fluoreszenzfarbstoffes ist abhängig vom zu betrachtenden System. Je nach der Struktur des Farbstoffes können diese sich, wie hier verwendet, z. B. ausschließlich in die expandierte Phase des Monolayers einlagern. Im Epi-Fluoreszenzmikroskopischen Bild erscheinen die expandierten Bereiche des Monolayers hell. Die kondensierten, kompakteren Phasen erscheinen dagegen schwarz. Lagern sich die Farbstoffmoleküle aufgrund einer wenig voluminösen chemischen Struktur auch in die kondensierte Phase ein, sind sie zumeist zusätzlich in

den expandierten Phasen zu finden. Die Helligkeiten der so gelabelten Phasen unterscheiden sich jedoch in der Fluoreszenzaufnahme. Die kondensierten Bereiche erscheinen dunkler als die expandierten Flächen.

3.2. Bilayer-Untersuchungen

3.2.1. Differential-Scanning Kalorimetrie

Mit der Differential-Scanning Kalorimetrie wird das temperaturabhängige Verhalten von Substanzen untersucht. Zur Untersuchung der Phasenumwandlung in Lipidbilayern wird eine wässrige Suspension im Vergleich zu einer reinen Wasser-Referenzprobe in einem bestimmten Temperaturbereich zwischen 2 °C und 95 °C mehrfach aufgeheizt und wieder abgekühlt, um Phasenumwandlungen festzustellen bzw. Veränderungen der Phasenumwandlungen bei Zumischung von Fremdsubstanzen zu identifizieren. Die Aufheiz- und Abkühlzyklen werden mehrfach durchgeführt, um die Ergebnis-Reproduzierbarkeit zu gewährleisten und die Gleichgewichts-Temperatur des Phasenumwandlungspeaks des jeweiligen Systems zu detektieren. Die wässrige Probe und die Referenzprobe werden in parallel angeordneten, thermisch isolierten Zellen gleichartig, aber getrennt voneinander beheizt. Die Temperaturen innerhalb der Zellen werden ebenfalls getrennt voneinander gemessen. Erfolgt während des Temperaturanstiegs eine Umwandlung der weichen Materie, besitzen Proben- und Referenzzelle nicht mehr die gleiche Temperatur. Damit dies wieder gewährleistet ist, muss die Referenzzelle entsprechend einem endothermen bzw. exothermen Prozess stärker aufgeheizt oder abgekühlt werden. Detektiert wird vom Gerät dabei die Heizleistungsdifferenz, welche proportional zur Differenz der isobaren Wärmekapazitäten C_p von Probe und Referenz-Lösungsmittel ist. Die gemessenen Thermogramme, also die Aufheiz- und Abkühlkurven, werden rechnerisch um die Lösungsmittel-Basislinie korrigiert. Bei der Messung dieser Basislinie enthalten beide Messzellen nur das Probenlösungsmittel.

Integriert man die isobare Wärmekapazität in den experimentellen Temperaturgrenzen T_1 und T_2 , erhält man unter der Annahme einer Phasenumwandlung erster Ordnung die Umwandelungsenthalpie der Phasenumwandlung $\Delta_u H$ und kann hiervon ausgehend weitere thermodynamische Zustandsgrößen berechnen: [61]

$$\int_{T_1}^{T_2} \Delta C_p(T) dT = \Delta_u H \quad (3.7)$$

3.2.2. Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie an Giant Unilamellar Vesicles

Unter Giant Unilamellar Vesicles, den GUVs, versteht man Vesikel, die über nur eine Membran-Doppelschicht verfügen und einen sehr großen Durchmesser im μm -Bereich aufweisen. Solche Vesikel werden, wie später noch beschrieben, in einem Elektroformationsverfahren hergestellt. Dabei wird ein GUV erzeugt, dem meist ein sehr geringer Anteil an Fluoreszenzfarbstoff zugefügt wird. Die Fluoreszenzanregung erfolgt auf die gleiche Weise wie dies zuvor für das Epi-Fluoreszenzmikroskop beschrieben wurde (Jablonski-Termschema, siehe Abbildung 3.3). Mit dem Membranfarbstoff wird das GUV für diese auf Fluoreszenzanregung basierende Mikroskopietechnik sichtbar gemacht. In den Experimenten für die vorliegende Dissertation wurden zu den GUVs Polymere mit einem kovalent an das Makromolekül gebundenen Fluoreszenzfarbstoff zugegeben und mit Hilfe der Mikroskopie wurde die Anlagerung bzw. Einlagerung dieser Polymere an die Lipidvesikel beobachtet.

In einem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop wird mit einer Laser-Quelle ein Lichtstrahl erzeugt, der die Fluoreszenzemission der den Proben zugefügten Fluoreszenzlabel anregen soll. Mit Hilfe von nacheinander angeordneten Lochblenden, Spiegeln, einem Strahlteiler und Fokussierlinsen wird der Laserstrahl punktförmig auf die zu untersuchende Probe ausgerichtet. Das hierdurch von der Probe emittierte Fluoreszenzlicht passiert auf umgekehrtem Weg Lochblenden und Spiegel und wird schließlich vom Strahlteiler des Mikroskops in einen Detektor, z. B. einen Photomultiplier, mit einer weiteren vorgeschalteten Lochblende gelenkt. Fluoreszenzlicht einer anderen Fokusebene der Probe kann die Blende nicht passieren. Die Lochblende, die direkt auf die Lichtquelle folgt, ist konjugiert zur Lochblende, die dem Detektor vorgeschaltet ist. Die Lichtwege von Blende zu Probe und von der Probe zur Lochblende des Detektors sind gleich lang. Durch die Anwendung dieses konfokalen Messprinzips ist es möglich, die Grenzen der Lichtmikroskopie zu überschreiten. Die Auflösung des Mikroskopiebildes ist nun nicht mehr an die Wellenlänge des verwendeten Lichtstrahls gebunden. Ist der Laserstrahl auf die Probe fokussiert, wird nach und nach die gerade betrachtete Fokusebene

der Probe abgerastert und die Fluoreszenzemissionen jedes einzelnen Punktes detektiert. Mit Hilfe einer Software wird rechnerisch ein Gesamtbild der Ebene erzeugt. Die Abrasterung verschiedener Fokusebenen der selben Probe erlaubt die Berechnung eines dreidimensionalen Modells des GUVs. Im Gegensatz zur nicht konfokalen Lichtmikroskopie ist in keinem Moment des Versuches die gesamte Probe im Fokus des Lichtstrahls. [62]

4. Durchführung der Experimente

4.1. Verwendete Materialien

Für die physiko-chemische Charakterisierung der Lipid:Polymer-Wechselwirkungen wurden die Phospholipide 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (L-DPPC) und 2,3-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-1-phosphatidylcholin (D-DPPC) von Genzyme Pharmaceuticals (Liestal, Schweiz) bzw. Sigma Aldrich (Schnelldorf, Deutschland) mit einer Reinheit von > 99 % bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Um ein racemisches Gemisch von L- und D-DPPC für Epi-Fluoreszenzmikroskopische Experimente zu erzeugen, wurden Stammlösungen beider Phospholipide in HPLC-reinem Chloroform (CHCl₃) zu einem Stoffmengenverhältnis 1:1 vermischt.

Folgende Phospholipide wurden von Genzyme Pharmaceuticals (Liestal, Schweiz) mit einer Reinheit > 99 % erhalten und verwendet wie geliefert: 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (POPC), 1,2-Dilauroyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (DLPC), 1,2-Dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (DOPC) und 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylglycerol (POPG). Reines Cholesterol, welches auch für die in der Literatur beschriebene Synthese der hyperverzweigten Polymere mit Cholesterol-Anker verwendet wurde, [7] wurde von Acros Organics (Geel, Belgien) bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet.

Die hier untersuchten Polymere wurden im Rahmen der Forschergruppenkooperation synthetisiert. [6, 7, 49, 50, 63] Die Synthese der PGMA-Derivate erfolgte durch Herrn Dr. Zheng Li, ehemals Mitglied der Arbeitsgruppe „Physikalische Chemie der Polymere“ um Herrn Prof. Dr. Kreßler, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Frau Dipl.-Chem. Sophie S. Müller aus der Arbeitsgruppe um Herrn Prof. Dr. Frey am Institut für Organische Chemie der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz synthetisierte alle in dieser Arbeit untersuchten Block-Copolymer-Systeme mit Cholesterol-Anker. [7]

Für Fluoreszenz-basierte Experimente wurden die Markersubstanzen 1,2-Dihexadecanoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylethanolamin-N-(lissamin-rhodamin-B-sulfonyl) (Rhodamin-DHPE), 1-acyl-2-12-[(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino]dodecanoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (NBD C₁₂-HPC) und 3,3'-Di-octadecyloxycarbocyanin Perchlorat (DiO) bei Invitrogen (Karlsruhe, Deutschland) gekauft und ohne weitere Aufreinigung verwendet. 1,2-Distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylethanolamin-N-[biotinyl(polyethylen glycol)-2000] Ammoniumsalz (DSPE-PEG-Biotin) mit einer Reinheit von > 99 % wurde bei Avanti Polar Lipids (Alabama, USA) gekauft und verwendet wie geliefert. Streptavidin, bovines Serumalbumin (BSA) und biotinyliertes BSA wurden von Sigma Aldrich (Schnelldorf, Deutschland) mit einer Reinheit von > 96 % bezogen und ohne Aufreinigung für Adsorptionsexperimente an Phospholipid-Vesikel verwendet. [7]

Die Präparation der Analysenproben wurde für die hier beschriebenen physiko-chemischen Experimente zum einen mit Reinstwasser von Millipore-Qualität (Millipore GmbH, Schwalbach, Deutschland) vorgenommen, welches auch für die Durchführung der Experimente diente (Leitfähigkeit < 0,055 $\mu\text{S cm}^{-1}$, total organic carbon (TOC)-Wert < 5 ppm). Zum anderen wurden Stammlösungen der Lipide und Polymere in den HPLC-reinen organischen Lösungsmitteln Chloroform (CHCl₃) und Methanol (MeOH) (beide Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) angefertigt.

Zur Reinigung der Teflontröge wurde eine 5 % wässrige Lösung des Tensids Hellmanex der Firma Hellma GmbH (Müllheim, Deutschland) verwendet.

4.2. Tensiometrie - Langmuir- und Gibbs-Monolayer

4.2.1. Zeitabhängige Detektion von Adsorptionsprozessen

Für zeitabhängige Oberflächenaktivitätstests und Adsorptionsuntersuchungen an Phospholipidmonolayern wurden zwei runde Teflon-Tröge in einem Zwilling-Arrangement verwendet (siehe Abbildung 4.1). Die beiden Tröge sind in Reihe an einen Kühlzyklus angeschlossen, die Datenakkumulation beider Tröge erfolgt im selben Messfile der Riegler & Kirstein-Software (Riegler & Kirstein GmbH, Berlin, Deutschland).

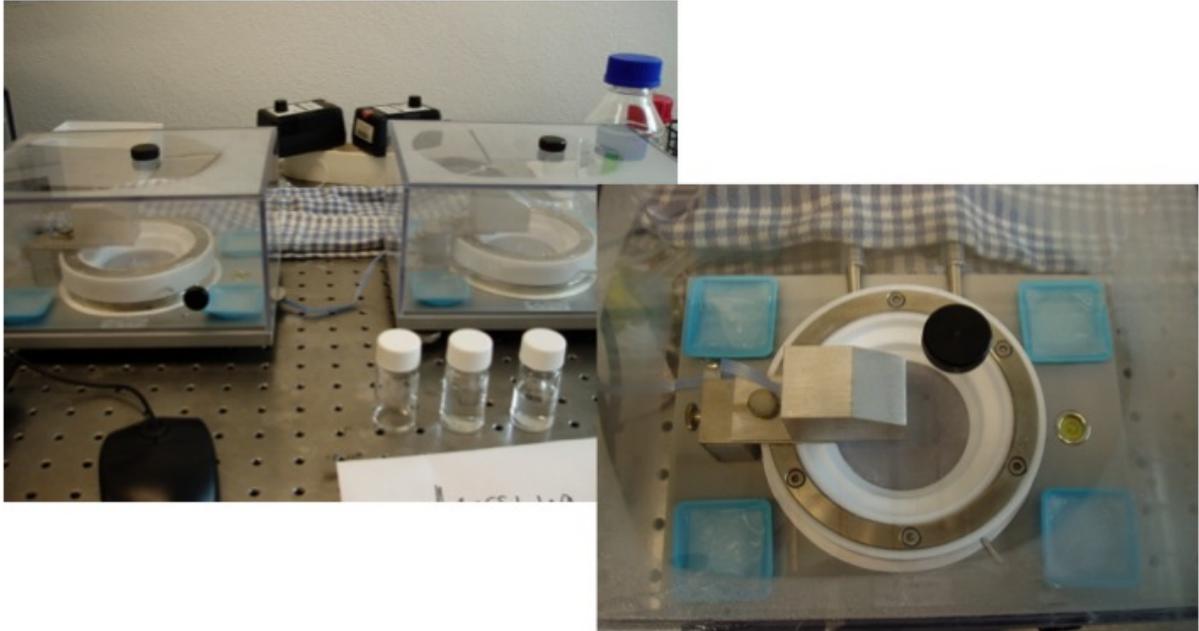


Abbildung 4.1.: Runde Langmuir-Tröge in einem Zwillings-Arrangement zur Detektion von Adsorptionsprozessen.

Da die beiden Filmwaagen die gleiche Geometrie aufweisen, ist die Durchführung vergleichender paralleler Messungen möglich. Beide Tröge sind jeweils mit einem abnehmbaren Plexiglasgehäuse vor Verschmutzung geschützt. Die Gehäuser sollen desweiteren während der Langzeitmessungen für eine konstant hohe Luftfeuchtigkeit in der direkten Umgebung der Geräte sorgen und somit einer Verdunstung der wässrigen Subphase entgegen wirken. Zur Unterstützung der Wasserdampfsättigung innerhalb der Plexiglasgehäuser wurden neben jedem Trog vier kleine Wasserschälchen platziert. Die Tröge weisen eine Oberfläche von $28,3 \text{ cm}^2$ und ein Füllvolumen von $8,48 \text{ ml}$ auf. Bewegliche Barrieren existieren nicht, dafür jeweils ein Injektionsloch in der Seite der runden Filmwaagen, um wässrige Suspensionen mit Hilfe von Glasspritzen in die wässrige Subphase zu injizieren. Vor und nach jeder Messung wurden beide Filmwaagen zunächst mit der Tensidlösung Hellmanex, verdünnt mit Reinstwasser, gereinigt und anschließend extensiv mit Reinstwasser gespült. Nach der Kalibrierung der $2 \times 8 \text{ mm}$ großen Filterpapiere, die als Wilhelmy-Plättchen zur Oberflächendruckmessung in das Wilhelmy-System eingehängt sind, wurde die Temperierung der wässrigen Subphase auf 20 °C abgewartet und anschließend auf die optimale Messhöhe mit dem zuvor kontrollierten Wert von $0,0 \text{ mN m}^{-1}$ abgesaugt. Die Phospholipide L-DPPC und POPC wurden aus 1 mM Lösungen in CHCl_3 mit einer Hamilton-Dosierspritze mit aufgeschraubter Dosierhilfe durch ein verschließbares Loch in der Oberseite jedes Plexiglasgehäuses auf den gewünschten

Oberflächendruck gespreitet. Nach einer Wartezeit von 30 Minuten, die dem Verdampfen des Chloroforms, dem Temperieren des Systems und einer Überprüfung der Monolayerstabilität diente, wurden wässrige Polymersuspensionen mit Glasspritzen durch die seitlichen Injektionslöcher der runden Filmwaagen injiziert. Für Oberflächenaktivitätstests wurden sie unter eine reine Wasseroberfläche injiziert, nachdem die Subphase auf 20 °C temperiert war. Die Plexigaskästen wurden für die Dauer der Injektionen von den Filmwaagen entfernt.

Die Polymerkonzentrationen wurden für die Oberflächenaktivitätstests so gewählt, dass nach der Einbringung der Substanzen in die Filmwaagen Subphasen-Polymerkonzentrationen von 0,5 bis 9 μM erzeugt wurden. Für die Adsorptionsprozesse der Polymere an die Lipidmonolayer wurden zumeist jeweils zwei verschiedene Polymerkonzentrationen unter die Monolayer verschiedener Oberflächendrücke injiziert. Um die injizierten Polymere homogen zu verteilen, wurde die Subphase während der gesamten Messung mit einer Magnetskugel gerührt. Nach 20 Stunden wurden die Adsorptionsexperimente beendet und die ausgelesenen Oberflächendrücke vergleichend aufgetragen. Die Auswertung aller zeit- und konzentrationsabhängiger Messdaten erfolgte mit der Origin-Auswertesoftware der Firma MicroCal. Inc. (Northhampton, USA).

4.2.2. Flächenabhängige Isothermen

Flächenabhängige Kompressionsisothermen reiner Lipid- bzw. Polymersysteme sowie gemischter Lipid:Polymer-Proben wurden mit Hilfe einer mit Teflon ausgekleideten und thermostatisierbaren rechteckigen Langmuir-Filmwaage der Firma Riegler & Kirstein GmbH (Berlin, Deutschland) detektiert (siehe Abbildung 4.2).

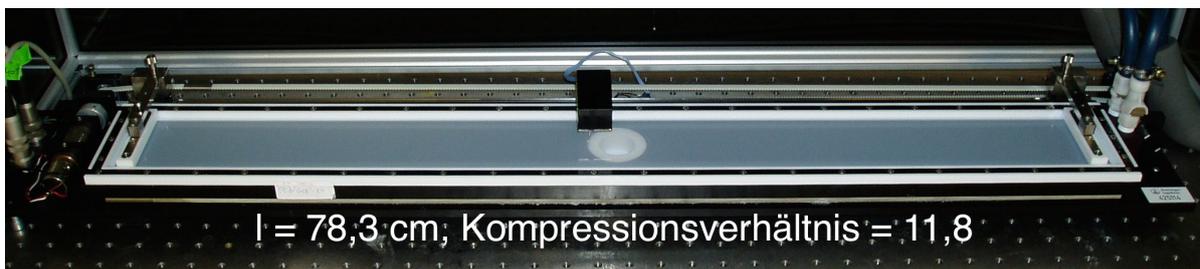


Abbildung 4.2.: Großer rechteckiger Langmuir-Trog. Für die vorliegende Arbeit wurde der Trog zur Detektion von flächenabhängigen Isothermen verwendet.

Um ein Verstauben der Experimentieranordnung und eine Verfälschung der Kompressionsexperimente durch Luftzug zu vermeiden, befindet sich die Filmwaage in einem Plexiglastasten, der während der Versuche geschlossen bleibt und nur zur Reinigung bzw. zur Vorbereitung eines Versuches geöffnet wird. Die Filmwaage verfügt über zwei bewegliche Teflon-Barrieren, die parallel angesteuert und damit gleichzeitig aufeinander zu und wieder auseinander bewegt werden. Diese Bewegungen entsprechen einer Kompression bzw. einer Expansion des aufgetragenen Monolayers. Die Fläche des Langmuirtroges beträgt zwischen beiden maximal auseinander gefahrenen Barrieren $535,57 \text{ cm}^2$ und $45,35 \text{ cm}^2$ bei zusammengefahrenen Barrieren. Das Kompressionsverhältnis beträgt 11,8. Der Trog ist 78,30 cm lang und 6,84 cm breit. Durch das hohe Kompressionsverhältnis ist es möglich, Kompressionsisothermen reiner Polymere hoher Molmassen in nur zwei Messdurchgängen nahezu vollständig aufzunehmen. Reine Lipid-Monoschichten und Monolayer der hier verwendeten Lipid:Polymer-Mischsysteme benötigten hingegen nur einen Messdurchgang, um die jeweils vollständige Isotherme zu erfassen.

Die Proben für die Kompressions-Experimente wurden aus zuvor hergestellten höher konzentrierten Stammlösungen in organischem Lösungsmittel (CHCl_3 bzw. MeOH) zu einer jeweiligen Gesamtkonzentration von 1 mM präpariert. Reine Lipidmonolayer wurden aus Chloroform gespreitet. Die reinen PGMA-Derivat-Layer mussten aufgrund deren schlechter Löslichkeit in Chloroform aus Methanol gespreitet werden. Lipid:PGMA-Derivat-Systeme wurden aus einer 1:1 (v:v) Lösungsmittelmischung von CHCl_3 :MeOH und Lipid:Cholesterol-Derivat-Systeme sowie die Monolayer der hyperverzweigten Block-Copolymere wurden aus 9:1 (v:v) Lösungsmittelmischungen von CHCl_3 :MeOH gespreitet. Der Langmuirtrog wurde vor jeder Messung gründlich mit Reinstwasser gespült. Bei einer zu starken Verschmutzung des Teflon-Troges wurde einmalig mit einer Hellmanex-Tensidlösung gespült. Um ein Anhaften der Tensidmoleküle und damit eine Verfälschung der Messergebnisse zu vermeiden, musste nach Verwendung der Hellmanex-Lösung extensiv mit Reinstwasser gespült werden.

Als Wilhelmy-Plättchen wurden Filterpapiere der Größe $2 \times 8 \text{ mm}$ verwendet. Sie wurden über einen nicht-magnetischen Draht in eine Öse des Wilhelmy-Systems eingehängt, welches die laterale Oberflächenspannung innerhalb des Monolayers während Kompressions- bzw. Expansionsvorgängen detektiert. Die Kalibrierung des gesamten Langmuir-Systems erfolgte durch die Messung eines Arachidonsäure-Monolayers, dessen Phasenumwandlung vom flüssig-kondensierten Zustand (LC) während der Monolayer-Kompression zum fest-analogen Zustand (S) nahezu temperaturunabhängig bei einem Oberflächendruck von $26,0 \text{ mN m}^{-1}$

auftritt und somit die Korrektheit der Messung von Oberflächendruck und Fläche pro Molekül überprüft werden kann. [64, 65]

Vor jeder Messung wurde der Nullpunkt bei 20 °C Subphasen-Temperatur erneut festgelegt, indem die temperierte Subphase bis zum Abreißen des Wassermesnistiskus' vom Filterblättchen abgesaugt wurde. Nach erneutem Befüllen des Troges und Absaugen der Subphase auf die optimale Messhöhe konnten die Proben mit Hilfe einer Hamilton-Dosierglasspritze und einer aufgeschraubten Dosierhilfe auf die Wasseroberfläche gespreitet werden. Die Messung wurde gestartet, nachdem das organische Lösungsmittel wenigstens 10 Minuten Zeit zum Verdampfen hatte. Die Monoschicht wurde mit einer konstanten Kompressionsgeschwindigkeit von $2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ Minute}^{-1}$ bis zum Erreichen des Kollapses komprimiert. Durch die sehr langsame Kompression konnten Artefakte durch Nichtgleichgewichtszustände weitestgehend minimiert werden. Bei Hystereseexperimenten wurde bei Erreichen bestimmter hoher Oberflächendrücke die Barrierensteuerung auf „Expansion“ verändert und die untersuchte Monoschicht wurde ohne Verzögerung mit gleicher konstanter Geschwindigkeit bis zur vollständigen Öffnung der Barrieren wieder expandiert.

Die gemessenen Isothermen, die im Weiteren vorgestellt werden, wurden stichprobenweise auf ihre Reproduzierbarkeit geprüft. Die Isothermen ließen sich sowohl auf dem hier vorgestellten als auch auf dem kleineren Trog, der in Kombination mit dem Epi-Fluoreszenzmikroskop verwendet wurde, reproduzieren. Die Kompressions- bzw. Expansionsisothermen wurden mit Hilfe der Riegler & Kirstein-Software der gleichnamigen Firma detektiert. Zur Auswertung der Daten diente die Analysensoftware Origin der Firma MicroCal Inc. (Northampton, USA).

4.2.3. Epi-Fluoreszenzmikroskopie in Kombination mit der Messung von Kompressionsisothermen

Für die Epi-Fluoreszenzmikroskopie an Monolayern wurde eine Langmuir-Filmwaage der Riegler & Kirstein GmbH (Berlin, Deutschland) mit einem Axio Scope.A1 Vario-Mikroskop der Firma Carl Zeiss MicroImaging (Jena, Deutschland) kombiniert (siehe Abbildung 4.3). Die für diese Technik verwendete Filmwaage arbeitet nach dem gleichen Prinzip wie der zuvor beschriebene Trog. Der Unterschied besteht in den verschiedenen Ausmaßen der beiden Geräte. Die hier genutzte Filmwaage weist bei auseinander gefahrenen Teflonbarrieren eine Fläche von $263,80 \text{ cm}^2$ auf, die Länge beträgt 26,62 cm, die Breite 9,91 cm. Die minimale Fläche zwi-

schen beiden Barrieren beträgt $30,32 \text{ cm}^2$. Das Kompressionsverhältnis errechnet sich daher zu 8,7. Die Präparation der verwendeten Proben sowie die Durchführung des Spreitprozesses bis hin zum Start des Kompressionsexperimentes wird wie im Abschnitt zuvor beschrieben durchgeführt.

Die Langmuir-Filmwaage wurde gegen weitere störende Einflüsse von außen durch einen Plexiglastasten geschützt, abgedunkelt durch ein lichtundurchlässiges Tuch. Filmwaage und Plexiglastasten sind auf einen x-y-z-Tisch (Märzhäuser, Wetzlar, Deutschland) aufgebracht, der mit einer x-y-z-Bewegungs-Kontrolleinheit (x-y-z-motion control, Ludl Electronic Products, Hawthorne, USA) verbunden ist.

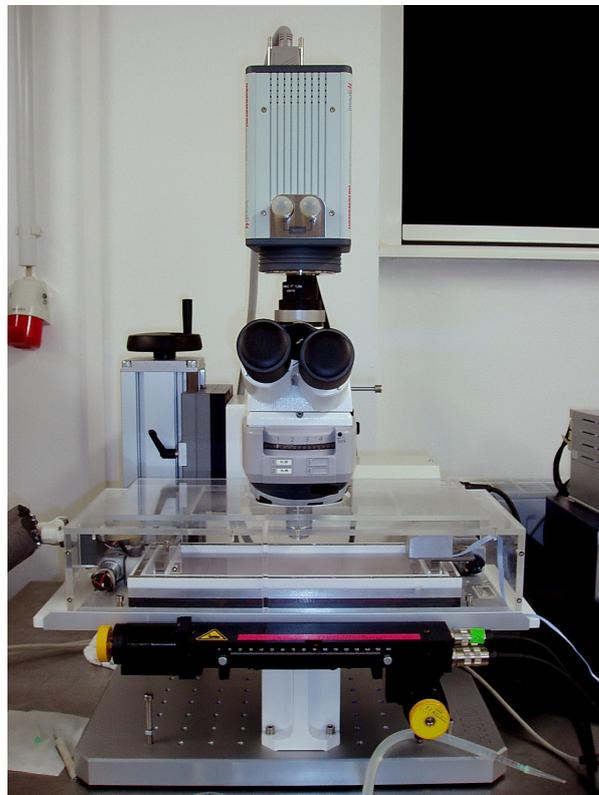


Abbildung 4.3.: Epi-Fluoreszenzmikroskop und zugehöriger Langmuir-Trog in einem Plexiglas-Schutzkasten.

Während der Kompression der Monoschichten wurden Epi-Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen durchgeführt. Dazu mussten noch vor dem Spreiten zu den fertig präparierten Proben z.T. Fluoreszenzlabel hinzugefügt werden, da bei Anregung mit Lichtwellen weder die Phospholipide, noch die PGMA-Derivate oder die Polymere Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃, Ch-

PEG₃₁ und Ch-*hbPG*₂₁ Fluoreszenzlicht emittieren können. Für Einkanalexperimente wurde das fluoreszenzgelabelte Phospholipid Rhodamin-DHPE ($\lambda_{\text{ex/em}} = 557/571$ nm) in einer sehr geringen Konzentration von 0,01 mol-% zugegeben. Die zur Detektion der Mikroskopie-Bilder verwendete 3 CCD-Image EM C9100-13-Kamera der Firma Hamamatsu (Herrsching, Deutschland) verfügt über einen sehr sensiblen Elektronen-Vervielfacher-Effekt, durch den die Verwendung extrem geringer Farbstoffkonzentrationen möglich ist. Durch diesen Fakt wird gewährleistet, dass die Eigenschaften des zu untersuchenden Monolayers durch die notwendige Zugabe der Farbstoff-Störmoleküle nicht beeinflusst werden. Da das Polymer Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho bereits einen kovalent gebundenen Rhodamin-Fluoreszenzlabel besitzt, konnten nach Zumischen eines zweiten Fluoreszenzlabels mit einer vom Rhodamin verschiedenen Anregungs- und Emissionswellenlänge Zweikanalexperimente an Lipid:Polymer-Mischungen dieses Polymers durchgeführt werden. Bei dem zugemischten zweiten Fluoreszenzfarbstoff handelt es sich um das gelabelte Lipid NBD C₁₂-HPC ($\lambda_{\text{ex/em}} = 460/534$ nm). Dieses Fluoreszenzlabel wurde in Konzentrationen von bis zu 0,8 mol-% zugegeben, da der statistisch an das Block-Copolymer mit Cholesterolanker angebundene Rhodamin-Farbstoff in einer sehr hohen Konzentration von ca. einem Rhodamin-Teilchen pro Polymermolekül vorliegt.

Das Epi-Fluoreszenzmikroskop arbeitet mit einer HXP 120 C-Lampe, einem Long Distance EC-Epiplan NEOFLUAR-Objektiv mit 50-facher Vergrößerung und verschiedenen Filtersätzen zur Anregung und Detektion der Monolayer-Fluoreszenz. Für die Einkanalexperimente, also die Rhodamin-Fluoreszenz-Anregung wurde der Zeiss Filtersatz Fs 20 (Anregungs-Bandfilter BP 546/12 nm, Strahlteiler FT 560 nm, Emissions-Bandfilter BP 575-640 nm) verwendet. Für die Zweikanalfilter kam der Zeiss Filtersatz Fs 56 HE (high efficiency) (Anregungs-Bandfilter BP 470/27 nm (HE) und BP 556/25 nm (HE), Strahlteiler DFT 490 + 575 nm (HE), Emissions-Bandfilter DBP 512/30 + 630/98 nm (HE)) zum Einsatz. Während der Messung treten an der Luft-Wasser-Grenzfläche Konvektionsprozesse auf, wodurch die Domänen der Monoschicht auf der Wasseroberfläche bewegt werden. Die vom Mikroskop abgesonderte Wärme verstärkt die Konvektionsprozesse zusätzlich. Dies birgt den Vorteil, für den gesamten Layer repräsentative Aufnahmen der Domänenformen präsentieren zu können. Ein Nachteil der Domänenbewegungen wird bei Zweikanalexperimenten und der Aufnahme von Kolokalisationsbildern deutlich. Trotz kürzester Umschaltzeiten zwischen beiden Filterkanälen (1 ms, Zeiss AxioVision Software (Carl Zeiss MicroImaging, Jena, Deutschland)) sind die Aufnahmen nicht deckungsgleich und müssen erst durch Bearbeitung mit einer Fotosoftware übereinander geschoben werden, um mögliche Unterschiede in der Verteilung der beiden Fluoreszenzfarbstoffe festzustellen.

4.3. Bilayer-Untersuchungen

4.3.1. Differential-Scanning Kalorimetrie

Die Differential-Scanning Kalorimetrie (DSC) wurde mit einem VP-DSC Mikrokalorimeter der Firma MicroCal. Inc. (Northhampton, USA) durchgeführt. Die Proben- und die Referenzzelle verfügen jeweils über ein Volumen von etwa 0,5 ml. Vor und nach jeder Messung wurden die Zellen zunächst mit ca. 400 ml lauwarmem Wasser gespült, danach mit einer Waschlösung aus CHCl_3 :MeOH in einem 2:1-(v:v)-Verhältnis. Anschließend wurden die Zellen im Luftstrom getrocknet. Die Referenzzelle wurde mit entgastem Reinstwasser gefüllt, die Probenzelle mit einer wässrigen Lipid-, Polymer- oder Mischprobe mit einer Konzentration von 2 mM.

Alle hier verwendeten Proben wurden via Dünnschicht-Präparationstechnik [66] aus organischen Lösungsmitteln präpariert. Für diese Technik wurden Aliquote höher konzentrierter Stammlösungen der Lipide in CHCl_3 bzw. der Polymere in MeOH entnommen und vermischt. Die organischen Lösungsmittel wurden im N_2 -Strom evaporiert. Zurück blieb ein dünner Substanzfilm, der für drei Stunden bei 60 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet wurde, um die restlichen organischen Lösungsmittelreste zu entfernen. Direkt vor dem Start der kalorimetrischen Messungen wurden die bis dahin im Kühlschrank aufbewahrten Dünnschicht-Proben mit dem zuvor berechneten Volumen an Reinstwasser aufgefüllt und mehrfach heiß bei ca. 70 °C, also oberhalb der Hauptphasenumwandlungstemperatur des Phospholipids DPPC, gerüttelt. Bei diesem Vorgang soll durch die hohe Temperatur der Einbau der Polymere in die Lipidvesikel erleichtert werden.

Die weitere Behandlung der gemischten Proben unterscheidet sich für die beiden Polymertypen. Die Lipid:PGMA-Derivat-Mischungen wurden aufgrund ihrer Trübung nach dem Rütteln für 45 Minuten im ca. 60 bis 65 °C warmen Ultraschallbad behandelt, anschließend wieder auf Raumtemperatur abgekühlt und in die Probenzelle eingefüllt. Die Lipid:Block-Copolymer-Mischungen hingegen erschienen sofort nach Zugabe des Wassers als klare transparente Proben und wurden direkt nach dem heißen Rütteln auf Raumtemperatur abgekühlt und in die Probenzelle des Kalorimeters eingefüllt.

Aufeinanderfolgende Heiz- und Kühlzyklen im Temperaturbereich von 5 bis 60 °C gewährleisteten ein Vorliegen des untersuchten Systems im thermodynamischen Gleichgewicht und

die Reproduzierbarkeit der Messungen. Um das tatsächliche thermodynamische Verhalten der reinen und gemischten Systeme darstellen zu können, wurde von den gemessenen Thermogrammen rechnerisch eine Wasser-Wasser-Basislinie im angegebenen Temperaturbereich abgezogen. Die Auswertung der gemessenen Thermogramme erfolgte mit der Analysesoftware Origin (MicroCal. Inc., Northhampton, USA). In den in Kapitel 5 gezeigten Diagrammen sind jeweils die dritten bzw. vierten Aufheizkurven der untersuchten Proben dargestellt.

4.3.2. Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie an Giant Unilamellar Vesicles

Wässrige Proben von Giant Unilamellar Vesicles (GUVs) der Phospholipide DLPC, DOPC und POPC wurden nach einer zur Literatur [67] etwas modifizierten Variante hergestellt. Lösungen mit Stoffmengen von 10 nmol in 570 μl Reinstwasser wurden bei einer Temperatur von 60 °C und einer Frequenz von 10 Hz in einer mit einem Silikonring verschlossenen Indium-Zinnoxid-Zelle elektroformiert. Um eine Aggregation der GUVs zu vermeiden, wurden 2 mol-% des Lipids POPG zu den elektroformierten Vesikeln hinzugefügt. 0,3 mol-% DSPE-PEG-Biotin dienten zur Immobilisierung der GUVs und 0,1 mol-% des Fluoreszenzlabels DiO ($\lambda_{\text{ex/em}} = 487/501 \text{ nm}$) wurden zur Einfärbung der Vesikelmembranen hinzugefügt. Ein Aliquot (ca. 1 nmol Phosphocholin) der frisch präparierten GUV-Proben wurde für inverse mikroskopische Untersuchungen den Stammlösungen entnommen und auf einem mit BSA/Streptavidin-bedampften Deckgläschen immobilisiert. Der Gehalt an Phosphocholinen wurde dabei durch den Vergleich der Gesamt-Fluoreszenzintensität der Vesikelmembran mit einem zuvor vermessenen Standard kontrolliert.

Für die Analyse der Polymeradsorption an die vorgeformten GUVs wurde eine offene Kammer mit einem Volumen von 230 μl verwendet, die durch Befestigung eines 3 mm hohen Silikonringes des Durchmessers 10 mm auf einem Deckgläschen gebildet und mit Reinstwasser gefüllt wurde. Definierte Volumina einer wässrigen 10 μM Polymersuspension wurden schrittweise zutitriert, um verschiedene molare Lipid:Polymer-Verhältnisse zwischen 100:1 und 2:1 zu erzeugen. Hierbei muss beachtet werden, dass die tatsächlich in das GUV eingebaute Menge des Polymers nicht bestimmt werden kann und es sich bei dem angegebenen molaren Verhältnis um die zusammengegebenen Stoffmengen zu Beginn des Experimentes handelt.

Die konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie wurde mit einem Leica TCS SP2 DM IRE2-konfokalen Mikroskop mit einem HXP PL APO 63 x 1.4 Öl-Immersionsobjektiv (Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) für Zweikanalexperimente durchgeführt. Für die quantitative Analyse der Polymer-Adsorptionsintensität wurde die Fluoreszenzintensität der Rhodamin-gelabelten Polymere in äquatorialen Schnitten der GUVs mit Hilfe der Leica Quantify Software (Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) ausgewertet. Dabei wurde jeder einzelne Membranschnitt als Differenz zweier elliptischer „regions of interest“ (ROI) angenommen. Es wurden drei ROIs festgelegt; ROI 1 entspricht dem gesamten äquatorialen GUV-Schnitt, ROI 2 dem Inneren des GUVs und ROI 3 der Summation der ersten beiden regions of interest. Um die reale Polymer-Adsorptionsintensität auszuwerten und das gerätebedingte Datenrauschen zu minimieren, wurde die Fluoreszenzintensität der reinen Lipid-GUVs von der experimentell bestimmten Adsorptions-Fluoreszenzintensität nach Polymerzugabe abgezogen. Die gezeigten Daten entsprechen den beobachteten Fluoreszenzintensitäten einzelner Vesikel. Zur Gewährleistung der Ergebnis-Reproduzierbarkeit wurden die Experimente mehrfach wiederholt.

[7]

5. Ergebnisse und Diskussion

Für die vorliegende Dissertation wurden zwei Polymertypen unter gleicher Fragestellung und mit den gleichen Methoden untersucht. Obwohl sich beide makromolekularen Systeme stark in ihrer chemischen Struktur unterscheiden, sind sie doch beide Amphiphile und daher in der Lage, mit amphiphilen Phospholipiden zu wechselwirken. Daher sollen die für beide reinen Polymertypen sowie die in Wechselwirkung mit Phospholipiden erzielten Ergebnisse vergleichend dargestellt werden. Zunächst werden die Resultate der Experimente mit den PGMA-Verbindungen vorgestellt, danach die der Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker. Unterteilt werden diese beiden Abschnitte jeweils in in Mono- und Bischicht-Untersuchungen. Die in diesem Kapitel dargestellten Versuchsergebnisse sind bereits z. T. in internationalen Journalen veröffentlicht. [6, 7]

5.1. PGMA-Derivate

5.1.1. Tensiometrie - Langmuir- und Gibbs-Monolayer

Zeitabhängige Detektion von Adsorptionsprozessen

Oberflächenaktivitäts-Überprüfung der PGMA-Derivate Um zu überprüfen, ob und wie stark grenzflächenaktiv die verwendeten Makromoleküle sind, wurden Oberflächenaktivitätstests durchgeführt. Wässrige Polymerproben wurden in die wässrige Volumenphase eines Langmuirtroges unter Erzeugung verschiedener Konzentrationen innerhalb der Subphase injiziert. Unter Rühren der Subphase zur homogenen Vermischung der injizierten Substanzen wurde die Veränderung des Oberflächendruckes und damit die Veränderung der Oberflächenspannung detektiert, die durch die Anlagerung der amphiphilen Moleküle aus der wässrigen Phase an die Luft-Wasser-Grenzfläche erzeugt wird. Je höher der gemessene Oberflächendruck bei gleicher Polymerkonzentration, desto grenzflächenaktiver ist die Substanz. Für jedes Polymer wurden Konzentrationen zwischen $0,5 \mu\text{M}$ und $9 \mu\text{M}$ in der Subphase vorgelegt.

Die PGMA-Homopolymere zeigen nur eine sehr schwache Grenzflächenaktivität. Für sehr hohe Injektions-Konzentrationen von $9 \mu\text{M}$ wurden maximale Oberflächendrücke von $2,4 \text{ mN m}^{-1}$ für $\text{PGMA}_{40}(\text{rac})\text{-N}_3$ und ein höherer Druck von $6,4 \text{ mN m}^{-1}$ für $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-N}_3$ gemessen. Dies weist daraufhin, dass sich die PGMA-Homopolymere ohne terminale Perfluoralkylkette bei steigendem Polymerisationsgrad stärker an der Grenzfläche anreichern. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass sich die hydrophoben Anteile im Rückgrat der kammförmigen Moleküle an die Luft-Wasser-Grenzfläche anlagern, während die hydrophilen Seitenketten sich in der wässrigen Subphase aufhalten. Aufgrund der geringen Oberflächenaktivität kann keine Aussage zu einer Aggregatbildungskonzentration getroffen werden. Auf die Abbildung der gemessenen Adsorptionsisothermen wird verzichtet.

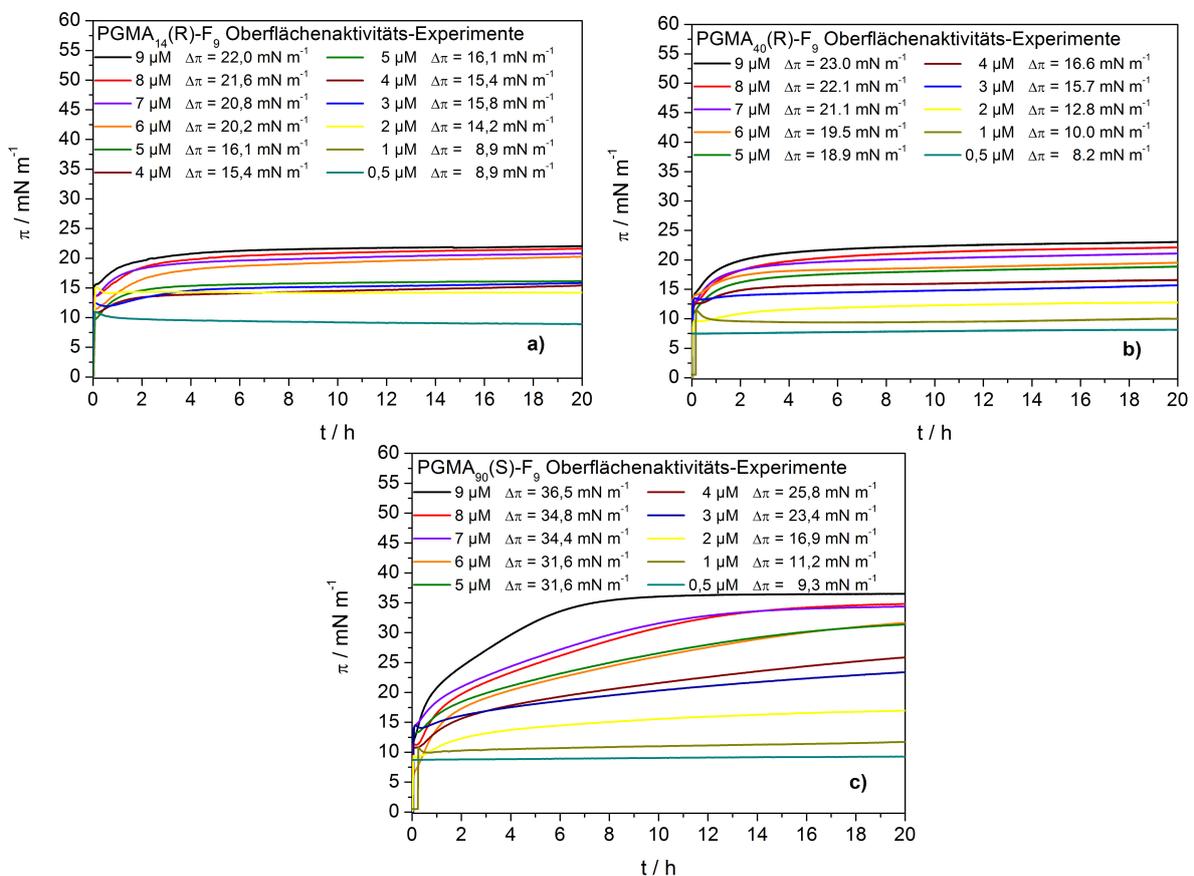


Abbildung 5.1.: Oberflächenaktivitätstests der Polymere a) $\text{PGMA}_{14}(\text{R})\text{-F}_9$, b) $\text{PGMA}_{40}(\text{R})\text{-F}_9$ und c) $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-F}_9$. Die Veränderung des lateralen Oberflächendruckes an der Luft-Wasser-Grenzfläche nach Injektion der Polymerlösungen unter jeweils reine Wasseroberflächen wurde gemessen. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

Die Grenzflächenaktivität der PGMA-Derivate mit terminal perfluorierter Kohlenstoffkette ist dagegen sehr viel höher (siehe Adsorptionsisothermen in Abbildung 5.1). Der strukturelle Unterschied der hier eingeführten PGMA-Derivate zum Homopolymer besteht in der kovalent gebundenen Fluorkohlenwasserstoffkette, bestehend aus 9 perfluorierten Kohlenstoffeinheiten. Diese hält sich bevorzugt an der Luft-Wasser-Grenzfläche, nicht in der wässrigen Subphase, auf. Der bedeutende Einfluss des Polymerisationsgrades darf jedoch nicht vernachlässigt werden, welcher diese Aktivität zusätzlich beeinflusst. So wird für eine Konzentration von $9 \mu\text{M}$ im Langmuirtrog ein Oberflächendruck von $22,0 \text{ mN m}^{-1}$ für $\text{PGMA}_{14}(\text{R})\text{-F}_9$ und ein Druck von $36,5 \text{ mN m}^{-1}$ für $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-F}_9$ erreicht. In Abbildung 5.2 sind die nach 20-stündiger Adsorption abgelesenen Oberflächendrücke gegen die Polymerkonzentrationen aufgetragen.

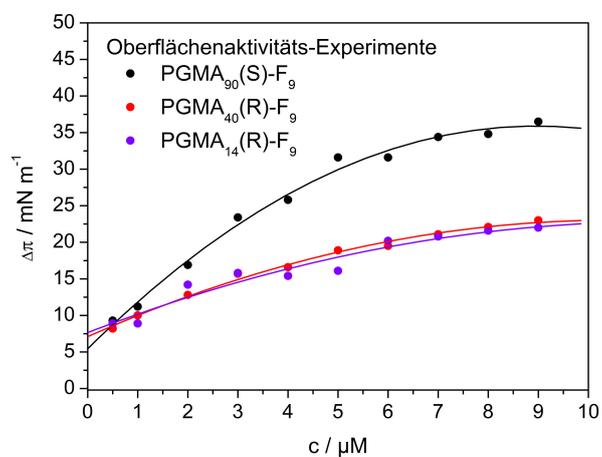


Abbildung 5.2.: Oberflächenaktivitätstests der PGMA-Makromoleküle mit terminaler Perfluoralkylkette. Konzentrationsabhängige Auftragung der maximal erreichten Oberflächendrücke der verwendeten Polymere nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment. $\theta = 20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Isothermen der Phospholipide DPPC und POPC

Kompressions- und Expansionsisothermen Nachdem festgestellt wurde, dass die PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette eine deutliche Grenzflächenaktivität aufweisen, soll nun untersucht werden, ob die zuvor betrachteten Adsorptionsprozesse der Polymere auch bei Anwesenheit von Lipid-Langmuir-Monolayern stattfinden oder ob Unterschiede beobachtet werden können. Zunächst müssen jedoch die Kompressions- und Expansionsisothermen der verwendeten Phospholipide DPPC und POPC betrachtet werden, um die Anordnung der Moleküle an der Luft-Wasser-Grenzfläche zu verstehen.

Die Kompressions- und Expansionsisothermen von L-DPPC und POPC sind in Abbildung 5.3 dargestellt. Nicht nur das natürlich vorkommende Phospholipid L-DPPC, sondern auch das synthetische Enantiomer D-DPPC, sowie deren molare 1:1-Mischung, also das DPPC-Racemat, wurden an der Luft-Wasser-Grenzfläche untersucht. Da die Kompressionsisothermen der Monolayer von L-DPPC, D-DPPC und der racemischen Mischung rac-DPPC deckungsgleich sind, wurden in dieser Dissertation lediglich die Isothermen des natürlich vorkommenden Stereoisomers gezeigt.

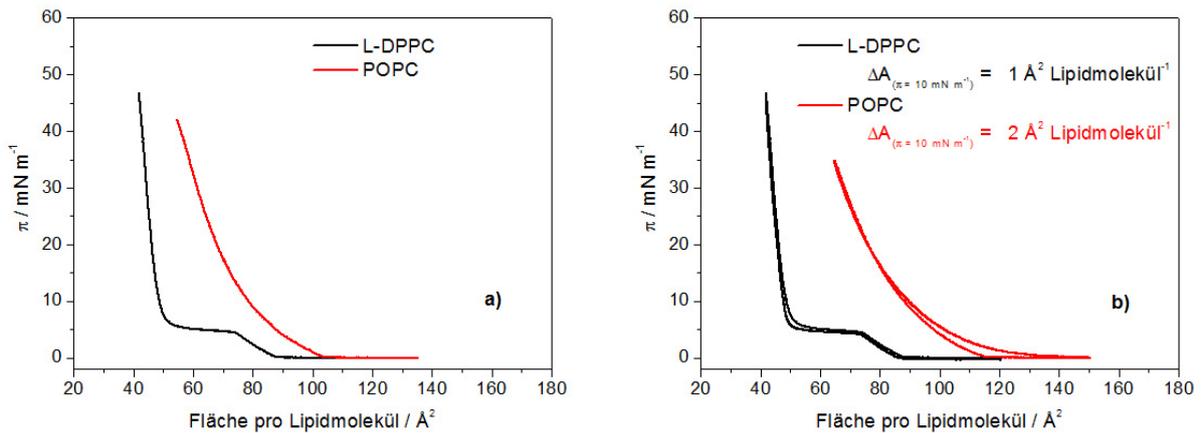


Abbildung 5.3.: a) Kompressionsisothermen der reinen Phospholipide L-DPPC und POPC; b) Kompressions-Expansionsisothermen der reinen Phospholipide L-DPPC und POPC (Hystereseeuntersuchungen). Die Flächendifferenz wurde bei $\pi = 10,0 \text{ mN m}^{-1}$ ausgelesen. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

Bei beiden Lipiden handelt es sich um Phosphocholine. Die Kopfgruppe ist bei beiden Amphiphilen gleich, die Schwanzgruppen sind jedoch unterschiedlich. L-DPPC besitzt zwei gesättigte C_{16} -Acylketten, POPC dagegen weist eine gesättigte C_{16} - und eine einfach ungesättigte C_{18} -Acylkette auf. Das Verhältnis der Fettsäure-Querschnittsflächen in der Draufsicht zum Querschnitt der Phosphatidylkopfgruppen in der Draufsicht ist für POPC also größer. Folgerichtig weist ein POPC-Molekül einen größeren Flächenbedarf an der Luft-Wasser-Grenzfläche auf als ein DPPC-Molekül. Die hydrophilen Kopfgruppen der Amphiphile befinden sich in der wässrigen Subphase. Bedingt durch die hydrophoben Fettsäureketten oberhalb des Wassers sind die Kopfgruppen direkt unterhalb der Wasseroberfläche positioniert. Die hydrophobe Schwanzkette ragt in die Luft, um energetisch unattraktive hydrophil-hydrophob-Wechselwirkungen zu vermeiden.

Der Offset der DPPC-Isotherme, also der Beginn der intermolekularen Wechselwirkungen, tritt bei ca. $90 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, der Kollaps bei minimalem Platzbedarf des Einzelmoleküls von ca. $45 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ auf. Für POPC beginnt der Offset der Kompressionsisotherme bei ca. $112 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, der Kollaps tritt bei ca. $60 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ ein (siehe Abbildung 5.3 a). Die Verschiebung der POPC-Isotherme in Abbildung 5.3 b zu etwas größeren Flächen pro Lipidmolekül resultiert aus einer Spreitungenauigkeit. Die Strukturunterschiede der hydrophoben Schwanzketten beider Lipide drücken sich außerdem im unterschiedlichen Phasenverhalten bei 20 °C aus. DPPC geht bei fortgeführter Kompression vom flüssig-expandierten (LE) in den flüssig-kondensierten Bereich (LC) über. Dabei rücken die DPPC-Moleküle näher aneinander, die zunächst hauptsächlich gauche-konformierten Fettsäureketten wandeln sich zu hauptsächlich trans-konformierten Fettsäureketten um. DPPC weist also an der Luft-Wasser-Grenzfläche eine Phasenkoexistenz auf. Bei hohen Drücken kollabiert der Monolayer schließlich aus der fest-analogen Phase (S) heraus. Die POPC-Isotherme hingegen weist ein rein flüssig-expandiertes Verhalten auf und der Monolayer kollabiert schließlich aus der LE-Phase. Die Kompressions-Expansionsisothermen beider Lipide in Abbildung 5.3 b weisen nur kleine Hystereseschleifen auf, sodass beide reinen Lipidmonolayer als im Gleichgewicht befindlich angenommen werden können. Die Flächendifferenz pro Lipidmolekül beträgt für L-DPPC nur $1 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ und für POPC nur $2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$.

Stabilität der Phospholipidmonolayer Das Verhalten der reinen Phospholipid-Monolayer wurde über einen Zeitraum von 20 Stunden nach Aufbringung der Lipide auf die Wasseroberfläche untersucht (siehe Abbildung A.1). Dafür wurden Phospholipidproben so auf die Wasseroberfläche gespreitet, dass bestimmte Oberflächendrücke erreicht wurden. Die Subphase wurde gerührt, obwohl keine Substanzinjektion vorgenommen wurde, um gleiche Experimentierbedingungen verglichen mit den Polymeradsorptionsexperimenten an die Lipidmonolayer zu gewährleisten. Abbildung A.1 a zeigt stabile L-DPPC-Monolayer bei geringen lateralen Oberflächendrücken unter $10,0 \text{ mN m}^{-1}$. Erzeugt man L-DPPC-Monoschichten höheren Oberflächendrücken, so fällt dieser im Verlauf der 20 Mess-Stunden langsam und kontinuierlich um eine maximale Differenz von $5,0 \text{ mN m}^{-1}$ ab, was für eine Instabilität der Monolage spricht. Dennoch weist das gesättigte L-DPPC eine wesentlich höhere Stabilität an der Luft-Wasser-Grenzfläche auf als das ungesättigte Phospholipid POPC (siehe Abbildung A.1 b). Auch hier bleibt der anfängliche Oberflächendruck, der direkt nach dem Spreitprozess abzulesen ist, bei geringen lateralen Drücken über die Messdauer annähernd konstant. Doch je höher der gespreitete Druck, desto instabiler ist der Monolayer.

Adsorption der PGMA-Derivate an Phospholipid-Monolayer

PGMA-Homopolymere Zunächst wurde das Verhalten der PGMA-Homopolymere bei Adsorption an L-DPPC- und POPC-Monolayer untersucht (siehe Abbildung 5.4). Da sowohl für PGMA₄₀(rac)-N₃ als auch für PGMA₉₀(S)-N₃ jeweils nur geringe Oberflächenaktivitäten festgestellt wurden, wurden zur Überprüfung der Adsorption dieser Polymere an die beiden Phospholipide hohe Polymerkonzentrationen zur Injektion verwendet. Dennoch ist selbst eine hohe Konzentration von 8 μM des PGMA₄₀(rac)-N₃ nicht geeignet, höhere Oberflächendruckdifferenzen als 5,6 mN m^{-1} bei Wechselwirkung mit einem flüssig-expandierten und 3,1 mN m^{-1} bei der Wechselwirkung mit dem flüssig-kondensierten L-DPPC-Layer zu induzieren (siehe Abbildung 5.4 a). Die maximale Oberflächendruckdifferenz, die bei Adsorption an die flüssig-expandierten POPC-Monolayer erreicht wird, beträgt 6,9 mN m^{-1} und ist damit um ein Weniges größer als die Differenz bei Adsorption an DPPC (siehe Abbildung 5.4 b). Bei hohen Anfangsspreitungsdrücken des POPC wird ähnlich dem Verhalten des reinen POPC-Systems ein starker Abfall des Oberflächendrucks von bis zu 10,6 mN m^{-1} beobachtet, der jedoch wesentlich geringer ist als der Oberflächendruckabfall des reinen POPC ohne Polymerinjektion. Ein Vergleich der Oberflächendruckdifferenzen, resultierend aus den eben beschriebenen zeitabhängigen Studien, ist in den Abbildungen 5.4 c und d dargestellt. Alle charakteristischen Daten der gezeigten Isothermen sind in Tabelle 5.1 verzeichnet.

Die Abbildungen 5.4 e und f zeigen die Adsorptionsstudien einer 6 μM konzentrierten PGMA₉₀(S)-N₃-Probe an L-DPPC-Monolayer verschiedener Oberflächendrücke. Aus Substanzmangel musste auf die Studie des Adsorptionsverhaltens an POPC-Monolayer verzichtet werden. PGMA₉₀(S)-N₃ weist wie bereits bei den Oberflächenaktivitätstests zuvor eine höhere Veränderung der Oberflächendrücke der L-DPPC-Layer gegenüber dem Einfluss des kürzeren PGMA-Derivats auf das Lipid auf. Die lateralen Drücke der flüssig-expandierten und auch die der flüssig-kondensierten Phospholipidphase werden erhöht und die entstandenen Monolayer aus DPPC und polymeren Anteilen erscheint stabil über die Dauer der Messung. Das Makromolekül mit dem höheren Polymerisationsgrad weist also den größeren Einfluss auf die Lipid-Monolayer auf. Das Rückgrat des Homopolymers, welches durch die Verknüpfung der vorwiegend hydrophilen Monomere entsteht, lagert sich bei steigendem Polymerisationsgrad des Makromoleküls umso stärker an der Luft-Wasser-Grenzfläche an und bedingt eine umso größere Oberflächenaktivität der Spezies. Dies ist unerwartet, da die steigende Anzahl hydrophiler Monomereinheiten im Makromolekül eher eine umso bessere Wasserlöslichkeit erwarten lassen würden.

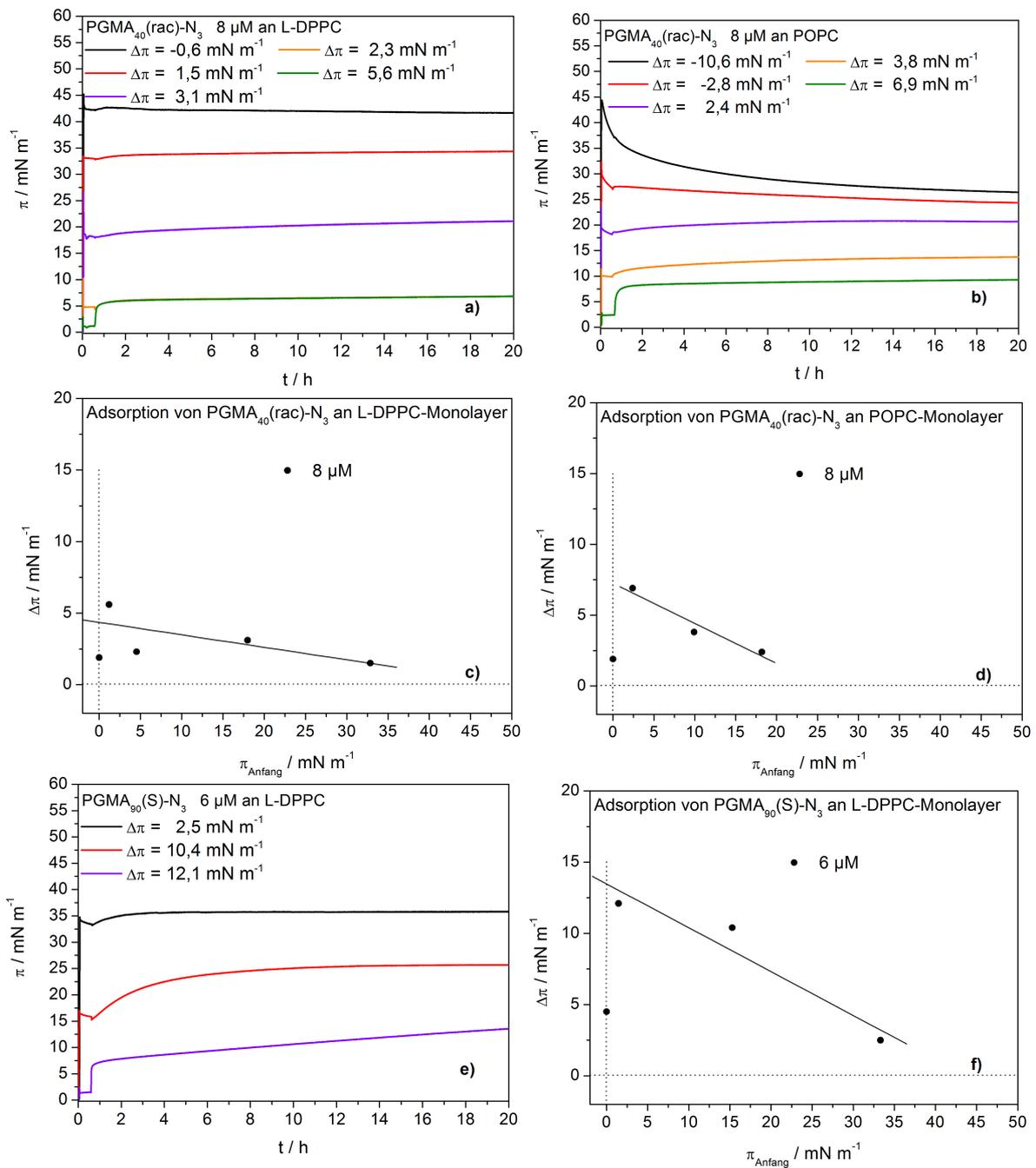


Abbildung 5.4.: Zeitabhängige Adsorptionsmessungen. Adsorptionsisothermen der Polymere PGMA₄₀(rac)-N₃ und PGMA₉₀(S)-N₃ bei Adsorption aus wässriger Lösung an a,e) L-DPPC- bzw. b) POPC-Monolayer; c,d,f) vergleichende Auftragnungen maximal erreichter Oberflächendrücke nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment mit PGMA₄₀(rac)-N₃ bzw. PGMA₉₀(S)-N₃ an L-DPPC und POPC. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette Auf die Untersuchung der PGMA-Homopolymere folgten die zeitabhängigen Adsorptionsmessungen der PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette in Wechselwirkung mit zuvor gespreiteten Phospholipid-Monolayern. Da die terminal perfluorierten Makromoleküle hohe Oberflächenaktivitäten aufweisen, wurden für jede der drei PGMA-Derivate zwei Konzentrationen ausgewählt. Das Verhalten einer gering konzentrierten Polymer-Lösung ($0,5 \mu\text{M}$) sollte dabei mit dem Verhalten einer höher konzentrierten Probe des gleichen Makromoleküls verglichen werden. Die Resultate sind in den Abbildungen 5.5, 5.6, 5.7 und 5.8 dargestellt. Alle charakteristischen Daten der dargestellten Isothermen sind in Tabelle 5.1 aufgelistet.

Allen Adsorptionsstudien der drei PGMA-Derivate mit terminal perfluorierte Alkylkette ist gleich, dass bei zeitabhängiger Adsorption der Polymere an flüssig-expandierte Phospholipidmonolayer geringerer Obeflächendrücke zwischen ca. $7,0$ bis $15,0 \text{ mN m}^{-1}$ maximale Oberflächendruckänderungen erzeugt werden. Sowohl bei Adsorption an die LE-Phasen der L-DPPC-, als auch an die POPC-Monolayer werden deutlich höhere Druckdifferenzen erreicht, als bei Adsorption der gleichen Polymerkonzentrationen an die reine Luft-Wasser-Grenzfläche. Das bedeutet, dass die flüssig-expandierten Phospholipidphasen beider Lipidspezies eine attraktive Anziehungskraft auf die PGMA-Derivate ausüben und diese stärker an die Grenzfläche „heranziehen“ als dies bei den Oberflächenaktivitätstests ohne die Lipid-besetzte Grenzfläche der Fall ist. Die flüssig-expandierten Monolayer des POPC mit Anfangsdrücken oberhalb $15,0 \text{ mN m}^{-1}$ sowie die flüssig-kondensierten Layer des L-DPPC erschweren dagegen die Anlage der PGMA-Verbindungen an die Lipid-besetzte Grenzfläche. Es werden dabei maximal die Druckdifferenzen erreicht, die bei Adsorption an die reine Luft-Wasser-Grenzfläche detektiert wurden. Die jeweiligen Datenpunkte mit $\pi_{\text{Anfang}} = 0,0 \text{ mN m}^{-1}$ wurden nicht mit in die linearen Regressionen einbezogen.

Bei Verwendung der hohen Polymerkonzentration des Polymers PGMA₁₄(R)-F₉ werden etwas größere Druckdifferenzen erzeugt als bei Injektion von nur $0,5 \mu\text{M}$ des gleichen Polymers (siehe Abbildung 5.5). Bei einem schon bestehenden hohen Oberflächendruck der Phospholipidmoleküle an der Luft-Wasser-Grenze sind die Polymere kaum in der Lage, sich zwischen die Lipidmoleküle zu drängen und sich als Teil einer neuen gemischten Monoschicht an die Grenzfläche anzulagern. Besonders interessant ist der extrapolierte Einbaugrenzdruck des PGMA₁₄(R)-F₉ bei Insertion in die Lipidmonolayer, welcher dem Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der π_{Anfang} -Achse entspricht. Die Einbaugrenzdrücke der Polymere betragen bei L-DPPC $26,7 \text{ mN m}^{-1}$ bzw. $34,9 \text{ mN m}^{-1}$, für POPC $32,5 \text{ mN m}^{-1}$ bzw. $35,8 \text{ mN m}^{-1}$.

Der Literatur folgend [46] kann vermutet werden, dass ab einem Einbaugrenzdruck von $35,0 \text{ mN m}^{-1}$ und höher ein Einbau der untersuchten Substanzen in die vorliegende halbe Modellmembran [12, 13], sowie in biologische Membranen wahrscheinlich ist. Demzufolge ist eine Konzentration von $0,5 \text{ }\mu\text{M}$ des Polymers $\text{PGMA}_{14}(\text{R})\text{-F}_9$ nicht ausreichend, um in eine biologische Membran einzudringen, bei Verwendung hoher Konzentrationen von $8 \text{ }\mu\text{M}$ und höheren Werten ist dies jedoch denkbar.

Ein grundsätzlich ähnliches Verhalten kann für die zeitabhängigen Adsorptionsprozesse des Polymers $\text{PGMA}_{40}(\text{R})\text{-F}_9$ beobachtet werden (siehe Abbildung 5.6). Eindeutig ist die höhere Attraktivität des Lipids POPC auf $\text{PGMA}_{40}(\text{R})\text{-F}_9$. Wie auch schon bei dem kürzeren Analogon $\text{PGMA}_{14}(\text{R})\text{-F}_9$ ist der Einbau des Polymers in die vollständig flüssig-expandierten Monolayer des Phospholipids mit den jederzeit gauche-konformierten Fettsäureketten leichter als in die Monoschichten des höher geordneten L-DPPC. Wie auch bei $\text{PGMA}_{14}(\text{R})\text{-F}_9$ sind die Einbaugrenzdrücke des Makromoleküls $\text{PGMA}_{40}(\text{R})\text{-F}_9$ für die geringe Konzentration von $0,5 \text{ }\mu\text{M}$ bei Oberflächendrücken von weniger als $35,0 \text{ mN m}^{-1}$ zu finden ($28,3 \text{ mN m}^{-1}$ für L-DPPC und $30,2 \text{ mN m}^{-1}$ für POPC). Wird jedoch eine höhere Polymerkonzentration von $5 \text{ }\mu\text{M}$ eingesetzt, so liegen die Einbaugrenzdrücke erneut über dem in der Literatur [46] beschriebenen Wert von $35,0 \text{ mN m}^{-1}$ ($39,6 \text{ mN m}^{-1}$ für L-DPPC und $38,1 \text{ mN m}^{-1}$ für POPC).

Die zeitabhängigen Adsorptionsdaten der Experimente mit dem PGMA-Analogon des höchsten verwendeten Polymerisationsgrades sind in Abbildung 5.7 dargestellt. Wird dieses Makromolekül unter die jeweiligen Phospholipidmonolayer injiziert, werden für die hier vorgestellte PGMA-Derivat-Messreihe maximale Oberflächendruckveränderungen detektiert. Damit ist nachgewiesen, dass $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-F}_9$ aufgrund seiner terminalen Perfluoralkylkette und seines hohen Polymerisationsgrades maximale Interaktionen mit den Phospholipid-Monolayern verschiedener Ordnungen eingehen kann. Die hydrophoben Anteile des Polymerückgrates sind den hier ausgewerteten zeitabhängigen Messungen zufolge in der Lage, sich in die amphiphilen Phospholipid-Monolayer einzulagern und dies umso stärker, je größer der hydrophobe Anteil der Makromoleküle ist. Aufgrund der so erzeugten räumlichen Nähe der polymeren Hydroxylgruppen und der hydrophilen Phosphatidylcholin-Kopfgruppen kommt es sehr wahrscheinlich zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken. Auch diese attraktive Wechselwirkung zwischen Lipid und Polymer ist umso stärker, je größer der Polymerisationsgrad ist, also je höher die Anzahl verfügbarer polymerer Hydroxylgruppen ist.

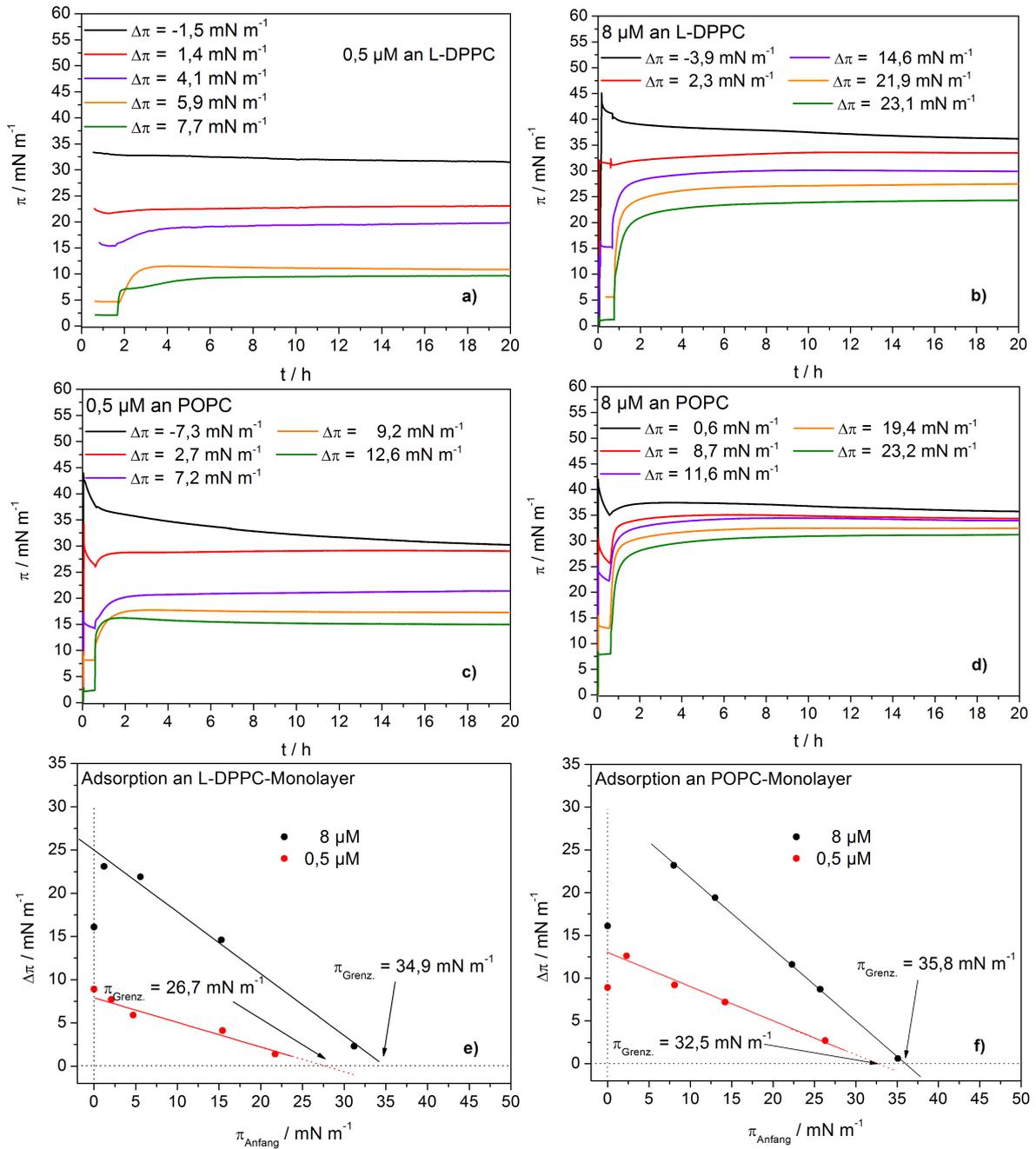


Abbildung 5.5.: Zeitabhängige Adsorptionsmessungen. Adsorptionsisothermen des Polymers PGMA₁₄(R)-F₉ bei Adsorption aus wässriger Lösung an a,b) L-DPPC- bzw. c,d) POPC-Monolayer; e,f) vergleichende Auftragungen maximal erreicher Oberflächendrücke nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment mit PGMA₁₄(R)-F₉ an L-DPPC und POPC mit Extrapolation auf den jeweiligen Einbaugrenzdruck des Polymers. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

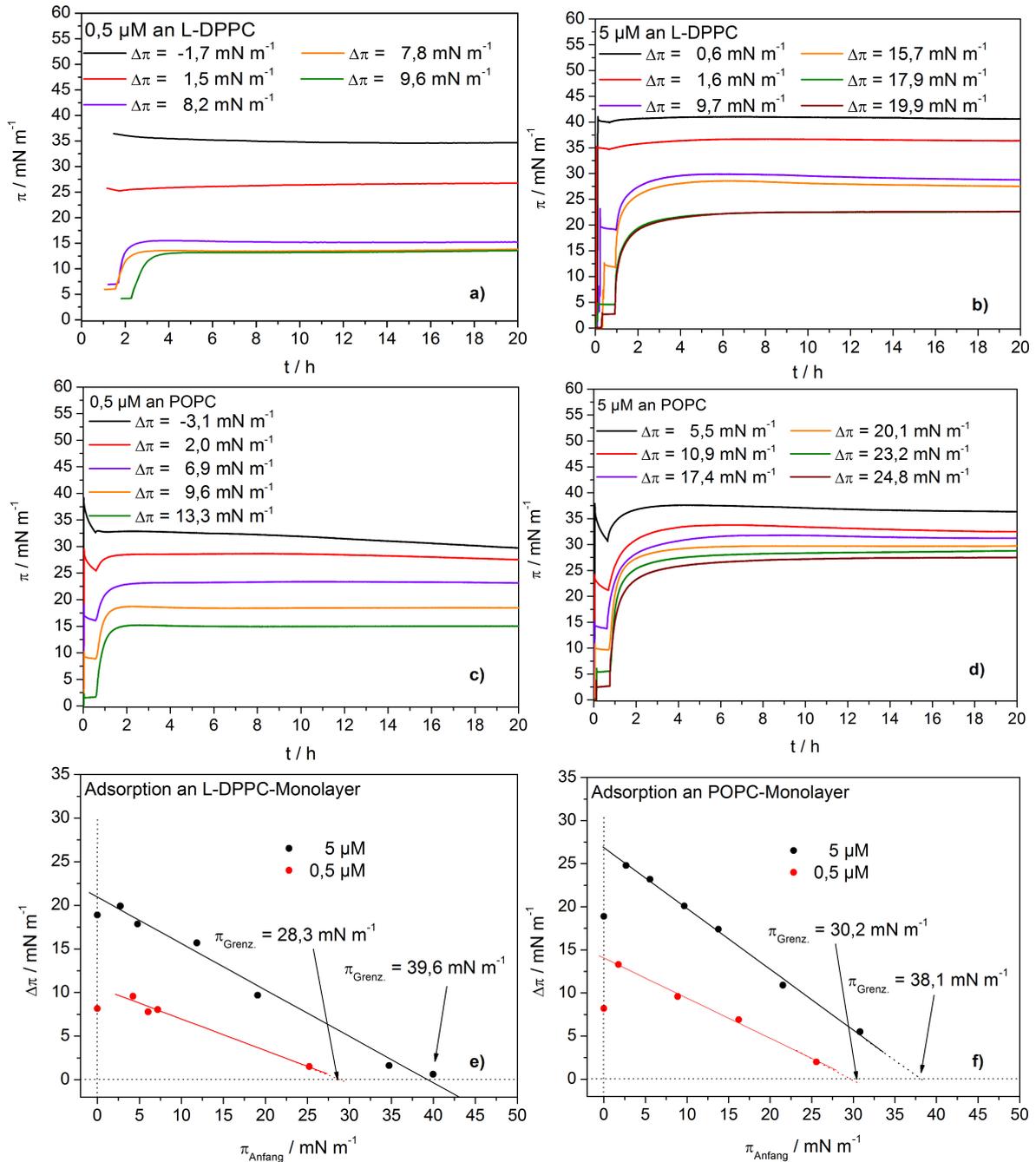


Abbildung 5.6.: Zeitabhängige Adsorptionsmessungen. Adsorptionsisothermen des Polymers PGMA₄₀(R)-F₉ bei Adsorption aus wässriger Lösung an a,b) L-DPPC- bzw. c,d) POPC-Monolayer; e,f) vergleichende Auftragungen maximal erreichter Oberflächendrücke nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment mit PGMA₄₀(R)-F₉ an L-DPPC und POPC mit Extrapolation auf den jeweiligen Einbaugrenzdruck des Polymers. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

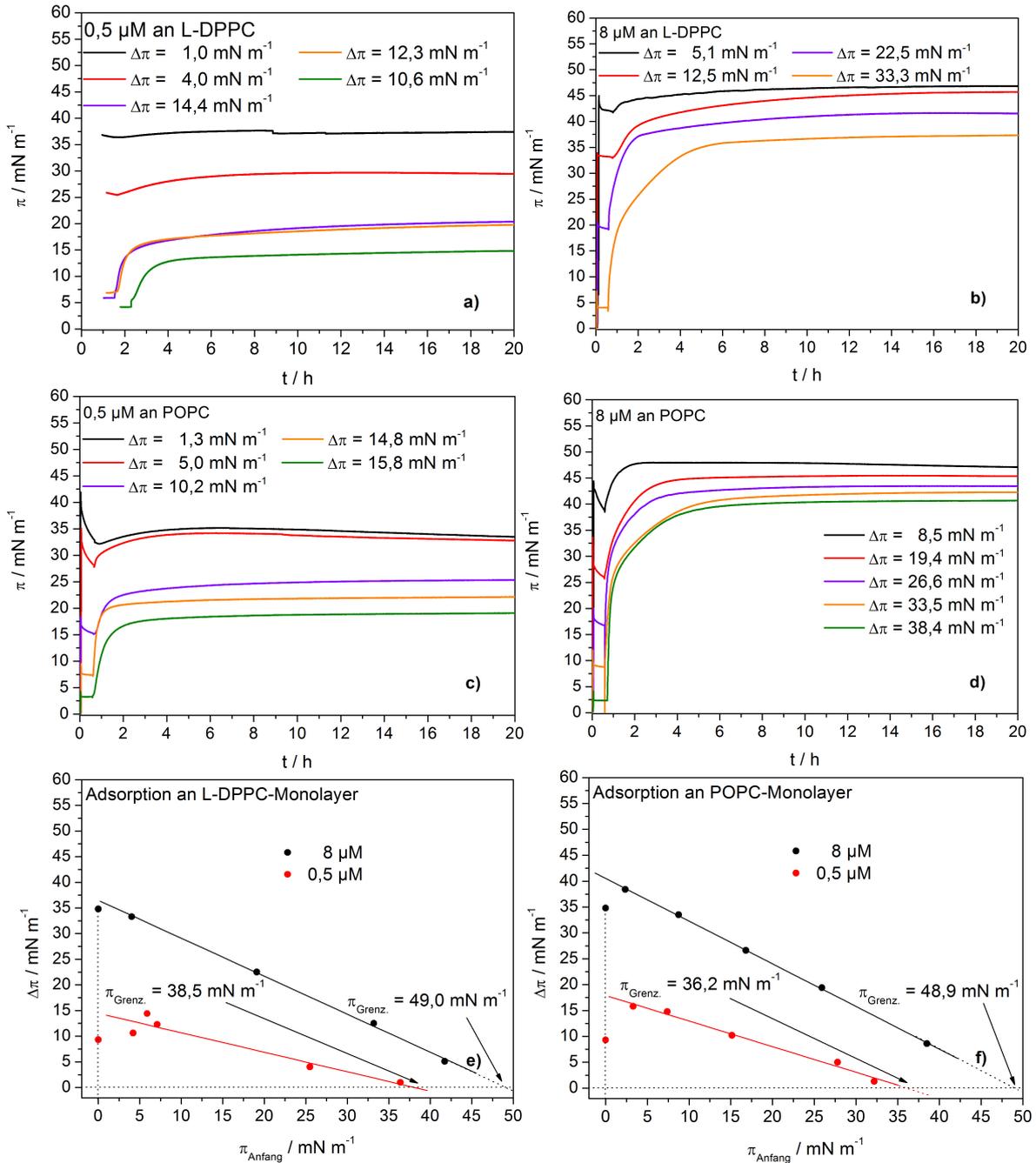


Abbildung 5.7.: Zeitabhängige Adsorptionsmessungen. Adsorptionsisothermen des Polymers PGMA₉₀(S)-F₉ bei Adsorption aus wässriger Lösung an a,b) L-DPPC- bzw. c,d) POPC-Monolayer; e,f) vergleichende Auftragungen maximal erreichter Oberflächendrücke nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment mit PGMA₉₀(S)-F₉ an L-DPPC und POPC mit Extrapolation auf den jeweiligen Einbaugrenzdruck des Polymers. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

Daten zeitabhängiger Adsorptionsmessungen	PGMA ₄₀ (rac)-N ₃		PGMA ₉₀ (S)-N ₃		PGMA _{1,4} (R)-F ₉		PGMA ₄₀ (R)-F ₉		PGMA ₉₀ (S)-F ₉	
	8 μM	6 μM	0,5 μM	8 μM	0,5 μM	5 μM	0,5 μM	8 μM	0,5 μM	8 μM
$\pi_{\text{Anfang}}/\Delta\pi$ / mN m ⁻¹ , Ads. an L-DPPC	32,9/1,5 (Maximalwert)	33,3/2,5	21,7/1,4	31,2/2,3	25,2/1,5	40,0/0,6	36,4/1,0	41,7/5,1		
	1,2/5,6 (Minimalwert)	1,5/12,1	2,1/7,7	1,2/23,1	4,2/9,6	2,7/19,9	4,2/10,6	4,0/33,3		
$\pi_{\text{Anfang}}/\Delta\pi$ / mN m ⁻¹ , Ads. an POPC	18,2/2,4	-	26,3/2,7	35,1/0,6	25,6/2,0	30,8/5,5	32,2/1,3	38,5/8,5		
	2,4/6,9	-	43,0/12,6	8,0/23,2	1,8/13,3	2,7/24,8	3,3/15,8	2,3/38,4		
$\pi_{\text{Grenz.}}$ / mN m ⁻¹ , Ads. an L-DPPC	n.a.	n.a.	26,7	34,9	28,3	39,6	38,5	49,0		
	n.a.	-	32,5	35,8	30,2	38,1	36,2	48,9		

Tabelle 5.1.: Charakteristische Daten der Adsorptionsisothermen aller verwendeten PGMA-Derivate. $\theta = 20^\circ\text{C}$. n.a. = nicht ablesbar

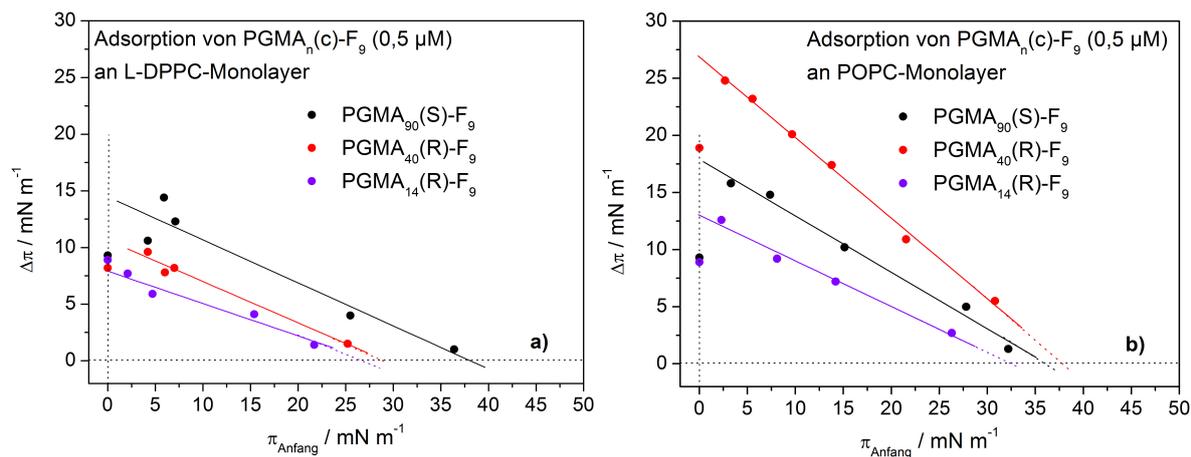


Abbildung 5.8.: Vergleichende Insertions-Studien der PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette. Aufgetragen sind die maximal erreichten Oberflächenpressen der verschiedenen Polymere nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment an a) L-DPPC- bzw. b) POPC-Monolayer. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

Desweiteren erhöht PGMA₉₀(S)-F₉ selbst bei hohen Anfangsoberflächenpressen der flüssig-kondensierten DPPC-Layer den lateralen Druck der Lipidschichten im Vergleich zu den PGMA-Homopolymeren und den PGMA-Derivaten geringerer Polymerisationsgrade maximal. Mit den ermittelten Einbaugrenzdrücken von PGMA₉₀(S)-F₉, die selbst bei geringen Polymerkonzentrationen oberhalb der in der Fachliteratur beschriebenen $35,0 \text{ mN m}^{-1}$ [46] liegen, unterscheidet sich das lange Polymer von der Insertionsfähigkeit seiner kürzeren Analoga und ist damit für Wechselwirkungsuntersuchungen mit Phospholipiden am besten geeignet.

Eine vergleichende Auftragung der linearen Regressionen der Adsorption der $0,5 \mu\text{M}$ konzentrierten PGMA-Derivate an L-DPPC bzw. POPC ist in Abbildung 5.8 dargestellt. Alle vergleichend in einer Tabelle aufgetragenen charakteristischen Daten der zeitabhängigen Adsorptionsmessungen sind in Tabelle 5.1 nachzulesen.

Isothermen der reinen PGMA-Derivate

Nachdem das Adsorptionsverhalten der PGMA-Verbindungen untersucht wurde, interessiert nun, ob die beobachtete Grenzflächenaktivität genügt, um Kompressions- bzw. Expansionsisothermen der Polymermonolayer zu messen. Zunächst wurden die PGMA-Homopolymere, welche die Ausgangsbasis für die Synthese der perfluorierten Makromoleküle darstellten, ten-

siometrisch untersucht. Abbildung 5.9 zeigt die Kompressionsisothermen sowie die Hystere-
seuntersuchungen an den beiden Homopolymeren.

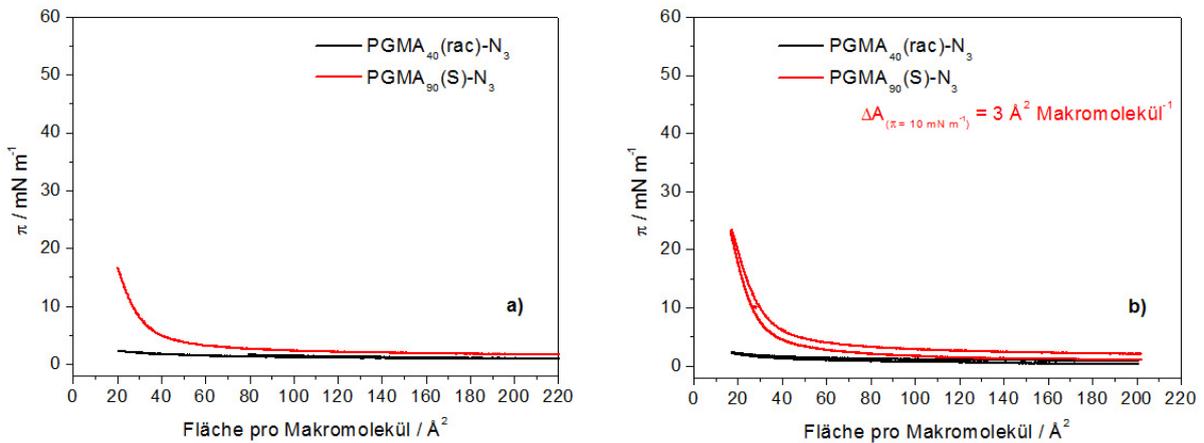


Abbildung 5.9.: a) Kompressionsisothermen der reinen Homopolymere $\text{PGMA}_{40}(\text{rac})\text{-N}_3$ und $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-N}_3$; b) Kompressions-Expansionsisothermen der Homopolymere $\text{PGMA}_{40}(\text{rac})\text{-N}_3$ und $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-N}_3$ (Hystere-
seuntersuchungen). Die Flächen-
differenz wurde bei $\pi = 10,0 \text{ mN m}^{-1}$ ausgelesen. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

Wie aus Abbildung 5.9 a zu erkennen ist, unterscheiden sich beide Polymere stark in ihrem Kompressionsverhalten an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Während das kürzere $\text{PGMA}_{40}(\text{rac})\text{-N}_3$ nur eine sehr geringe Oberflächenaktivität aufweist und der maximal erreichte laterale Oberflächendruck $\pi = 2,3 \text{ mN m}^{-1}$ beträgt, lässt sich das längere und unerwartet deutlich stärker oberflächenaktive Polymer $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-N}_3$ bis auf $\pi = 16,7 \text{ mN m}^{-1}$ bzw. auf $\pi = 23,4 \text{ mN m}^{-1}$ (siehe Abbildung 5.9 b) komprimieren. Die zuvor geäußerte Vermutung, dass bei größerer Hydrophilie durch das größere Volumen des PGMA-Homopolymers höheren Polymerisationsgrades eine stärkere Wechselwirkung mit dem Lipid anstelle des zu erwartenden Absinkens in die Subphase vorliegt, wird durch das vorliegende Resultat bestätigt. $\text{PGMA}_{40}(\text{rac})\text{-N}_3$ sinkt also vermutlich noch beim Spreiten in die wässrige Subphase ab und liegt als gelöste Spezies vor. Ein großer Teil des $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-N}_3$ hingegen wird durch hydrophobe Molekülanteile an der Luft-Wasser-Grenzfläche gehalten.

Bei Kompression werden die zunächst stark expandiert an der Luft-Wasser-Grenzfläche verteilten Moleküle näher und näher aneinander geschoben. Im Verlaufe des Experiments sinkt sehr wahrscheinlich ein Teil der vorwiegend hydrophilen Seitenketten jeden Moleküls in die Subphase ab, dennoch wird durch die längere Molekülkette ein bestimmter Anteil des Mo-

lekülgerüsts an der Grenzfläche gehalten. Dadurch wird der genannte maximale Monolayer-Oberflächendruck für das Polymer an der Luft-Wasser-Grenzfläche erreicht. Die Hystereseuntersuchungen in Abbildung 5.9 b weisen für das wenig oberflächenaktive kürzere Polymer keine quantitativ auswertbare Hystereschleife auf, für das längere PGMA₉₀(S)-N₃ ist bei einem Oberflächendruck von 10,0 mN m⁻¹ eine Flächendifferenz von nur 3 Å² Molekül⁻¹ zu vermerken. Es kann also trotz der überwiegenden hydrophilen Anteile in der Polymerstruktur davon ausgegangen werden, dass bei der Kompression des Polymermonolayers nur ein geringer Anteil der Gesamtanzahl an Makromolekülen vollständig in die Subphase verdrängt wird.

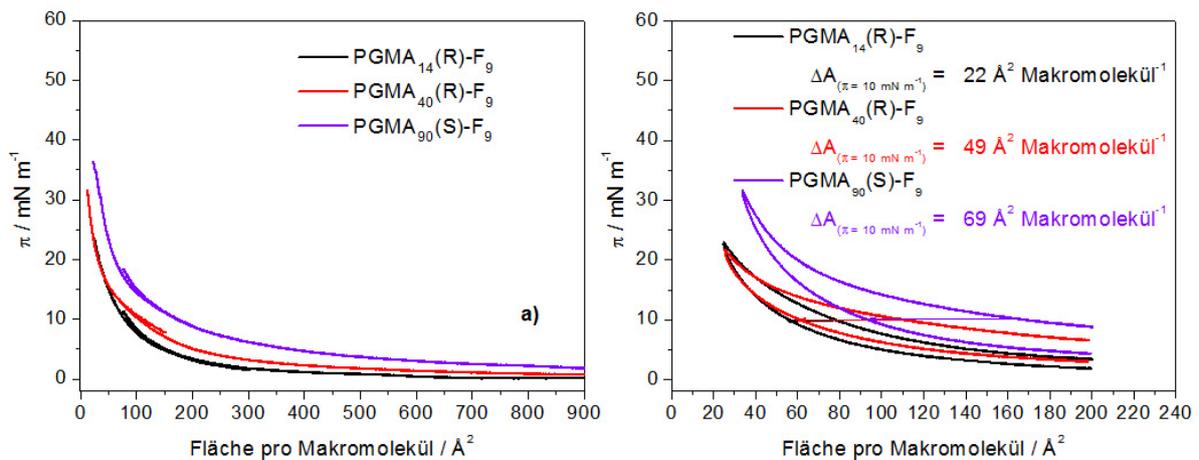


Abbildung 5.10.: a) Kompressionsisothermen der reinen Polymere PGMA₁₄(R)-F₉, PGMA₄₀(R)-F₉ und PGMA₉₀(S)-F₉; b) Kompressions-Expansionsisothermen der genannten reinen Polymere (Hystereseuntersuchungen). Die Flächendifferenz wurde bei $\pi = 10,0 \text{ mN m}^{-1}$ ausgelesen. $\theta = 20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Die PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette zeigen, wie bereits im Abschnitt der Adsorptionsexperimente gefunden, eine deutlich höhere Oberflächenaktivität als die PGMA-Homopolymere. Aus dem Vergleich der gezeigten Isothermen in Abbildung 5.9 und Abbildung 5.10 kann daher geschlossen werden, dass die höhere Oberflächenaktivität zum Teil ein Effekt der zugleich hydro- wie lipophoben Perfluoralkylkette ist. Desweiteren kann festgestellt werden, dass die Oberflächenaktivität der Makromoleküle wie bereits im vorigen Teilkapitel gefunden, mit zunehmendem Polymerisationsgrad steigt. So werden maximale Oberflächendrücke bei der Kompression von $\pi = 23,6 \text{ mN m}^{-1}$ für PGMA₁₄(R)-F₉, $\pi = 31,6 \text{ mN m}^{-1}$ für PGMA₄₀(R)-F₉ und $\pi = 36,5 \text{ mN m}^{-1}$ für PGMA₉₀(S)-F₉ erreicht (siehe Abbildung 5.10 a).

Nicht nur die maximalen Oberflächendrücke steigen mit dem Polymerisationsgrad, sondern auch die zwischenmolekularen Wechselwirkungen treten bereits bei größeren Flächen pro Molekül auf. Dies erkennt man an der Verschiebung der Kompressionsisothermen zu höheren Oberflächendrücken bei gleichem detektiertem Flächenbedarf pro Molekül. Diese Beobachtung wurde bereits bei den Homopolymeren festgehalten und ist somit kein Effekt der Perfluoralkylkette, sondern wird vor allem durch die hydrophoben Molekülanteile im Rückgrat der kammförmigen Polymermoleküle verursacht.

Wie zuvor beschrieben kann man davon ausgehen, dass alle Makromoleküle mit Perfluoralkylkette zunächst stark expandiert an der Luft-Wasser-Grenzfläche vorliegen. Während der Kompression der Polymer-Monolayer ist ein Absinken eines Teils der hydrophilen Seitenketten zu erwarten. Ein Teil der hydrophoben Rückgrat-Elemente verbleiben jedoch an der Grenzfläche - umso mehr, je höher der Polymerisationsgrad der untersuchten Makromoleküle ist. Die Perfluoralkylkette verbleibt ebenfalls an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Es werden die genannten maximalen Oberflächendrücke erreicht.

Die Kompressions-Expansionsisothermen der Abbildung 5.10 b sprechen für eine geringe Stabilität der untersuchten Monolayer. Im Vergleich der drei Polymere sinken bei Kompression umso mehr der hydrophilen Monomeranteile der Polymerseitenketten in die wässrige Subphase ab, je höher der Polymerisationsgrad ist. Aus der größeren Hystereseschleife bei höherem Polymerisationsgrad kann man schlussfolgern, dass zum Einen aufgrund des höheren Polymerisationsgrades ein größerer Anteil der polymeren Seitenkette absinkt und zum Zweiten die in die Subphase abgesunkenen Seitenketten-Anteile bei Expansion nicht wieder an die Luft-Wasser-Grenzfläche zurück gelangen. Die Flächendifferenz pro Makromolekül beträgt bei den gezeigten Kompressions-Expansionsisothermen $22 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ für $\text{PGMA}_{14}(\text{R})\text{-F}_9$, $49 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ für $\text{PGMA}_{40}(\text{R})\text{-F}_9$ und $69 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ für $\text{PGMA}_{90}(\text{S})\text{-F}_9$.

Isothermen der gemischten Phospholipid:PGMA-Derivat-Systeme

DPPC:PGMA_n(c)-N₃ vs. POPC:PGMA_n(c)-N₃

PGMA-Homopolymer-Mischungen mit DPPC Nachdem das Adsorptionsverhalten der Polymere an die verschiedenen Phospholipidmonolayer untersucht wurde, soll nun ein ähnliches und doch verschiedenes Monolayersystem an der Luft-Wasser-Grenzfläche betrach-

tet werden. Anstatt die Polymere aus einer wässrigen Lösung unter den Lipidlayer zu injizieren, wird er hier aus organischem Lösungsmittel gemeinsam mit den Lipidmolekülen auf die Wasseroberfläche kogespreitet. Ein wichtiger Fakt ist, dass die Spreitung der Phospholipide problemlos verläuft, da die Moleküle wasserunlöslich sind und an der Wasseroberfläche verbleiben. Die PGMA-Derivate hingegen sind wasserlöslich und müssen aufgrund ihrer Unlöslichkeit in apolaren Lösungsmitteln aus dem mit Wasser mischbaren Methanol gespreitet werden. Ein Teil der Polymermoleküle sinkt vermutlich sofort nach dem Spreiten in die Subphase ab. Die Makromoleküle bilden also einen Gibbs-Film aus. Es soll nun experimentell festgestellt werden, ob durch den Kospreitungsvorgang andere Zustände an der Luft-Wasser-Grenzfläche erzeugt werden als durch die zuvor durchgeführten Adsorptionsversuche.

Da bereits das Kompressionsverhalten der reinen Lipid- bzw. Polymersysteme betrachtet wurde, sollen nun auf dieser Grundlage die gemischten Monolayer untersucht werden. Abbildung 5.11 zeigt die Kompressionsisothermen der gemischten Lipid:PGMA-Homopolymer-Monolayer in den molaren Mischungsverhältnissen 20:1, 10:1 und 5:1. In allen Mischungen überwiegt die molare Stoffmenge des Phospholipids. Die Isothermen der gemischten Monolayer sind jeweils im Vergleich zur Kompressionsisotherme des reinen Lipids aufgetragen. Die Lift-Offs der Kompressionsisothermen verschieben sich bei größer werdendem Polymeranteil im Gemisch zu größeren Flächen pro Lipidmolekül, der in der reinen Lipidisotheimer noch scharfe Lift-Off verschmiert, die Phasenumwandlungsfläche verbreitert sich stark und ihr Anstieg wird um ein Weniges steiler.

Die benötigte Fläche pro DPPC-Molekül ist maximal für die Mischungen Lipid:PGMA-Homopolymer = 5:1, da der Flächeneinfluss des Polymers, welcher bei der Berechnung der Isothermen der Fläche des Phospholipids zugeschlagen wird, bei dieser Mischung ebenfalls maximal ist. Die charakteristischen Daten der gemessenen Isothermen sind in Tabelle 5.2 aufgelistet.

Die Isothermen der gemischten Systeme schneiden die Lipidisotheimer des reinen DPPC. Vermutlich wird bei der Kompression der gemischten Lipid:Polymer-Systeme ein Teil der Lipidmoleküle aus dem Monolayer herausgepresst und mit den wasserlöslichen Polymermolekülen in die Subphase gezogen. Die Flächenunterschiede, die in diesem Bereich zwischen den einzelnen Isothermen zu beobachten sind, kann man als ungleichmäßiges Absinken der Lipide und damit als artifizielles Verhalten interpretieren.

System	Aus der Isotherme ausgelesene π/A -Werte					
	Abschluss der Phasenumwandlung		Beginn der Phasenumwandlung		Lift-Off-Fläche pro Lipidmolekül	
	$mN m^{-1}$	Å^2	$mN m^{-1}$	Å^2	$mN m^{-1}$	Å^2
L-DPPC	5,9	46	4,3	69	0,0	84
L-DPPC:PGMA ₄₀ (rac)-N ₃ = 20:1	6,1	47	4,6	68	0,0	126
L-DPPC:PGMA ₄₀ (rac)-N ₃ = 10:1	7,4	29	5,1	52	0,0	119
L-DPPC:PGMA ₄₀ (rac)-N ₃ = 5:1	7,0	35	5,0	65	0,0	151
L-DPPC:PGMA ₉₀ (S)-N ₃ = 20:1	7,5	31	4,1	67	0,0	133
L-DPPC:PGMA ₉₀ (S)-N ₃ = 10:1	8,4	33	4,9	71	0,0	
L-DPPC:PGMA ₉₀ (S)-N ₃ = 5:1	9,2	41	5,2	92	0,0	
POPC	-		-		0,0	104
POPC:PGMA ₄₀ (rac)-N ₃ = 20:1	-		-		0,0	≈ 190
POPC:PGMA ₄₀ (rac)-N ₃ = 10:1	-		-		0,0	≈ 190
POPC:PGMA ₄₀ (rac)-N ₃ = 5:1	-		-		0,0	≈ 376
POPC:PGMA ₉₀ (S)-N ₃ = 20:1	-		-		0,0	≈ 252
POPC:PGMA ₉₀ (S)-N ₃ = 10:1	-		-		0,0	≈ 252
POPC:PGMA ₉₀ (S)-N ₃ = 5:1	-		-		0,0	≈ 388

Tabelle 5.2.: Charakteristische Daten von Kompressionsisothermen der reinen Lipide L-DPPC und POPC und deren Mischungen mit den Polymeren PGMA₄₀(rac)-N₃ und PGMA₉₀(S)-N₃. Die durch das Zumischen hoher Polymeranteile geglätteten Lift-Off-Punkte der untersuchten Isothermen wurden als Schätzwerte aus den Diagrammen (siehe Abbildung 5.11) ausgelesen. Die Phasenübergangspunkte wurden als Schnittpunkte zweier Tangenten an die jeweiligen aufeinandertreffenden Abschnitte der Kompressionsisothermen ausgelesen (nicht dargestellt). $\theta = 20^\circ C$.

Für beide hier verwendeten PGMA-Homopolymere im gemischten Monolayer tritt keine systematische Verschiebung des Phasenumwandlungsplateaus auf der Oberflächendruckachse ein. Zuvor wurde bereits vermutet, dass ein Teil der gut wasserlöslichen Makromoleküle bereits beim Spreitungsprozess in der Subphase gelöst wird. Der an der Luft-Wasser-Grenzfläche verbliebene Teil wird wahrscheinlich während der Kompression aus dem Monolayer heraus-

gedrückt und in die wässrige Subphase hinein verdrängt. Diese Annahme wird durch die Hystereseanalysen der 10:1-Mischungen von L-DPPC mit beiden Polymeren bestätigt (siehe Abbildung A.2 c und d). Wie für beide Mischsysteme zu erkennen ist, weicht die Expansionsisotherme flächenbezogen nur gering ($2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ bei $10,0 \text{ mN m}^{-1}$) ab. Doch der Verlauf der Expansionsisotherme ist nicht deckungsgleich mit dem der Kompressionsisotherme. Der Lift-Off und der Beginn des Phasenumwandlungsplateaus bei der Kompression gehen nahezu fließend ineinander über. Die Expansionsisotherme weist dagegen einen Verlauf entsprechend dem der reinen DPPC-Kompressionsisotherme mit einem deutlichen Knickpunkt am Beginn des Phasenumwandlungsplateaus auf.

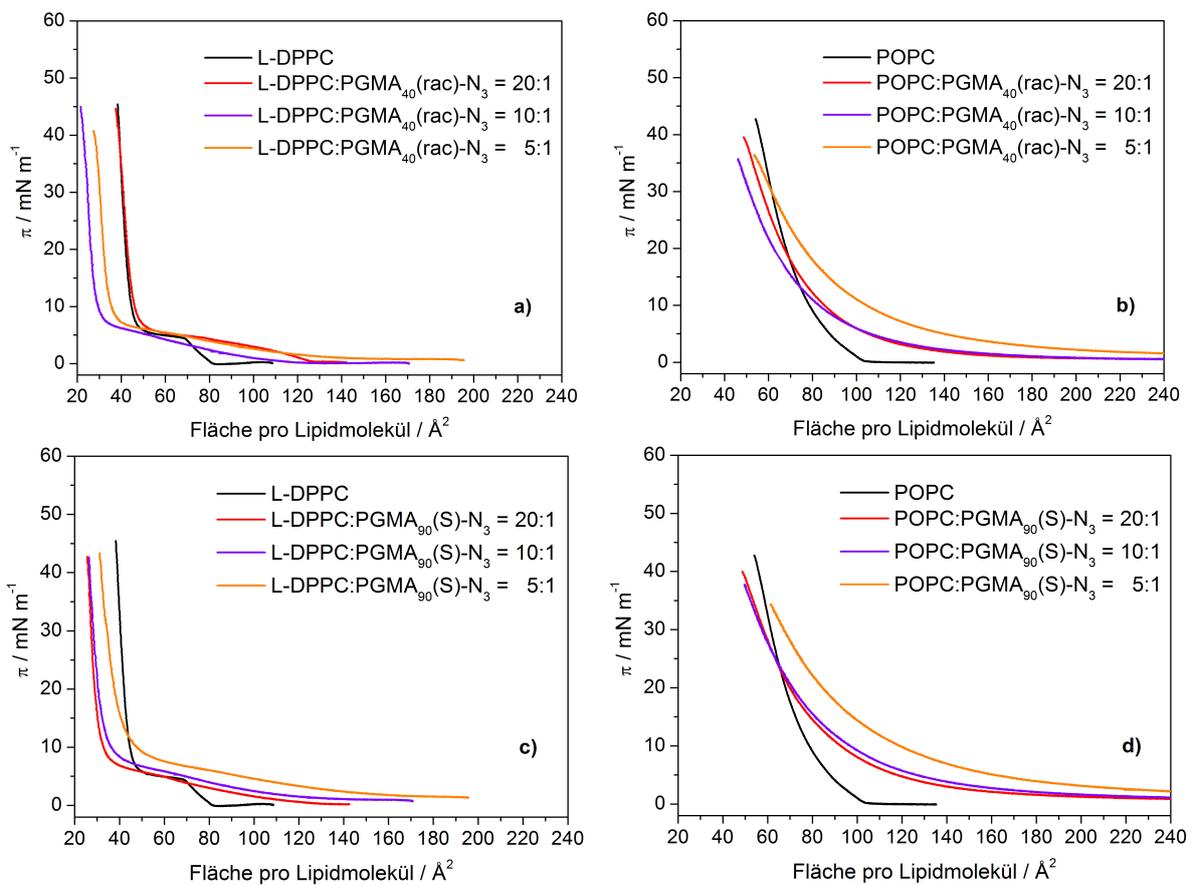


Abbildung 5.11.: Kompressionsisothermen der gemischten Lipid:PGMA-Homopolymer-Monolayer im Vergleich zur reinen Lipidisotherme. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

PGMA-Homopolymer-Mischungen mit POPC Auch die Kompressionsisothermen der Mischungen von POPC mit den PGMA-Homopolymeren (siehe Abbildung 5.11) weisen einen

erhöhten Lift-Off-Flächenbedarf pro Lipidmolekül auf, da der Flächenbedarf der Polymere in die Fläche der Isothermen mit eingerechnet wurde. In Tabelle 5.2 sind die relevanten Datenpunkte der Isothermen aufgelistet. Die gemischten POPC:Polymer-Monolayer liegen wie das reine Lipid während des gesamten Kompressions-Experimentes im flüssig-expandierten Zustand vor. Die Isothermen dieser gemischten Monolayer schneiden die Kompressionsisotherme der reinen POPC-Monoschicht bei lateralen Oberflächendrücken zwischen 12,0 und 30,0 mN m⁻¹, was als ein Mitreißen der Lipidmoleküle durch die Polymere in die Subphase während der Kompression verstanden werden kann. Die Kompressions-Expansionsisothermen der gemischten Monolayer in den molaren Mischungen 10:1 bestätigen diese Hypothese. Die Expansionsisotherme weist für die Mischung POPC:PGMA₄₀(rac)-N₃ = 10:1 gegenüber der Kompressionsisotherme bei dem Oberflächendruck von 10,0 mN m⁻¹ eine Flächendifferenz von 9 und für die Mischung POPC:PGMA₉₀(S)-N₃ = 10:1 von 16 Å² Molekül⁻¹ auf (siehe Abbildung A.2 c und d). Die Kompressionsisothermen zeigen keinen Hinweis auf eine Phasenumwandlung in den hier besprochenen POPC-Mischsystemen.

Die Verschiebung der Lift-Off-Daten der gemischten Systeme zu höheren Flächen pro Lipidmolekül ist für die Mischungen beider Polymere mit den Lipiden bei den jeweils gleichen Mischungsverhältnissen vergleichbar. So beträgt die Vergrößerung des Lipidflächenbedarfes für die Mischungen 20:1 und 10:1 ca. 70 bzw. 80 und für die beiden 5:1-Mischungen ca. 210 Å² Molekül⁻¹. Dies spricht für die Fähigkeit der beiden Homopolymere, sich gleichartig in die expandierten Phospholipidmonolayer einzubauen, unabhängig vom Polymerisationsgrad des Polymers und der Art des Phosphatidylcholins, das im expandierten Zustand vorliegt.

DPPC:PGMA_n(c)-F₉ vs. POPC:PGMA_n(c)-F₉ Die Polymere PGMA₁₄(R)-F₉, PGMA₄₀(R)-F₉ und PGMA₉₀(S)-F₉ wurden zu DPPC und POPC zugemischt und in verschiedenen molaren Mischungen kogespreitet. Die Kompressionsisothermen zweier der gemischten Systeme (Polymerisationsgrade 14 und 90) sind jeweils im Vergleich zu den Kompressionsisothermen der reinen Phospholipid-Monoschichten in Abbildung 5.12 dargestellt. Die Kompressionsisothermen und die Hystereseanalyse der Mischungen Phospholipid:PGMA₄₀(R)-F₉ werden im Anhang in Abbildung A.3 gezeigt. Neben den Lift-Off-Daten sind alle weiteren charakteristischen Punkte der hier vorgestellten Mischungen der Phospholipide mit den PGMA-Derivaten mit Perfluoralkylkette in der Tabelle 5.3 aufgelistet.

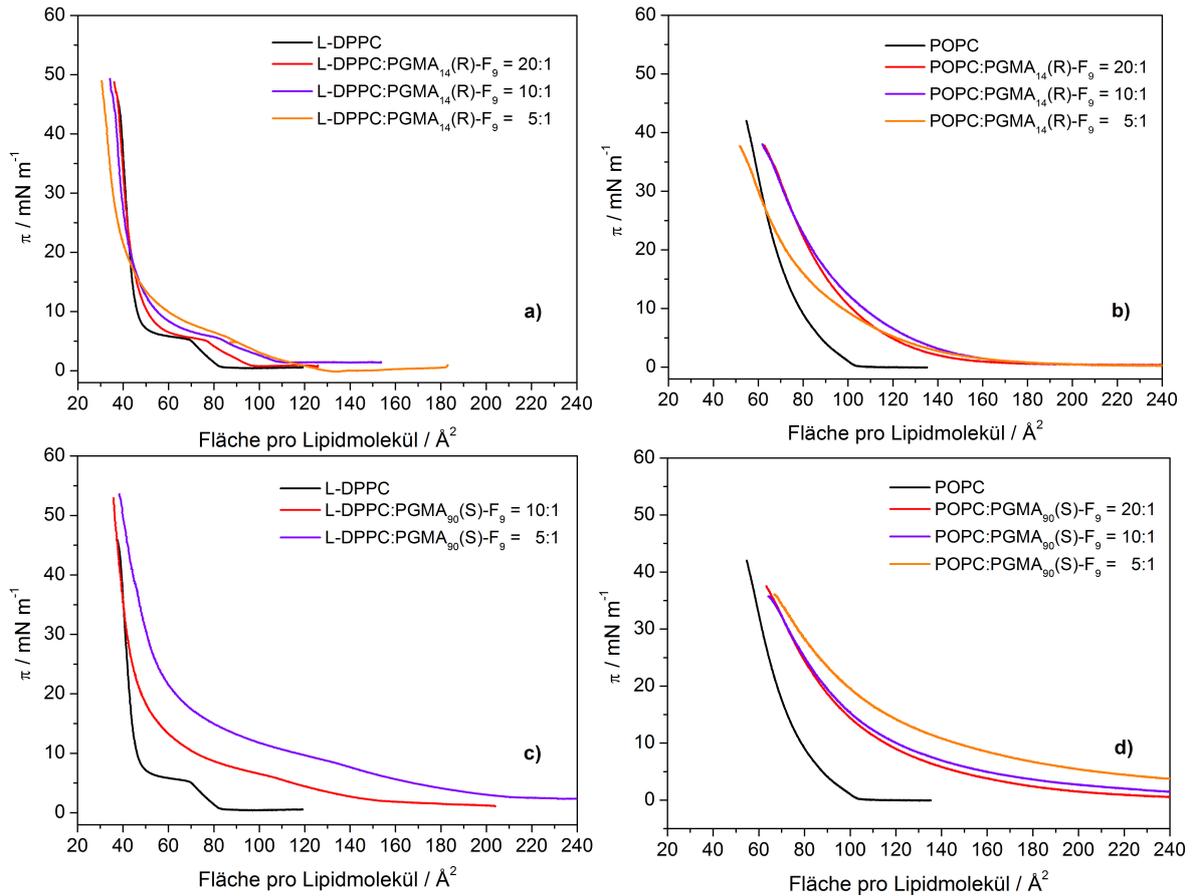


Abbildung 5.12.: Kompressionsisothermen der gemischten Lipid:PGMA_n(c)-F₉-Systeme im Vergleich zur reinen Lipidisotheimerne. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

Wie bereits für die Phospholipid-Wechselwirkungen mit den PGMA-Homopolymeren festgestellt, sind die Lift-Off-Flächenverschiebungen gleich für den Einbau ein- und desselben PGMA-Derivats mit terminaler Perfluoralkylkette in beide DPPC- bzw. POPC-Monolayer in den jeweils gleichen Mischungsverhältnissen. Es treten jedoch für diese PGMA-Derivate Unterschiede im Flächenbedarf der Lipide der jeweils gleichen molaren Mischungen der Polymere verschiedener Polymerisationsgrade auf. Je höher dieser Polymerisationsgrad, also je länger das Polymer ist, desto größer ist der Flächenbedarf der Phospholipide in den Mischungen. Am Beispiel der molaren 10:1-Mischungen ergibt sich für das Polymer mit dem Polymerisationsgrad 14 eine Flächendifferenz zum Lift-Off der Isotherme des reinen DPPC von $72 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, für den Polymerisationsgrad 40 von maximal $160 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ und für den Polymerisationsgrad 90 eine Flächendifferenz von ca. $180 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$. Im Vergleich der Lift-Off-Flächen der Homopolymere mit den PGMA-Derivaten mit Perfluoralkylketten in

Wechselwirkung mit beiden Phospholipiden ist festzustellen, dass für die gleichen molaren Mischungen der Polymere mit den jeweils gleichen Polymerisationsgraden der Flächenbedarf pro Lipidmolekül für die molaren Mischungen 20:1 übereinstimmt. Große Abweichungen von ca. 200 bis 240 Å² Molekül⁻¹ dagegen treten für die Mischungen 10:1 und 5:1 auf.

Für alle drei Mischesysteme aus L-DPPC mit den drei PGMA-Polymeren mit Perfluoralkylkette tritt während der Kompression der binären Monolayersysteme ein Phasenumwandlungsplateau im Bereich der Phasenumwandlung des reinen DPPC auf (siehe Abbildung 5.12 a und c). Diese Plateaus sind für alle Mischungen zu größeren Flächen pro Lipidmolekül verschoben, sie sind verbreitert und nicht mehr so scharf begrenzt wie das Umwandlungsplateau in der Isotherme des reinen Lipids. Es handelt sich bei dieser Umwandlung um den Übergang vom flüssig-expandierten (LE) in den flüssig-kondensierten (LC) Lipidphasenzustand, welche durch die Koexistenz der Polymere an der Luft-Wasser-Grenzfläche beeinflusst wird. Welcher Art diese Beeinflussung ist, kann erst durch die Analyse der Epi-Fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen der Lipiddomänen-Deformation genauer aufgeklärt werden. Die Verschiebung des jeweiligen Phasenumwandlungsplateaus zu höheren lateralen Oberflächendrücken weist auf eine Stabilisierung der flüssig-expandierten Phase des Lipides an der Luft-Wasser-Grenzfläche hin, während die flüssig-kondensierte Phase durch den Einfluss der Polymere destabilisiert wird. Ein Einschluss bestimmter Polymeranteile in die flüssig-expandierte Phase ist damit erwiesen. Die beschriebenen Abweichungen der Kompressionsisothermen gegenüber der Isotherme des reinen L-DPPC sind umso größer, je höher der Anteil des zugemischten Polymers.

Die Kompressionsisothermen aller Mischungen von L-DPPC mit dem kürzesten der drei Polymere PGMA₁₄(R)-F₉ schneiden die Isotherme des reinen L-DPPC-Monolayers, während für die Wechselwirkung von L-DPPC mit PGMA₄₀(R)-F₉ nur noch eine Überschneidung der Kompressionsisotherme der 20:1-Mischung und mit PGMA₉₀(S)-F₉ eine Überschneidung der Isothermen der 20:1- und 10:1-Mischungen mit der Lipidisotherme auftritt. Es tritt keine Überschneidung der gemischten POPC:PGMA-Derivat-Isothermen mit der Isotherme des reinen POPC statt. Wie zuvor beobachtet, sind diese Isothermenüberschneidungen mit einem Herausreißen einiger Lipidmoleküle aus dem Monolayer beim Absinken der PGMA-Polymere in die wässrige Subphase zu interpretieren, jedoch nicht quantitativ auszuwerten. Die geringere Überschneidung der Isothermen im Vergleich zu den Lipid:PGMA-Homopolymer-Mischungen ist auf das Vorhandensein der Perfluoralkylkette an der Luft-Wasser-Grenzfläche zurückzuführen, welche sich in den vorliegenden Mischesystemen bevorzugt an der Grenzfläche aufhalten und damit eine nur geringere Anzahl der Polymermoleküle in die Subphase absinkt.

System	Aus der Isotherme ausgelesene π/A -Werte					
	Abschluss der Phasenumwandlung		Beginn der Phasenumwandlung		Lift-Off-Fläche pro Lipidmolekül	
	$mN m^{-1}$	Å^2	$mN m^{-1}$	Å^2	$mN m^{-1}$	Å^2
L-DPPC	5,9	46	4,3	69	0,0	84
L-DPPC:PGMA ₁₄ (R)-F ₉ = 20:1	7,0	49	5,1	81	0,0	97
L-DPPC:PGMA ₁₄ (R)-F ₉ = 10:1	8,3	48	5,6	86	0,0	110
L-DPPC:PGMA ₁₄ (R)-F ₉ = 5:1	12	44	4,6	89	0,0	133
L-DPPC:PGMA ₄₀ (R)-F ₉ = 20:1	8,0	40	5,5	72	0,0	102
L-DPPC:PGMA ₄₀ (R)-F ₉ = 10:1	9,4	52	6,2	107	0,0	> 160
L-DPPC:PGMA ₉₀ (S)-F ₉ = 10:1	11,1	50	5,2	112	0,0	154
L-DPPC:PGMA ₉₀ (S)-F ₉ = 5:1	15,5	59	5,2	141	0,0	212
POPC	-	-	-	-	0,0	104
POPC:PGMA ₁₄ (R)-F ₉ = 20:1	-	-	-	-	0,0	182
POPC:PGMA ₁₄ (R)-F ₉ = 10:1	-	-	-	-	0,0	182
POPC:PGMA ₁₄ (R)-F ₉ = 5:1	-	-	-	-	0,0	182
POPC:PGMA ₄₀ (R)-F ₉ = 20:1	-	-	-	-	0,0	≈ 190
POPC:PGMA ₄₀ (R)-F ₉ = 10:1	-	-	-	-	0,0	≈ 330
POPC:PGMA ₄₀ (R)-F ₉ = 5:1	-	-	-	-	0,0	≈ 330
POPC:PGMA ₉₀ (S)-F ₉ = 20:1	-	-	-	-	0,0	≈ 250
POPC:PGMA ₉₀ (S)-F ₉ = 10:1	-	-	-	-	0,0	≈ 330
POPC:PGMA ₉₀ (S)-F ₉ = 5:1	-	-	-	-	0,0	≈ 530

Tabelle 5.3.: Charakteristische Daten von Kompressionsisothermen der reinen Lipide L-DPPC und POPC und deren Mischungen mit den Polymeren PGMA₁₄(R)-F₉, PGMA₄₀(R)-F₉ und PGMA₉₀(S)-F₉. Die durch das Zumischen hoher Polymeranteile geglätteten Lift-Off-Punkte der untersuchten Isothermen wurden als Schätzwerte aus den Diagrammen (siehe Abbildung A.3) ausgelesen. Die Phasenübergangspunkte wurden als Schnittpunkte zweier Tangenten an die jeweiligen aufeinandertreffenden Abschnitte der Kompressionsisothermen ausgelesen (nicht dargestellt). $\theta = 20^\circ C$.

Für das Absinken eines Teils der PGMA-Polymere mit Perfluoralkylkette sprechen die Hystereseanalysen der Polymermischungen mit POPC (siehe Abbildung A.3 d). Die Kompressions-Expansionsisothermen zeigen bei einem lateralen Oberflächendruck von $10,0 \text{ mN m}^{-1}$ eine Flächenabweichung zwischen der Kompressions- und der Expansionsisotherme von 11 bzw. 15 $\text{\AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$. Ebenso ist der Anstieg der Expansionsisotherme erheblich steiler als der Anstieg der direkt zuvor gemessenen Kompressionsisotherme, was ebenfalls für eine Instabilität der gemischten Monolayersysteme spricht. Für die POPC-Mischungen mit den PGMA-Molekülen mit Perfluoralkylkette ist an der Luft-Wasser-Grenzfläche aus den Kompressionsisothermen (siehe Abbildungen 5.12 b und d) kein Hinweis auf eine weitere Phasenumwandlung zu finden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass der Einfluss der Perfluoralkylkette auf den Verlauf der Kompressionsisothermen der gemischten Phospholipid:Polymer-Monolayer geringer ist, als zunächst anzunehmen wäre. Aufgrund der Hydro- und Lipophobie der Perfluoralkylkette ist zu erwarten, dass diese terminal gebundene Einheit während der gesamten Kompression an der Luft-Wasser-Grenzfläche bleibt und dabei die hydrophilen Makromolekülanteile in der Nähe der Luft-Wasser-Grenzfläche halten. Demgegenüber könnte man erwarten, dass das hydrophile PGMA-Homopolymer vollständig durch die laterale Kompression des Grenzflächenfilms aus den Lipidmonolayern herausgedrückt wird und in die wässrige Subphase absinkt, wie dies auch aus den Kompressionsisothermen der reinen Makromolekül-Monolayer zu schließen wäre (siehe Abbildungen 5.9 und 5.10). Es sollten also recht deutliche Unterschiede zwischen den Kompressionsisothermen der gemischten Monolayer aus den Phospholipiden mit den PGMA-Homopolymeren zu den gemischten Monolayern aus Phospholipid und den PGMA-Derivaten mit terminalen Perfluoralkylketten auftreten. Tatsächlich gibt es keine Hinweise auf ein derart unterschiedliches Verhalten der Homopolymere gegenüber den PGMA-Derivaten mit Perfluoralkylketten. Ein deutlicher Unterschied besteht nur darin, dass die Isothermen der gemischten Systeme mit beiden Phospholipiden und den Homopolymeren die reinen Lipid-Isothermen schneiden, während bei den Mischungen mit den PGMA-Derivaten mit Perfluoralkylkette nur noch die L-DPPC-Mischungen mit dem Mischungsverhältnis 20:1 die Lipidisotheime schneiden. Der Schluss liegt nahe, dass die PGMA-Verbindungen ohne Berücksichtigung der Perfluoralkylkette stärker amphiphil wirken als die chemische Struktur es vermuten lässt. Sehr wahrscheinlich wirken die Ethylen-Einheiten im Rückgrat der kammförmigen Makromoleküle (siehe Abbildungen 1.4) trotz der umgebenden hydrophilen Strukturen als hydrophobe Anker, die sich ebenso wie die Perfluoralkylketten an der Luft-Wasser-Grenzfläche anreichern und somit auch mit den expandierten Phasen von DPPC und POPC und vermutlich sogar mit den kondensierten Phospholipidphasen von DPPC an der

Grenzfläche interagieren. Bei Kompression zu sehr hohen Oberflächendrücken werden diese Anker dennoch aufgrund der Hydrophilie des Gesamtmoleküls aus dem Monolayer in die wässrige Subphase herausgedrückt.

Außer den drei vorgestellten PGMA-Derivaten mit terminaler Perfluoralkylkette wurden auch die Polymere PGMA₁₃(rac)-F₉, PGMA₃₈(S)-F₉, PGMA₄₀(rac)-F₉ und PGMA₈₅(R)-F₉ in Wechselwirkung mit DPPC an der Luft-Wasser-Grenzfläche untersucht. Da bis auf geringe Flächendifferenzen pro Lipidmolekül keine grundsätzlichen Unterschiede zu den hier vorgestellten Monoschicht-Systemen auftreten, wurde auf die Darstellung der Kompressionsisothermen in dieser Arbeit verzichtet.

5.1.2. Epi-Fluoreszenzmikroskopie in Kombination mit der Messung von Kompressionsisothermen

Epi-Fluoreszenzmikroskopie an reinen DPPC-Monolayern

Aufgrund der in den vorhergehenden Abschnitten festgestellten Wechselwirkungen zwischen den Phospholipiden und den Polymeren an der Luft-Wasser-Grenzfläche sind starke Deformationen der typischen Phospholipid-Domänen im Bereich der Phospholipid-Phasenumwandlung zu erwarten. Da POPC bei Raumtemperatur im expandierten Zustand an der Wasseroberfläche vorliegt, also keine Lipidphasenumwandlung stattfindet, werden in diesem Abschnitt ausschließlich die DPPC-Systeme in Wechselwirkung mit den Makromolekülen untersucht.

Im Bereich der LE-/LC-Phasenumwandlung des DPPC tritt eine Phasenseparation der expandierten von den kondensierten Phasenbereichen auf, die sich mikroskopisch in der Formation charakteristischer Domänenstrukturen äußert. In Abbildung 5.13 sind die typischen Domänenstrukturen einer L-DPPC-, D-DPPC- und einer racemischen DPPC (rac-DPPC)-Monoschicht dargestellt.

Da das Phospholipid DPPC keine fluoreszierenden Strukturmerkmale aufweist, wurde zur Visualisierung der Phasenseparation an der Luft-Wasser-Grenzfläche ein fluoreszierendes Lipidmolekül in sehr geringer Menge, damit die Eigenschaften der zu untersuchenden Grenzschicht nicht verändert werden, zugemischt und mit der Lipidprobe gemeinsam auf die Wasseroberfläche aufgebracht. Es handelt sich dabei um das Rhodamin-gelabelte Phos-

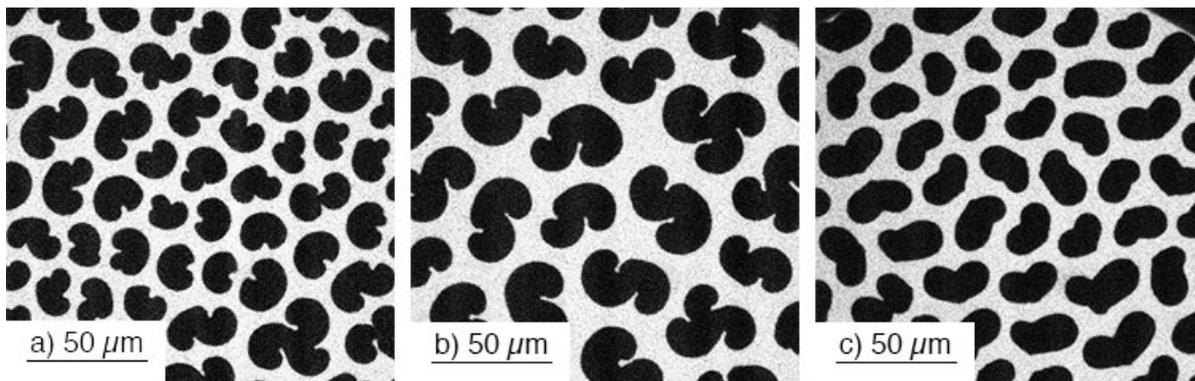


Abbildung 5.13.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener DPPC-Monolayer. a) L-DPPC, $6,2 \text{ mN m}^{-1}$; b) D-DPPC, $6,5 \text{ mN m}^{-1}$; c) rac-DPPC, $6,8 \text{ mN m}^{-1}$. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienten als Fluoreszenz-Dopans.

pholipid DHPE, im Folgenden abgekürzt als Rho-DHPE. Durch die voluminöse Struktur der hydrophilen Rhodamin-Kopfgruppe ist das fluoreszierende Molekül nicht fähig zur Einlagerung in die flüssig-kondensierten Phospholipid-Bereiche und reichert sich dementsprechend in der flüssig-expandierten Phase der jeweiligen Monoschicht ein. Die LE-Phase erscheint in der Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahme in Form heller Bereiche, während die LC-Phase aufgrund der fehlenden Fluoreszenz-Emission schwarz erscheint. Für den L- und den D-DPPC-Monolayer (siehe Abbildung 5.13 a und b) findet man im Phasenumwandlungsbereich die typischen Propellerdomänen, zumeist bestehend aus drei Propellerarmen. Die Propeller-Domänen zeichnen sich durch breite und stark gekrümmte Domänenarme aus. Dies ist ein Hinweis auf eine hohe Randspannung zwischen der expandierten und der kondensierten Lipidphase im zweidimensionalen Monoschichtsystem. Durch die abgerundete Domänenform wird die Kontaktlinie zwischen beiden Phasen minimiert. Ebenso wird dies durch die Kompaktheit der Propellerarme bewirkt. [68]-[74]

Die chemische Struktur des Phosphatidylcholins weist ein stereogenes Zentrum in der hydrophilen Kopfgruppe auf, deren Querschnittsfläche größer ist als die der gestreckten Fettsäureketten des Lipids in der Draufsicht. Die Fettsäureketten neigen sich aufgrund der Größendifferenz zur Kopfgruppe um einen Winkel von ca. 30° zur Wasseroberfläche hin. [68] Aufgrund der Neigung der Fettsäureketten und da das stereogene Zentrum in der größeren funktionellen Einheit des Lipidmoleküls platziert ist (siehe Abbildung 1.1), bilden die DPPC-Domänen mit einer hohen Anzahl all-trans-konformierter Fettsäureketten an der Luft-Wasser-Grenzfläche eine Chiralität aus. Für Phosphatidsäuren (PA) und Phosphoethanola-

mine (PE), deren Kopfgruppen-Querschnittsflächen kleiner sind als die der PC-Lipide, ist nur ein schwacher Tilt und damit keine chirale Domänenstruktur zu finden. [71] Die Anordnung der chiralen Phospholipide zur chiralen Überstruktur wird in der Literatur [68] als zunächst lineare Anordnung der Moleküle beschrieben. Durch das Zusammenwirken des stereogenen Zentrums der hydrophilen Kopfgruppe und der geneigten Fettsäureketten ergibt sich an der Grenzfläche nach und nach eine langreichweitige Positionsfernordnung, die zur Krümmung der Domänen führt. [68] Die Propellerdomänen des natürlich vorkommenden L-DPPC drehen sich entgegen des Uhrzeigersinns, die Triskelions des synthetisch erzeugten D-DPPC dagegen drehen sich mit dem Uhrzeigersinn.

Die kondensierten Domänen des racemischen DPPC-Gemisches weisen keine Vorzugsorientierung auf (siehe Abbildung 5.13 c), was durch das Zusammenwirken der stereogenen Zentren der L- und D-DPPC-Moleküle begründet werden kann. Da beide stereogenen Zentren jeweils in der hydrophilen Kopfgruppe der Phospholipide vorkommen, welche direkt unterhalb der Wasseroberfläche verankert sind, gleichen sich die Chiralitäten der beiden Enantiomere aus und es kommt zur Ausbildung der in der Abbildung gezeigten herzförmigen Domänen. Die Spitze am unteren Ende der Herzdomänen entspricht der Ausbildung des dritten Propellerarmes. Dass nicht alle Herzen spiegelsymmetrisch erscheinen ist eine direkte Folge des unsymmetrischen Wachstums des Domänenkeims bei Kompression des Monolayers. Es kann von einer homogenen Mischung der L- und D-DPPC-Moleküle in der Monoschicht ausgegangen werden. Wären die beiden Seiten der einzelnen herzförmigen Domänen z. B. jeweils aus nur einer der beiden DPPC-Enantiomere bevorzugt zusammengesetzt, würden sich die beiden Domänenarme in unterschiedliche Vorzugsrichtungen drehen.

Die Erkenntnis, dass molekulare Chiralitäten sich in mikroskopisch beobachtbaren Chiralitäten an der Luft-Wasser-Grenzfläche äußern und die entsprechenden vorzugsorientierten Domänenformen durch molares Vermischen und Kospreiten chiraler Moleküle ausgeglichen werden kann, eröffnet die Frage, ob auch andere chirale Spezies die DPPC-Domänenchiralität beeinflussen können. Die PGMA-Homopolymere, sowie deren Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette weisen stereogene Zentren in den Glycerol-Einheiten der Seitenketten auf, die sich sehr wahrscheinlich unterhalb der Wasseroberfläche aufhalten. Die Art der Domänen deformation durch den Einfluss der hier untersuchten Polymertypen soll weiteren Aufschluss über die Wechselwirkungen von Phospholipiden und synthetischen polyphilen Makromolekülen an der Luft-Wasser-Grenzfläche liefern.

Epi-Fluoreszenzmikroskopie an gemischten Phospholipid:PGMA_n(c)-N₃-Monolayern

Ein Teil der im Folgenden beschriebenen Epi-Fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen der Phospholipid:Polymer-Mischungen sind in Übersichts-Bildtafeln im Anhang dieser Arbeit dargestellt. Hinweise darauf werden im Text gegeben. Die Bilder zeigen jeweils die charakteristischen Domänenformen, die im Verlauf der Monolayer-Kompressionen auftraten und wurden entsprechend der zuvor beschriebenen Isothermen-Verläufe mit steigendem Polymergehalt in der Mischung bei immer höheren Oberflächendrücken ausgewählt, da die LE-/LC-Phasenumwandlung zu immer höheren Oberflächendrücken verschoben wurde.

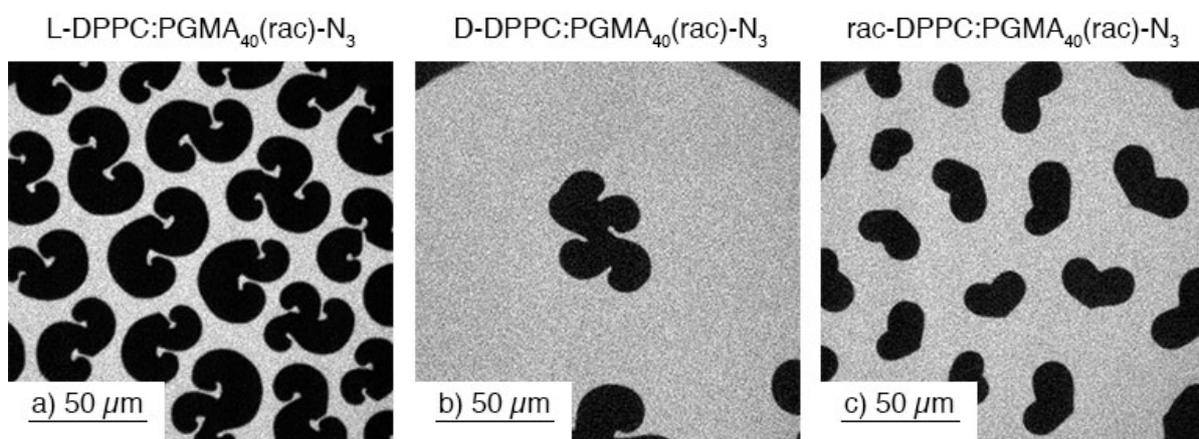


Abbildung 5.14.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener DPPC:PGMA₄₀(rac)-N₃ = 10:1-Mischungen. a) Mischung mit L-DPPC, 7,1 mN m⁻¹; b) Mischung mit D-DPPC, 5,5 mN m⁻¹; c) Mischung mit rac-DPPC, 6,1 mN m⁻¹. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienten als Fluoreszenz-Dopans.

Zunächst wurden die DPPC:PGMA-Homopolymer-Mischungen verschiedener Zusammensetzung an der Luft-Wasser-Grenzfläche mikroskopisch untersucht. Die Abbildungen 5.14 bzw. A.4 und 5.15 bzw. A.5 bieten eine Übersicht der Domänen deformation der DPPC-Enantiomere durch die Koexistenz der Polymere PGMA₄₀(rac)-N₃ bzw. PGMA₉₀(S)-N₃ an der Wasseroberfläche. Der Vergleich der LC-Domänen, welche für diese gemischten Systeme gefunden wurden, mit den typischen Domänenformen von jeweils reinem L-, D- und rac-DPPC (siehe Abbildung 5.13) zeigt, dass die PGMA-Homopolymere keinen bemerkenswerten Einfluss auf die flüssig-kondensierten Domänen des jeweiligen Lipid-Stereoisomers und dessen racemischer Mischung aufweisen. Es ist davon auszugehen, dass sich PGMA₄₀(rac)-N₃

und $\text{PGMA}_{90}(\text{S})-\text{N}_3$ zunächst in der flüssig-expandierten Monolayer-Lipidphase aufhalten und während der lateralen Kompression der Monoschicht in die wässrige Subphase verdrängt werden. Die Verbreiterung des DPPC-Phasenumwandlungsplateaus der Kompressionsisothermen (siehe Abbildung 5.11) legt die Koexistenz der Makromoleküle während der Kompression der Monoschichten nahe. Dennoch sinkt vermutlich ein Teil der Polymere aufgrund ihrer guten Wasserlöslichkeit direkt nach dem Spreiten der Probenlösung in die Subphase ab. Es ist sehr unwahrscheinlich, dass die beiden Homopolymere in die flüssig-kondensierte Lipidphase inserieren.

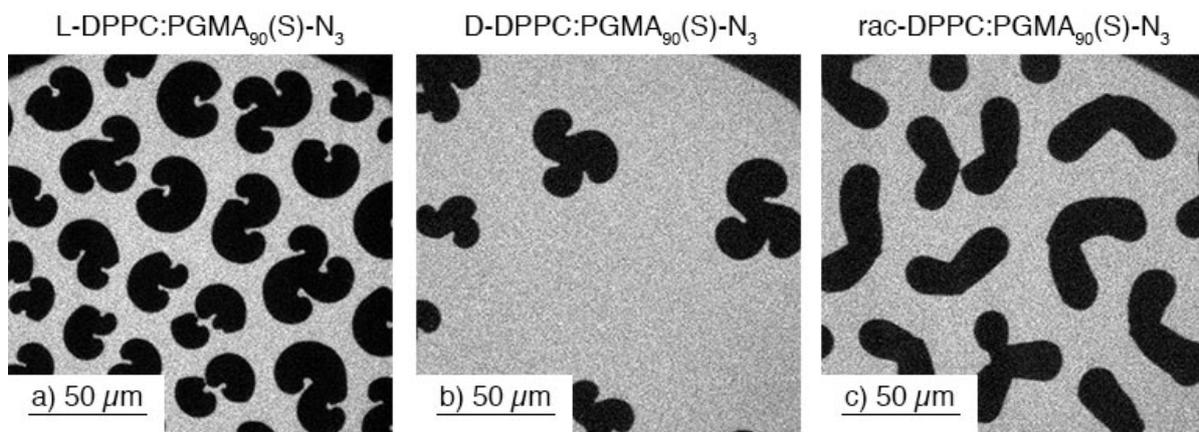


Abbildung 5.15.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener $\text{DPPC}:\text{PGMA}_{90}(\text{S})-\text{N}_3 = 10:1$ -Mischungen. a) Mischung mit L-DPPC, $7,7 \text{ mN m}^{-1}$; b) Mischung mit D-DPPC, $6,0 \text{ mN m}^{-1}$; c) Mischung mit rac-DPPC, $6,7 \text{ mN m}^{-1}$. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienten als Fluoreszenz-Dopans.

Eine Fähigkeit zur chiralen Beeinflussung der LC-Lipiddomänen durch die PGMA-Makromoleküle ist ebenfalls nicht vorhanden. Anderenfalls wäre eine Veränderung des Drehsinnes der L- bzw. D-DPPC-Domänen zu erwarten. Außerdem sollte sich eine Vorzugs-Drehrichtung der rac-DPPC-Domänen ergeben. Vermutlich befinden sich die stereogenen Zentren der Polymere zum einen in einer für die Beeinflussung der Lipidchiralität zu kleinen funktionellen Gruppe. [71] Zum anderen ist es sehr wahrscheinlich, dass die asymmetrischen Kohlenstoffzentren der Makromoleküle durch die Wasserlöslichkeit der Polymere zu weit von den Phospholipidkopfguppen entfernt sind, um diese beeinflussen zu können.

Epi-Fluoreszenzmikroskopie an gemischten Phospholipid:PGMA_n(c)-F₉-Monolayern

Die Verknüpfung der Polymere mit einer terminalen (CF₂)₈CF₃-Perfluoralkylkette, welche die Makromoleküle ähnlich einem Anker in der Nähe der Luft-Wasser-Grenzfläche und damit der Lipidkopfgruppen hält, bringt die stereogenen Zentren der Phospholipid- und der Makromoleküle einander räumlich näher. In den Abbildungen 5.16, 5.17 und 5.18 sind Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen der Kompression verschiedener molarer 10:1-Mischungen von DPPC und den PGMA-Derivaten mit terminaler Perfluoralkylkette dargestellt. Die in den Abbildungen 5.19 und 5.20 gezeigten stärkeren Lipiddomänen-Deformationen durch die Insertion von PGMA₁₄(R)-F₉, PGMA₄₀(R)-F₉ und PGMA₉₀(S)-F₉ (molares Mischungsverhältnis 10:1), sowie die oben beschriebenen stärkeren Veränderungen der Kompressionsisothermen der DPPC:PGMA_n(c)-F₉-Mischungen (siehe Abbildung 5.12) bestätigen diese Hypothese.

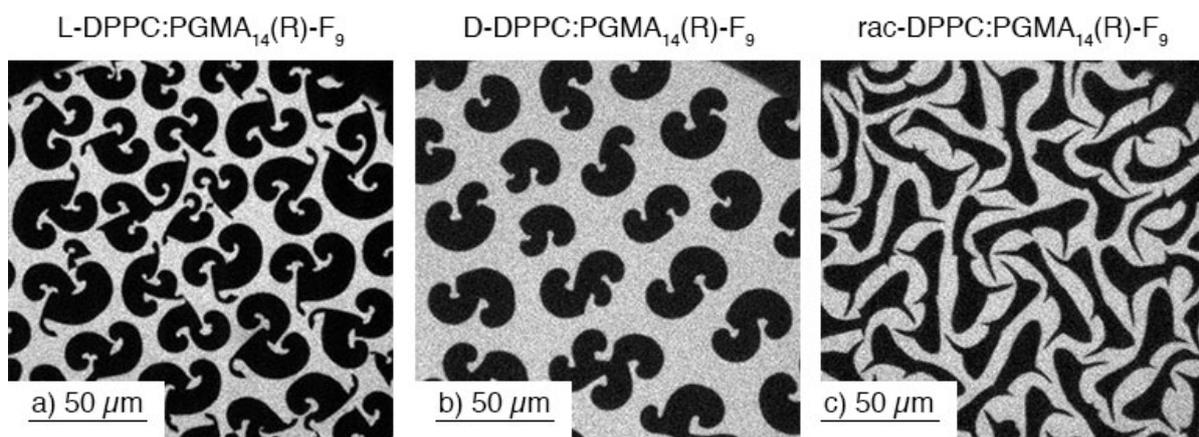


Abbildung 5.16.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener DPPC:PGMA₁₄(R)-F₉ = 10:1-Mischungen. a) Mischung mit L-DPPC, 9,0 mN m⁻¹; b) Mischung mit D-DPPC, 8,3 mN m⁻¹; c) Mischung mit rac-DPPC, 8,5 mN m⁻¹. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienten als Fluoreszenz-Dopans.

Auf den ersten Blick sind deutliche Veränderungen der LC-DPPC-Domänen zu erkennen, die umso stärker erscheinen, je höher der Polymerisationsgrad der PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette ist. Für jede L-DPPC- bzw. rac-DPPC-Mischung mit diesen drei PGMA-Verbindungen sind in den Abbildungen 5.19 und 5.20 drei Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen gezeigt, die von links nach rechts gelesen während konstanter Monoschicht-Kompression bei immer höheren lateralen Oberflächendrücken aufgenommen wurden.

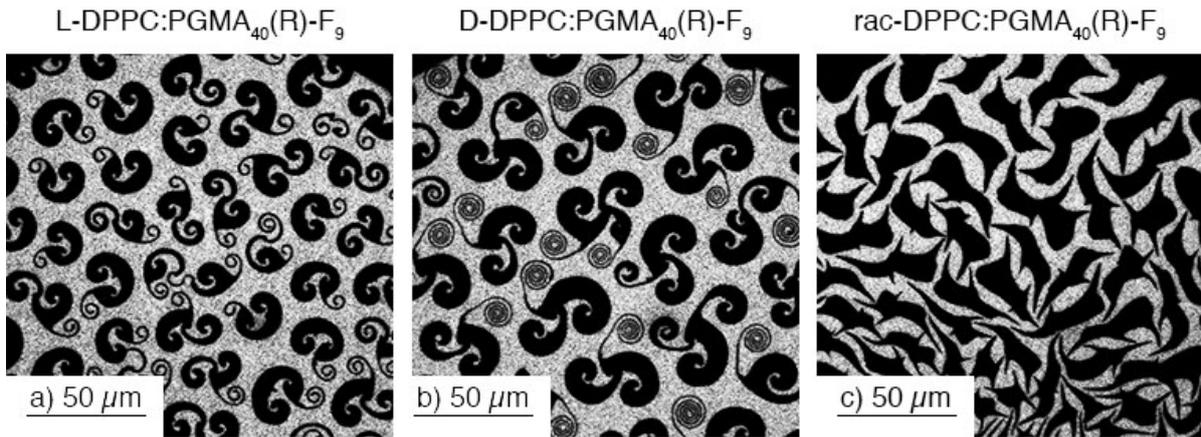


Abbildung 5.17.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener DPPC:PGMA₄₀(R)-F₉ = 10:1-Mischungen. a) Mischung mit L-DPPC, 8,9 mN m⁻¹; b) Mischung mit D-DPPC, 9,3 mN m⁻¹; c) Mischung mit rac-DPPC, 11,1 mN m⁻¹. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienten als Fluoreszenz-Dopans.

Die L-DPPC-Mischungen weisen eine Ausdünnung an den Enden der typischen DPPC-Propeller-Domänenarme auf, während die Zentren der LC-Domänen weiterhin in kompakterer Form vorliegen. Die Domänendeformation erscheint inhomogen, was als Erzeugung eines metastabilen Nicht-Gleichgewichts-Phasenzustandes der LC-DPPC-Domänen interpretiert werden kann. Ein Stabilitätstest der Mischung L-DPPC:PGMA₉₀(S)-F₉ = 10:1 wurde derart durchgeführt, dass die bis in das Phasenübergangsgebiet komprimierte Monoschicht, die bereits die ausgedünnten, blumenförmigen LC-Domänen zeigt, wie sie in Abbildung 5.19 g bis i dargestellt sind, aufwies. Die zu dem Stabilitätstest zugehörigen Aufnahmen sind in Abbildung 5.21 gezeigt. Nach dem Stoppen der Monolayer-Kompression wurde die zeitabhängige Veränderung dieser Mischphasen-Domänenstrukturen beobachtet. An der Grenzfläche bleiben bereits nach kurzer Wartezeit die typischen bohnenförmigen DPPC-Strukturen zurück (siehe Abbildung 5.21), was einem deutlichen Hinweis auf die Instabilität der durch Kompression geformten Mischdomänen entspricht. Die logische Schlussfolgerung ist, dass die gut wasserlöslichen PGMA-Makromoleküle trotz ihrer hydrophoben terminal gebundenen Perfluoralkylkette in die wässrige Subphase absinken und damit aus dem gemischten Monolayer heraustreten.

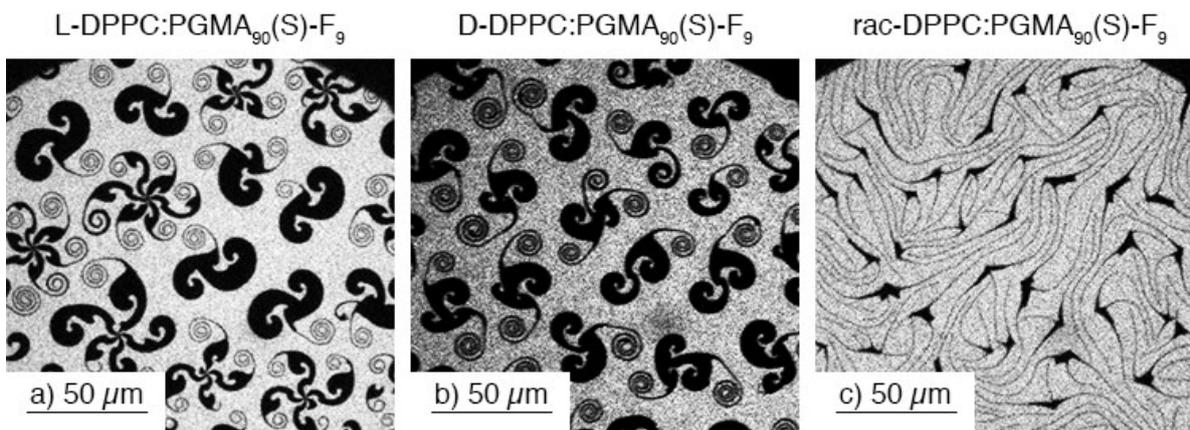


Abbildung 5.18.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener DPPC:PGMA₉₀(S)-F₉ = 10:1-Mischungen. a) Mischung mit L-DPPC, $9,6 \text{ mN m}^{-1}$; b) Mischung mit D-DPPC, $9,5 \text{ mN m}^{-1}$; c) Mischung mit rac-DPPC, $8,8 \text{ mN m}^{-1}$. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienten als Fluoreszenz-Dopans.

Die stark ausgedünnten Enden der Domänenarme rollen sich in der durch die Chiralität der flüssig-kondensierten Domänen vorgegebenen Vorzugsrichtung. Für die in Abbildung 5.19 g bis i gezeigten L-DPPC:Polymer-Mischungen drehen sich die Domänen und ihre ausgedünnten Enden entgegen dem Uhrzeigersinn. Die D-DPPC:Polymer-Mischungen, dargestellt in den Abbildungen A.6, A.7 und A.8, drehen sich dagegen im Uhrzeigersinn. Die Chiralität der durch die Polymer-Koexistenz an der Luft-Wasser-Grenzfläche deformierten kondensierten Bereiche wird also eindeutig durch die molekulare Chiralität des DPPC vorgegeben und nicht durch die stereogenen Zentren in den Polyglycerol-Einheiten der PGMA-Makromoleküle bestimmt. Überprüft wurde dieses Verhalten durch Zumischung der PGMA-Verbindungen mit terminaler Perfluoralkylkette zum racemischen DPPC-System (siehe Abbildungen 5.20 und A.6, A.7 sowie A.8). Wären die Makromoleküle in der Lage, einen chiralen Einfluss auf die geordneten DPPC-Domänen an der Luft-Wasser-Grenzfläche auszuüben, sollten die ausgedünnten Domänen-Enden ebenfalls in eine Vorzugsrichtung gedreht werden. Tatsächlich ist dies jedoch nicht der Fall. Die bei hohen Oberflächendrücken auftretende Domänen-Überstruktur, die einem Fingerabdruck gleicht (siehe Abbildung 5.20 c, f und i), ist keine Folge einer chiralen Drehrichtungs-Favorisierung, sondern das Resultat einer experimentell bedingten Konvektion an der Wasseroberfläche und der damit verbundenen Veränderung der auch bei hohen lateralen Drücken noch sehr fluide und beweglich erscheinenden Monolayer-Strukturen.

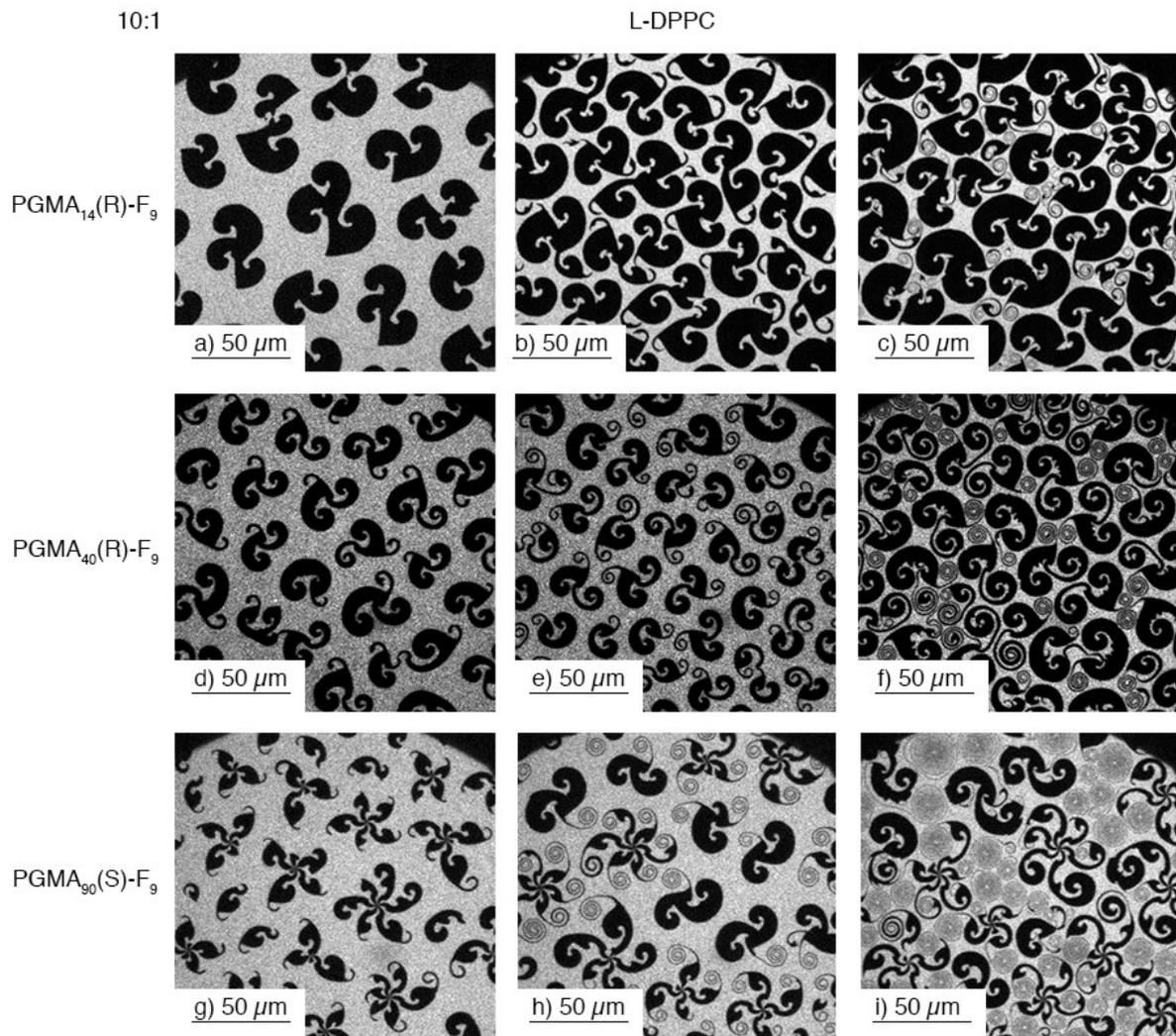


Abbildung 5.19.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen der 10:1-Mischungen von L-DPPC mit den PGMA-Derivaten mit terminaler Perfluoralkylkette. Die jeweiligen Mischungen können direkt aus der Tabelle abgelesen werden. Es sind pro Mischung je drei Aufnahmen dargestellt, die bei verschiedenen lateralen Oberflächendrücken während der Monoschicht-Kompression detektiert wurden. a) $7,2 \text{ mN m}^{-1}$; b) $10,4 \text{ mN m}^{-1}$; c) $12,3 \text{ mN m}^{-1}$; d) $7,7 \text{ mN m}^{-1}$; e) $8,6 \text{ mN m}^{-1}$; f) $10,5 \text{ mN m}^{-1}$; g) $9,1 \text{ mN m}^{-1}$; h) $9,8 \text{ mN m}^{-1}$; i) $11,1 \text{ mN m}^{-1}$. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienten als Fluoreszenz-Dopans.

Vergleicht man die Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen der verschiedenen molaren Mischungen der DPPC-Systeme mit den Makromolekülen mit terminaler Perfluoralkylkette, so wird deutlich, dass die Länge des PGMA-Rests eine entscheidende Rolle bei der Deformation der kondensierten Phospholipid-Domänen spielt. Während für die L- und D-DPPC-

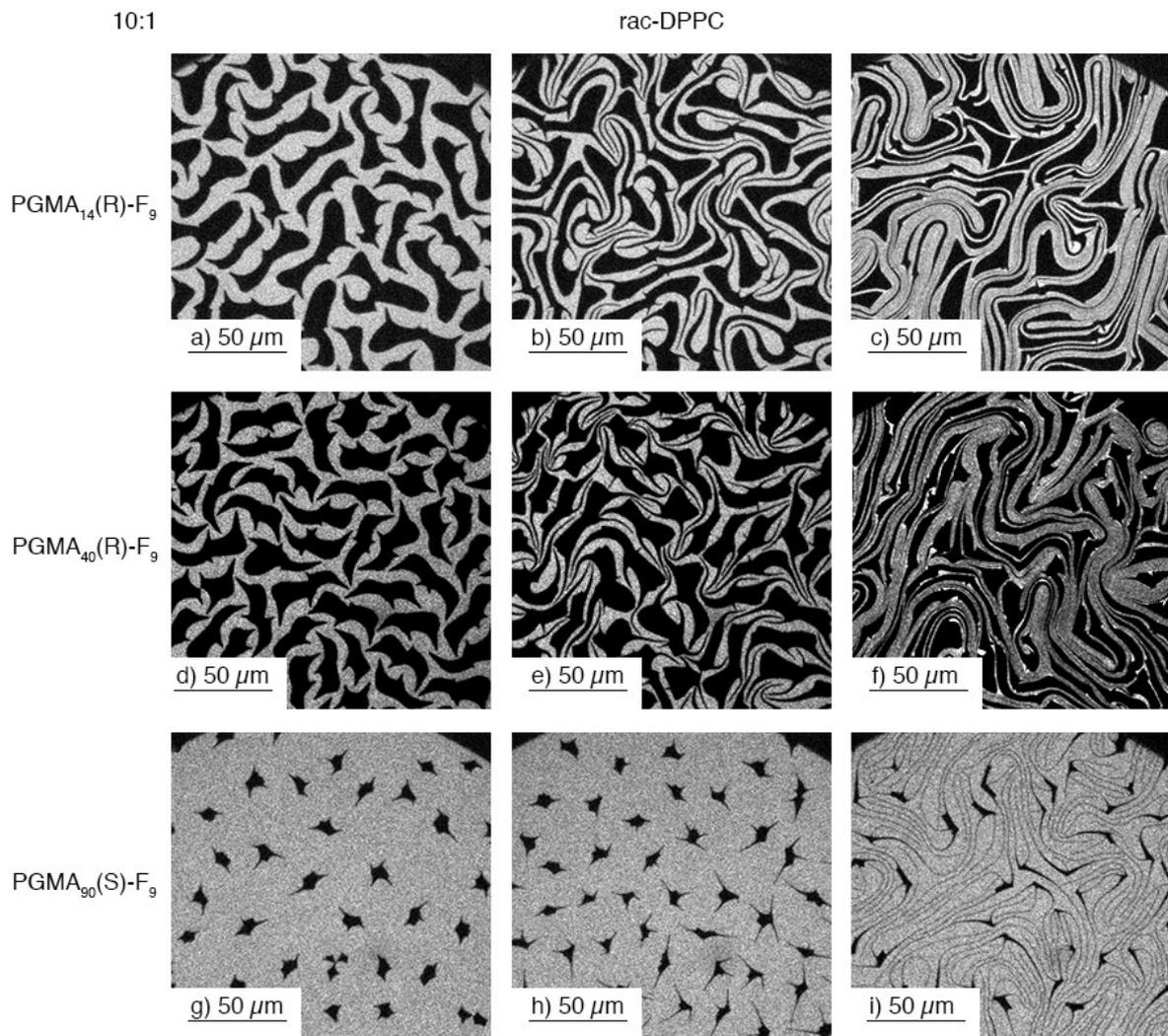


Abbildung 5.20.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen der 10:1-Mischungen von rac-DPPC mit den PGMA-Derivaten mit terminaler Perfluoralkylkette. Die jeweiligen Mischungen können direkt aus der Tabelle abgelesen werden. Es sind pro Mischung je drei Aufnahmen dargestellt, die bei verschiedenen lateralen Oberflächendrücken während der Monoschicht-Kompression detektiert wurden. a) $8,2 \text{ mN m}^{-1}$; b) $9,0 \text{ mN m}^{-1}$; c) $11,4 \text{ mN m}^{-1}$; d) $10,8 \text{ mN m}^{-1}$; e) $12,5 \text{ mN m}^{-1}$; f) $14,8 \text{ mN m}^{-1}$; g) $8,5 \text{ mN m}^{-1}$; h) $8,5 \text{ mN m}^{-1}$; i) $8,8 \text{ mN m}^{-1}$. $\theta = 20^\circ\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienten als Fluoreszenz-Dopans.

Mischungen mit PGMA₁₄(R)-F₉ weder in den 20:1- und 5:1-Mischungsverhältnissen eine Abwandlung der typischen DPPC-Propeller auftritt (die racemische DPPC-Mischung dagegen zeigt für alle drei untersuchten Mischungsverhältnisse einen Einfluss des Polymers), erkennt man bereits in der 20:1-Mischung des Lipids mit PGMA₄₀(R)-F₉ eine deutliche Ausdünnung

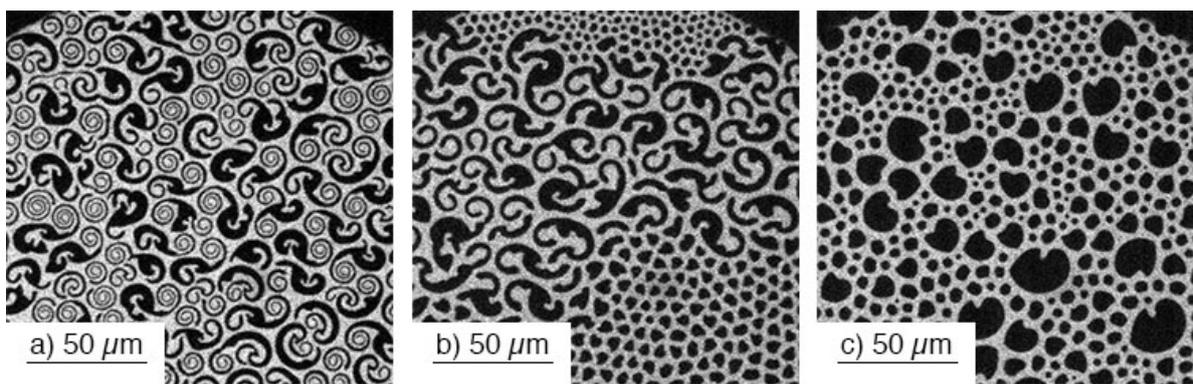


Abbildung 5.21.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen des Stabilitätstests der molaren Mischung L-DPPC:PGMA₉₀(S)-F₉ = 10:1. Bei Erreichen des Oberflächendruckes von $11,4 \text{ mN m}^{-1}$ wurde die Kompression des Monolayers gestoppt. Die Monoschicht wurde für vier Stunden unverändert und abgedunkelt auf der Subphase belassen und in regelmäßigen Abständen belichtet, um den aktuellen Zustand des Layers zu betrachten. a) 6 min nach Kompressions-Stopp, $10,9 \text{ mN m}^{-1}$; b) 20 min nach Kompressions-Stopp, $10,6 \text{ mN m}^{-1}$; c) 4 h nach Kompressions-Stopp, $10,2 \text{ mN m}^{-1}$. $\theta = 20 \text{ }^\circ\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienen als Fluoreszenz-Dopans.

einiger Propeller-Arme. Maximal sind die Effekte für das längste der drei semitelechelischen Polymere PGMA₉₀(S)-F₉. Die Enden der Domänenarme werden für die Lipid:PGMA₉₀(S)-F₉-Mischungen zwar ebenfalls inhomogen deformiert, doch sind hier die gebildeten Fasern sehr viel dünner als durch den Einfluss der beiden kürzeren Polymere erreicht und folgerichtig auch länger. Es muss also eine hydrophil-hydrophile Wechselwirkung zwischen den Phospholipidkopfgruppen und den GMA-Einheiten der Polymere vorliegen, welche sich vermutlich vorwiegend an den Rändern der kondensierten Lipiddomänen sowie in der expandierten Lipidphase anreichern. Sie agieren also sehr wahrscheinlich als randaktive Moleküle [75]-[78], welche sich an die LE-/LC-Grenzlinie des DPPC anlagern und damit die Grenzlinien vergrößern, da die Grenzlinienspannung verringert wird. Diese nun geringere Randspannung bewirkt, dass die elektrostatischen abstoßenden Dipol-Dipol-Wechselwirkungen innerhalb der LC-Phase der zwitterionischen Phosphatidylcholine gegenüber dem Bestreben zur Minimierung der Phasengrenzen dominieren kann [71] und die Folge ist die in den meisten der vorgestellten Mischungen gefundene Ausdünnung der LC-Lipiddomänen. Dieses Verhalten ist außerdem konzentrationsabhängig. Je größer die kokespreitete Polymermenge, desto dünner und länger werden die deformierten Domänenarme. Scheinbar wirkt nicht nur die endständige Perfluoralkylkette der Makromoleküle während der Kompression der gemischten Monolayer als eine Art Anker. Ebenso ist es wahrscheinlich, dass die hydrophoben molekularen Anteile

im Rückgrat der PGMA-Ketten über einen weiten Kompressionsbereich an der Wasseroberfläche und an der LE-/LC-Phasengrenze vorliegen und das typische DPPC-Verhalten beeinflussen. Die PGMA-Makromoleküle wirken also trotz ihrer vorwiegend hydrophilen chemischen Struktur als randaktive Moleküle - umso stärker, je größer der Polymerisationsgrad. Die Linienspannung der angrenzenden Phasen LE-DPPC/perfluoriertes PGMA-Derivat/LC-DPPC ist also minimal für PGMA₉₀(S)-F₉, kogespreitet mit DPPC. [6] Durch die Anlagerung der hydrophoben molekularen Bestandteile an der Grenzfläche werden auch die hydrophilen Glyceroleinheiten der Polymerseitenketten in die Nähe der hydrophilen Phospholipidkopfgruppen direkt unter der Wasseroberfläche gebracht. Hydrophil-hydrophile Wechselwirkungen wie z. B. die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen Phospholipid und Polymer sind wahrscheinlich. [6]

Für das racemische DPPC-Monolayer-Mischsystem mit den PGMA-Derivaten verschiedener Polymerisationsgrade ist eine spezifische Domänen deformation zu erkennen. In den reinen rac-DPPC-Phasenumwandlungsgebieten findet man, wie bereits zuvor beschrieben (siehe Abbildung 5.13), LC-Domänen ohne eine Propellerdrehung in eine Vorzugsrichtung. Dies kann auch für die rac-DPPC-Monolayer mit kogespreitetem PGMA-Derivat mit Perfluoralkylkette festgestellt werden (siehe Abbildungen 5.20, A.6, A.7 und A.8). Das bedeutet, dass die durch das Anbinden einer terminalen Perfluoralkylkette an das PGMA-Homopolymer erzeugte stärkere Oberflächenaktivität der Substanzen und damit das räumliche Annähern der PGMA-Seitenketten an die Phospholipidkopfgruppen nicht genügt, um die mikroskopische Chiralität der DPPC-Domänen an der Luft-Wasser-Grenzfläche zu beeinflussen. Da eine Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Phosphatidylcholin-Kopfgruppen und den hydrophilen polymeren Gruppen angenommen wird, sollte die Entfernung der jeweiligen stereogenen Zentren gering genug sein, um eine gegenseitige chirale Beeinflussung zu ermöglichen. Daher ist es sehr wahrscheinlich, dass die Glyceroleinheiten der Polymere, welche die asymmetrischen Kohlenstoffatome der Polymere beinhalten, im Vergleich zur Größe der hydrophilen Phosphatidylcholin-Einheit zu klein für eine wirksame Beeinflussung sind. [71] Ob und auf welche Weise die Chiralität der Polymere durch die Phospholipidmoleküle verändert wird, kann hier nicht beurteilt werden.

Eine bemerkenswerte Eigenschaft aller hier beobachteten LC-Domänen ist deren Selbstabstoßung. [72] Selbst bei hohen lateralen Oberflächendrücken fusionieren die flüssig-kondensierten Domänen nicht zu kompakten hoch geordneten Strukturen. Stattdessen bleiben die Chiralitäts-abhängigen, aus flüssig-kondensierten Fasern gebildeten Überstrukturen erhalten.

Dies liegt am gleichen Effekt wie auch die Ausdünnung der DPPC-Propellerarme selbst, in den abstoßenden elektrostatischen Dipol-Dipol-Wechselwirkungen der zwitterionischen Phospholipide, sowie an der Abstoßung von Domänen verschiedener Dipoldichte. [79, 80] Diese ist die Folge der unterschiedlichen Dipolmomente der Bestandteile der Mischungen und der daraus folgenden verschiedenen molekularen Dichten pro Flächeneinheit. [6, 81] Desweiteren muss berücksichtigt werden, dass die PGMA-Verbindungen mit terminaler Perfluoralkylkette sich in der flüssig-expandierten Monolayerphase anreichern und damit die Phasenumwandlung des Phospholipids deutlich beeinflussen (siehe Abbildung 5.12). So wird das Phasenumwandlungsplateau der Isothermen gemischter Monolayer verbreitert. Die LE-Phase des Lipids wird stabilisiert und koexistiert mit den inkorporierten Perfluoralkylketten der PGMA-Derivate zwischen den flüssig-kondensierten Phospholipid-Domänen und verhindert deren Fusion. [6]

Die hier vorgestellten spiralförmigen Domänen, welche für die enantiomerenreinen DPPC-Monolayer, gemischt mit den PGMA-Derivaten mit terminaler Perfluoralkylkette, auftreten, wurden in ähnlicher Form an der Luft-Wasser-Grenzfläche für Monoschicht-Mischsysteme von DPPC mit Cholesterol [68, 69, 72, 73, 82, 83], mit 5-Cyanobiphenyl (5CB) [71] und mit perfluorierten Alkoholen und Phosphocholinen [34, 84] gefunden. Für Polymere mit Perfluorrest jedoch ist dieses Verhalten erstmals in der hier vorliegenden Dissertation und der zugehörigen Publikation [6] beschrieben.

Ein Modell der Wechselwirkungen von DPPC mit den PGMA-Derivaten mit terminaler Perfluoralkylkette (am Beispiel des Moleküls $\text{PGMA}_{40}(\text{R})\text{-F}_9$) im Bereich des LE-/LC-Phasenüberganges des Phospholipids an der Luft-Wasser-Grenzfläche ist in Abbildung 5.22 dargestellt. Die Perfluoralkylketten der Polymere ankern an der Grenzfläche im Bereich der flüssig-expandierten Lipid-Fettsäureketten, sind jedoch nicht in der Lage, in die flüssig-kondensierten Bereiche des Lipidmonolayers zu insertieren. Das Polymerrückgrat ist trotz seiner Hydrophilie ebenfalls teilweise an der Luft-Wasser-Grenzfläche adsorbiert.

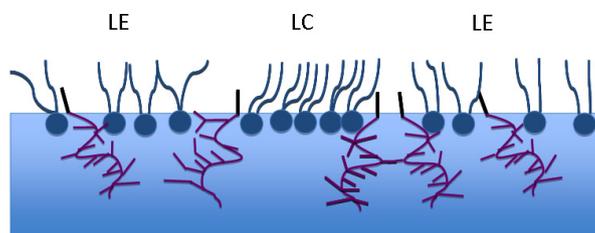


Abbildung 5.22.: Modell der $\text{DPPC}:\text{PGMA}_{40}(\text{R})\text{-F}_9$ -Wechselwirkungen im Oberflächendruckbereich der LE-/LC-DPPC-Phasenumwandlung.

5.1.3. Bilayer-Untersuchungen

Monolayer-Experimente liefern eine große Anzahl an Informationen bezüglich intermolekularer Wechselwirkungen und Molekülanordnungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Dennoch ist es ratsam, auch das Verhalten der Rein- und Mischsysteme im wässrigen Volumen, also im Bulk, zu untersuchen. Die aus den Monolayer-Untersuchungen erhaltenen Resultate sind nicht universell übertragbar auf das Verhalten der gleichen Substanzen in einer Doppelschicht-Anordnung. Eine Analogie beider Modelle wurde bei einem lateralen Grenzflächendruck von $30,0 \text{ mN m}^{-1}$ postuliert. [12]

Differential-Scanning Kalorimetrie - Kalorimetrische Untersuchung an reinen und mit Phospholipiden gemischten PGMA-Systemen

Das Mischverhalten von L-DPPC mit den PGMA-Homopolymeren und mit ihren Derivaten mit terminaler Perfluoralkylkette wurde im Temperaturbereich von 5 bis $60 \text{ }^\circ\text{C}$ untersucht. Dieser wurde gewählt, um die Hauptphasenumwandlung von DPPC, welche bei $41,6 \text{ }^\circ\text{C}$ auftritt, zu erfassen und die Veränderungen dieser Umwandlungstemperatur durch Beimischung der Polymere zu untersuchen. Wie bereits zuvor beschrieben, handelt es sich bei dieser Phasenumwandlung um die Umwandlung des Lipid-Doppellayers von einem hoch geordneten Zustand, der Gel-Phase mit einer dichten Packung der Phospholipide mit trans-Konformation der Fettsäureketten, in eine flüssig-kristalline, weniger geordnete Phase, welche über eine größere Zahl an gauche-Konformeren der Lipid-Fettsäureketten verfügt. Diese Phasenumwandlung findet unabhängig von der Chiralität des Phospholipids bei den gleichen Temperaturen statt. Auch die Chiralität der Polymere hat auf die kalorimetrischen Resultate keinen Einfluss.

Das Phospholipid POPC ist aufgrund seiner niedrigen Phasenumwandlung von $-2 \text{ }^\circ\text{C}$, welche die Folge einer Doppelbindung in den Fettsäureketten des Lipids ist, ungeeignet zur Untersuchung des Umwandlungsverhaltens gemischter POPC:Polymer-Proben in wässriger Lösung. Die Bildung von Eiskristallen im Lösungsmittel würde sehr wahrscheinlich die Morphologie der weichen Materie beeinflussen und veränderte Phasenumwandlungen induzieren.

Die Thermogramme des reinen L-DPPC sind in Abbildung 5.23 und 5.24 vergleichend dargestellt. Die Hauptphasenumwandlung des DPPC wird als schmales, scharfes Umwandlungssignal im Thermogramm detektiert. Die Vorumwandlung tritt als Signal geringer Intensität bei $\theta = 36 \text{ }^\circ\text{C}$ auf. Sie zeigt eine Umwandlung der Fettsäureketten innerhalb der Gelphase an.

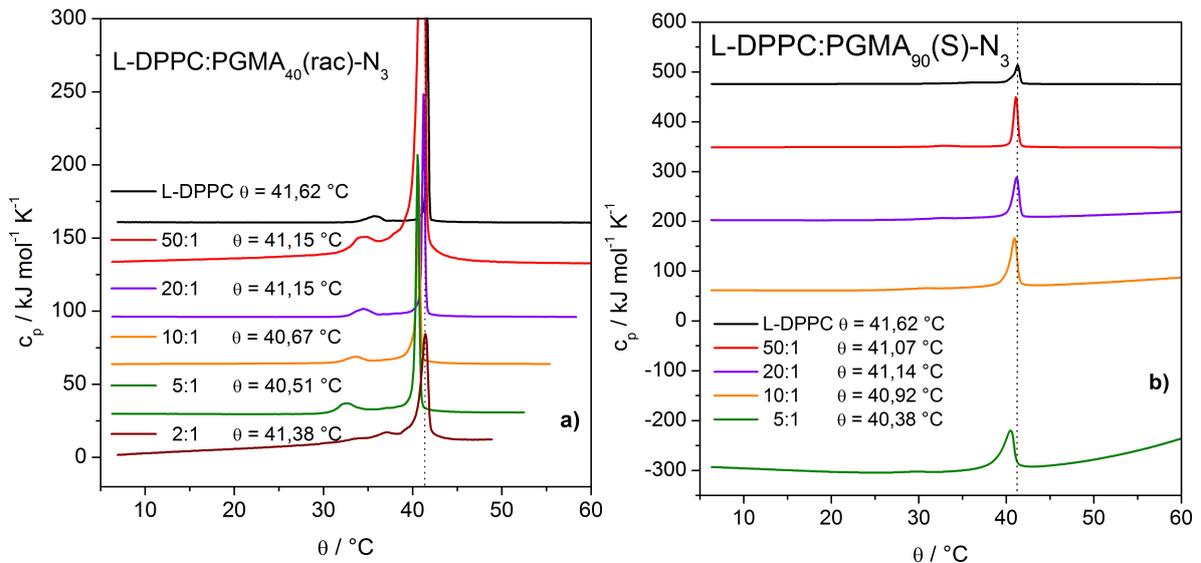


Abbildung 5.23.: Temperaturabhängige Umwandlungsmessungen der Mischungen L-DPPC:PGMA-Homopolymer. Die DSC-Thermogramme wurden im Temperaturbereich $\theta = 5\text{--}60$ °C detektiert. Oberhalb und unterhalb dieses Bereiches finden keine Umwandlungsereignisse statt.

Begonnen wurden die Experimente mit der Messung der reinen Polymerproben in wässriger Lösung. Die Thermogramme der reinen Polymere sind nicht dargestellt. Im Temperaturbereich $\theta = 2$ bis 95 °C treten keine detektierbaren Phasenumwandlungen auf.

Auf diese Untersuchungen folgten die Experimente an DPPC:PGMA-Homopolymer- bzw. DPPC:PGMA-Derivat mit terminaler Perfluoralkylkette-Gemischen im molaren Mischungsbe-
reich von 50:1 bis 2:1, wobei L-DPPC jeweils im Überschuss vorhanden war. Bei den beiden
Mischsystemen DPPC:PGMA-Homopolymer ist den gezeigten Diagrammen in Abbildung
5.23 a und b gleich, dass keine bemerkenswerten Veränderungen der Lipid-Hauptphasenum-
wandlung oder der Form der Thermogramme zu erkennen ist. Im Gegensatz zu den Mi-
schungen L-DPPC:PGMA₉₀(S)-N₃, bei denen die Hauptphasenumwandlungstemperatur mit
steigendem Polymergehalt kontinuierlich zu niedrigeren Temperaturen verschoben wird, tre-
ten bei der Mischung mit dem kürzeren Polymeranalogon auch Temperatur-Shifts zu höheren
Temperaturen auf. Die maximale Temperaturdifferenz der Hauptphasenumwandlung für die
L-DPPC:PGMA₄₀(rac)-N₃-Mischungen tritt bei einer molaren Mischung von 5:1 auf und be-
trägt -1,11 K, für die Mischung der Substanzen L-DPPC und PGMA₉₀(S)-N₃ ist die Differenz
von -1,24 K maximal und tritt ebenfalls bei einem Mischungsverhältnis von 5:1 auf. Dieser
Temperaturshift ist um ein Weniges größer als bei der L-DPPC-Mischung mit dem kürzeren

Polymer. Mit steigender Konzentration des PGMA-Homopolymers verbreitert sich das Umwandlungssignal, was auf eine veränderte Kooperativität der Phasenumwandlung hinweist und damit für einen Einbau der Polymere in die Lipid-Vesikel spricht. Welcher Art die Wechselwirkungen zwischen den DPPC-Vesikeln und den PGMA-Homopolymeren sind und zu welchem Anteil die Polymere in die vesikuläre Doppelschicht eingebaut sind, ist aus den kalorimetrisch bestimmten Thermogrammen nicht ersichtlich. Da die Hauptphasenumwandlungs-Signale auch bei hohen Konzentrationen des zugegebenen Polymers nur geringe Abweichungen von der typischen Lipidumwandlung aufweisen, ist von gemischten Systemen mit wenigen eingebauten Polymeren auszugehen.

Die Abbildungen 5.24 a, b und c zeigen die Thermogramme der L-DPPC-Mischungen mit den drei vorgestellten PGMA-Derivaten mit terminaler Perfluoralkylkette in den molaren Mischungsverhältnissen 50:1 bis 2:1. Auch bei diesen Mischungen fällt auf, dass neben der Lipidvorumwandlung nur jeweils ein markantes Umwandlungssignal pro Mischung zu finden ist, welches nur eine recht geringe Temperaturdifferenz zur ursprünglichen Phasenumwandlung des reinen Lipids aufweist. So betragen für die jeweils maximalen Temperaturdifferenzen, die bei molaren Mischungsverhältnissen mit sehr hohem Polymeranteil auftreten, $-0,80$ K für L-DPPC:PGMA₁₄(R)-F₉ (2:1), $-1,02$ K für L-DPPC:PGMA₄₀(R)-F₉ (5:1) bzw. $-3,30$ K für L-DPPC:PGMA₉₀(S)-F₉ (5:1). Für das kürzeste Polymeranalogon können demnach trotz der terminal gebundenen Perfluoralkylkette nur vergleichbar geringe Wechselwirkungen mit der Phospholipid-Doppelschicht detektiert werden, wie dies der Fall bei Wechselwirkung des Lipidvesikels mit den PGMA-Homopolymeren ist. Neben der Feststellung nur geringer Interaktionen ist eine Erklärung für die sehr kleine Temperaturveränderung der Lipidhauptphasenumwandlung trotz Zumischung der strukturell sehr stark von den Lipiden abweichenden Polymere die Überlagerung mehrerer Wechselwirkungseffekte. Ein Einbau der Perfluoralkylkette der Polymere in den hydrophoben Bereich der Lipiddoppelschicht verursacht eine Versteifung des Bilayers und eine Erhöhung der Phasenumwandlungstemperatur. Dieser Temperaturverschiebung wirkt die Wechselwirkung der hydrophilen Polymerseitenketten mit den hydrophilen Phosphatidylcholin-Kopfgruppen entgegen. Diese verursacht einen Temperatur-Downshift, da durch die hydrophil-hydrophilen Wechselwirkungen eine Verflüssigung der Lipid-Doppelschicht bewirkt wird. [6]

Bei einer ansteigenden Konzentration des Polymers PGMA₁₄(R)-F₉ im Gemisch kann eine nur leichte Verbreiterung der Phasenumwandlungssignale festgestellt werden (siehe Abbildung 5.24 a), was für eine nur geringe Veränderung der Kooperativität des Lipids spricht

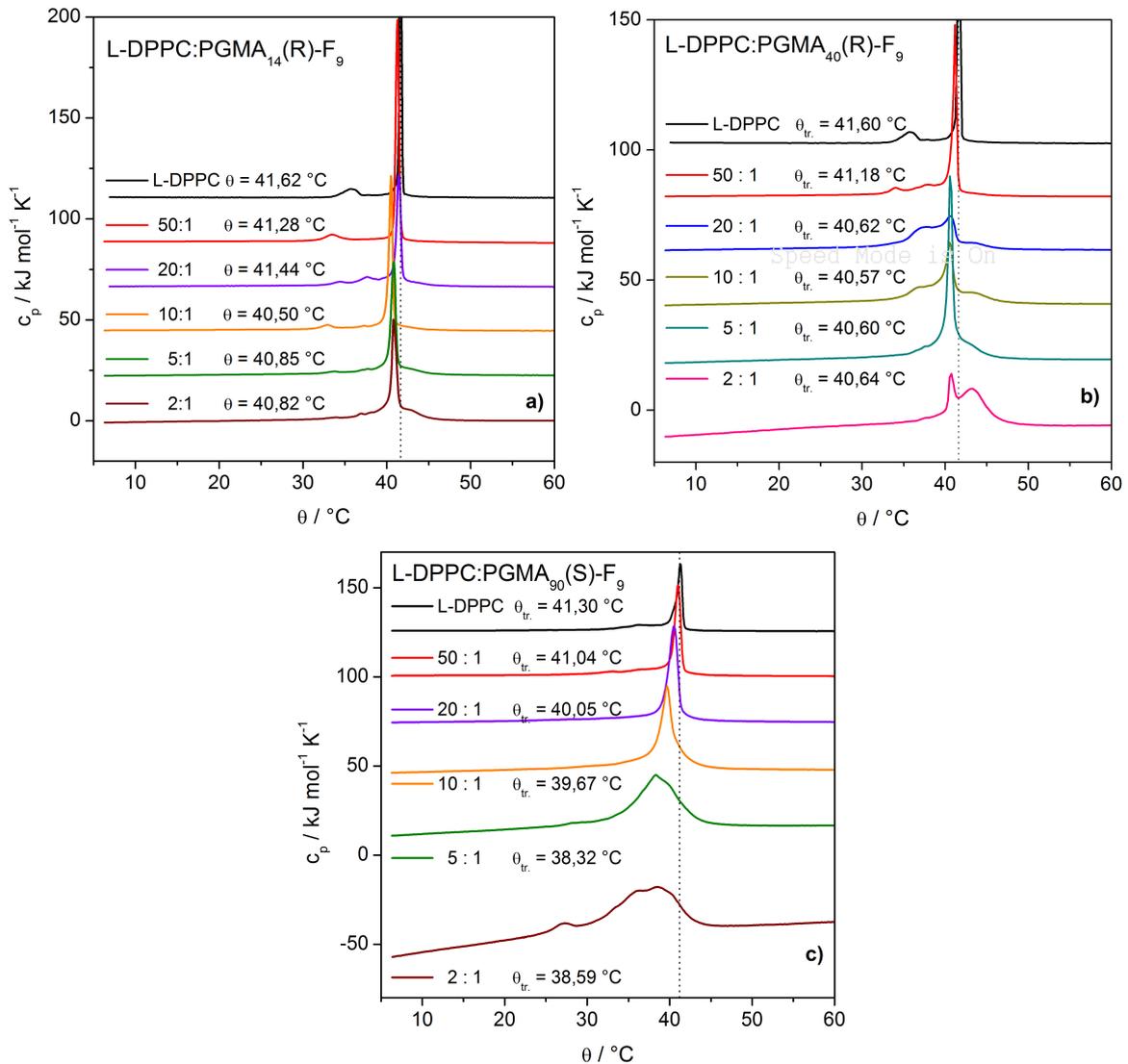


Abbildung 5.24.: Temperaturabhängige Umwandlungsmessungen der Mischungen L-DPPC:PGMA-Derivat mit terminaler Perfluoralkylkette. Die DSC-Thermogramme wurden im Temperaturbereich $\theta = 5-60$ °C detektiert. Oberhalb und unterhalb dieses Bereiches finden keine Umwandlungsereignisse statt.

und daher ein sehr schwacher Einbau der Homopolymere sowie des kürzesten der drei Analoga mit Perfluoralkylkette in die flüssig-kristalline Phase des Phospholipid-Vesikels geschlossen werden kann. Die Vorumwandlung, die im Thermogramm des reinen Lipids beobachtet wurde, tritt in den Thermogrammen der Mischungen 5:1 und 2:1 des Substanzgemisches L-DPPC:PGMA₁₄(R)-F₉ nicht mehr auf, die Ripple Phase wird nicht mehr ausgebildet. Dieser Effekt ist auf einen stärkeren Einbau der Polymere in die Lipidvesikel aufgrund ihres größe-

ren Anteils im Gemisch zurückzuführen und ist ein Hinweis auf attraktive Wechselwirkungen zwischen Phospholipid und PGMA-Derivat mit terminaler Perfluoralkylkette. [6] Neben der leichten Verbreiterung des Umwandlungssignals kommt es zu einer ebenfalls geringen und unsystematischen Absenkung der Umwandlungsenthalpie. Bei dem Mischungsverhältnis 2:1 tritt oberhalb der Phasenumwandlung eine weitere breite Umwandlung in Form einer Schulter auf, was als Auftreten einer zweiten Mischphasen-Morphologie interpretiert werden kann.

Die Mischungen L-DPPC:PGMA₄₀(R)-F₉ (siehe Abbildung 5.24 b) weisen zwar ebenfalls jeweils nur eine geringe Verschiebung der DPPC-Hauptphasenumwandlung auf, jedoch ist hier bereits ein stärkerer Einfluss des Polymers auf das Phospholipidvesikel aus der Form der Thermogramme ersichtlich. Es kommt zu einer deutlichen Verbreiterung der Umwandlungssignale und zu einer unsystematischen Verringerung der Umwandlungsenthalpien. Besonders deutlich sind die Veränderungen bei den Mischungen 20:1, 10:1 und 2:1. Bei diesen Thermogrammen treten die Umwandlungssignale mit besonders schwacher Intensität auf und weisen z. T. eine Schulter vor (20:1) bzw. nach der Hauptphasenumwandlung auf (2:1). Es werden also mindestens drei verschiedene Misch-Morphologien ausgebildet. Die Anteile an Phospholipid und Polymer in diesen Aggregaten sind sehr wahrscheinlich unterschiedlich.

Wie oben beschrieben kommt es sehr wahrscheinlich zur Einlagerung der versteifenden Perfluoralkylkette in den hydrophoben Bereich der Lipiddoppelschicht und gleichzeitig zur Wechselwirkung der stärker hydrophilen Polymerkette mit den hydrophilen Lipidkopfgruppen. Da die Wechselwirkungsstärke der hydrophilen Interaktionen mit der Länge der Polymerkette, also mit dem Polymerisationsgrad ansteigt, ist es nur wenig verwunderlich, dass die Verschiebung der Phasenumwandlungstemperatur bei Zumischung von PGMA₉₀(S)-F₉ maximal und damit die Destabilisierung der geordneten Gelphase des Lipids maximal ist (siehe Abbildung 5.24 c). Dadurch wird der Einbau der Makromoleküle in die flüssig-kristalline Lipidphase erleichtert. [6] Ebenso ist bei diesem Mischsystem die Verbreiterung des Umwandlungssignals bei ansteigender Polymerkonzentration im Gemisch maximal. Die Thermogramme der molaren Mischungen 50:1 bis 10:1 zeigen nur ein einziges, gegenüber der Umwandlung des Lipids zu geringeren Temperaturen verschobenes Umwandlungssignal. Die Mischung 2:1 zeigt Schultern auf beiden Seiten der Hauptphasenumwandlung und eine zusätzliche Umwandlung im weiteren Temperaturbereich der ursprünglichen Ripple-Phasen-Bildung von DPPC. Da diese Vorumwandlung bei den molaren Mischungen mit geringerem Polymeranteil nicht beobachtet wird, ist dieses Signal der Hinweis für eine weitere, vermutlich bevorzugt aus den Makromolekülen und einem geringeren Lipidanteil zusammengesetzte Morphologie.

Wie auch schon aus den Experimenten an der Luft-Wasser-Grenzfläche beobachtet, sind also auch im Bulk die Wechselwirkungen von DPPC mit den PGMA-Verbindungen maximal mit dem Makromolekül mit Perfluoralkylkette des höchsten Polymerisationsgrades, mit PGMA₉₀(S)-F₉.

5.2. Hyperverzweigte Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker

5.2.1. Tensiometrie - Langmuir- und Gibbs-Monolayer

Zeitabhängige Detektion von Adsorptionsprozessen

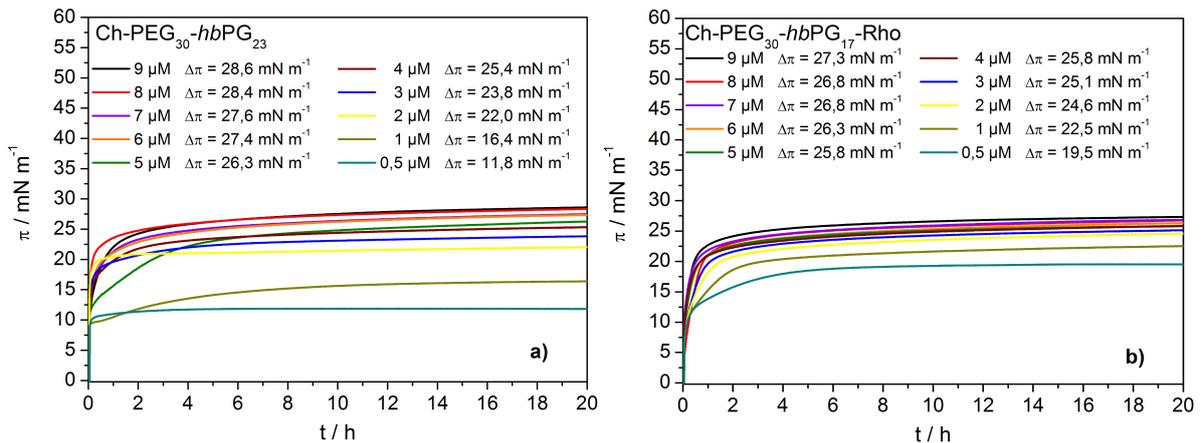


Abbildung 5.25.: Oberflächenaktivitätstests der Polymere a) Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ und b) Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho. Es wurde die Veränderung des Oberflächendruckes nach Injektion der Polymerlösung unter eine reine Wasseroberfläche gemessen. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

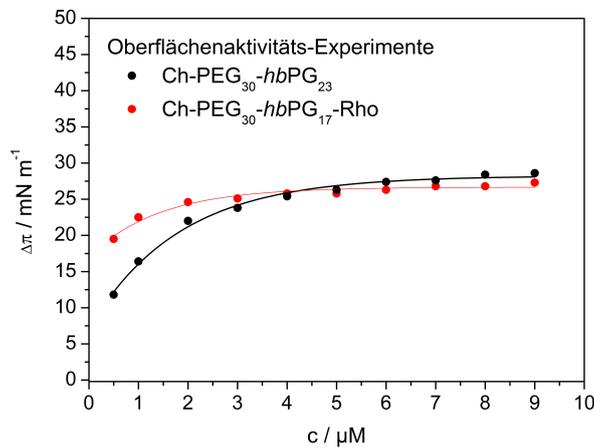


Abbildung 5.26.: Oberflächenaktivitätstests der Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker. Konzentrationsabhängige Auftragung der maximal erreichten Oberflächendrucke der verwendeten Polymere nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

Oberflächenaktivitäts-Überprüfung der hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker Die Oberflächenaktivitäten der hyperverzweigten Makromoleküle mit Cholesterol-Anker (siehe Abbildungen 5.25 und 5.26) und die Oberflächenaktivität ihrer „Teilpolymere“ wurden untersucht (siehe Abbildungen 5.27 und 5.28).

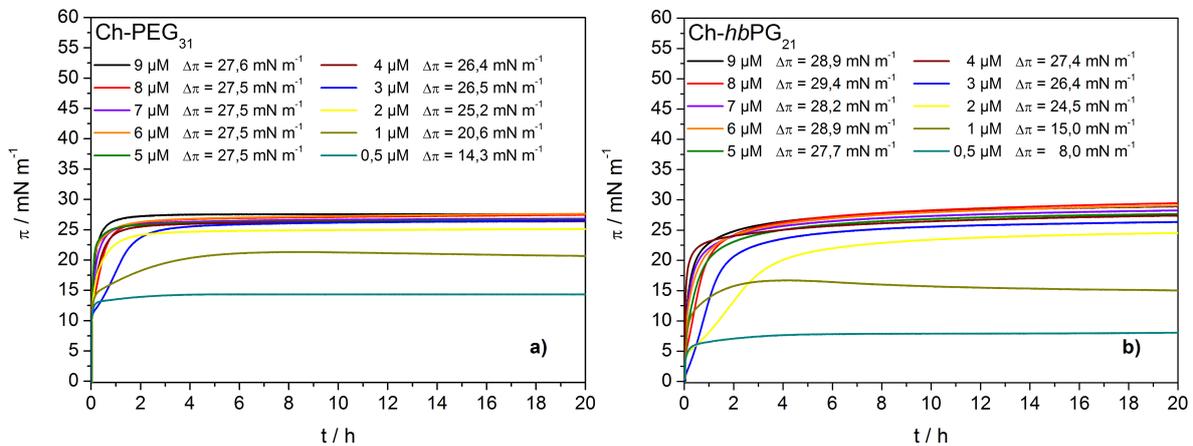


Abbildung 5.27.: Oberflächenaktivitätstests der Polymere a) Ch-PEG₃₁ und b) Ch-hbPG₂₁. Es wurde die Veränderung des Oberflächendrucks nach Injektion der Polymerlösung unter eine reine Wasseroberfläche gemessen. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

Durch Injektion wässriger Polymerproben in die wässrige Subphase eines Langmuirtroges wurden Konzentrationen der Block-Copolymere von 0,5 bis 9 μM erzeugt. Die Makromoleküle mit Cholesterol-Anker erscheinen weniger oberflächenaktiv als das zuvor betrachtete PGMA₉₀(S)-F₉, jedoch stärker grenzflächenaktiv als die beiden PGMA-Derivate geringeren Polymerisationsgrades.

Das sehr voluminöse Rhodamin-Fluoreszenzlabel des Polymers Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho scheint nur einen geringen Einfluss auf die Resultate der Adsorptionsuntersuchungen zu haben. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die hydrophoben Cholesterol-Einheiten die hyperverzweigten Moleküle an der Luft-Wasser-Grenzfläche verankern, während die stark hydrophilen Blöcke dieser Makromoleküle sowie der ebenfalls hydrophile Fluoreszenzmarker des Moleküls Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho in der Subphase verbleiben. Es werden maximale Oberflächendrücke bei der Adsorption von 9 μM des Polymers Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ von 28,6 mN m^{-1} und von 9 μM des Polymers Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho von 27,3 mN m^{-1} an die reine Wasseroberfläche erreicht.

Oberflächenaktivitäts-Überprüfung der „Teilpolymere“ mit Cholesterol-Anker Um einen genaueren Eindruck des Grenzflächen-Adsorptionsverhaltens der einzelnen polymeren Blöcke zu erhalten, wurde die Oberflächenaktivität der beiden „Teilpolymere“ Ch-PEG₃₁ und Ch-hbPG₂₁ getestet (siehe Abbildungen 5.27 und 5.28).

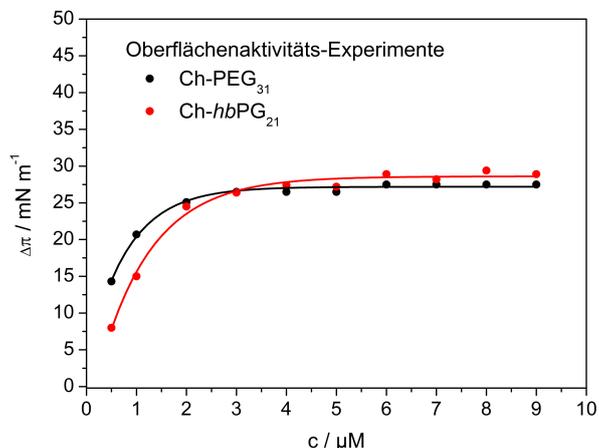


Abbildung 5.28.: Oberflächenaktivitätstests der „Teilpolymere“ mit Cholesterol-Anker. Konzentrationsabhängige Auftragung der maximal erreichten Oberflächendrücke der verwendeten Polymere nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

Der Gleichgewichtszustand wird für Ch-PEG₃₁ nach bis zu sechs Stunden erreicht. Das Polymer Ch-hbPG₂₁ befindet sich nach ca. acht Stunden in einem Gleichgewichtszustand. Je höher die gewählte Polymerkonzentration, desto schneller verläuft der Adsorptionsprozess. Die maximal beobachteten Oberflächendrücke der „Teilpolymere“ sind sogar um Weniges höher als die der hyperverzweigten Block-Copolymere. Sie betragen $27,6\text{ mN m}^{-1}$ für Ch-PEG₃₁ ($9\ \mu\text{M}$) und $28,9\text{ mN m}^{-1}$ für Ch-hbPG₂₁ ($9\ \mu\text{M}$). Eine sehr wahrscheinliche Interpretation für diese Beobachtung ist, dass die hydrophoben Cholesterol-Reste, welche die Oberflächenaktivität der Polymere bestimmen, eine geringere hydrophile Beeinflussung durch die einzelnen Blöcke der „Teilpolymere“ erfahren. Das hydrophob:hydrophil-Verhältnis ist gegenüber den Block-Copolymeren verschoben. Die Anbindung des PEG-Blockes und des hyperverzweigten PG-Blockes an Cholesterol verringert also die Fähigkeit der Cholesterol-Einheit, an die Luft-Wasser-Grenzfläche aufzusteigen. Ein Vergleich mit der Oberflächenaktivität des reinen Cholesterols ist nicht möglich, da Cholesterol selbst nicht wasserlöslich ist.

Adsorption der hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker an Phospholipid-Monolayer Das zeitabhängige Adsorptionsverhalten der hyperverzweigten

Makromoleküle mit Cholesterol-Anker und ihrer „Teilpolymere“ ist in den Abbildungen 5.29, 5.30, 5.31 und 5.32 dargestellt und die exakten aus den Graphen ausgelesenen Daten sind in Tabelle 5.4 nachzulesen.

Es fällt bereits nach kurzer Analyse der detektierten Adsorptionsergebnisse der Makromoleküle mit Cholesterol-Anker auf, dass die Adsorptionsfähigkeit dieser Substanzen an DPPC- und POPC-Monolayer deutlich höher ist als die Adsorptionsfähigkeit der zuvor untersuchten PGMA-Derivate. Alle festgestellten Einbaugrenzdrücke der vollständigen sowie der „Teilpolymer“-Proben geringer und hoher Konzentrationen erreichen Werte oberhalb der zuvor beschriebenen $35,0 \text{ mN m}^{-1}$, oberhalb welcher ein Einbau der Moleküle in die biologische Membran als sehr wahrscheinlich gilt. [46] Sowohl die hyperverzweigten Block-Copolymere als auch deren „Teilpolymere“ sind bei geringen Konzentrationen von $0,5 \mu\text{M}$ sehr wahrscheinlich in der Lage, in biologische Membranen zu insertieren und mit diesen gemischte Systeme zu bilden. Unterstützt wird die Annahme der Einbaufähigkeit der Block-Copolymere in biologische Membranen durch die Tatsache, dass selbst bei hohen Anfangsoberflächendrücken Druckanstiege durch die Insertion des Polymers erzeugt werden und der Grenzflächenfilm in ein dynamisches Gleichgewicht gebracht wird.

Unerwarteterweise sind die detektierten Oberflächendruckdifferenzen (nachzulesen in Tabelle 5.4) und Einbaugrenzdrücke von Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho unter beide Phospholipide niedriger als bei Adsorption des Analogons ohne kovalent gebundenes Fluoreszenz-Label. Obwohl im hyperverzweigten Anteil des Rhodamin-gelabelten Polymers 6 Poly-(glycerol)-Einheiten weniger vorhanden sind als im ungelabelten Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ überwiegt vermutlich die Hydrophilie des fluoreszierenden Makromoleküls durch das große strukturelle Volumen des Rhodamin-Labels die Hydrophilie des ungelabelten Polymers. Dementsprechend ist bei hohen Konzentrationen des stärker hydrophilen Moleküls anzunehmen, dass es sich verstärkt in der Subphase anreichert und geringere Wechselwirkungen mit dem Phospholipid an der Luft-Wasser-Grenzfläche als vielmehr mit sich selbst eingeht.

Besonders deutlich ist aus den dargestellten zeitabhängigen Adsorptionsgrafiken, dass v. a. bei Adsorption der hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker der sehr instabile reine POPC-Monolayer durch Insertion der synthetischen Polymere in ein stabiles dynamisches Gleichgewicht verbracht wird. Das eingestellte Gleichgewicht bleibt über die Messzeit von zwanzig Stunden bestehen und nahezu unverändert. Dies ist eine im Vergleich mit der Wirksamkeit der PGMA-Derivate viel stärker ausgeprägte Fähigkeit dieser Block-

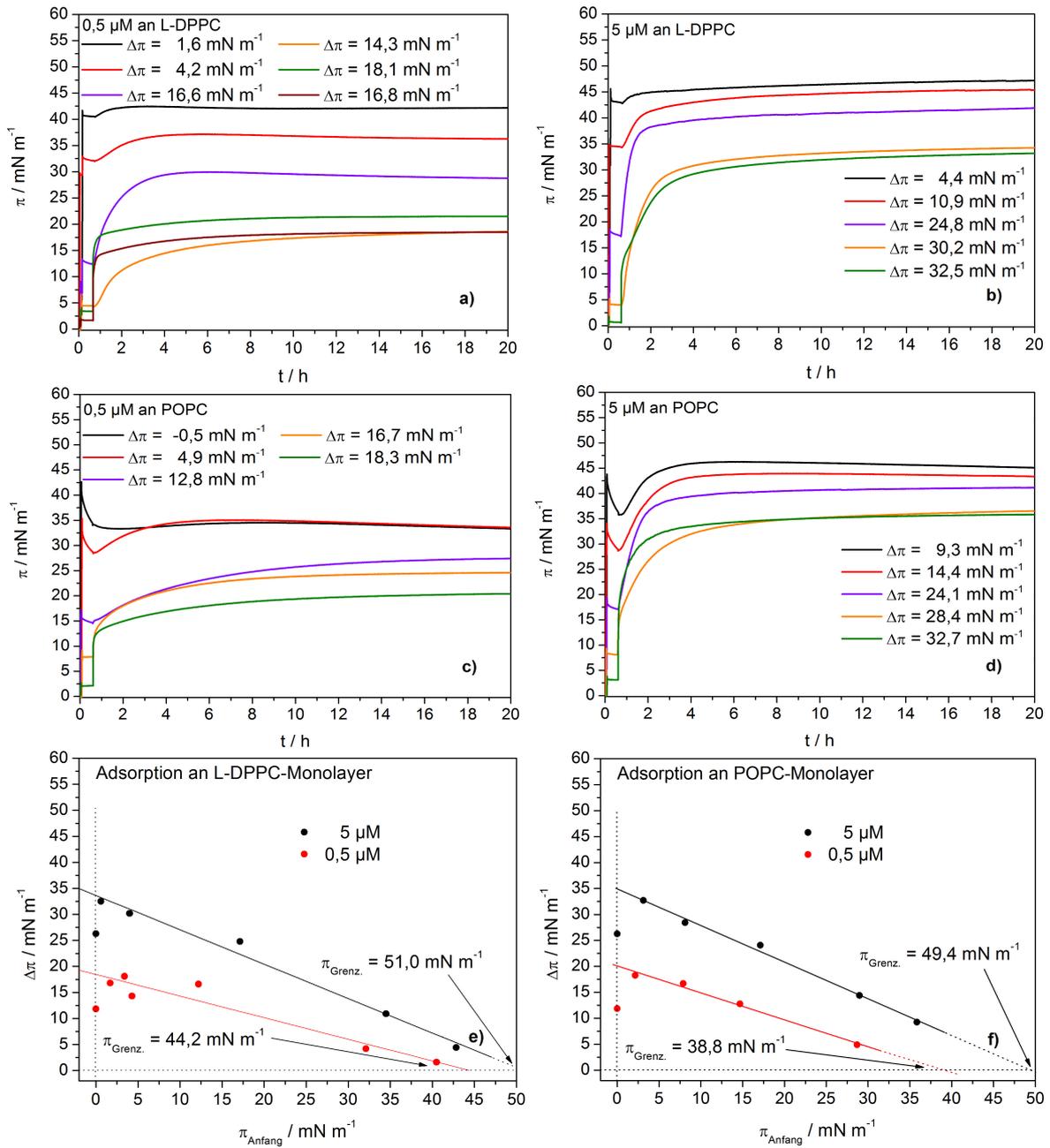


Abbildung 5.29.: Zeitabhängige Adsorptionsmessungen. Adsorptionsisothermen des Polymeres Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ bei Adsorption aus wässriger Lösung an a,b) L-DPPC- bzw. c,d) POPC-Monolayer; e,f) vergleichende Auftragungen maximal erreichter Oberflächendrücke nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment mit Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ an L-DPPC und POPC mit Extrapolation auf den jeweiligen Einbaugrenzdruck des Polymeres. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

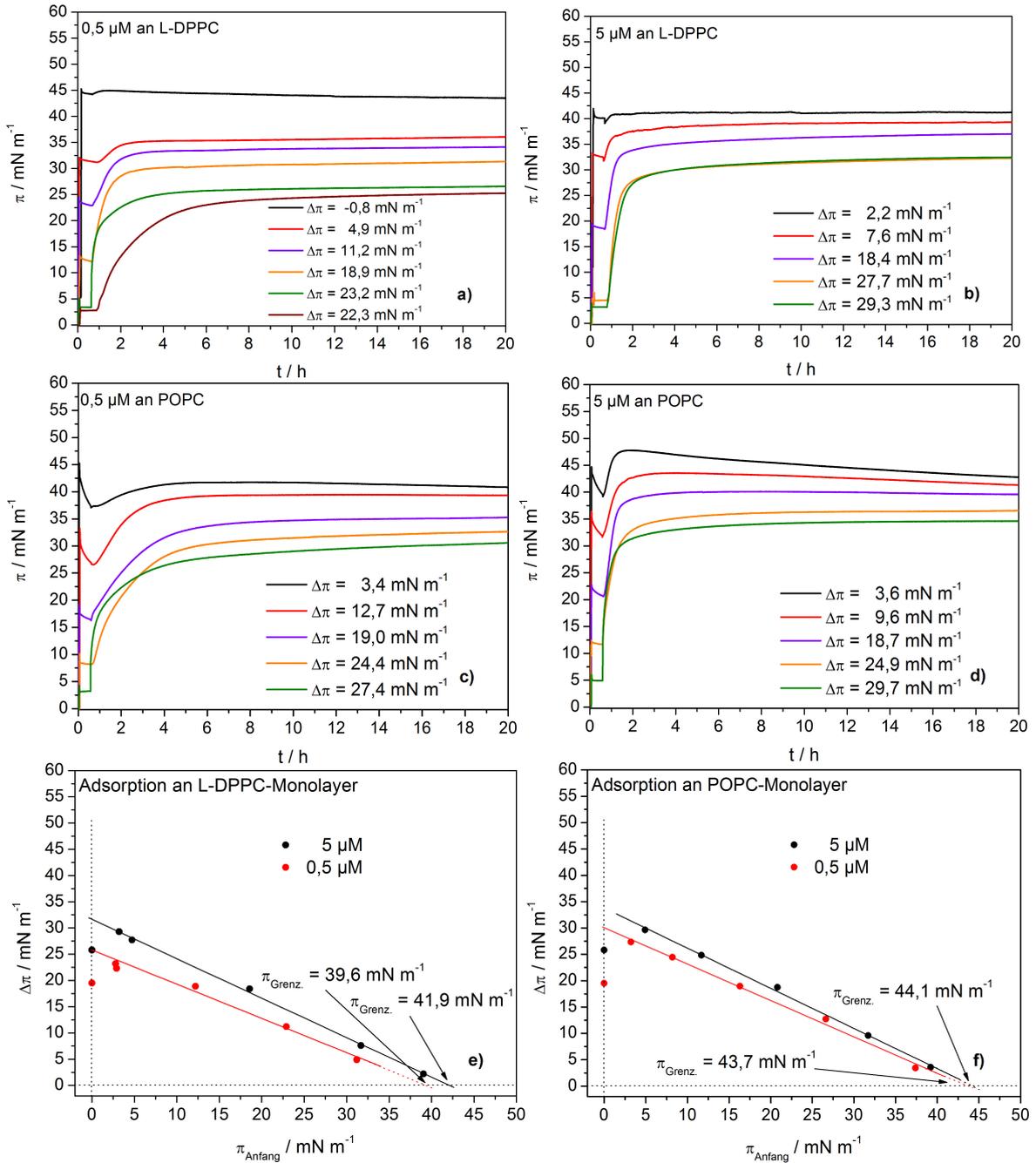


Abbildung 5.30.: Zeitabhängige Adsorptionsmessungen. Adsorptionsisothermen des Polymeres Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho bei Adsorption aus wässriger Lösung an a,b) L-DPPC- bzw. c,d) POPC-Monolayer; e,f) vergleichende Auftragungen maximal erreichter Oberflächendrücke nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment mit Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho an L-DPPC und POPC mit Extrapolation auf den jeweiligen Einbaugrenzdruck des Polymeres. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

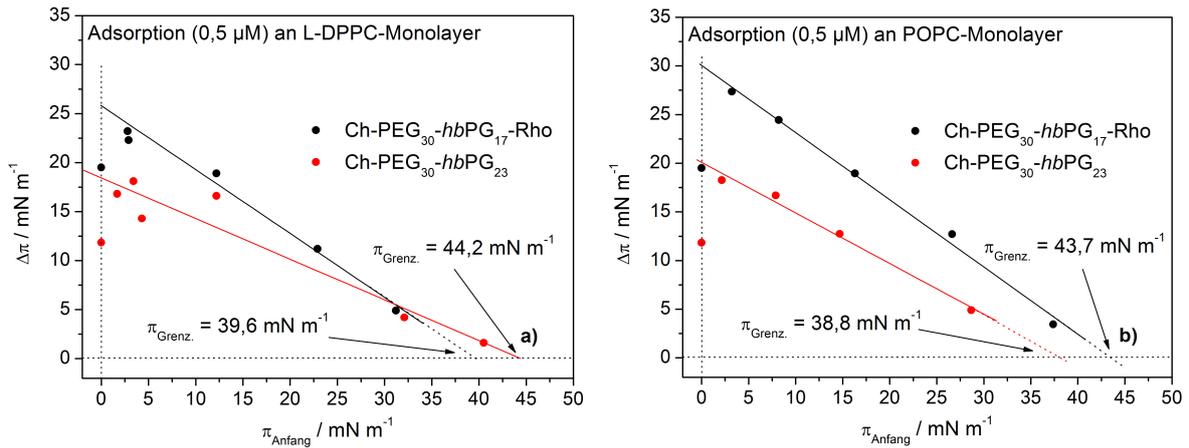


Abbildung 5.31.: Vergleichende Insertions-Studien der hyperverzweigten Block-Copolymere mit terminaler Cholesterol-Einheit. Aufgetragen sind die maximal erreichten Oberflächendrücke der verschiedenen Polymere nach 20-stündigem Adsorptionsexperiment an a) L-DPPC- bzw. b) POPC-Monolayer mit Extrapolation auf den jeweiligen Einbaugrenzdruck. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

Copolymere, die selbst bei Injektion geringer Polymerkonzentrationen zu beobachten ist und vermutlich sehr interessant für mögliche zukünftige pharmazeutische Anwendungen ist. Auch bei den gesättigten DPPC-Monolayern kann diese Stabilisierung beobachtet werden.

Adsorption der „Teilpolymere“ mit Cholesterol-Anker an Phospholipid-Monolayer

Auch die „Teilpolymere“ Ch-PEG₃₁ und Ch-hbPG₂₁ wurden als wässrige Suspensionen unter L-DPPC- und POPC-Monolayer injiziert. Für diese ergänzenden Versuche wurden ausschließlich die hohen Polymerkonzentrationen von $5 \mu\text{M}$ verwendet. Die Adsorptionisothermen der „Teilpolymere“ bei Adsorption an die verschiedenen Phospholipid-Monolayer sind in Abbildung 5.32 dargestellt.

Dass trotz der starken Hydrophilie der jeweiligen an Cholesterol gebundenen Einzelblöcke so hohe Oberflächendruckdifferenzen erzeugt werden (siehe Tabelle 5.4), spricht dafür, dass Cholesterol der Oberflächenaktivitäts-bestimmende Rest der Makromoleküle ist, welcher in die Phospholipidmonolayer insertiert und die Nähe der hydrophoben Fettsäureketten sucht. Die jeweiligen hydrophilen Blöcke der „Teilpolymere“ halten sich im Gegensatz dazu unterhalb der Wasseroberfläche auf und wechselwirken vermutlich auch nicht oder nur in sehr geringem Maße mit den hydrophilen Phosphatidylcholin-Kopfgruppen. Dieser Hypothese folgend,

Daten zeitabhängiger Adsorptions- messungen	Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃		Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho		Ch-PEG ₃₁	Ch-hbPG ₂₁
	0,5 μM	5 μM	0,5 μM	5 μM	5 μM	5 μM
$\pi_{\text{Anfang}} / \Delta\pi /$ $m\text{N m}^{-1}$, Ads. an L-DPPC	40,5/1,6 (Maximalwert)	42,8/4,4	31,2/4,9	39,1/2,2	43,2/1,7	40,0/1,4
	1,7/16,8 (Minimalwert)	0,6/32,5	2,9/22,3	3,2/29,3	1,8/31,1	1,3/35,4
$\pi_{\text{Anfang}} / \Delta\pi /$ $m\text{N m}^{-1}$, Ads. an POPC	28,7/4,9	35,9/9,3	37,4/3,4	39,2/3,6	32,8/8,4	34,1/6,0
	2,2/18,3	3,1/32,7	3,2/27,4	4,9/29,7	4,0/29,1	4,0/32,6
$\pi_{\text{Grenz.}} / m\text{N}$ m^{-1} , Ads. an L-DPPC	44,2	51,0	39,6	41,9	45,7	43,1
$\pi_{\text{Grenz.}} / m\text{N}$ m^{-1} , Ads. an POPC	38,8	49,4	43,7	44,1	44,4	42,4

Tabelle 5.4.: Charakteristische Daten der Adsorptionsisothermen der verwendeten Makromoleküle mit Cholesterol-Anker. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

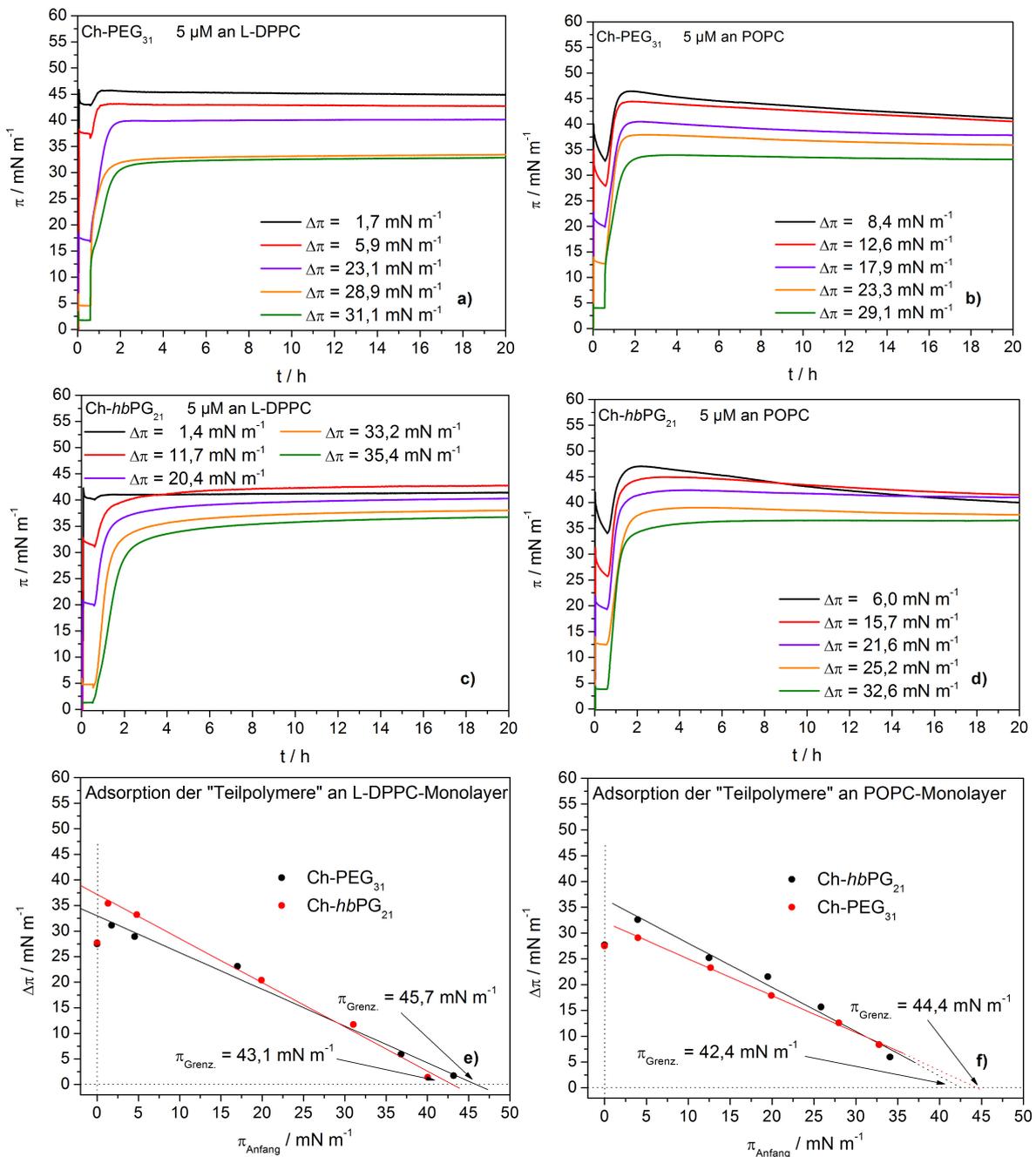


Abbildung 5.32.: Zeitabhängige Adsorptionsmessungen. Auftragung der Adsorptionsisothermen der „Teilpolymere“ Ch-PEG₃₁ und Ch-hbPG₂₁ bei Adsorption an a,c) L-DPPC- bzw. b,d) POPC-Monolayer und e,f) vergleichende Auftragung der maximal erreichten Oberflächendrücke. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

kann vermutet werden, dass durch die voluminösen Strukturen der einzelnen an Cholesterol gebundenen Blöcke der hydrophobe Cholesterol-Rest an einer räumlichen Annäherung an die hydrophoben Lipid-Fettsäureketten gehemmt ist und daher keine für Cholesterol typische niedrige Randspannung im Bereich der LE-/LC-DPPC-Phasengrenze erzeugen kann. Der Einfluss des Cholesterols auf das Lipid an der Luft-Wasser-Grenzfläche wird also durch die angebundenen Polymerblöcke erheblich abgeschwächt.

Isothermen der reinen Polymere mit Cholesterol-Anker

Isothermen der hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker In Abbildung 5.33 a sieht man zunächst die Kompressionsisothermen der beiden hyperverzweigten Polymere Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ und Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho. Die Kompressionsisothermen der beiden reinen Polymersysteme weisen deutliche Unterschiede auf. Beide Polymer-Spezies zeigen an der Luft-Wasser-Grenzfläche bereits bei sehr großen Flächen pro Makromolekül von mehr als 1000 Å² Molekül⁻¹ intermolekulare Wechselwirkungen, die sich in einem allmählichen leichten Anstieg des lateralen Oberflächendruckes äußern. Ein scharfer Lift-Off der Isothermen ist für beide Moleküle nicht zu beobachten. Bei weiterer Kompression tritt ein breit verschmierter Umwandlungsbereich bei ca. 7,4 mN m⁻¹ auf. Dieser Bereich kann dem Absinken des PEG-Blockes in die Subphase zugeordnet werden. [85, 86] In beiden Isothermen ist bei Oberflächendrücken von $\pi = 30,7$ mN m⁻¹ für Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ und $\pi = 25,6$ mN m⁻¹ für das Rhodamin-gelabelte Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho ein Knickpunkt zu beobachten. Für das Fluoreszenzfarbstoff-gelabelte Polymer tritt dieser Knickpunkt beim Spreiten der Probe auf kleinere Anfangs-Flächen pro Makromolekül reproduzierbar bei kleineren Oberflächendrücken von $\pi = 21,5$ mN m⁻¹ auf. Das Auftreten des Knickpunktes bei verschiedenen Oberflächendrücken kann als kinetischer Effekt interpretiert werden. Die Isothermen der Makromoleküle erstrecken sich jeweils über einen so großen Flächenbereich, dass das Kompressionsverhältnis von 11,8 der langen Filmwaage nicht ausreicht, um die gesamte Isotherme zu erfassen. Daher müssen die Isothermen aus zwei Einzelerperimenten zusammengesetzt werden.

Die Kompressions- bzw. die Kompressions-Expansionsisotherme des reinen Cholesterols sind in Abbildung 5.33 gezeigt. Die Cholesterol-Isotherme bildet nach einem nahezu vertikalen Anstieg bei ca. 38 Å² Molekül⁻¹ ebenfalls einen scharfen Peak eines metastabilen Systems bei 46,0 mN m⁻¹ aus. Dieser ist als Kristallisation des Cholesterol-Monolayers an der Luft-Wasser-Grenzfläche zu interpretieren und in der Literatur als Kollaps des kondensier-

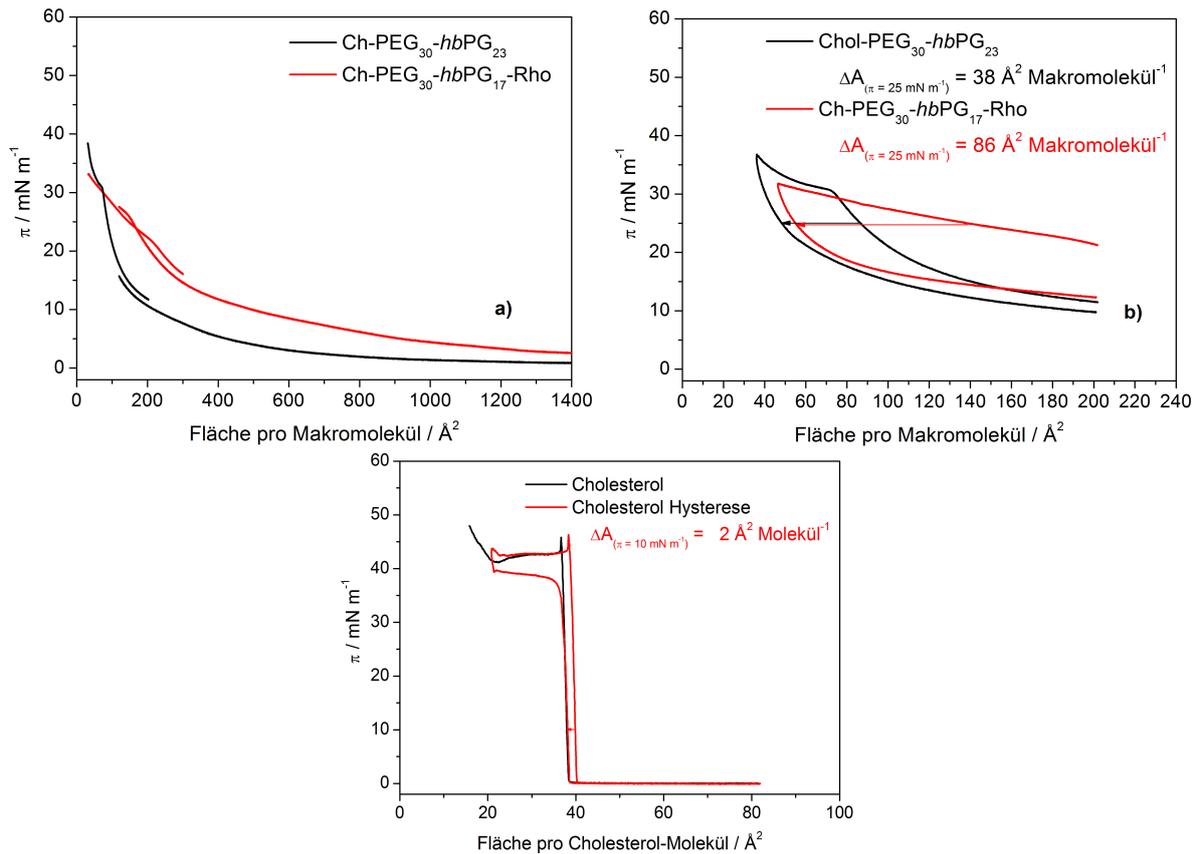


Abbildung 5.33.: a) Kompressionsisothermen der reinen hyperverzweigten Polymere Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ und Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho; b) Kompressions-Expansionsisothermen der reinen hyperverzweigten Polymere Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ und Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho; darunter: Kompressions- und Kompressions-Expansionsisotherme von reinem Cholesterol. Die Flächendifferenz der Polymerhysterese wurde aufgrund der sehr hohen Oberflächenaktivität der Substanzen und experimenteller Bedingungen bei einem Oberflächendruck von $\pi = 25,0 \text{ mN m}^{-1}$ ausgelesen. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

ten Cholesterol-Monolayers dargestellt. [45, 87, 88, 89, 90] Nach einer weiteren Kompression des kristallisierten Cholesterol-Films kollabiert der Film schließlich. Bedingt durch die Kristallisation kann der Cholesterol-Layer nicht stabil sein und zeigt eine bei hohen lateralen Drücken breite Hystereseschleife. Demgegenüber wird bei $10,0 \text{ mN m}^{-1}$ nur eine geringere Flächendifferenz von $2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ detektiert, was für eine Relaxation des komprimierten Monolayers in den vor der Kompression vorliegenden Zustand spricht. Die geringe Verschiebung der Hysterese-Isotherme zu größeren Flächen pro Molekül lässt sich auf Spreitungsgenauigkeiten zurückführen.

Vergleicht man nun die Kompressionsisothermen der reinen Polymere mit der des reinen Cholesterols, so ist der Knickpunkt bei ca. 25,0 bis 31,0 mN m⁻¹ jedoch nicht als der Beginn der Cholesterol-Umwandlung zu interpretieren. Aufgrund der großvolumigen polymeren Blöcke, welche bei hohen Oberflächendrücken bereits in die wässrige Subphase abgesunken sind, ist ein so dichtes Zusammenrücken der Cholesterol-Reste, welches für eine Kristallisation des Cholesterol-Filmes nötig wäre, nicht mehr möglich. Stattdessen kann vermutet werden, dass die bei niedrigeren Oberflächendrücken in die Subphase abgesunkene PEG-Kette sich unterhalb der Wasseroberfläche von einer Anordnung in einem statistischen Knäuel in eine gestreckte Anordnung umwandelt. Hierdurch ist eine etwas dichtere Packung des Cholesterol-Restes möglich.

Beim Vergleich beider Polymerisothermen fällt auf, dass das gelabelte Polymer, welches gegenüber dem ungelabelten Polymer über die zusätzliche Rhodamin-Einheit, aber über 6 Poly-(glycerol)-Einheiten weniger verfügt, einen deutlich größeren Flächenbedarf aufweist. So beträgt die Differenz bei $\pi = 25,0 \text{ mN m}^{-1}$ 279 Å² Molekül⁻¹. Diese Differenz im Flächenbedarf des Polymers ist vermutlich ein Effekt des an das Polymer angebondenen Rhodamin-Labels, der Einfluss der geringeren Anzahl an PG-Einheiten kann dagegen nicht beurteilt werden.

Abbildung 5.33 b zeigt die Kompressions-Expansionsisothermen der beiden hypervverzweigten Polymere. Die Flächendifferenz wurde aufgrund experimentell begrenzender Bedingungen für diese beiden Systeme bei Oberflächendrücken von $\pi = 25,0 \text{ mN m}^{-1}$ ausgelesen. Es ergeben sich bei Expansion Flächendifferenzen von 38 Å² Molekül⁻¹ für Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ und sogar 86 Å² Molekül⁻¹ für das gelabelte Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho. Die stärkere Hysterese des gelabelten Polymers ist auf die veränderte Form der Kompressionsisotherme des gelabelten Makromoleküls gegenüber der Kompressionsisotherme des ungelabelten Polymers zurückzuführen. Die Umwandlung der PEG-Kette unter der Wasseroberfläche, die im Absatz zuvor beschrieben wurde, fällt bei der Form der Kompressions-Expansionsisotherme von Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho mit ins Gewicht.

Die Hydrophilie des gelabelten Polymers Ch-PEG₃₀-*hb*PG₁₇-Rho scheint durch den hydrophilen Fluoreszenzfarbstoff gegenüber der Hydrophilie des ungelabelten Polymers erhöht zu sein, was zu einem stärkeren Absinken der Polymerblöcke während der Kompression in die wässrige Subphase führt. Von einem Wiederauftauchen des gesamten Makromoleküls an die Grenzfläche kann nicht ausgegangen werden. Der hydrophile Farbstoff sowie die hyperververzweigte Poly-(glycerol)-Einheit verbleiben vermutlich in der Subphase.

Isothermen der „Teilpolymere“ mit Cholesterol-Anker Zur besseren Interpretation des Verhaltens der einzelnen Polymerblöcke wurden die Polymere Ch-PEG₃₁ und Ch-*hb*PG₂₁ untersucht. Abbildung 5.34 zeigt die Kompressions- sowie die Kompressions-Expansionsisothermen beider Polymere mit Cholesterol-Anker. Diese beiden „Teilpolymere“ zeigen wie bereits die hyperververzweigten Block-Copolymere, deren Isothermen zuvor besprochen wurden, eine hohe Oberflächenaktivität. Ihre maximal erreichten Oberflächendrücke vor Eintritt des Monolayer-Kollapses betragen nur wenige mN m^{-1} weniger als die maximalen Drücke der beiden zuvor besprochenen Polymere. Für Ch-PEG₃₁ tritt der Schichtkollaps bei $\pi = 32,6 \text{ mN m}^{-1}$, bei Ch-*hb*PG₂₁ bei $\pi = 34,9 \text{ mN m}^{-1}$ ein (siehe Abbildung 5.34 a). Die für das Erreichen der maximalen Oberflächendrücke verantwortliche Komponente scheint daher das in allen vier Makromolekülen terminal gebundene Cholesterol zu sein. Der Knickpunkt, welcher bereits zuvor bei einem hohen Oberflächendruck beobachtet wurde, kann auch hier auf ein dichteres Aneinanderrücken der Cholesterol-Reste zurückgeführt werden. Die deutlichere Ausprägung dieses Punktes in der Isotherme von Ch-PEG₃₁ gegenüber der Isotherme von Ch-*hb*PG₂₁ unterstützt die Hypothese, dass die PEG-Kette unter der Wasseroberfläche während des Zusammenrückens der Cholesterol-Reste von einer Knäuel- in eine gestreckte Konformation übergeht. Der Knickpunkt der Isothermen tritt bei $\pi = 28,8 \text{ mN m}^{-1}$ für Ch-PEG₃₁ und bei $\pi = 27,9 \text{ mN m}^{-1}$ für Ch-*hb*PG₂₁ auf.

Die Isotherme von Ch-PEG₃₁ weist ein Umwandlungsplateau bei $\pi \approx 7,4 \text{ mN m}^{-1}$ auf, welches durch das Absinken der PEG-Einheiten in die wässrige Subphase hervorgerufen wird. [85, 86] Dies wird durch das Nichtauftreten dieses Umwandlungssignals in der Isotherme des Ch-*hb*PG₂₁, welches keinen PEG-Block enthält, bestätigt. Die Flächendifferenz zwischen den beiden Isothermen beträgt bei $\pi = 10,0 \text{ mN m}^{-1}$ $81 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$. Die höhere Affinität der PEG-Einheit gegenüber der hyperververzweigten Einheit an die Wasseroberfläche zu gelangen ist ebenfalls die Ursache für den größeren Flächenbedarf der Moleküle, welcher aus der Verschiebung der Isotherme auf der Flächenachse abzulesen ist. Die hyperververzweigte, stark

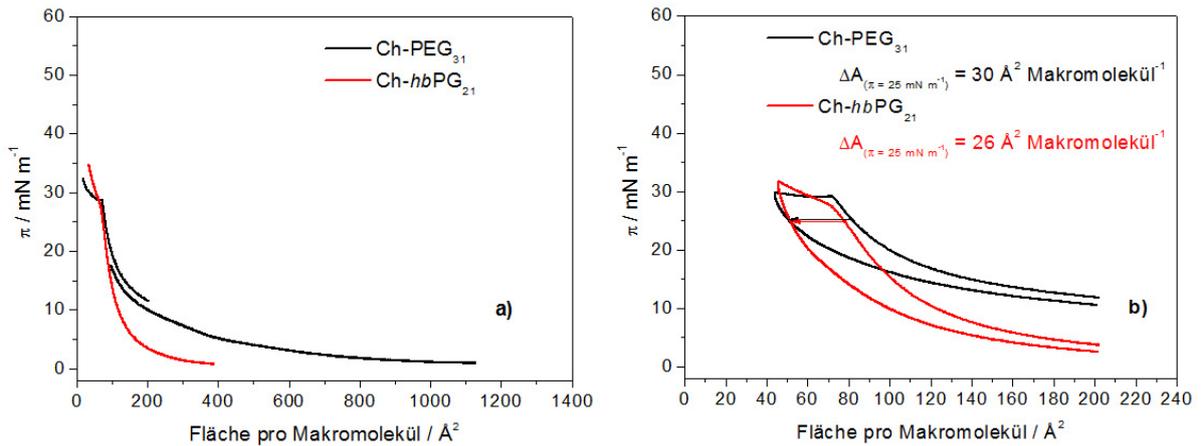


Abbildung 5.34.: a) Kompressionsisothermen der reinen Polymere Ch-PEG₃₁ und Ch-hbPG₂₁; b) Kompressions-Expansionsisothermen der reinen hyperverzweigten Polymere Ch-PEG₃₁ und Ch-hbPG₂₁. Die Flächendifferenz wurde aufgrund der sehr hohen Oberflächenaktivität der Substanzen und experimenteller Bedingungen bei einem Oberflächendruck von $\pi = 25,0 \text{ mN m}^{-1}$ ausgelesen. $\theta = 20^\circ \text{ C}$.

hydrophile Einheit sinkt vermutlich bereits nach dem Spreitvorgang in die Subphase ab.

Auch bei den beiden Hysteresekurven in Abbildung 5.34 b wird die Oberflächendifferenz bei $\pi = 25,0 \text{ mN m}^{-1}$ ausgelesen. Für Ch-PEG₃₁ wird eine Differenz von $30 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ gemessen, für Ch-hbPG₂₁ eine Differenz von $26 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$. Die Flächendifferenzen beider „Teilpolymere“ liegen damit sehr nah beieinander. Die Monolayer beider Makromoleküle relaxieren bei Expansion annähernd wieder auf den Flächenbedarf, der bei Kompression pro Makromolekül beobachtet wurde. Die Polymere tauchen also wieder annähernd in die vorherige Konformation auf, die nach dem Spreiten der Substanz an der Luft-Wasser-Grenzfläche eingenommen wurde. Auch bei diesen Isothermen ist Cholesterol der flächenbestimmende Faktor.

Zusammenfassend kann für die hyperverzweigten Block-Copolymere und ihre „Teilpolymere“ mit Cholesterol-Anker festgestellt werden, dass sie über eine hohe Oberflächenaktivität verfügen, deren flächenbestimmende Einheit der Cholesterol-Rest ist. Sie sind bis zu hohen lateralen Oberflächendrücken kompressibel. Diese liegen jedoch unterhalb des maximal erreichten Oberflächendrucks für die Kompression des reinen Cholesterols. Ein Absinken der PEG-Blöcke, sowie die durch die PEG- und PG-Blöcke verhinderte Umwandlung des Cholesterols lassen sich aus den Kompressionsisothermen ablesen. Aus den Hystereseuntersuchungen

erkennt man deutlich die Funktion des Cholesterols als Anker sowie die Hydrophilie des kovalent gebundenen Rhodamin-Farbstoffes. Den Einfluss der hyperverzweigten PG-Blöcke der Polymere kann man jedoch aus diesen Untersuchungen nicht beurteilen.

Kompressionsisothermen der gemischten Monolayer bestehend aus Phospholipid:hyperverzweigte Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker

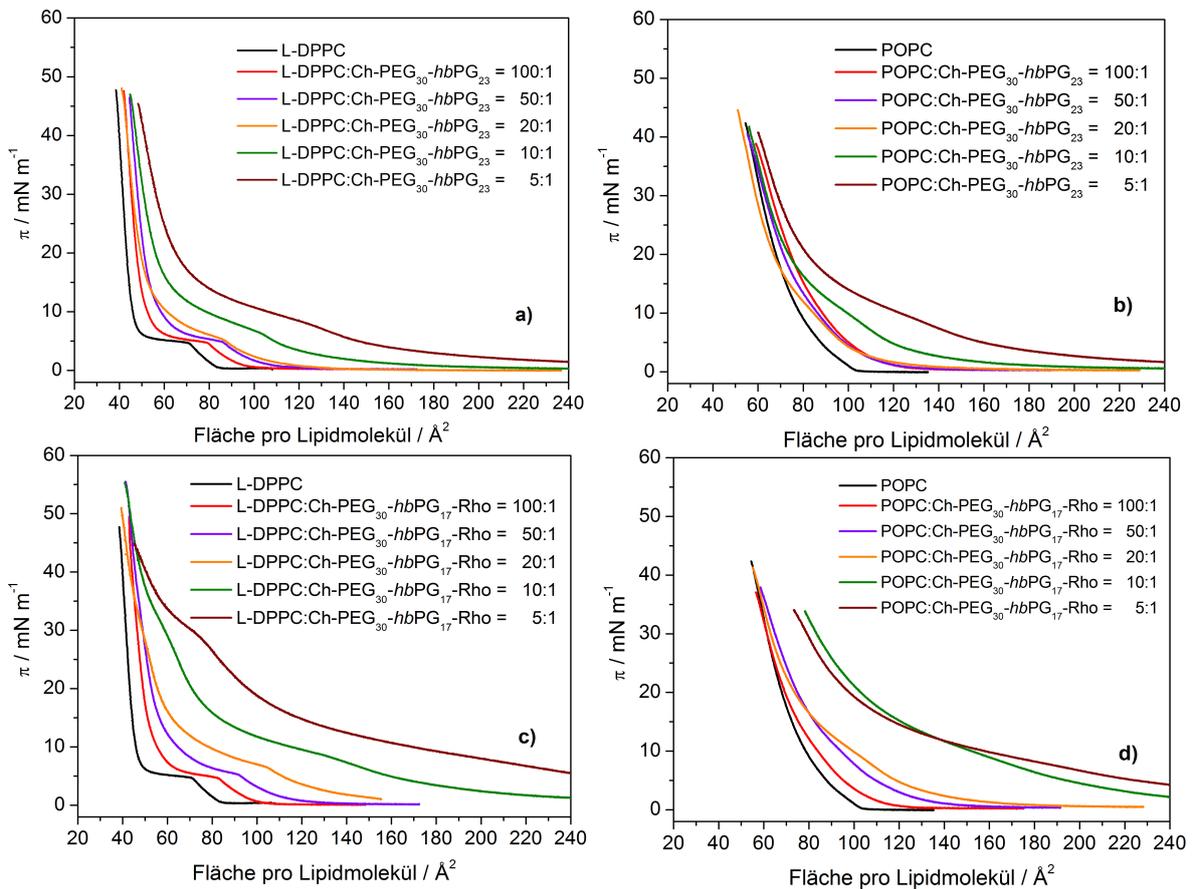


Abbildung 5.35.: Kompressionsisothermen der gemischten Lipid:Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃- bzw. Lipid:Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho-Monolayer im Vergleich zur reinen Lipidisotherme. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

DPPC bzw. POPC in Mischung mit den hyperverzweigten Block-Copolymeren mit Cholesterol-Anker Die Kompressionsisothermen der DPPC- bzw. POPC-Mischungen mit den beiden hyperverzweigten Block-Copolymeren Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ bzw. Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho sind in Abbildung 5.35 dargestellt. Die charakteristischen Daten der Monolayer können in Tabelle 5.5 nachgelesen werden.

System	Aus der Isotherme ausgelesene π/A -Werte					
	Abschluss der Phasenumwandlung		Beginn der Phasenumwandlung		Lift-Off-Fläche pro Lipidmolekül	
	$mN m^{-1}$ Å^2	$mN m^{-1}$ Å^2	$mN m^{-1}$ Å^2	$mN m^{-1}$ Å^2	$mN m^{-1}$ Å^2	$mN m^{-1}$ Å^2
L-DPPC	5,9	46	4,3	69	0,0	84
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 100:1	6,3	52	4,7	82	0,0	99
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 50:1	6,9	59	5,0	89	0,0	120
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 20:1	9,3	57	5,3	89	0,0	140
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 10:1	12,6	60	6,3	106	0,0	220
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 5:1	14,7	67	7,7	132	0,0	350
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 100:1	6,3	55	4,6	85	0,0	104
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 50:1	7,9	58	5,4	94	0,0	133
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 20:1	n.a.		27,7	51	-	
	11,0	61	6,6	106	0,0	> 180
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 10:1	n.a.		28,5	61	-	
	13,9	76	8,4	133	0,0	304
L-DPPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 5:1	n.a.		28,5	76	-	
	14,0	109	7,6	207	0,0	465
POPC	-		-		0,0	104
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 100:1	n.a.		n.a.		0,0	≈ 140
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 50:1	n.a.		n.a.		0,0	≈ 140
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 20:1	n.a.		n.a.		0,0	≈ 170
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 10:1	n.a.		6,9	111	0,0	≈ 230
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₂₃ = 5:1	n.a.		6,5	146	0,0	≈ 320
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 100:1	n.a.		n.a.		0,0	≈ 131
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 50:1	n.a.		7,1	102	0,0	≈ 167
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 20:1	n.a.		7,1	110	0,0	≈ 200
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 10:1	n.a.		8,7	162	0,0	> 285
POPC:Ch-PEG ₃₀ -hbPG ₁₇ -Rho = 5:1	n.a.		6,5	202	0,0	> 370

Tabelle 5.5.: Auswertung der Kompressionsisothermen der Lipid:Polymer-Mischungen. Die geglätteten Lift-Off-Punkte wurden als Schätzwerte aus den Kompressionsisothermen (siehe Abbildung A.12) ausgelesen. Die Phasenübergangspunkte wurden als Schnittpunkte zweier Tangenten an die jeweiligen aufeinandertreffenden Abschnitte der Kompressionsisothermen ausgelesen (nicht dargestellt). $\theta = 20 \text{ }^\circ\text{C}$. n.a. = nicht aus dem Graphen ablesbar.

Die Isothermen der gemischten Monolayer verschieben sich mit wachsendem Polymergehalt zu größeren Flächen pro Lipidmolekül, da die wachsende Konzentration der Polymere in die Berechnung der Isothermen mit eingeht. Vergleicht man die Verschiebung der Isothermen der gemischten Monolayer der beiden Polymere mit L-DPPC, so fällt auf, dass alle DPPC-Isothermen, gemischt mit dem Rhodamin-gelabelten hyperverzweigten Polymer, den größeren Flächenbedarf pro Lipidmolekül aufweisen als die Isothermen der ungelabelten Polymere in Mischung mit dem Lipid. Ebenso verhält es sich für die Mischungen beider Polymere mit POPC. Auch hier ist der Flächenbedarf größer, wird POPC mit dem Fluoreszenz-gelabelten Polymer kogespreitet. Die Flächendifferenzen pro Lipidmolekül sind hierbei jedoch vor allem für die Mischungen mit hohem Polymeranteil (10:1 und 5:1) geringer als dies für die Mischungen mit L-DPPC beobachtet wurde.

Komprimiert man die gemischten Lipid:Polymer-Monolayer, so erzeugt man für die L-DPPC-Mischisothermen eine Phasenumwandlung, die der LE-/LC-Umwandlung des DPPC entspricht. Je höher der Polymeranteil in Mischung mit DPPC, desto breiter wird der Umwandlungsbereich, der Anstieg wird steiler und die Phasenumwandlung verschiebt sich zu höheren Oberflächendrücken von bis zu ca. $10,0 \text{ mN m}^{-1}$. Auch für diese Systeme kann also eine Stabilisierung und damit eine Bevorzugung der flüssig-expandierten Phase an der Luft-Wasser-Grenzfläche geschlussfolgert werden, während die flüssig-kondensierte Phase destabilisiert wird. Doch auch bei den POPC:Polymer-Mischsystemen tritt bei Kompression der expandierten Phase zwischen $5,0$ und ca. $12,0 \text{ mN m}^{-1}$ eine „Phasenumwandlung“ auf, die eindeutig nicht von einer LE-/LC-Umwandlung stammen kann. Dieses Signal ist vermutlich mit dem Absinken der PEG-Kette gleichzusetzen, welches bei den reinen Polymerisothermen als Umwandlungssignal bei ca. $7,4 \text{ mN m}^{-1}$ auftritt. [85, 86]

Auch bei den Isothermen der L-DPPC:Polymer-Mischungen muss davon ausgegangen werden, dass dieses eben beschriebene Signal das Absinken des PEG-Blockes anzeigt, jedoch zusätzlich von der LE-/LC-Phasenumwandlung des DPPC überlagert ist. Da der hyperverzweigte hydrophile Block der Polymere vermutlich von Beginn des Experimentes an, also direkt nach dem Spreitprozess, die Luft-Wasser-Grenzfläche verlassen hat und in die wässrige Subphase abgesunken ist, verbleiben die Cholesteroleinheit und bis zum genannten Oberflächendruck die PEG-Kette als Anker an der Grenzfläche. Sie stehen in Wechselwirkung mit den expandierten POPC- bzw. den kondensierten DPPC-Monolayern und halten die polymeren PEG- und hyperverzweigten PG-Blöcke in der Nähe der Luft-Wasser-Grenzfläche und damit in der Nähe der hydrophilen Phospholipid-Kopfgruppen. Hydrophil-hydrophile Wech-

selwirkungen zwischen den polymeren Resten und den Phospholipidkopfguppen sowie die Ausbildung von Wasserstoffbrücken unter der Monoschicht sind sehr wahrscheinlich.

Ein weiterer markanter Hinweis auf Wechselwirkungen zwischen Lipid und Polymer unter dem Phospholipid-Monolayer ist die zusätzliche Phasenumwandlung, die für die Mischungen L-DPPC:Ch-PEG₃₀-*hb*PG₁₇-Rho auftreten (siehe Abbildung 5.35 c). Besonders augenscheinlich ist sie für die Mischungen 20:1 bis 5:1, sicherlich aber auch vorhanden für die Mischungen mit den noch höheren Lipidanteilen. Diese zweite Phasenumwandlung tritt bei einem Oberflächendruck von 30,0 mN m⁻¹ auf. Da sie in den drei anderen gemischten Systemen, die in Abbildung 5.35 gezeigt sind, nicht auftritt, kann ausgeschlossen werden, dass es sich hierbei um die Umwandlung der PEG-Einheit von einem Knäuel in eine gestreckte Anordnung handelt, wie es für die Kompressionsisothermen der ungemischten Polymermonolayer geschlussfolgert wurde (siehe Abbildung 5.33 a und 5.34 a). Stattdessen ist anzunehmen, dass diese Besonderheit des Systems auf die strukturellen Unterschiede zwischen Ch-PEG₃₀-*hb*PG₂₃ und Ch-PEG₃₀-*hb*PG₁₇-Rho zurückzuführen ist, die in Form einer Differenz von 6 PG-Einheiten im hyperverzweigten hydrophilen Block und in der an den hyperverzweigten kürzeren Block von Ch-PEG₃₀-*hb*PG₁₇-Rho per Klick-Reaktion angebundene fluoreszierende Rhodamin-Einheit auftreten. Offensichtlich besteht eine Wechselwirkung zwischen den hydrophilen PG- und Rhodamin-Einheiten des Makromoleküls mit der kondensierten Phase des DPPC-Monolayers, da für das gleiche Polymer kein derartiger Umwandlungsbereich in Wechselwirkung mit dem nur flüssig-expandiert vorliegenden POPC-Monolayer auftritt. Die Kollaps-Oberflächendrücke aller gemischten DPPC- bzw. POPC-Systeme mit beiden Block-Copolymeren mit Cholesterin-Anker treten im Bereich der Kollaps-Oberflächendrücke der Isotherme der reinen Lipidsysteme ein.

Die Hysteresenanalysen der 10:1-Mischungen beider Phospholipide mit beiden Block-Copolymeren (siehe Abbildung A.12 c und d) zeigen die Stabilität dreier der gemischten Monoschichten an. Die Expansionsisothermen, die im direkten Anschluss an die jeweiligen Kompressionsisothermen gemessen wurden, verlaufen mit dieser bis auf geringe Flächendifferenzen von 2 bzw. 4 Å² Molekül⁻¹ nahezu deckungsgleich. Der Monolayer der Mischung L-DPPC:Ch-PEG₃₀-*hb*PG₁₇-Rho = 10:1 jedoch zeigt bei einem Oberflächendruck von 10,0 mN m⁻¹ eine Flächendifferenz zwischen der Kompressions- und der Expansionsisotherme von 27 Å² Molekül⁻¹ und die Verläufe beider Teilkurven dieser Hystereseisotherme sind nicht identisch (siehe Abbildung A.12 d). Die bei hohen Oberflächendrücken von ca. 30,0 mN m⁻¹ nur für diese vier Mischungen auftretende Phasenumwandlung während der Kompression tritt bei Ex-

pansion des Monolayers nicht wieder auf. Das Auftreten der LE-/LC-Phasenumwandlung und der PEG-Block-Umwandlung dagegen verläuft bei Expansion entsprechend dem Umwandlungsereignis während der Kompression. Ebenso gilt dies für die drei stabileren Mischungen. Diese Beobachtung lässt den Schluss zu, dass der PEG-Block bei der Expansion der Fläche pro Lipidmolekül nicht in der Subphase verbleibt, obwohl dies auf der Grundlage seiner hydrophilen Struktur anzunehmen wäre.

DPPC bzw. POPC in Mischung mit den „Teilpolymeren“ mit Cholesterol-Anker

Die Kompressionsisothermen beider Phospholipide in Interaktion mit den beiden „Teilpolymeren“ Ch-PEG₃₁ und Ch-*hb*PG₂₁ wurden untersucht und in Abbildung 5.36 vergleichend dargestellt. Alle charakteristischen Datenpunkte der Isothermen sind in der Tabelle 5.6 verzeichnet.

Auf den ersten Blick fällt beim Vergleich der Kompressionsisothermen der „vollständigen“ Lipid:Block-Copolymer-Isothermen (siehe Abbildung 5.35) mit den Isothermen der „Teilpolymer“-Mischungen (siehe Abbildung 5.36) auf, dass der Kurvenverlauf für die Lipid:Ch-PEG₃₀-*hb*PG₂₃-Mischung (siehe Abbildung 5.35 a und b) dem Kurvenverlauf der Lipid:Ch-PEG₃₁-Mischisothermen (siehe Abbildung 5.36 a und b) übereinstimmt. Die Lift-Off-Flächen dieser gemischten Lipid:Block-Copolymer- und der Lipid:„Teilpolymer“-Kompressionsisothermen stimmen bis auf geringe Flächenabweichungen pro Lipidmolekül überein. Die geringfügigen Abweichungen können durch das näherungsweise Ablesen der Lift-Off-Flächen aus den sehr flachen Kurvenverläufen der Isothermen begründet werden.

Bei der Kompression der DPPC- und POPC-Systeme, gemischt mit Ch-PEG₃₁, wird im Oberflächendruckbereich zwischen 5,0 und 10,0 mN m⁻¹ eine Phasenumwandlung beobachtet, die jeweils als breites Umwandlungssignal in der Isotherme zu erkennen ist. Die Umwandlungsbereiche werden mit steigender Polymerkonzentration stark verbreitert und zu größeren Flächen sowie zu höheren Oberflächendrücken verschoben. Wie oben bereits beschrieben, kann diese Umwandlung als Absinken der PEG-Kette in die wässrige Subphase verstanden werden, die im Fall der DPPC:Polymer-Mischsysteme zusätzlich von der LE-/LC-Phasenumwandlung überlagert wird. Diese Interpretation wird durch das Fehlen dieses Umwandlungsplateaus in den POPC:Ch-*hb*PG₂₁-Kompressionsisothermen (siehe Abbildung 5.36 d) und den schmalen und schärfer abgegrenzten LE-/LC-Umwandlungsbereichen der L-DPPC:Ch-*hb*PG₂₁-Isothermen (siehe Abbildung 5.36 c) bestätigt.

System	Aus der Isotherme ausgelesene π/A -Werte					
	Abschluss der Phasenumwandlung		Beginn der Phasenumwandlung		Lift-Off-Fläche pro Lipidmolekül	
	$mN m^{-1}$	Å^2	$mN m^{-1}$	Å^2	$mN m^{-1}$	Å^2
L-DPPC	5,9	46	4,3	69	0,0	84
L-DPPC:Ch-PEG ₃₁ = 100:1	5,9	54	4,6	79	0,0	104
L-DPPC:Ch-PEG ₃₁ = 50:1	6,2	58	4,9	80	0,0	114
L-DPPC:Ch-PEG ₃₁ = 20:1	7,2	67	5,5	87	0,0	155
L-DPPC:Ch-PEG ₃₁ = 10:1	10,8	61	6,3	108	0,0	210
L-DPPC:Ch-PEG ₃₁ = 5:1	14,2	66	7,0	128	0,0	290
L-DPPC:Ch-hbPG ₂₁ = 100:1	4,9	51	3,8	75	0,0	89
L-DPPC:Ch-hbPG ₂₁ = 50:1	5,8	50	4,4	75	0,0	89
L-DPPC:Ch-hbPG ₂₁ = 20:1	6,9	54	4,8	79	0,0	97
L-DPPC:Ch-hbPG ₂₁ = 10:1	8,0	59	5,6	85	0,0	108
L-DPPC:Ch-hbPG ₂₁ = 5:1	11,6	69	7,7	94	0,0	140
POPC	-	-	-	-	0,0	104
POPC:Ch-PEG ₃₁ = 100:1	16,8	≈ 69	8,0	83	0,0	≈ 109
POPC:Ch-PEG ₃₁ = 50:1	16,1	≈ 69	8,6	83	0,0	≈ 127
POPC:Ch-PEG ₃₁ = 20:1	17,1	≈ 68	8,5	89	0,0	≈ 161
POPC:Ch-PEG ₃₁ = 10:1	16,7	70	6,8	135	0,0	≈ 230
POPC:Ch-PEG ₃₁ = 5:1	15,6	75	6,8	135	0,0	≈ 314
POPC:Ch-hbPG ₂₁ = 100:1	-	-	-	-	0,0	98
POPC:Ch-hbPG ₂₁ = 50:1	-	-	-	-	0,0	99
POPC:Ch-hbPG ₂₁ = 20:1	-	-	-	-	0,0	101
POPC:Ch-hbPG ₂₁ = 10:1	-	-	-	-	0,0	114
POPC:Ch-hbPG ₂₁ = 5:1	-	-	-	-	0,0	138

Tabelle 5.6.: Charakteristische Daten von Kompressionsisothermen der Lipid-, „Teilpolymer“-Mischungen. Die durch das Zumischen hoher Polymeranteile geglätteten Lift-Off-Punkte der untersuchten Isothermen wurden als Schätzwerte aus den Diagrammen (siehe Abbildung A.13) ausgelesen. Die Phasenübergangspunkte wurden als Schnittpunkte zweier Tangenten an die jeweiligen aufeinandertreffenden Abschnitte der Kompressionsisothermen ausgelesen (nicht dargestellt). $\theta = 20^\circ C$.

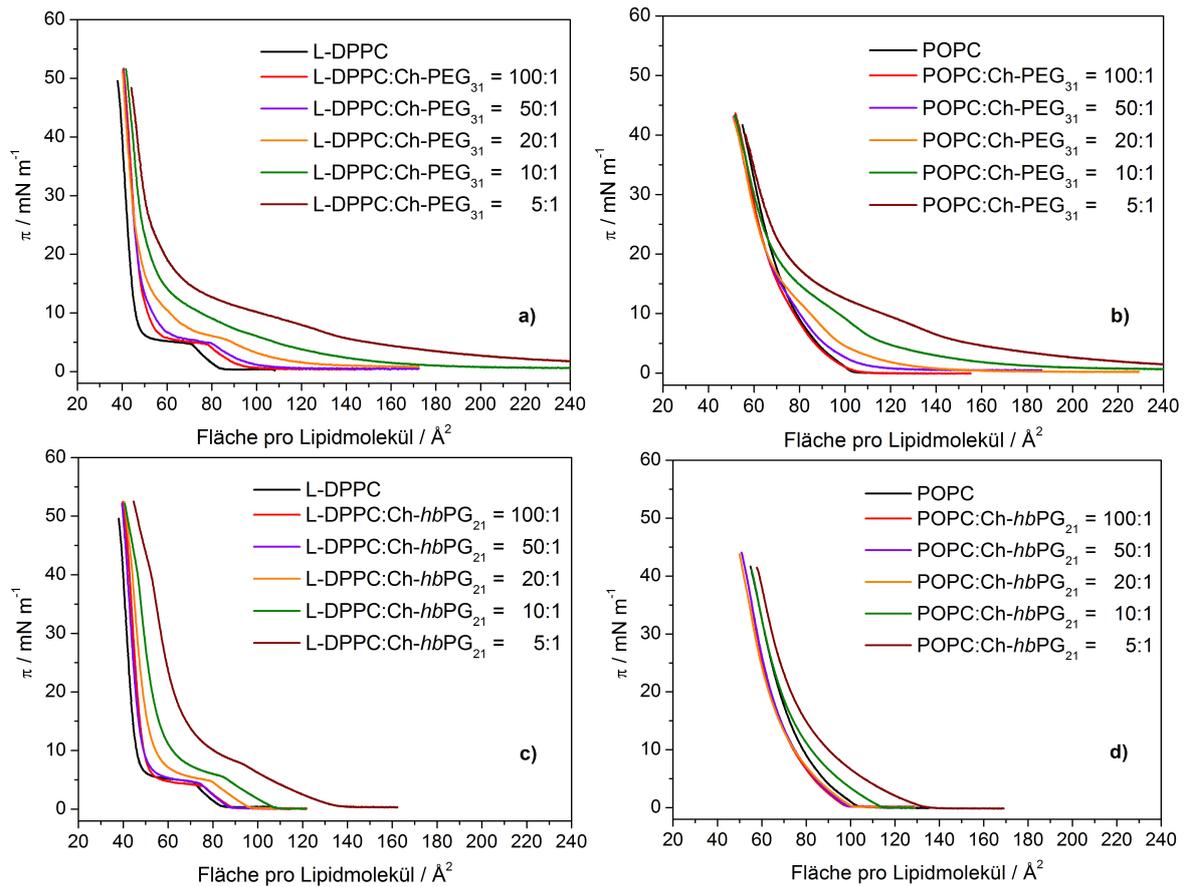


Abbildung 5.36.: Kompressionsisothermen der gemischten Lipid-„Teilpolymer“-Monolayer im Vergleich zur reinen Lipidisotherme. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

In Wechselwirkung mit Ch-*hbPG*₂₁ an der Luft-Wasser-Grenzfläche tritt eine Verschiebung der Kompressionsisothermen zu größeren Flächen pro Lipidmolekül auf. Diese ist nur sehr gering für die POPC-Mischungen (siehe Abbildung 5.36 d). Ebenso wird der Anstieg der Kompressionsisothermen nur um ein Weniges abgeflacht.

Vergleicht man nun den Einfluss beider polymerer Blöcke auf die Veränderung des Flächenbedarfes pro Lipidmolekül, so ist deutlich, dass der PEG-Block den flächenbestimmenden Einfluss durch seinen stärkeren Einbau in die Monoschicht an der Wassergrenzfläche hat, während der hyperverzweigte Block vorwiegend in die wässrige Subphase absinkt und nur einen sehr geringen Einfluss auf die Fläche pro Lipidmolekül aufweist. Die LE-/LC-Phasenumwandlung der DPPC-Moleküle wird mit zunehmender Menge des hyperverzweigten

Makromoleküls im Gemisch zu geringfügig größeren Flächen pro Molekül verschoben und ist zum maximalen Polymergehalt in der Mischung hin zunehmend unschärfer definiert. Der Plateaubereich weist einen größeren Anstieg auf und ist zu höheren Oberflächendrücken verschoben. Genau wie der PEG-Block ist also der hydrophile hyperverzweigte Block der Polymere fähig zur Destabilisierung der kondensierten Phospholipidphase an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Beide Blöcke sind fähig dazu, sich in die expandierten Phasen der Phospholipidmonolayer einzubauen und Wechselwirkungen mit den Phospholipidkopfgruppen nahe der Wasseroberfläche einzugehen. Die 10:1- und die 5:1-Mischungen der L-DPPC:Ch-*hbPG*₂₁-Monolayer zeigen jedoch eine Besonderheit bei Oberflächendrücken von $40,0 \text{ mN m}^{-1}$. Ein reproduzierbares Umwandlungssignal zeigt Wechselwirkungen des hyperverzweigten Polymerblockes mit der stark geordneten Lipid-Grenzschicht an. Obwohl ein Absinken des hyperverzweigten Makromoleküls in die wässrige Subphase zu erwarten wäre, treten dennoch Wechselwirkungen beider Molekülspezies an der Luft-Wasser-Grenzschicht auf. Da dieses Wechselwirkungssignal nicht für die DPPC:Ch-PEG₃₁-Mischungen zu beobachten ist, ist es sehr unwahrscheinlich, dass die auftretenden zwischenmolekularen Kräfte durch die Phospholipid:Cholesterol-Wechselwirkungen hervorgerufen werden. Vielmehr wirkt Cholesterol wie bereits zuvor vermutet, auch hier als molekularer Anker, der die hydrophilen Polymerblöcke an der Grenzfläche hält und damit die hydrophil-hydrophilen Wechselwirkungen ermöglicht.

Das hier gefundene Umwandlungsplateau steht mit dem nur für die Mischungen L-DPPC:Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho gefundenen Plateau (siehe Abbildung 5.35 c) in direktem Zusammenhang. Der Oberflächendruck-Unterschied ist durch die Einflüsse des zusätzlichen PEG-Blockes des „Gesamtpolymers“ zu erklären. Dass diese Umwandlung nur für die Lipidmonolayer, die mit dem Rhodamin-gelabelten Polymer kogespreitet wurden, auftreten, kann man als deutlichen Einfluss des hydrophilen Fluoreszenz-Farbstoffes interpretieren. Die Wechselwirkung des hydrophilen hyperverzweigten Blockes des ungelabelten Polymers ist mit den Phospholipidkopfgruppen vermutlich allein zu gering, um diese Umwandlung innerhalb der kondensierten Phospholipidphase hervorzurufen. Verstärkt durch das Rhodamin-Label werden die Wechselwirkungen unterhalb des DPPC-Monolayers dagegen auch in den Kompressionsisothermen deutlich.

Die Messergebnisse zeigen, dass davon auszugehen ist, dass nach Kompression der gemischten Monolayer zu hohen Oberflächendrücken nur noch DPPC und der Cholesterol-Anker der Polymere an der Wasseroberfläche zu finden sind. Daher wurden zur Verdeutlichung des Einflusses des linearen PEG- und des hyperverzweigten PG-Blockes auf das Anlagerungsver-

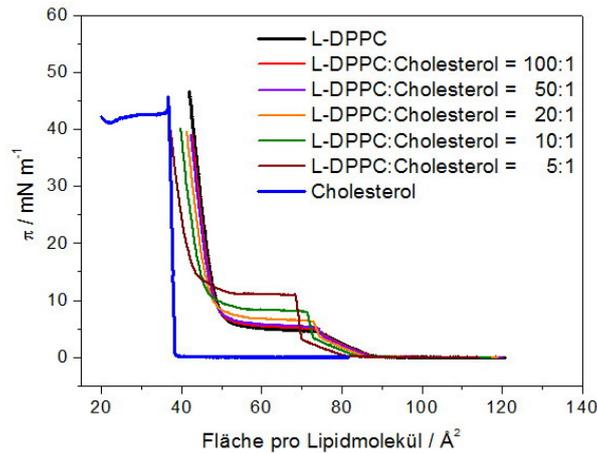


Abbildung 5.37.: Berechnete Kompressionsisothermen der Mischungen L-DPPC:Cholesterol in den Mischungsverhältnissen 100:1 bis 5:1 als theoretischer Vergleich zu den zuvor gezeigten Isothermen der DPPC:Block-Copolymer-Gemische.

halten des Cholesterols an die Randlinien der DPPC-LC-Domänen die Isothermen der Mischsysteme L-DPPC:Cholesterol in den verschiedenen molaren Verhältnissen zwischen 100:1 und 5:1 aus den Isothermen des reinen Lipids und des reinen Cholesterols berechnet. Diese theoretischen Isothermen (siehe Abbildung 5.37) zeigen klare Abweichungen von den gemessenen DPPC:Block-Copolymer- und DPPC:„Teilpolymer“-Isothermen (siehe Abbildungen 5.35 und 5.36). Die berechneten Mischisothermen verschieben sich mit wachsendem Cholesterol-Anteil zu kleineren Flächen pro Lipidmolekül und keine der gemischten Isothermen weist eine LC-Phase bei größeren Flächen als der des reinen Lipids auf. Sowohl die Isothermen der DPPC-Mischungen mit den hyperverzweigten Block-Copolymeren als auch die Mischungen mit den „Teilpolymeren“ sind aufgrund des großen Volumens und der Gesamtmolmasse der Makromoleküle zu immer größer werdenden Flächen pro Lipidmolekül verschoben. Selbst der sich vermutlich nur unterhalb der Wasseroberfläche aufhaltende hyperverzweigte PG-Block hat also schon einen deutlichen rechnerischen Einfluss, aber vor allem auch einen Größeneinfluss auf den Cholesterol-Rest und verändert damit dessen Wechselwirkungsverhalten mit den flüssig-kondensierten Lipiddomänen an der Grenzfläche. Auch die Form der berechneten Isothermen unterscheidet sich deutlich vom Verlauf der gemessenen Isothermen. Während die experimentell bestimmten Kompressionsisothermen einen flachen Anstieg und einen allmählichen Übergang von einem expandierten in einen kondensierten Phasenzustand aufweisen, findet man zu Beginn des Lipidphasenumwandlungs-Plateaus einen scharfen Knickpunkt. Ähnlich ist allen Isothermen, dass mit zunehmendem Anteil an Fremdmolekülen das Phasenumwandlungsplateau des Lipids zu größeren Oberflächendrücken verschoben wird. Die flüssig-expandierte Phase des Phospholipids wird also in jedem Fall stabilisiert, die flüssig-

kondensierte Phase wird destabilisiert. Aufgrund der qualitativ sehr starken Abweichung der berechneten Isothermen wurde auf eine tabellarische Auflistung charakteristischer Datenpunkte verzichtet.

5.2.2. Epi-Fluoreszenzmikroskopie an gemischten Phospholipid:Polymer mit Cholesterol-Anker-Systemen

Epi-Fluoreszenzmikroskopie an Mischsystemen von DPPC und den hyperverzweigten Block-Copolymeren mit Cholesterol-Anker

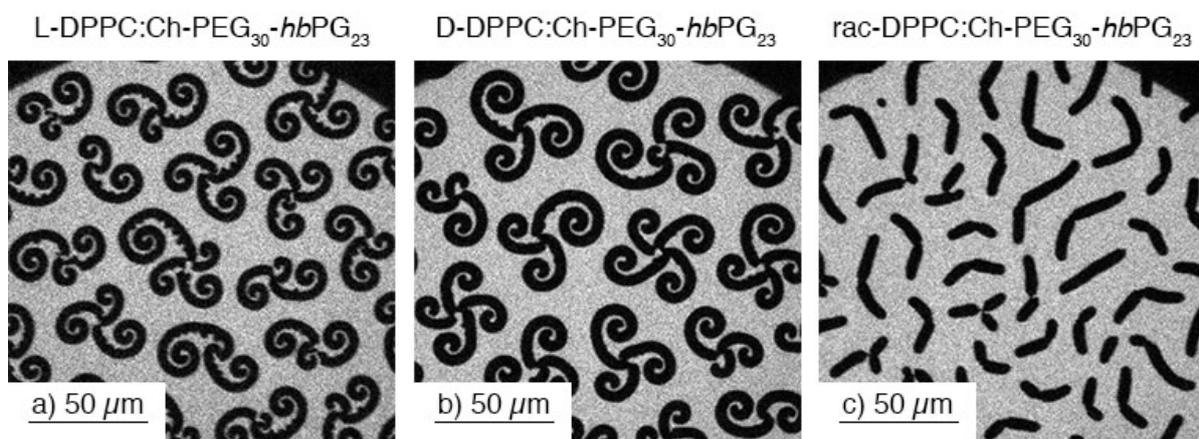


Abbildung 5.38.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ = 10:1-Mischungen a) 11,1 mN m⁻¹; b) 10,0 mN m⁻¹; c) 9,5 mN m⁻¹. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

Die Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen der DPPC-Mischungen mit Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ bzw. Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho in verschiedenen molaren Mischungsverhältnissen sind in den Abbildungen 5.38, 5.39, 5.40, 5.41, A.14 und A.15 dargestellt. Wie zu erkennen ist, treten bereits ab einem Mischungsverhältnis von 50:1 deutliche Deformationen der typischen Propellerdomänen auf. Wie bei den zuvor untersuchten mit den PGMA-Verbindungen mit terminaler Perfluoralkylkette gemischten Phospholipidmonoschichten werden bei konstanter Monolayer-Kompression ausgedünnte Domänen gebildet, die jedoch immer noch die typische DPPC-Domänenform aufweisen. Im Unterschied zu den zuvor untersuchten Systemen treten die Ausdünnungseffekte nicht nur an den Enden der Propellerarme auf, wobei ein kompaktes flüssig-kondensiertes Domänenzentrum erhalten bleibt. Stattdessen werden durch die

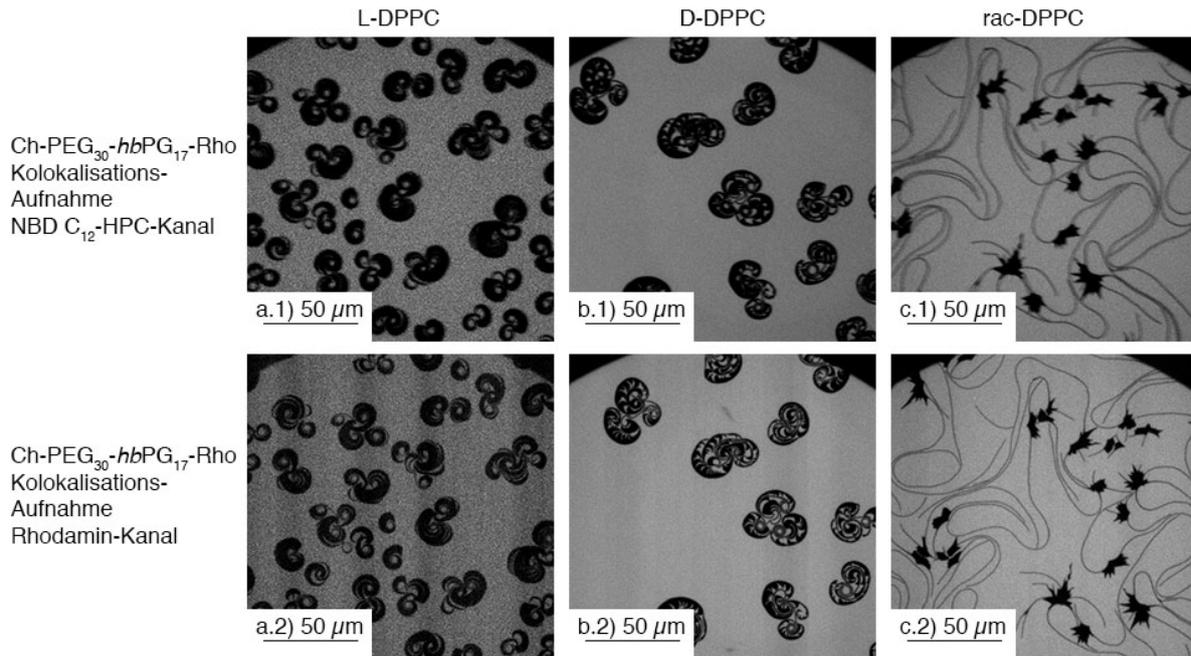


Abbildung 5.39.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener $DPPC:Ch-PEG_{30}-hbPG_{17}-Rho = 10:1$ -Mischungen a.1,a.2) $13,5 \text{ mN m}^{-1}$; b.1,b.2) $11,0 \text{ mN m}^{-1}$; c.1,c.2) $10,7 \text{ mN m}^{-1}$. 0,10-0,80 mol-% NBD C_{12} -HPC zusätzlich zur Fluoreszenz des kovalent gebundenen Rhodaminfarbstoffes am gelabelten Polymer dienten als Fluoreszenz-Farbstoff für Zweikanalexperimente. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker homogen verdünnte Formen erzeugt. Es kann also zum einen geschlussfolgert werden, dass sich, wie bereits zuvor beschrieben, Grenzlinien mit angereicherten Polymeren ausbilden, die im Vergleich zur ursprünglichen LE-/LC-DPPC-Grenzlinie stark verringerte Randspannungen aufweisen. Zum anderen kann aufgrund der homogenen Ausdünnung der Propellerformen geschlossen werden, dass die Block-Copolymere sich nicht nur in der flüssig-expandierten und im Bereich der aneinandergrenzenden LE-/LC-Phasen anreichern. Stattdessen ist eine Insertion der Polymere durch ihren Cholesterol-Anker in die flüssig-kondensierten Bereiche an der Luft-Wasser-Grenzfläche wahrscheinlich. Durch diesen Polymereinbau in die geordnete Phospholipidphase sind stärkere intermolekulare Wechselwirkungen möglich, wodurch die Ausdünnung der Domänenzentren im gleichen Maße wie die Ausdünnung der äußeren LC-Domänenbereiche erklärt werden. Hydrophile Wechselwirkungen zwischen den Phosphatidylcholin-Kopfgruppen und den hyperverzweigten PG-Einheiten der Polymere sind sehr wahrscheinlich. Die ebenfalls hydrophile PEG-Kette wirkt vermutlich wie eine Art „Platzierungs-Spacer“, der den hyperverzweigten Block in die günstigste Wechselwirkungsposition unterhalb des Phospholipid-Monolayers bringt.

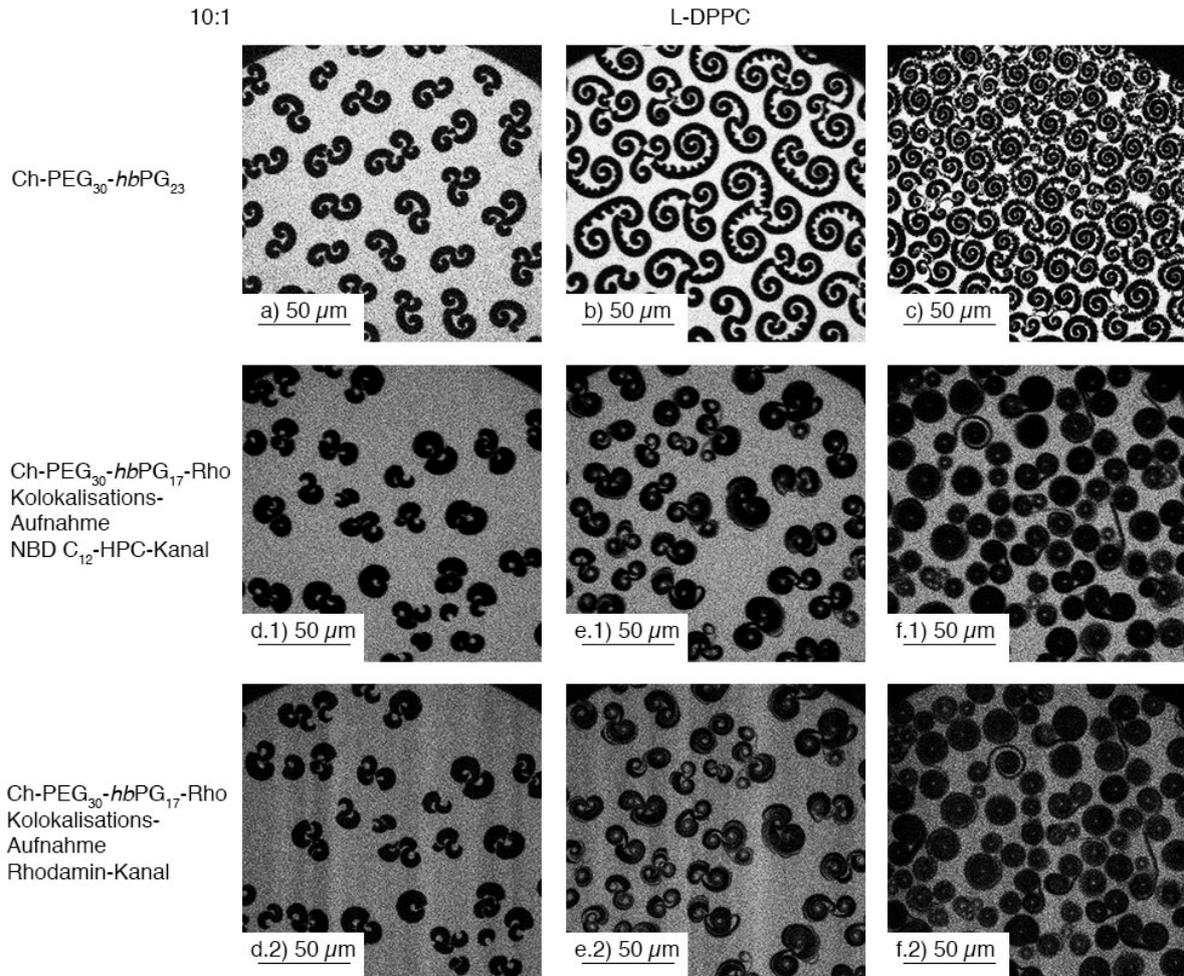


Abbildung 5.40.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen der 10:1-Mischungen von L-DPPC mit den hyperverzweigten Block-Copolymeren mit Cholesterol-Anker. Die jeweiligen Mischungen können direkt aus der Tabelle abgelesen werden. Es sind pro Mischung je drei Aufnahmen dargestellt, die bei verschiedenen lateralen Oberflächendrücken während der Monoschicht-Kompression gemessen wurden. a) $9,4 \text{ mN m}^{-1}$; b) $14,3 \text{ mN m}^{-1}$; c) $24,8 \text{ mN m}^{-1}$; d.1,d.2) $12,3 \text{ mN m}^{-1}$; e.1,e.2) $14,0 \text{ mN m}^{-1}$; f.1,f.2) $18,6 \text{ mN m}^{-1}$. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE für die Lipidmischungen mit nicht gelabeltem Polymer und 0,10-0,80 mol-% NBD C₁₂-HPC zusätzlich zur Fluoreszenz des kovalent gebundenen Rhodaminfarbstoffes am gelabelten Polymer dienten als Fluoreszenz-Farbstoff für Zweikanalexperimente.

Wie bereits auf den ersten Blick aus den Abbildungen A.14 und A.15 erkannt werden kann, ist die Domänen deformation, wie bereits auch im vorigen Abschnitt beschrieben, konzentrationsabhängig. Je höher die Beimischungsmenge der Block-Copolymere, desto dünner werden die faserartigen Strukturen. Auch die Chiralität der DPPC-Domänen kann, wie bei

den PGMA-Makromolekülen festgestellt, durch die Koexistenz der Block-Copolymere an der Luft-Wasser-Grenzfläche nicht beeinflusst werden. Die jeweils acht stereogenen Zentren der Block-Copolymere befinden sich in deren hydrophober Cholesterol-Einheit. Den Kompressionsisothermen der hier untersuchten gemischten Monoschichten zufolge (siehe Abbildung 5.35) baut sich die Cholesterol-Einheit in beide Lipidphasen an der Grenzfläche ein und verbleibt dort während der Kompression bis zum Erreichen sehr hoher Oberflächendrücke. Zum einen unterstützt dies die eben genannte Hypothese der homogenen Ausdünnung der flüssig-kondensierten Domänen durch stärkere Lipid:Polymer-Wechselwirkungen nach Einbau bestimmter Polymeranteile in die hoch geordnete Lipidphase. Zum anderen befinden sich nun die stereogenen Zentren der Polymere nicht mehr wie zuvor weit unterhalb der Wasseroberfläche, sondern im hydrophoben Fettsäurekettenbereich des DPPC, also direkt oberhalb der Wasseroberfläche. Die Grundüberlegungen, die zum Chiralitätstest der hypervverzweigten Amphiphile mit Cholesterol-Anker an DPPC-Grenzflächendomänen führten, waren einerseits die räumliche Annäherung der stereogenen Zentren beider Spezies aneinander, das Zentrum des Lipids befindet sich direkt unterhalb der Wasseroberfläche. Andererseits wurde eine Chiralitätsbeeinflussung racemischer DPPC-Gemische durch reines Cholesterol an der Luft-Wasser-Grenzfläche berichtet. [72] Wie aus den Epi-Fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen jedoch zu erkennen ist, wird für keines der untersuchten Mischungsverhältnisse beider Polymere mit DPPC die Vorzugsdrehrichtung der enantiomerenreinen DPPC-Mischungen verändert, noch wird eine Vorzugsdrehrichtung für die Mischungen mit racemischem DPPC induziert. Wie bereits für die PGMA-Derivat-Mischfilme mit DPPC gefunden, kommt es für die racemischen DPPC-Mischungen zur symmetrischen Deformation der Domänen bis hin zur Ausbildung Fingerabdruck-ähnlicher Überstrukturen. Besonders deutlich wird dieses Verhalten in den Abbildungen 5.38, 5.39 und 5.41. Die Chiralität der Phospholipide dominiert. Auch in diesem System ist die funktionelle Gruppe der Polymere, welche die stereogenen Zentren enthält, zu klein im Vergleich zur Querschnittsfläche der Phosphatidylcholin-Kopfgruppen.

Mischsysteme von DPPC mit Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ Besonders interessant ist die Art der DPPC-Domänen deformation, v. a. die dabei beobachteten Unterschiede. Die Domänen der Mischungen DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ sind vor allem durch die beschriebenen verschmälerten und an den Enden der Domänenarme stark gekrümmten Formen ausgezeichnet. Bei stärker werdender Kompression der Monoschicht lösen diese sich in den Domänenzentren, in denen sich die Propellerarme treffen, auf. Dies ist besonders deutlich zu sehen in den Aufnahmen der enantiomerenreinen DPPC:Polymer-Mischungen und tritt für alle untersuchten

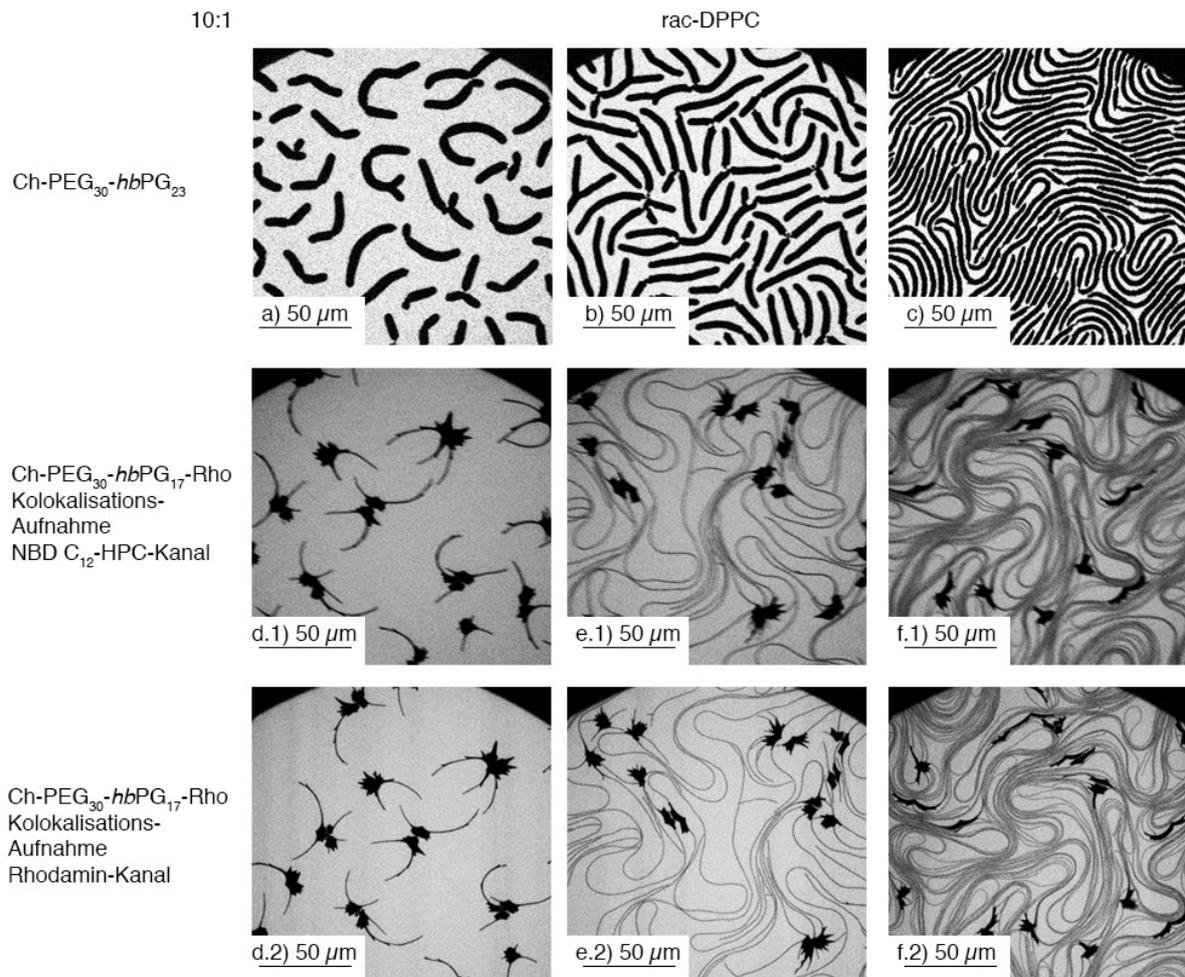


Abbildung 5.41.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen der 10:1-Mischungen von rac-DPPC mit den hyperververzweigten Block-Copolymeren mit Cholesterol-Anker. Die jeweiligen Mischungen können direkt aus der Tabelle abgelesen werden. Es sind pro Mischung je drei Aufnahmen dargestellt, die bei verschiedenen lateralen Oberflächendrücken während der Monoschicht-Kompression detektiert wurden. a) $9,4 \text{ mN m}^{-1}$; b) $11,9 \text{ mN m}^{-1}$; c) $19,3 \text{ mN m}^{-1}$; d.1,d.2) $10,2 \text{ mN m}^{-1}$; e.1,e.2) $10,8 \text{ mN m}^{-1}$; f.1,f.2) $12,4 \text{ mN m}^{-1}$. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE für die Lipidmischungen mit nicht gelabeltem Polymer und 0,10-0,80 mol-% NBD C₁₂-HPC zusätzlich zur Fluoreszenz des kovalent gebundenen Rhodaminfarbstoffes am gelabelten Polymer dienten als Fluoreszenz-Farbstoff für Zweikanalexperimente.

Mischungsverhältnisse auf (siehe Abbildungen 5.38 a und b, 5.40 b und c und A.14 a, d, g, h, j, k, m). Die Auflösung der Domänen ist umso deutlicher, je höher der angelegte laterale Oberflächendruck wird. Außerdem wird ein Teil der Moleküle der LC-Domänen bei fortschreitender Kompression aufgrund der nur noch sehr geringen zur Verfügung stehenden Fläche pro

Lipidmolekül in das Innere der gekrümmten Domänenarme gedrängt (siehe Abbildung 5.40 b). Dieses Verhalten ist ein weiterer Hinweis auf eine geringe Randspannung zwischen den aneinander grenzenden Phasen und wurde bereits bei reinen DMPC-Monolayern, welche eine geringere Randspannung als die DPPC-Monoschichten aufweisen, beobachtet. [91] DPPC selbst weist bei hohen lateralen Drücken oberhalb des Phasenumwandlungsplateaus ähnliche Ausstülpungen auf, jedoch breiter und in sehr viel geringerer Anzahl als Folge des durch den seitlichen Druck bedingten Platzmangels innerhalb des flüssig-kondensierten Bereiches.

Die racemischen DPPC:Polymer-Mischungen weisen homogen elongierte Domänen auf, welche als zusammengesetzte Faserstrukturen beschrieben werden können. Die typische Form der rac-DPPC-Domänen mit drei Armen ist dennoch in allen Mischungsverhältnissen zu erkennen (siehe Abbildungen 5.38 c und 5.41 b bzw. A.14 l und o). rac-DPPC bleibt also die formbestimmende Spezies in der Mischung. Auf den ersten Blick ähneln die von Ch-PEG₃₀-*hbPG*₂₃ induzierten DPPC-Domänen-Deformationen den durch reines Cholesterol veränderten LC-DPPC-Domänen an der Grenzfläche. [72] In den hier vorliegenden Ergebnissen jedoch entsprechen die Aufnahmen der 5:1-Mischungen von Lipid und Polymer den in der Literatur [72] gezeigten Aufnahmen der Zumischung von 2 mol-% reinen Cholesterols zu DPPC. Dies ist gleichzusetzen mit einer molaren 50:1-Mischung der Substanzen. Die zugemischte Menge des Cholesterols muss also, sobald es mit den PEG- bzw. *hbPG*-Blöcken der hier verwendeten Block-Copolymere verbunden ist, um das Zehnfache erhöht werden, um den gleichen Effekt zu bewirken wie reines Cholesterol.

Mischsysteme von DPPC mit Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho Obwohl sich die chemischen Strukturen der beiden Polymere Ch-PEG₃₀-*hbPG*₂₃ und Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho nur um sechs PG-Einheiten des hydrophilen hyperverzweigten Blockes und um die Rhodamin-Einheit unterscheiden, sind die auftretenden Domänenformen der gemischten Lipid:Polymer-Filme sehr unterschiedlich. Die DPPC:Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho-Mischungen weisen zwar ebenfalls eine sehr stark verminderte Linien- und Domänenabstände auf. Der Effekt ist bei diesen Systemen mit hohem molaren Anteil des Rhodamin-gelabelten Polymers jedoch so stark, dass in Wechselwirkung mit enantiomerenreinem DPPC separierte dünne Fasern mit einer Schlaufe am Ende neben aufgerollten „Wollknäulen“ sehr dünner Fasern der flüssig-kondensierten Phase vorliegen (siehe Abbildung 5.40 f.1, f.2 und A.15 n.1 und n.2). Auch bei diesen Domänen kommt es nicht zur Koaleszenz kompakterer Domänen. Die Fasern bleiben trotz der sehr geringen Abstände voneinander separiert.

Bereits die Domänen der 50:1-Mischungen werden zum Teil durch die amphiphilen Fremdmoleküle beeinflusst (siehe Abbildung A.15 e.1 und e.2). Die 20:1-Mischung von L- bzw. D-DPPC mit Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho weisen eine inhomogene Deformation der ursprünglichen LC-DPPC-Domänen auf. Während im Domänenzentrum kompakte Strukturen verbleiben, erscheinen die gekrümmten Domänenarme bereits verdünnt und durch die Bildung von Materialausstülpungen an den Innenseiten dieser gekrümmten Strukturen als erheblich gegenüber der typischen DPPC-Propellerform verändert (siehe Abbildung A.15). Je höher also der Anteil des Polymers in den untersuchten Mischungsreihen, desto stärker ist dessen Randspannungsminimierender Einfluss.

Bei der Wechselwirkung zwischen DPPC und dem Rhodamin-gelabelten Polymer handelt es sich vermutlich um eine Überlagerung verschiedener attraktiver Kräfte, die zum jetzigen Zeitpunkt mit den verwendeten Methoden jedoch nicht weiter aufgeklärt werden können. Die Vorzugsdrehrichtung der chiralen LC-Domänen ist z. T. nur noch schwer zu identifizieren. Bei der Analyse der Drehrichtung hilft die Betrachtung der Materialausstülpungen in den Innenseiten der gekrümmten Propellerarme. Auch diese weisen ein leichtes Vorzugsverhalten auf, welches ebenfalls in den Epi-Fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen der DPPC-Filme mit dem nicht gelabelten Polymeranalogon beobachtet werden kann. Die Wechselwirkungen von Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho mit DPPC können als komplexer und vielfältiger gegenüber den DPPC-Wechselwirkungen mit dem ungelabelten Analogon Ch-PEG₃₀-*hbPG*₂₃ verstanden werden.

Bei der Wechselwirkung der racemischen DPPC-Mischung mit dem gelabelten Block-Copolymer ist eine Faser-Bildung zu erkennen. Findet man für die 100:1-Mischung noch die typischen rac-DPPC-Domänenformen, werden diese schon bei der 50:1-Mischung stärker, jedoch symmetrisch und ohne Krümmung in eine Vorzugsrichtung deformiert. Das bedeutet, dass die Chiralität auch dieses Rhodamin-gelabelten Polymers keinen Einfluss auf die dominantere DPPC-Chiralität hat. Die LC-Strukturen der 20:1-, 10:1- und 5:1-Mischungen zeichnen sich wiederum durch ihre inhomogene Form aus. Aus einem kompakten und hoch geordneten, jedoch mit unsystematischer Form auftretenden Domänenzentrum treten schmale Fasern aus, die aus Molekülen in einem geordneten Phasenzustand aufgebaut sind und ebenfalls keine Vorzugsdrehrichtung aufweisen. Wie bereits zuvor beschrieben, kommt es durch die hohe Fluidität und Beweglichkeit dieser Monoschichten zu Oberflächen-Konvektionsprozessen und zur Ausbildung einer Fingerabdruck-analogen Überstruktur. Dies ist besonders gut in Abbildung 5.41 zu sehen. Die Mischung 20:1 weist zusätzlich die Besonderheit auf, dass an

beiden Seiten dieser Domänenfasern kurze „Dornen“ zu erkennen sind. Diese entsprechen wie zuvor dem Herausdrücken von überschüssigem, hoch geordnetem Material aus den Domänen aufgrund eines höheren molekularen Platzbedarfes, welcher innerhalb der Domänen nicht erfüllt werden kann. Zum anderen ist dies der Beweis für eine sehr niedrige Randspannung. Das Auftreten der „Dornen“ auf beiden Faserseiten weist erneut darauf hin, dass in diesen racemischen Systemen keine Wachstumsrichtung bevorzugt wird und die Chiralität des Polymers von untergeordneter Bedeutung ist. Die Aufnahmen, welche für die 5:1-Mischung abgebildet sind, zeigen noch einmal eine sehr komplexe Art der Domänen deformation. Die hier gefundenen Faserkrümmungen sind auf die Konvektionsvorgänge an der Luft-Wasser-Grenzfläche zurückzuführen.

Kolokalisations-Experimente mit den Rhodamin-gelabelten Block-Copolymeren

Die Abbildungen 5.39, 5.40, 5.41 und A.15 enthalten die Ergebnisse der Epi-Fluoreszenzmikroskopischen Kolokalisations-Experimente der DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho-Mischsysteme, bei denen mehr als ein Fluoreszenzfarbstoff angeregt und deren Fluoreszenz detektiert wurde. In den vorliegenden Untersuchungen handelte es sich um Zweikanalexperimente. Zum einen wurde die Emission des an das Polymer gebundenen Rhodamin-Labels gemessen, zum anderen die des zugemischten Fluoreszenz-gelabelten Phospholipids NBD C₁₂-HPC, welches sich nachweislich in der flüssig-expandierten Grenzflächenphase einlagert, nicht aber in die flüssig-kondensierten Bereiche eindringt. Diesem Experiment lag die Fragestellung zugrunde, ob eine Polymeranreicherung an den Rändern der kondensierten Domänen auftritt oder ob es eventuell zu einer Phasenseparation dieser gelabelten Polymere kommt. Im hier vorliegenden Fall gibt es keine deutlichen Anzeichen für eine Entmischung der Systeme bzw. eine Anreicherung der Polymere in definierten Anteilen der Grenzflächenschicht.

Der Fluoreszenzfarbstoff des Polymers ist entsprechend seines molaren Anteils in den Mischungen sehr hoch konzentriert. Um die Eigenschaften des Lipid:Polymer-Gemisches nicht zu stark zu beeinflussen, musste die Konzentration des zugegebenen Fluoreszenz-gelabelten Lipids gering gehalten werden. Aufgrund dieser experimentellen Gegebenheiten erscheinen die Aufnahmen des NBD C₁₂-HPC-Kanals teilweise unscharf. Um die Konzentrationen der beiden Fluoreszenzfarbstoffe im Monolayer einander anzugleichen, sollte die Polymerfluoreszenz durch Zumischen des ungelabelten Analogons verdünnt werden. Dies brachte jedoch nicht die gewünschte Wirkung. Die aufgetretene Lipiddomänen-Deformation durch Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho konnte bei diesem Experiment nicht reproduziert werden, da die strukturellen Differenzen

der beiden Block-Copolymere zu starke Wechselwirkungsdifferenzen hervorrufen. Auf eine Abbildung der zugehörigen Epi-Fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen wurde verzichtet. Es ist also sehr wahrscheinlich, dass neben der Differenz der 6 PG-Einheiten die Rhodamin-Einheit des gelabelten Polymers eine starke Wechselwirkung mit den hydrophilen Lipidkopfgruppen eingeht. Dies ruft eine Lipiddomänen-Veränderung hervor, die das ungelabelte Polymer nicht erzeugen kann. Damit kann eindeutig geschlossen werden, dass der Einfluss des hydrophilen Fluoreszenzlabels nicht vernachlässigt werden kann, wenn es in so hohen Mengen wie bei der vorliegenden Verbindung (fast eine Rhodamin-Einheit pro Makromolekül) kovalent gebunden wird. Zusätzlich wird erneut deutlich, dass sich die Wechselwirkungen beider Block-Copolymere nicht nur auf die LC-Domänen-Grenze beschränken, sondern die Polymere sich in die hoch geordnete Lipidphase einlagern und hydrophile Lipid:Polymer-Wechselwirkungen unterhalb des gesamten Bereiches der Domäne in der Subphase ermöglicht werden.

Epi-Fluoreszenzmikroskopie an Mischsystemen von DPPC und den „Teilpolymeren“ mit Cholesterol-Anker

Auch die Mischungen DPPC:Ch-PEG₃₁ und DPPC:Ch-*hbPG*₂₁ wurden in verschiedenen molaren Mischungsverhältnissen an der Luft-Wasser-Grenzfläche Epi-fluoreszenzmikroskopisch untersucht. Die zugehörigen Aufnahmen, die während konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen wurden, sind in Abbildung 5.42 und A.16 gezeigt.

Die für die zuvor zu DPPC zugemischten hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker Ch-PEG₃₀-*hbPG*₂₃ und Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho gefundenen LC-Domänendeformationen treten für keines der beiden „Teilpolymere“ auf. Bis auf geringe Abweichungen von den bekannten DPPC-Propeller-Domänen an den Enden der einzelnen Propellerarme sind für alle untersuchten Mischungsverhältnisse die L-DPPC-typischen Formen und Drehrichtungen wiederzuerkennen. Die einzelnen polymeren Blöcke sind also trotz des Cholesterol-Ankers nicht in der Lage, die zuvor beobachteten deutlichen Deformationen der kondensierten Phasenaggregate zu erzeugen. Cholesterol lagert sich, im reinen Zustand mit DPPC kogespreitet, an die Randlinie der LC-DPPC-Domänen an, was bei Derivatisierung durch die großvolumigen Strukturen der polymeren Blöcke vermutlich nicht mehr möglich ist. Stattdessen scheint es sogar wahrscheinlich, dass die beiden „Teilpolymere“ sich jeweils nur noch in der flüssig-expandierten Phase anreichern und eine verminderte Fähigkeit zur hydrophilen Wechselwirkung mit den Lipidkopfgruppen und zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken resultiert.

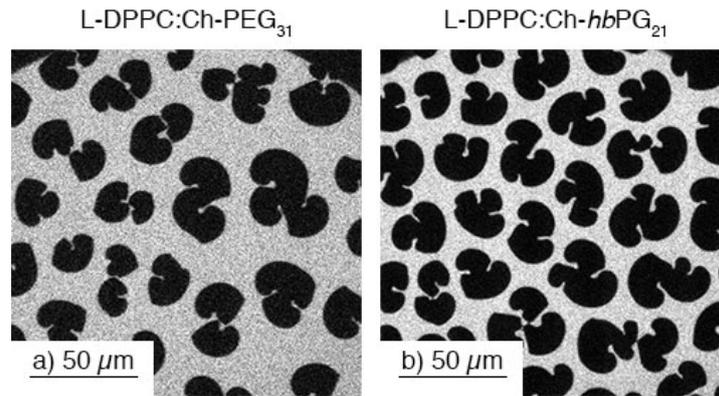


Abbildung 5.42.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen der molaren 10:1 Mischungen
 a) DPPC:Ch-PEG₃₁, $10,9 \text{ mN m}^{-1}$; b) L-DPPC:Ch-PG₂₁, $13,8 \text{ mN m}^{-1}$.
 $\theta = 20^\circ \text{C}$.

Erst das Zusammenwirken beider aneinandergelagerter Blöcke ruft die vorgestellten systematischen und Polymerkonzentrations-abhängigen Domänenformationen hervor. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Cholesteroleinheit als Anker fungiert, der die Makromoleküle an der Luft-Wasser-Grenzfläche hält. Der lineare Poly-(ethylenglycol)-Block übernimmt die Funktion eines Spacers, der den hydrophilen hyperverzweigten Block in eine optimale Position unterhalb der LC-DPPC-Domäne positioniert, um größtmögliche Wechselwirkungen zu ermöglichen. Der stark hydrophile hyperverzweigte Block bildet nun vermutlich eine Vielzahl an Wasserstoffbrücken zu den Phospholipid-Kopfgruppen aus. Es ist sogar denkbar, dass durch die attraktiven Interaktionen der hydrophilen Anteile beider Substanzklassen der Cholesterolanke um einige nm dichter an die Ränder der flüssig-kondensierten DPPC-Domänen herangezogen wird und dadurch umso geringere Randspannungen induziert werden. Folgt man dieser Hypothese, ist es nicht mehr so erstaunlich, dass für die Wechselwirkung von DPPC mit dem Rhodamin-gelabelten Makromolekül sehr dünne Fasern flüssig-kondensierter Bereiche an der Luft-Wasser-Grenzfläche gebildet werden. Eine grafische Darstellung des hier vorgestellten Modells ist in Abbildung 5.43 zu sehen.

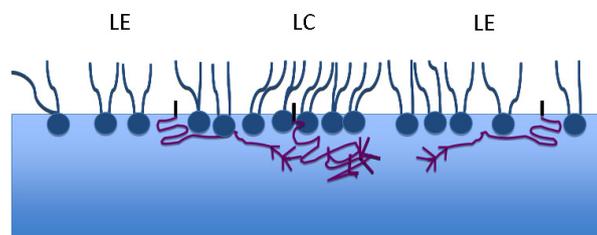


Abbildung 5.43.: Modell der DPPC:hyperverzweigtes Block-Copolymer-Wechselwirkungen im Oberflächendruckbereich der LE-/LC-DPPC-Phasenumwandlung.

5.2.3. Bilayer-Untersuchungen

Kalorimetrische Untersuchung der mit den Phospholipiden gemischten hyperverzweigten Block-Copolymer-Systeme

Nachdem das Monolayer-Verhalten der hyperverzweigten Block-Copolymere und ihrer „Teilpolymere“ an der Luft-Wasser-Grenzfläche in reinem Zustand sowie gemischt mit den Phospholipiden untersucht wurde, folgt nun die Betrachtung der erfolgten Bulk-Experimente. Das temperaturabhängige Verhalten der L-DPPC:hyperverzweigtes Block-Copolymer mit Cholesterin-Anker-Mischungen wurde zunächst kalorimetrisch untersucht (siehe Abbildung 5.44).

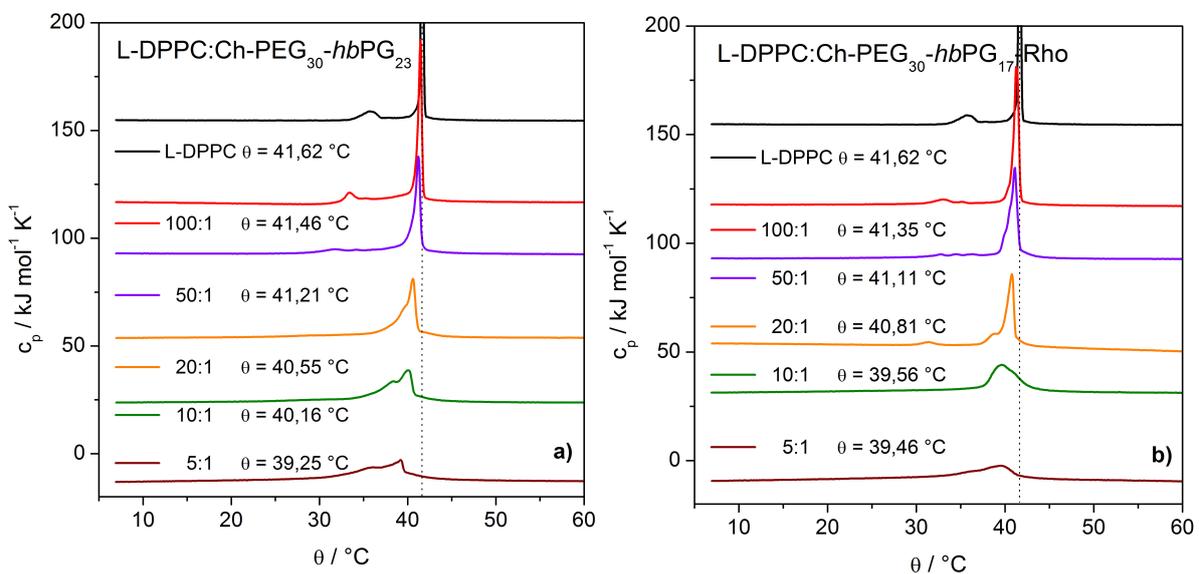


Abbildung 5.44.: Temperaturabhängige Umwandlungsmessungen der Mischungen L-DPPC:hyperverzweigtes Block-Copolymer. Die DSC-Thermogramme wurden im Temperaturbereich $\theta = 5-60$ °C detektiert. Oberhalb und unterhalb dieses Bereiches finden keine Umwandlungsergebnisse statt.

Auch hier ist bei Wechselwirkung des Phospholipids mit beiden hyperverzweigten Polymeren Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ und Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho für die verschiedenen molaren Mischungen zwischen 100:1 und 5:1 nur ein Umwandlungsgebiet zu beobachten. Dieses liegt im Bereich der ursprünglichen DPPC-Phasenumwandlung, um geringe Differenzen verschoben zu niedrigeren Temperaturen. Die maximale Temperaturniedrigung tritt bei beiden Mischsystemen in der molaren Mischung 5:1 auf und beträgt für L-DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃ -2,37 K und

für L-DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho -2,16 K. Obwohl zwischen beiden Makromolekülen in Wechselwirkung mit DPPC bei Kompressionsexperimenten an der Luft-Wasser-Grenzfläche recht deutliche Unterschiede gefunden wurden, sind die kalorimetrischen Resultate im Verlauf der detektierten Thermogramme und den Temperatur-Shifts der Lipidhauptphasenumwandlung sehr ähnlich. So ist für die Mischungen 100:1 bis 20:1 beider Mischsysteme ein breiter werdendes Signal abnehmender Wärmekapazität zu beobachten, das für die Mischungen 10:1 und 5:1 zu einem breiten Umwandlungsberg wird und schließlich nahezu verschwunden ist.

Die starke Abnahme der Umwandlungs-Wärmekapazität ist auf den Einfluss des terminal gebundenen Cholesterols zurückzuführen. Durch die Einlagerung der Cholesterol-Einheit in den hydrophoben Bereich der Vesikeldoppelschicht kommt es zu einer Beeinflussung der Phasenumwandlungseigenschaften. Reines Cholesterol lagert sich in den hydrophoben Anteil der Phospholipiddoppelschicht so ein, dass die hydrophoben Molekülanteile vollständig innerhalb der hydrophoben Schicht inseriert sind und die hydrophile Hydroxylgruppe in direkter Nachbarschaft zur hydrophilen Phosphatidylcholin-Kopfgruppe positioniert ist. Die Doppelschichtdicke der DPPC-Vesikel sowie die Steifigkeit der Doppelschicht wird in Folge der Einlagerung erhöht. Betrachtet man die Veränderung des thermodynamischen Verhaltens reiner DPPC-Vesikel durch Zugabe größer werdender Mengen an reinem Cholesterol, so verschwindet zunächst die Vorumwandlung des Lipids bei Cholesterol-Gehalten von 5 bis 10 mol-%. [94] Das Ausbleiben der Vorumwandlung hat zur Folge, dass durch die Zugabe des Cholesterols die Ripple-Phase $P_{\beta'}$ nicht länger ausgebildet wird, sondern eine Art Zwischenphase L_{β} , in welcher die DPPC-Schwanzgruppen stärker aufgerichtet sind und damit die Lipiddoppelschicht verdicken. Sie weist eine geringere Ordnung als die Gelphase, jedoch eine höhere Ordnung als die L_{α} -Phase auf. Obwohl die laterale Diffusion der Phospholipidmoleküle und die Beweglichkeit der Kohlenwasserstoffketten kaum beeinträchtigt wird, sinkt dennoch aufgrund der durch die Cholesterol-Koexistenz induzierten höheren Orientierungsordnung der Fettsäureketten der Raum- bzw. Flächenbedarf der Lipidmoleküle. Dieses wird als Kondensationseffekt von Cholesterol bezeichnet. Die Schichtdicke des Lipiddoppellayers ist dementsprechend geringer als die der Gelphase, jedoch größer als die der flüssig-kristallinen Phase. Die all-trans-gestreckten Lipide rotieren frei um ihre eigene Achse. [1, 7, 92, 93] Es kommt also zu einer direkten Umwandlung der Gelphase L_{β} in die flüssig-kristalline Phase L_{α} . [94] Die Hauptphasenumwandlung verschwindet bei einem Cholesterol-Anteil zwischen ca. 33 bis 50 mol-%. [94] Die Einflüsse des Cholesterols sind dabei natürlich abhängig von der Temperatur und seiner Konzentration sowie von der Länge der verwendeten Fettsäuren der Phospholipide. [94, 95]

In den in Abbildung 5.44 gezeigten Thermogrammen der verschiedenen Mischungen von L-DPPC:Ch-PEG₃₀-*hbPG*₂₃ und L-DPPC:Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho ist eine direkte Analogie zu den aus der Literatur bekannten Cholesterol-Wechselwirkungen mit Phosphatidylcholinen zu erkennen. Die terminal gebundene Cholesterol-Einheit baut sich entsprechend dem Verhalten des reinen Cholesterols in die Vesikeldoppelschicht ein, während die hydrophilen Polymerblöcke und im Falle des Fluoreszenz-gelabelten Makromoleküls auch die Rhodamin-Einheit mit den hydrophilen Phospholipid-Kopfgruppen wechselwirken. Die Insertion der Cholesterol-Einheit in die Lipiddoppelschicht dominiert dabei die Form der kalorimetrisch gemessenen Thermogramme und damit Auftreten und Lage des DPPC-Hauptphasenumwandlungssignals. Bei einem Mischungsverhältnis von 5:1, was einem Molenbruch von Cholesterol von 0,16 entspricht, ist daher nur noch eine breite Umwandlung zu erkennen wie auch bei DPPC:Cholesterol-Mischungen berichtet. [94]

Auf eine kalorimetrische Untersuchung der Teilpolymere Ch-PEG₃₁ und Ch-*hbPG*₂₁ im Gemisch mit L-DPPC wurde aufgrund der sehr ähnlichen Ergebnisse der beiden vollständigen Block-Copolymere mit den Thermogrammen des Lipids und der starken Analogie der Resultate mit reinem Cholesterol in Wechselwirkung mit DPPC verzichtet, da analoge Ergebnisse, aber keine weitere Aufklärung der Interaktions-Bedeutungen der einzelnen polymeren Blöcke mit dem Phospholipid erwartet wurden.

Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie an Giant Unilamellar Vesicles

Das direkt an das Makromolekül Ch-PEG₃₀-*hbPG*₁₇-Rho angebundene Rhodamin-Fluoreszenzlabel erlaubt Insertionsstudien per Konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) an Giant Unilamellar Vesicles (GUVs), welche aus ungemischten Phospholipidmonolayern aufgebaut sind. Aufgrund des an das Polymer gebundenen Farbstoffes kann der Einbau der fluoreszierenden Substanzen in ein nicht oder anderweitig Fluoreszenz-gelabeltes Vesikel verfolgt werden und weitere Informationen über die Interaktionen der beiden Molekülspezies gewonnen werden.

Die Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie wird bei Raumtemperatur durchgeführt, die DPPC-Moleküle liegen jedoch bei dieser Temperatur in der Gelphase vor. Sie bilden daher facettierte Vesikel aus, welche nur schwer interpretierbare Fluoreszenz-Antworten liefern. Aus diesem Grund wurden zur Formation der GUV-Bilayer die Phospholipide DLPC, POPC und

DOPC gewählt, die bei Raumtemperatur unfacettierte Vesikel ausbilden. Bei diesen drei Lipiden handelt es sich um ein symmetrisches Phospholipid mit gesättigten Fettsäureketten (DLPC), ein asymmetrisches Phospholipid mit einer gesättigten sowie einer ungesättigten Fettsäurekette (POPC) und um ein zweites symmetrisches Phospholipid mit zwei ungesättigten Fettsäureketten (DOPC). Diese Lipide sind im Aufbau verschieden und daher ist ein unterschiedliches Wechselwirkungsverhalten mit dem hyperverzweigten Block-Copolymer zu erwarten.

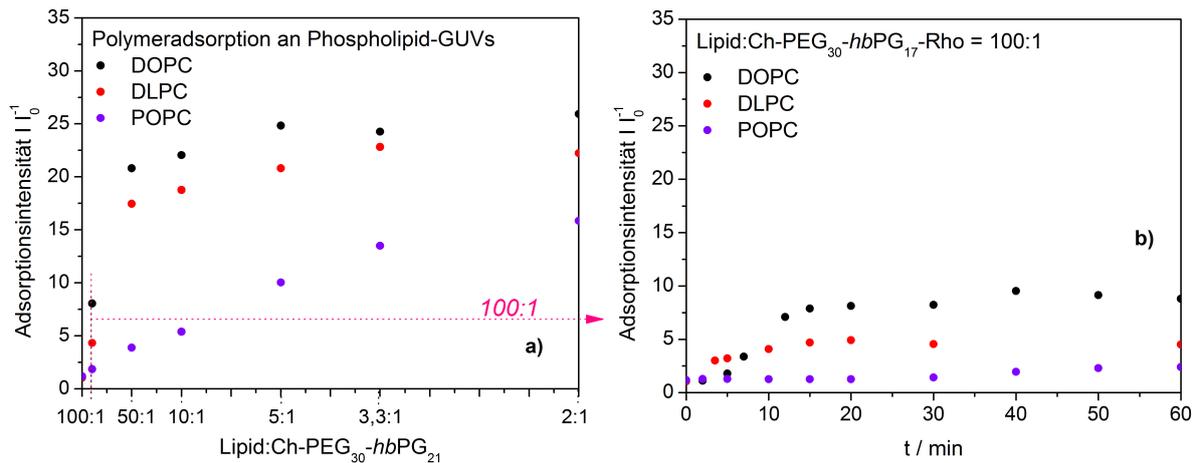


Abbildung 5.45.: Zeitabhängige Adsorptionsstudien der Anlagerung des Polymers Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho an verschiedene Phospholipid-GUVs. a) konzentrationsabhängige Messungen; der Polymergehalt entspricht der zu Beginn des Experiments zugegebenen Konzentration, bezogen auf die Gesamtstoffmenge des Phospholipids; b) zeitabhängige Messungen. Alle Daten wurden bei Raumtemperatur detektiert.

Die zeitabhängigen Adsorptionsanalysen der hyperverzweigten Polymere mit Cholesterolan-ker an die flüssig-expandierten GUV-Bilayer zeigen eine sehr hohe Wechselwirkungsaffinität aller drei Phospholipide mit dem Rhodamin-gelabelten Polymer. Aufgetragen ist in Abbildung 5.45 a die Fluoreszenzintensität des gelabelten Polymers bei Insertion in das GUV in Abhängigkeit der im Verhältnis zur Lipidstoffmenge zugegebenen Polymerstoffmenge. Wichtig ist dabei zu beachten, dass das angegebene molare Verhältnis nur den anfänglich zusammengegebenen Stoffmengen beider Substanzen entspricht. Wie hoch der Anteil des Polymers ist, welcher sich in das GUV einbauen kann, kann nicht festgestellt werden. In Abbildung 5.45 b wird die Adsorptionsintensität in Abhängigkeit von der Zeit betrachtet. Aus beiden Auftragungen ist deutlich zu erkennen, dass das Polymer unterschiedlich starke Affinitäten zu den drei verschiedenen Phospholipiden aufweist. Die Affinitätsreihenfolge lautet DOPC

> DLPC > POPC. Eventuell könnte man eine stärkere Wechselwirkung des hyperverzweigten Polymers zu den symmetrischen Phospholipiden, unabhängig vom Sättigungsgrad der Fettsäureketten, schlussfolgern. Um diese Hypothese zu bestätigen, sind jedoch weitere Untersuchungen erforderlich.

Ergänzende zeitabhängige Adsorptionsmessungen bei Erzeugung verschiedener 100:1-Mischungen von Lipid und Polymer wurden über einen kurzen Zeitraum von 60 Minuten durchgeführt und die Resultate in Abbildung 5.45 b dargestellt. Nach etwa 20 Minuten ist ein dynamisches Gleichgewicht erreicht. Wie bereits im DSC-Abschnitt zuvor beschrieben, ist es sehr wahrscheinlich, dass die hydrophobe terminale Cholesterol-Einheit sich in die hydrophoben Fettsäureketten-Bereiche der Lipiddoppelschicht einlagert, während der hyperverzweigte hydrophile Block sowie der hydrophile Fluoreszenzfarbstoff mit den hydrophilen Phosphatidylcholin-Kopfgruppen wechselwirkt. Die PEG-Kette wirkt dabei vermutlich wiederum, wie bereits für das Monolayer-Interaktions-Modell vorgeschlagen, als Spacer, welcher den stärker hydrophilen hyperverzweigten Block in die optimale räumliche Position nahe der Lipidkopfgruppen manövriert.

Das unterschiedliche Adsorptionsverhalten des Polymers Ch-PEG₃₀-*hb*PG₁₇-Rho an die verschiedenen Phospholipide wurde mit Hilfe der Konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie durch äquatoriale Schnitte sichtbar gemacht (siehe Abbildung 5.46). Zunächst wurde nach der Formation der GUVs, bei welcher der Fluoreszenzfarbstoff DiO zur Einfärbung der Membrandoppelschicht zugefügt wurde, das jeweilige immobilisierte Vesikel sichtbar gemacht. Wie in der zweiten Spalte der Darstellung zu sehen ist, wird keine Fluoreszenz des DiO im Rhodamin-Kanal detektiert. Die in den weiteren vier Spalten gezeigte Fluoreszenzintensität stammt allein von der Emission des polymergebundenen Rhodamins. Es wurden vier verschiedene molare Mischungen von 100:1 bis 2:1 mit größer werdender Konzentrationen des Polymers erzeugt. Die stärkste Rhodamin-Fluoreszenzemission wird wie zuvor bei der Adsorption des Makromoleküls an das DOPC-Vesikel mit ungesättigten Fettsäureketten detektiert, die schwächste wiederum bei POPC, ebenfalls mit einer ungesättigten Fettsäurekette.

Die Fluoreszenzintensitäts-Differenzen der verschiedenen Lipid-GUVs bei gleicher Zugabe-Konzentration des Makromoleküls kann als unterschiedliche Löslichkeit der terminalen Cholesterol-Einheit in den verschiedenen Phospholipid-Umgebungen interpretiert werden. [1] Es wird jedoch dadurch erneut gezeigt, dass keine systematische Wechselwirkung des hyperverzweigten Block-Copolymers mit den Fettsäureketten der symmetrischen Phospholipide

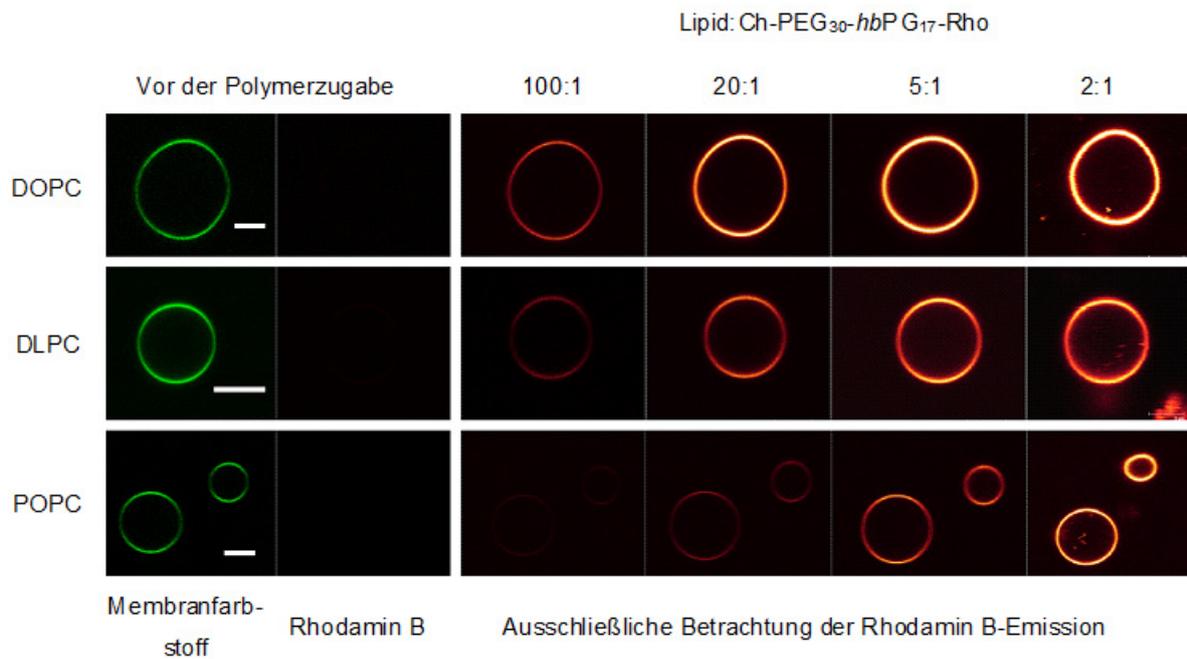


Abbildung 5.46.: Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie-Aufnahmen äquatorialer Schnitte der DOPC-, DLPC- und POPC-GUVs. Diese sind zunächst nur mit dem Fluoreszenzfarbstoff DiO eingefärbt (grün), welcher im Rhodamin-Kanal keine Fluoreszenz liefert. Später wird mit größer werdender Zugabekonzentration des Polymeres Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho die Fluoreszenz des polymereigenen Farbstoffes sichtbar gemacht (orange), wodurch der Einbau des Makromoleküls in die jeweilige Phospholipiddoppelschicht bewiesen werden kann. Die gezeigte Skala entspricht jeweils 5 μm . Verändert nach [7].

aus diesen Experimenten abzuleiten ist. Die Fluoreszenzemission des in der POPC-Membran angereicherten Polymeres ist besonders gering. Dies spricht erneut dafür, dass der Einbau des hyperververzweigten Block-Copolymers bevorzugt in Membranen symmetrischer Phospholipide stattfindet, unabhängig vom Sättigungsgrad der Fettsäureketten. Deutlich ist auch die gleichmäßige Verteilung der Fluoreszenzintensität über den jeweils gesamten Schnitt durch das GUV, was für einen homogenen Einbau des Block-Copolymers in alle untersuchten Phosphatidylcholin-Bilayer spricht. [7]

Fügt man den GUV-Proben in wässriger Umgebung immer größere Mengen an hyperververzweigtem Block-Copolymer zu, werden die Phospholipid-Vesikel zunehmend instabil. In Abbildung 5.47 sind zwei Schnitte durch das gleiche immobilisierte DLPC-Vesikel nach 24-stündiger Inkubation mit dem Rhodamin-gelabelten Polymer, dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass kleine fluoreszierende Partikel im Inneren des Vesikels vorliegen. Es liegt die

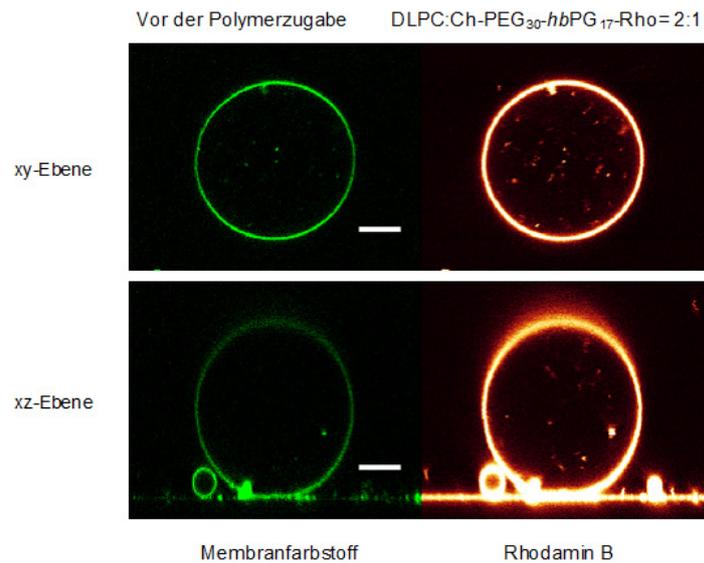


Abbildung 5.47.: Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie-Aufnahmen äquatorialer Schnitte eines immobilisierten DLPC-GUVs; oben: xy-Ebene; unten: xz-Ebene. Diese sind zunächst nur mit dem Fluoreszenzfarbstoff DiO eingefärbt (grün), welcher im Rhodamin-Kanal keine Fluoreszenz liefert. Orange dargestellt ist die Fluoreszenzmission des polymergebundenen Rhodamin-Fluoreszenzlabels. Die hergestellte Mischung entspricht einem molaren Verhältnis von 2:1 (Überschuss Lipid) und wurde über eine Zeit von 24 Stunden inkubiert. Die gezeigte Skala entspricht jeweils $5\ \mu\text{m}$. Verändert nach [7].

Vermutung nahe, dass die Vesikelmembran durch den Angriff des Polymers an multiplen Positionen beschädigt wird und Bruchstücke der mit Makromolekülen durchsetzten Membrandoppelschicht in den inneren Bereich des Vesikels gelangen. Im Vergleich zu den noch intakten GUV-Membranen, die lediglich mit DiO versetzt wurden und noch keinen Kontakt mit dem Fluoreszenz-gelabelten Polymer hatten, wirkt die Membrandoppelschicht nach den 24 Stunden des Experimentes gestört und inhomogen, was die vorgebrachte Hypothese bestätigt. Diese Beobachtungen legen außerdem den Schluss nahe, dass der Einbau der polymereigenen Cholesteroleinheit nicht nur im äußeren Bereich des GUVs stattfindet, sondern auch eine Verankerung der Makromoleküle in die innere Membranhälfte der Vesikel erfolgt.

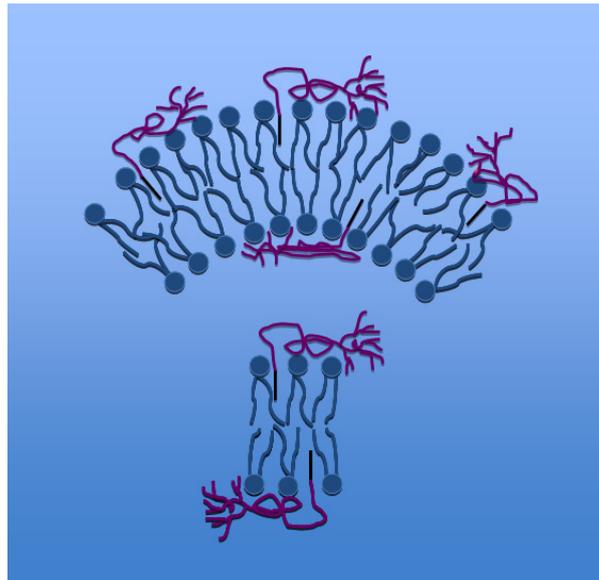


Abbildung 5.48.: Modell der Wechselwirkung von Phospholipid-Vesikeln und den hyperverzweigten Block-Copolymeren mit Cholesterol-Anker im Bulk. Zu sehen sind ein Ausschnitt der Vesikelmembran und eine der Membraninseln, die bei längerer Interaktion der beiden zusammengemischten Molekülspezies entstehen.

In Abbildung 5.48 ist ein abschließendes Modell der Wechselwirkungen zwischen den hyperverzweigten Block-Copolymeren mit den Phospholipid-Membranen im Bulk gezeigt, das aus den Informationen der kalorimetrischen und konfokal-mikroskopischen Experimente erstellt wurde.

6. Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Dissertation wurden Resultate gezeigt, die aus sechs ausgewählten Messmethoden erhalten wurden, drei davon für Untersuchungen von Monolayer-Systemen an der Luft-Wasser-Grenzfläche, zwei für Bulk-Untersuchungen im wässrigen Volumen. Mit jeder einzelnen der verwendeten Experimentieranordnungen und einer Vielzahl an experimentellen Ansätzen pro Messmethode kann man vielfältige Einblicke in das Verhalten des untersuchten Systems erhalten. Um aussagekräftige Modellsysteme erstellen zu können, müssen jedoch die Vorzüge der verschiedenen Techniken kombiniert werden. Die Epi-Fluoreszenzmikroskopie z.B. erscheint im Vergleich der hier verwendeten Methoden als die sensitivste neben der Detektion der Kompressionsisothermen reiner und kogespreiteter Monolayer-Systeme und der Konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie. Am Beispiel der beiden hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker in Wechselwirkung mit den Phospholipiden DPPC und POPC konnten deutliche Unterschiede in der Intensität der DPPC:Block-Copolymer-Interaktion festgestellt werden, obwohl sich die Block-Copolymere strukturell sehr stark ähneln. Die zeitabhängigen Adsorptionsuntersuchungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche sowie die kalorimetrischen Resultate dagegen erscheinen weniger sensitiv, denn sie zeigen jeweils ein analoges Wechselwirkungsverhalten der DPPC:Block-Copolymer-Systeme für beide hyperverzweigten Derivate. Die CLSM ist in der Lage, das Eindringen der fluoreszierenden Polymere in die Lipidbilayer zu detektieren, was den kalorimetrischen Messungen nicht möglich ist.

Bei den in dieser Arbeit vorgestellten Systemen handelt es sich um reine, natürlich vorkommende Phospholipide, reine synthetisch erzeugte Polymere verschiedener Art und deren jeweilige Mischungen verschiedener molarer Verhältnisse mit den Phospholipiden. Die Interaktion der beiden jeweils sehr verschiedenen Substanzspezies miteinander an der Luft-Wasser-Grenzfläche im Monolayermodell und im wässrigen Volumen in Form vesikulärer Bilschichtsysteme wurde untersucht. Zunächst wurde der Fokus auf die verschiedenen Monolayer-Experimente an der Luft-Wasser-Grenzfläche gelegt. Beide Polymerspezies sind durch ihre spezifischen funktionellen Gruppen und ihrer damit polyphilen Eigenschaften dazu in der Lage, das reine Phospholipid-System an der Luft-Wasser-Grenzfläche zu stören. Dabei zei-

gen sich erstaunlicherweise sehr starke Analogien im Verhalten der PGMA-Derivate und der hyperverzweigten Block-Copolymere mit terminalem Cholesterol-Anker. So sind beide Makromolekül-Spezies in der Lage, mit Hilfe ihres jeweiligen hydrophoben Ankers an der Luft-Wasser-Grenzfläche zu verbleiben, im Bereich der Phospholipid-Phasenumwandlung an der Grenzlinie zwischen flüssig-expandierter und flüssig-kondensierter Lipidphase zu assemblieren und somit neue Grenzlinien zu schaffen, die erheblich verringerte Randspannungen gegenüber der Randspannung der reinen Lipidsysteme aufweisen. Dadurch entstehen stark ausgedünnte Domänen, die sich, der Chiralität des Phospholipids und zugleich der Grenzflächenkonvektion folgend, an der Luft-Wasser-Grenzfläche verteilen. Die Chiralität der zugemischten Makromoleküle hat keinen Einfluss auf die Chiralität der Domänen. Es bildet sich in jedem Fall ein hochgradig mobiler Grenzflächenfilm aus. Die Randspannungs-„Verringerung“ ist besonders auffällig bei Zugabe der perfluorierten PGMA-Derivate mit hohem Polymerisationsgrad und der hyperverzweigten Block-Copolymere, maximal bei dem Rhodamin-gelabelten Analogon. Dennoch scheint bei Zugabe beider Polymerarten das Phospholipid die dominierende Spezies zu sein, welche das Auftreten der Phasenumwandlung an der Luft-Wasser-Grenzfläche bestimmt und damit die Bildung der Domänen vorgibt. Die Phospholipide behalten also ihre ursprüngliche Aggregationsfähigkeit trotz Beimischung hoher Anteile an Störsubstanzen bei.

Aus den zeitabhängigen Adsorptionsversuchen wässriger Polymerproben an zuvor präparierte Lipidmonolayer und Kospreitungs-Kompressions-Experimenten gemischter Lipid:Polymer-Monoschichten ist ersichtlich, dass die größten Effekte durch die Polymere höheren Polymerisationsgrades und mit terminaler hydrophober Ankergruppe erreicht werden. Die PGMA-Homopolymere zeigen nur eine sehr schwache Oberflächenaktivität, die PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette dagegen sind nicht nur zur Insertion in die verschiedenen Phospholipidmonolayer fähig, sondern sie scheinen unter bestimmten Bedingungen sogar in der Lage, sich in biologische Membranen einzubauen. Dieses Verhalten ist deutlich stärker ausgeprägt bei den hyperverzweigten Block-Copolymeren mit Cholesterol-Anker. Diese zeigen eine sehr starke Affinität zu allen untersuchten Monoschicht-Systemen und sind im Gegensatz zu den PGMA-Derivaten schon bei sehr geringer Zugabe-Konzentration zu einem Einbau in hoch geordnete Lipidsysteme fähig. Bei Zugabe dieser hyperverzweigten Block-Copolymerspezies zu biologischen Membranen bauen sich die Polymere in die Membran ein.

Unerwartet ist das Resultat, dass auch hydrophile Blöcke beider Polymerspezies mit dem Lipidmonolayer an der Luft-Wasser-Grenzfläche wechselwirken. Die wasserlöslichen PGMA-Molekülreste der Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette werden nicht nur durch diesen

Anker an der Luft-Wasser-Grenzfläche gehalten, sondern auch durch hydrophobe Anteile des polymeren Rückgrates. Durch diese räumliche Nähe der hydrophilen Lipidkopfgruppen und der polymeren Reste kommen hydrophile Wechselwirkungen zustande und die Bildung von Wasserstoffbrücken ist wahrscheinlich. Ein analoges Verhalten kann für die Block-Copolymere mit Cholesterol-Rest beobachtet werden. Die PEG-Kette lagert sich bis zu einer Kompression zu hohen lateralen Oberflächendrücken an die Luft-Wasser-Grenzfläche an und positioniert somit den hyperververzweigten PG-Block sowie beim gelabelten Analogon auch die stark hydrophile Rhodamin-Einheit in räumliche Nähe zu den hydrophilen Lipidkopfgruppen. Hydrophile Wechselwirkungen und die Ausbildung von Wasserstoffbrücken sind die Folge.

Die durchgeführten Experimente an den Phospholipid-Doppellayern unterstützen die Resultate, die mit Hilfe tensiometrischer Experimente gewonnen wurden. Es kommt zu einer Anlagerung, eventuell auch zu einer geringfügigen Insertion der PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette in die vesikulären Phospholipidsysteme, wodurch die Stabilität der geordneten Gelphase des Lipids DPPC herabgesetzt wird. Gleichzeitig wird die flüssig-kristalline Phase stabilisiert. Ein zumindest teilweiser Einbau micellarer PGMA-Aggregate wird dadurch möglich, während eine Insertion dieser Systeme in hoch geordnete Phospholipidphasen sehr unwahrscheinlich ist. Für die Wechselwirkung des Phospholipids mit den hyperververzweigten Block-Copolymeren mit Cholesterol-Anker konnte ein Interaktionsmodell in wässrigem Medium vorgeschlagen werden. Die Messergebnisse lassen vermuten, dass die Block-Copolymere nicht nur in der Lage sind, mit Hilfe ihrer terminalen Cholesterol-Einheit in die Membrandoppelschicht zu insertieren, sondern in größeren Zugabemengen die Membran zu zerbrechen. Übrig bleiben „Membraninseln“ verschiedener Größen, welche nicht mehr gekrümmt wie in einem Vesikel, sondern als flache Lamellen vorliegen, in welche die Cholesterol-Einheiten der Block-Copolymere in zufälliger Anordnung insertiert sind. Dieses Modell, gewonnen aus Experimenten an den Rein- und Mischsystemen im wässrigen Volumen, stimmt mit den Schlussfolgerungen, die aus den Monolayer-Untersuchungen gezogen wurden, überein.

Auf den ersten Blick lassen die beiden Polymer-Spezies, die PGMA-Derivate mit terminaler Perfluoralkylkette und die hyperververzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker, die sich strukturell sehr stark voneinander unterscheiden, auf ein vollkommen unterschiedliches Wechselwirkungsverhalten mit Phospholipid-Modellsystemen schließen. Beiden Polymer-Spezies gemeinsam sind jedoch ihre amphiphilen bzw. sogar polyphilen Eigenschaften. Im Falle der Monolayer-Experimente werden beide Polymere durch hydrophobe bzw. im Fall der PGMA-Makromoleküle fluorophile Anker an der Wasseroberfläche gehalten, während die

hydrophilen Anteile unterhalb der Wasseroberfläche mit den hydrophilen Phospholipidkopfgruppen via Wasserstoffbrückenbindung wechselwirken. Dieses Verhalten bedingt das veränderte Lipid-Aggregationsverhalten an der Luft-Wasser-Grenzfläche, welches in Form der sehr auffälligen DPPC-Domänen deformationen im Phasenumwandlungsgebiet mit Hilfe der Epi-Fluoreszenzmikroskopie beobachtet werden konnte. Die Vermutung liegt nahe, dass auch andere amphiphile bzw. polyphile Makromoleküle derartige Domänen-Muster an der Luft-Wasser-Grenzfläche kreieren können, würde man sie mit DPPC kospreiten und Mischungsexperimente durchführen. Es ist also nicht die Struktur des Moleküls an sich, sondern dessen Amphiphilie und die räumliche Position der jeweiligen funktionellen Gruppen in Bezug auf die Phospholipide entscheidend für die Stärke der Wechselwirkungen zwischen den beiden Molekülspezies und das Störvermögen der Polymere. Erst danach ist für die Wechselwirkung zwischen Phospholipid und Polymer entscheidend, welche strukturellen Besonderheiten das jeweilige Makromolekül aufweist.

Die vorliegenden Experimente zeigen eine sehr starke Interaktion des DPPC-Systems mit den hyperverzweigten Block-Copolymeren auf. Das DPPC-Modellsystem wurde vorgelegt und gab damit eine bereits bekannte Membranstruktur vor. Das Polymer wurde dazugegeben und wies eine starke Affinität bezüglich der Lipid-Monolayer bzw. -Bilayer auf und veränderte die Eigenschaften des Modellsystems gravierend. Die Stärke dieses Polymerangriffes auf die Phospholipid-Systeme könnte pharmazeutisches Interesse erwecken. Eine Substanz, die so leicht ein Vesikel zerstören kann, ist vermutlich auch in der Lage, eine lebende Zelle stark zu verändern und vielleicht auch zu zerstören. Dies könnte ein bedeutender Vorteil sein, aber auch eine Gefahr darstellen. Zunächst könnten die Block-Copolymere in Zelltests auf ihre Eigenschaften im Kontakt mit lebenden Zellen untersucht werden. Entsprechend der dabei gewonnenen Erkenntnisse könnte man in weiteren Syntheseschritten mit spezieller Funktionalisierung Makromoleküle herstellen, die z. B. mit Hilfe einer chiralen Wiedererkennung nur bestimmte Zellen angreifen und zerstören. Oder aber Makromoleküle, die in der Lage sind, sich in Zellwände einzulagern und Poren zum Substanztransport zu erzeugen. Die Fragestellung sollte hierbei darauf liegen, ob die Substanzen überhaupt für pharmazeutische Anwendungen in Frage kommen, ob sie gezielt im Organismus eingesetzt werden können oder eher eine generell zerstörerische Wirkung auf biologische Zellen ausüben. Viele Möglichkeiten wären denkbar. Die hier verwendeten hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker stellen ein interessantes Untersuchungsobjekt dar, das es auf jeden Fall wert ist, verschiedenen weiteren physiko-chemischen, biologischen und eventuell pharmazeutischen Tests unterzogen zu werden. Die Untersuchung dieses Systems ist ein wichtiger Punkt der zweiten

wissenschaftlichen Periode der Forschergruppe FOR 1145 mit dem Thema „Strukturbildung von synthetischen polyphilen Molekülen mit Lipidmembranen“.

Literaturverzeichnis

- [1] Blume, A. Biological calorimetry: membranes. *Thermochim. Acta* **1991**, *193*, 299-347.
- [2] Broniatowski, M.; Flasiński, M.; Dynarowicz-tka, P.; Majewski, J. Grazing Incidence Diffraction and X-ray Reflectivity Studies of the Interactions of Inorganic Mercury Salts with Membrane Lipids in Langmuir Monolayers at the Air/Water Interface. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 9474-9484.
- [3] Garidel, P.; Johann, C.; Blume, A. Thermodynamic of lipid organization and domain formation in phospholipid bilayers. *J. Liposome Res.* **2000**, *10*, 131-158.
- [4] Stöckl, M. T.; Herrmann, A. Detection of lipid domains in model and cell membranes by fluorescence lifetime imaging microscopy. *Biochim. Biophys. Acta* **2010**, *1798*, 1444-1456.
- [5] Bhattacharya, S.; Biswas, J. Understanding membranes through the Molecular Design of Lipids. *Langmuir* **2010**, *26*, 4642-4654.
- [6] Scholtysek, P.; Li, Z.; Kressler, J.; Blume, A. Interactions of DPPC with Semitelechelic Poly(glycerol methacrylate)s with Perfluoroalkyl End Groups. *Langmuir* **2012**, *28*, 15651-15662.
- [7] Scholtysek, P.; Müller, S. S.; Meister, A.; Schöps, R.; Frey, H.; Kressler, J.; Blume, A. Hydrophilic hyperbranched copolymers with a covalently bound cholesterol unit deform liquid condensed DPPC domains at the air/water interface and insert into phospholipid bilayers. *in preparation*.

-
- [8] Chimote, G.; Banerjee, R. J. In vitro evaluation of inhalable isoniazid-loaded surfactant liposomes as an adjunct therapy in pulmonary tuberculosis. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2010**, *94*, 1-10.
- [9] Kim, H. I.; Kim, H.; Shin, Y. S.; Beegle, L. W.; Goddard, W. A.; Heath, J. R.; Kanik, I.; Beauchamp, J. L. Time Resolved Studies of Interfacial Reactions of Ozone with Pulmonary Phospholipid Surfactants Using Field Induced Droplet Ionization Mass Spectrometry. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 9496-9503.
- [10] Garidel, P.; Blume, A. 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoglycerol (DMPG) monolayers: influence of temperature, pH, ionic strength and binding of alkaline earth cations. *Chem. Phys. Lipids* **2005**, *138*, 50-59.
- [11] Kerth, A. Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie an Lipid-, Peptid- und Flüssigkristall-Filmen an der Luft/Wasser-Grenzfläche. *Dissertation* **2003**, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- [12] Blume, A. A comparative study of the phase transitions of phospholipid bilayers and monolayers. *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, *557*, 32-44.
- [13] Brockman, H. Lipid monolayers: why use half a membrane to characterize protein-membrane interactions? *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 438-443.
- [14] Brückner, E. Solubilisierung lipophiler Substanzen durch Phospholipidvesikel. *Dissertation* **2000**, Universität Gesamthochschule Essen.
- [15] Cevc, G. Isothermal lipid phase transitions. *Chem. Phys. Lipids* **1991**, *57*, 293-307.
- [16] Wang, C; Yu, B.; Knudsen, B.; Harmon, J.; Moussy, F.; Moussy, Y. Synthesis and performance of novel hydrogel coatings for implantable glucose sensors. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 561-567.
-

- [17] Gates, G.; Harmon, J. P.; Ors, J.; Benz, P. Intra and intermolecular relaxations 2,3-dihydroxypropyl methacrylate and 2-hydroxyethyl methacrylate hydrogels. *Polymer* **2003**, *44*, 207-214.
- [18] Gates, G.; Harmon, J. P.; Ors, J.; Benz, P. 2,3-Dihydroxypropyl methacrylate and 2-hydroxyethyl methacrylate hydrogels: gel structure and transport properties. *Polymer* **2003**, *44*, 215-222.
- [19] Bach, L. G.; Islam, M. R.; Lee, D. C.; Lim, K. T. Poly(glycidyl methacrylate) grafted CdSe quantum dots by surface-initiated atom transfer radical polymerization: Novel synthesis, characterization, properties, and cytotoxicity studies. *Appl. Surf. Sci.* **2013**, *283*, 546-553.
- [20] Xu, F. J.; Cai, Q. J.; Li, Y. L.; Kang, E. T.; Neoh, K. G. Covalent immobilization of glu- cose oxidase on well-defined poly(glycidyl methacrylate)-Si(111) hybrids from surface-initiated atom-transfer radical polymerization. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1012-1020.
- [21] Zhang, R.; Li, Q.; Li, L.; Zhou, W.; Ye, P.; Gao, Y.; Ma, G.; Su, Z. Covalently coating dextran on macroporous polyglycidyl methacrylate microsphere enabled rapid protein chromatographic separation. *Mater. Sci. Eng., C* **2012**, *32*, 2628-2633.
- [22] Li, Z.; Köwitsch, A.; Zhou, G.; Groth, T.; Fuhrmann, B.; Niepel, M.; Amado, E.; Kressler, J. Enantiopure Chiral Poly(glycerol methacrylate) Self- Assembled Monolayers Knock Down Protein Adsorption and Cell Adhesion. *Adv. Healthcare Mater.* **2013**, *2*, 1377-1387.
- [23] Amado, E.; Augsten, C.; Mäder, K.; Blume, A.; Kressler, J. Amphiphilic water soluble triblock copolymers based on poly(2,3-dihydroxypropyl methacrylate) and poly(propylene oxide): Synthesis by atom transfer radical polymerization and micellization in aqueous solutions. *Macromolecules* **2006**, *39*, 9486-9496.
- [24] Broniatowski, M.; Dynarowicz-tka, P. Semifluorinated alkanes. Primitive surfactants of fascinating properties. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2008**, *138*, 63-83.
-

- [25] Krafft, M. P. Controlling phospholipid self-assembly and film properties using highly fluorinated components. Fluorinated monolayers, vesicles, emulsions and microbubbles. *Biochimie* **2012**, *94*, 11-25.
- [26] Amado, E.; Kressler, J. Triphilic block copolymers with perfluorocarbon moieties in aqueous systems and their biochemical perspectives. *Soft Matter* **2011**, *7*, 7144-7149.
- [27] Nakahara, H.; Tsuji, M.; Sato, Y.; Krafft, M. P.; Shibata, O. Langmuir monolayer miscibility of single-chain partially fluorinated amphiphiles with tetradecanoic acid. *J. Colloid Interface Sci.* **2009**, *337*, 201-210.
- [28] Krafft, M. P. Fluorocarbons and fluorinated amphiphiles in drug delivery and biomedical research. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *47*, 209-228.
- [29] Hiranita, T.; Nakamura, S.; Kawachi, M.; Courier, H. M.; Vandamme, T. F.; Krafft, M. P.; Shibata, O. Miscibility behavior of dipalmitoylphosphatidylcholine with a single-chain partially fluorinated amphiphile in Langmuir monolayers. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *265*, 83-92.
- [30] Courier, H. M.; Vandamme, T. F.; Krafft, M. P.; Nakamura, S.; Shibata, O. Mixed monolayers made from dipalmitoyl phosphatidylcholine and a fluorinated amphiphile. *Colloids Surf., A* **2003**, *215*, 33-41.
- [31] Schmutz, M.; Michels, B.; Marie, P.; Krafft, M. P. Fluorinated vesicles made from combinations of phospholipids and semifluorinated alkanes. Direct experimental evidence of the location of the semifluorinated alkane within the bilayer. *Langmuir* **2003**, *19*, 4889-4894.
- [32] Krafft, M. P.; Riess, J. G. Highly fluorinated amphiphiles and colloidal systems, and their applications in the biomedical field. A contribution. *Biochimie* **1998**, *80*, 489-514.
- [33] Riess, J. G.; Krafft, M. P. Fluorinated phosphocholine-based amphiphiles as components of fluorocarbon emulsions and fluorinated vesicles. *Chem. Phys. Lipids* **1995**, *75*, 1-14.
-

- [34] Nakamura, S.; Nakahara, H.; Krafft, M. P.; Shibata, O. Two-component Langmuir monolayers of of single-chain partially fluorinated amphiphiles with dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC). *Langmuir* **2007**, *23*, 12634-12644.
- [35] Vierling, P.; Santaella, C.; Greiner, J. Highly fluorinated amphiphiles as drug and gene carrier and delivery systems. *J. Fluorine Chem.* **2001**, *107*, 337-354.
- [36] Krafft, M. P.; Goldmann, M. Monolayers made from fluorinated amphiphiles. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2003**, *8*, 243-250.
- [37] Dhathathreyan, A.; Baskar, G.; Ramasami, T.; Juhué, D. Interfacial organization of fluoropolymers in Langmuir films: role of additives. *Langmuir* **2002**, *18*, 4704-4708.
- [38] Hädicke, A.; Blume, A. Interactions of Pluronic block copolymers with lipid monolayers studied by epi-fluorescence microscopy and by adsorption experiments. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *407*, 327-338.
- [39] Merchant, F. A.; Holmes, W. A.; Capelli-Schellpfeffer, M.; Lee, R. C.; Toner, M. Poloxamer 188 Enhances Functional Recovery of Lethally Heat-Shocked Fibroblasts. *J. Surg. Res.* **1998**, *74*, 131-140.
- [40] Justicz, A. G; Farnsworth, W. V.; Soberman, M. S.; Tuvlin, M. B.; Bonner, G. D.; Hunter, R. L.; Martino-Saltzman, D.; Sink, J. D.; Austin, G. E. Reduction of myocardial infarct size by poloxamer 188 and mannitol in a canine model. *Am. Heart J.* **1991**, *122*, 671-680.
- [41] Mohanty, M. E.; Rao, V. J.; Mishra, A. K. A fluorescence study on the interaction of telmisartan in triblock polymers pluronic P123 and F127. *Spectrochim. Acta, Part A* **2014**, *121*, 330-338.
- [42] Chen, Z.; Rand, R. P. The Influence of Cholesterol on Phospholipid Membrane Curvature and Bending Elasticity. *Biophys. J.* **1997**, *73*, 267-276.
-

- [43] Blume, A. Thermotropic Behavior of Phosphatidylethanolamine-Cholesterol and Phosphatidylethanolamine-Phosphatidylcholine-Cholesterol Mixtures. *Biochemistry* **1980**, *19*, 4908-4913.
- [44] Silvius, J. R. Role of cholesterol in lipid raft formation: lessons from lipid model systems. *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1610*, 174-183.
- [45] Reuter, S.; Hofmann, A. M.; Busse, K.; Frey, H.; Kressler, J. Langmuir and Langmuir-Blodgett Films of Multifunctional, Amphiphilic Polyethers with Cholesterol Moieties. *Langmuir* **2011**, *27*, 1978-1989.
- [46] Seelig, A.; Gerebtzoff, G. Enhancement of drug absorption by noncharged detergents through membrane and P-glycoprotein binding. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2006**, *2*, 733-752.
- [47] Amado, E.; Kressler, J. Interactions of amphiphilic block copolymers with lipid model membranes. *Curr. Opin. Colloid Inter. Sci.* **2011**, *16*, 491-498.
- [48] Peng, X.; Hofmann, A. M.; Reuter, S.; Frey, H.; Kressler, J. Mixed layers of DPPC and a linear poly(ethylene glycol)-b-hyperbranched poly(glycerol) block copolymer having a cholesteryl end group. *Colloid Polym. Sci.* **2012**, *290*, 579-588.
- [49] Hofmann, A. M.; Wurm, F.; Hühn, E.; Nawroth, T.; Langguth, P.; Frey, H. Hyperbranched Polyglycerol-Based Lipids via Oxyanionic Polymerization: Toward Multifunctional Stealth Liposomes. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 568-547.
- [50] Hofmann, A. M.; Wurm, F.; Frey, H. Rapid Access to Polyfunctional Lipids with Complex Architecture via Oxyanionic Ring-Opening Polymerization. *Macromolecules* **2011**, *44*, 4648-4657.
- [51] Immordino, M. L.; Dosio, F.; Cattel, L. Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. *Int. J. Nanomed.* **2006**, *1*, 297-315.
-

- [52] Blume, G.; Cevc, G. Liposomes for the sustained drug release in vivo. *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, *1029*, 91-97.
- [53] Zhang, M.; Qing, G.; Sun, T. Chiral biointerface materials. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1972-1984.
- [54] Palmer, M. R.; Hagerman, J. M.; Matano, L. M.; DeWitt, K. M.; Zhang, Y. Thermodynamic analysis and fluorescence imaging of homochiral amino acid–amino acid interactions at the air/water interface. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *408*, 235-241.
- [55] Dąbrowska, M.; Starek, M. Analytical approaches to determination of carnitine in biological materials, foods and dietary supplements. *Food Chem.* **2014**, *142*, 220-232.
- [56] Caner, H.; Groner, E.; Levy, L.; Agranat, I. Trends in the Development of Chiral Drugs. *Drug Discovery Today* **2004**, *9*, 105-110.
- [57] Sun, T.; Qing, G.; Su, B.; Jiang, L. Functional biointerface materials inspired from nature. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2909-2921.
- [58] Dörfler, H.-D. Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme: Physik und Chemie. *Springer* **2002**.
- [59] Amado, E.; Blume, A.; Kreßler, J. Adsorbed and Spread Films of Amphiphilic Triblock Copolymers Based on Poly(2,3-dihydroxypropyl methacrylate) and Poly(propylene oxide) at the Air-Water Interface. *Langmuir* **2010**, *26*, 5507-5519.
- [60] Stine, K. J.; Knobler, C. M. Fluorescence microscopy: a tool for studying the physical chemistry of interfaces. *Ultramicroscopy* **1992**, *47*, 23-34.
- [61] Heerklotz, H. The microcalorimetry of lipid membranes. *J. Phys.: Condens. Matter* **2004**, *16*, R441-R467.
-

- [62] Hassan, I. B.; Lafforgue, C.; Ayadi, A.; Schmitz, P. *In situ* 3D characterization of monodispersed spherical particle deposition on microsieve using confocal laser scanning microscopy. *J. Membrane Sci.* **2014**, *454*, 283-297.
- [63] Fitton, A. O.; Hill, J.; Jane, D. E.; Millar, R. Synthesis of Simple Oxetanes Carrying Reactive 2-Substituents. *Synthesis-Stuttgart* **1987**, *12*, 1140-1142.
- [64] Pezron, E.; Claesson, P. M.; Berg, J. M.; Vollhardt, D. Stability of Arachidic Acid Monolayers on Aqueous Salt Solutions. *J. Colloid Interface Sci.* **1990**, *138*, 245-254.
- [65] Knauf, K. Physikochemische Charakterisierung homologer kationischer Tenside und deren Wechselwirkung mit Modellmembranen bestehend aus DMPC und DMPG. *Dissertation* **2007**, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- [66] Zhao, L.; Feng, S.-S. Effects of lipid chain length on molecular interactions between paclitaxel and phospholipid within model biomembranes. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *247*, 55-68.
- [67] Angelova, Mi. I.; Dimitrov, D. S. Liposome electroformation. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1986**, *81*, 303-311.
- [68] Weis, R. M. Fluorescence Microscopy of phospholipid monolayer phase-transition. *Chem. Phys. Lipids* **1991**, *57*, 227-239.
- [69] McConnell, H. M. Structures and transitions in lipid monolayers at the air-water-interface. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1991**, *42*, 171-195.
- [70] Weis, R. M.; McConnell, H. M. Two-dimensional chiral crystals of phospholipid. *Nature* **1984**, *310*, 47-49.
- [71] Krüger, P.; Lösche, M. Molecular chirality and domain shapes in lipid monolayers on aqueous surfaces. *Phys. Rev. E* **2000**, *62*, 7031-7043.
-

- [72] Weis, R. M.; McConnell, H. M. Cholesterol stabilizes the crystal liquid interface in phospholipid monolayers. *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 4453-4459.
- [73] Gaub, H. E.; Moy, V. T.; McConnell, H. M. Reversible formation of plastic two-dimensional lipid crystals. *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 1721-1725.
- [74] McConnell, H. M.; Moy, V. T. Shapes of finite two-dimensional lipid domains. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 4520-4525.
- [75] Trabelsi, S.; Zhang, S.; Lee, T. R.; Schwartz, D. K. Linactants: Surfactant analogues in two dimensions. *Phys. Rev. Lett.* **2008**, *100*, 037802-1-037802-4.
- [76] Trabelsi, S.; Zhang, S.; Zhang, Z.; Lee, T. R.; Schwartz, D. K. Semi-fluorinated phosphonic acids form stable nanoscale clusters in Langmuir-Blodgett and self-assembled monolayers. *Soft Matter* **2009**, *5*, 750-758.
- [77] Trabelsi, S.; Zhang, Z.; Zhang, S.; Lee, T. R.; Schwartz, D. K. Correlating linactant efficiency and self-assembly: structural basis and line activity in molecular monolayers. *Langmuir* **2009**, *25*, 8056-8061.
- [78] Malone, S. M.; Trabelsi, S.; Zhang, S.; Lee, T. R.; Schwartz, D. K. Self-assembly of linactants: micelles and lyotropic liquid crystals in two dimensions. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 8616-8620.
- [79] Andelman, D.; Broçhard, F.; Joanny, J. F. Phase transitions in Langmuir monolayers of polar molecules. *J. Chem. Phys.* **1987**, *86*, 3673-3681.
- [80] Knobler, C. M. Seeing phenomena in flatland - studies of monolayers by fluorescence microscopy. *Science* **1990**, *249*, 870-874.
- [81] Flörsheimer, M.; Möhwald, H. Development of equilibrium domain shapes in phospholipid monolayers. *Chem. Phys. Lipids* **1989**, *49*, 231-241.
-

- [82] McConnell, H. M.; Keller, D. J. Finite two-dimensional phospholipid crystals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, *84*, 4706-4708.
- [83] Alakoskela, J.-M.; Sabatini, K.; Jiang, X.; Laitala, V.; Covey, D. F.; Kinnunen, P. K. J. Enantiospecific interactions between cholesterol and phospholipids. *Langmuir* **2008**, *24*, 830-836.
- [84] Nakahara, H.; Krafft, M. P.; Shibata, A.; Shibata, O. Interaction of a partially fluorinated alcohol (F₈H₁₁OH) with biomembrane constituents in two-component monolayers. *Soft Matter* **2011**, *7*, 7325-7333.
- [85] Winterhalter, M.; Bürner, H.; Marzinka, S.; Benz, R.; Kasianowicz, J. J. Interaction of Poly(ethylene-glycols) with Air-Water Interfaces and Lipid Monolayers: Investigations on Surface Pressure and Surface Potential. *Biophys. J.* **1995**, *69*, 1372-1381.
- [86] Kuhl, T. L.; Majewski, J.; Howes, P. B.; Kjaer, K.; von Nahmen, A.; Lee, K. Y. C.; Ocko, B.; Israelachvili, J. N.; Smith, G. S. Packing Stress Relaxation in Polymer-Lipid Monolayers at the Air-Water Interface: An X-ray Grazing-Incidence Diffraction and Reflectivity Study. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7682-7688.
- [87] Müller-Landau, F.; Cadenhead, D. A. Molecular packing in steroid-lecithin monolayers, Part I: Pure films of cholesterol, 3-doxyl-cholestane, 3-doxyl-17-hydroxyl-androstane, tetradecanoic acid and dipalmitoyl-phosphatidylcholine. *Chem. Phys. Lipids* **1979**, *25*, 299-314.
- [88] Takano, E.; Ishida, Y.; Iwahashi, M.; Araki, T.; Iriyama, K. Surface Chemical and Morphological Study on Monolayers of Cholesterol, Cholestanol, and Their Derivatives Conjugated with Amino Acid. *Langmuir* **1997**, *13*, 5782-5786.
- [89] Mugdil, P.; Dennis, G. R.; Millar, T. J. The Surface Pressure Dynamics and Appearance of Mixed Monolayers of Cholesterol and Different Sized Polystyrenes at an Air-Water Interface. *Langmuir* **2005**, *21*, 1338-1345.
-

-
- [90] Gupta, R. K.; Suresh, K. A. AFM studies on Langmuir-Blodgett films of cholesterol. *Eur. Phys. J. E* **2004**, *14*, 35-42.
- [91] McConlogue, C. W.; Vanderlick, T. K. Molecular Determinants of Lipid Domain Shape. *Langmuir* **1999**, *15*, 234-237.
- [92] Benesch, M. G. K.; Mannock, D. A.; Lewis, R. N. A. H.; McElhaney, R. N. A Calorimetric and Spectroscopic Comparison of the Effects of Lathosterol and Cholesterol on the Thermotropic Phase Behavior and Organization of Dipalmitoylphosphatidylcholine Bilayer Membranes. *Biochemistry* **2011**, *50*, 9982-9997.
- [93] Hung, W.-C.; Lee, W.-T.; Chen, F.-Y.; Huang, H. W. The Condensing Effect of Cholesterol in Lipid Bilayers. *Biophys. J.* **2007**, *92*, 3960-3967.
- [94] McMullen, T. P. W.; Lewis, R. N. A. H.; McElhaney, R. N. Differential Scanning Calorimetric Study of the Effect of Cholesterol on the Thermotropic Phase Behavior of a Homologous Series of Linear Saturated Phosphatidylcholines. *Biochemistry* **1993**, *32*, 516-522.
- [95] Smith, E. A.; Wang, W.; Dea, P. K. Effects of cholesterol on phospholipid membranes: Inhibition of the interdigitated gel phase of F-DPPC and F-DPPC/DPPC. *Chem. Phys. Lipids* **2012**, *165*, 151-159.
-

A. Bildtafeln

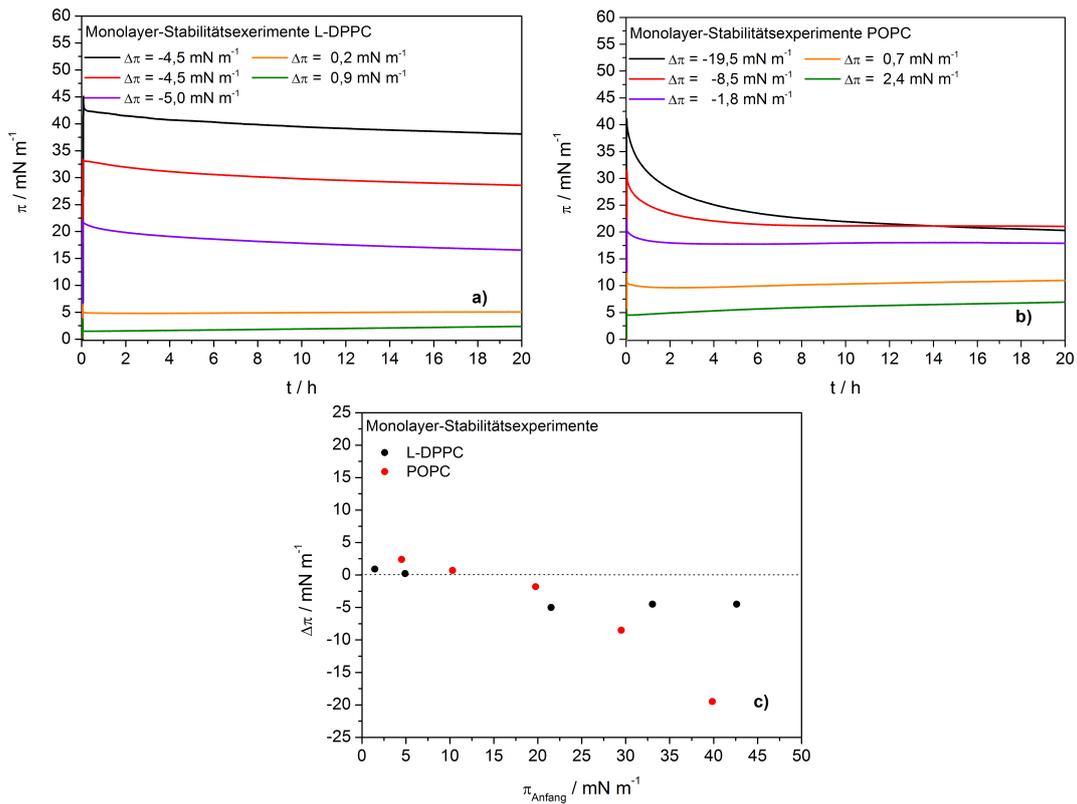


Abbildung A.1.: Monolayer-Stabilitätstests der reinen Phospholipide L-DPPC und POPC. Der zu Beginn des Versuches erzeugte Oberflächendruck π wird über einen Zeitraum von 20 Stunden beobachtet. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

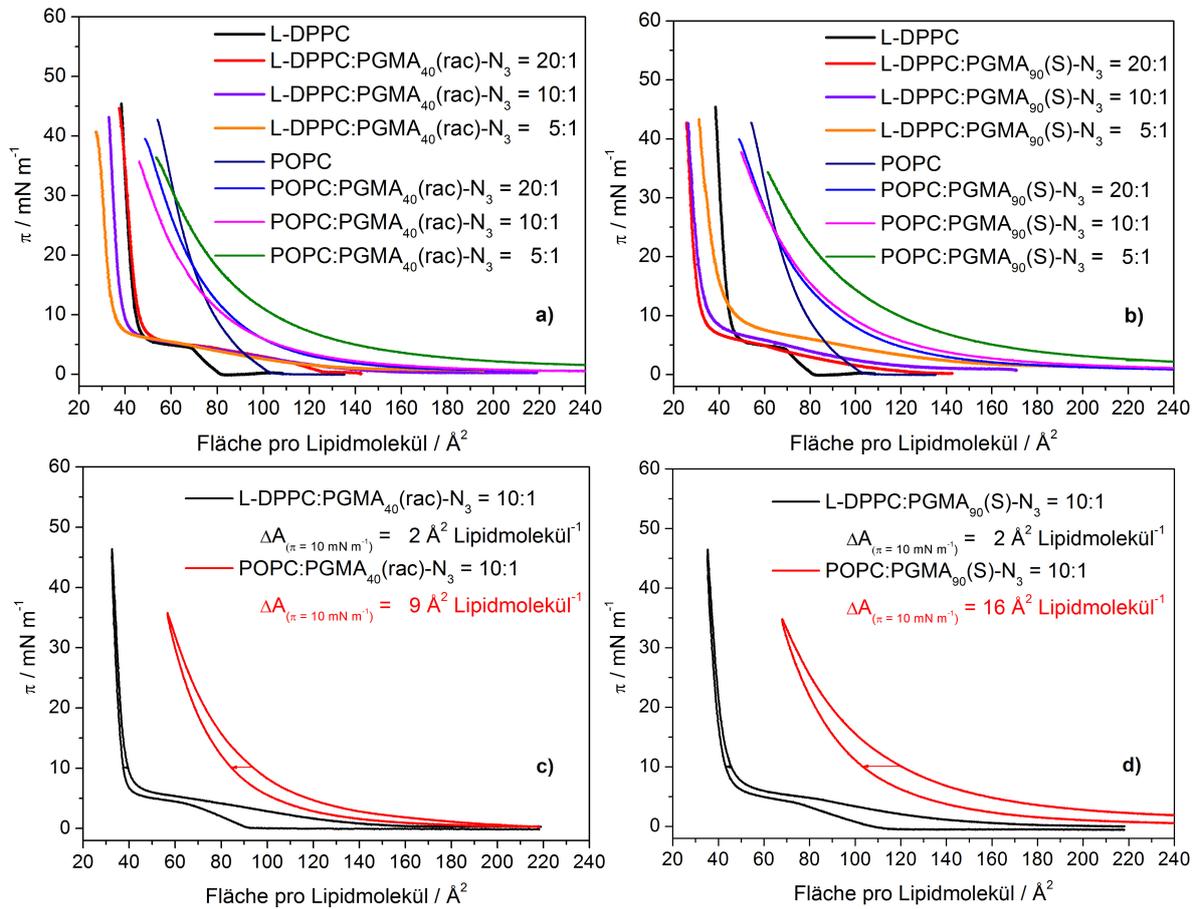


Abbildung A.2.: Kompressionsisothermen der gemischten Lipid:PGMA-Homopolymer-Monolayer im Vergleich zur reinen Lipidisotheime. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

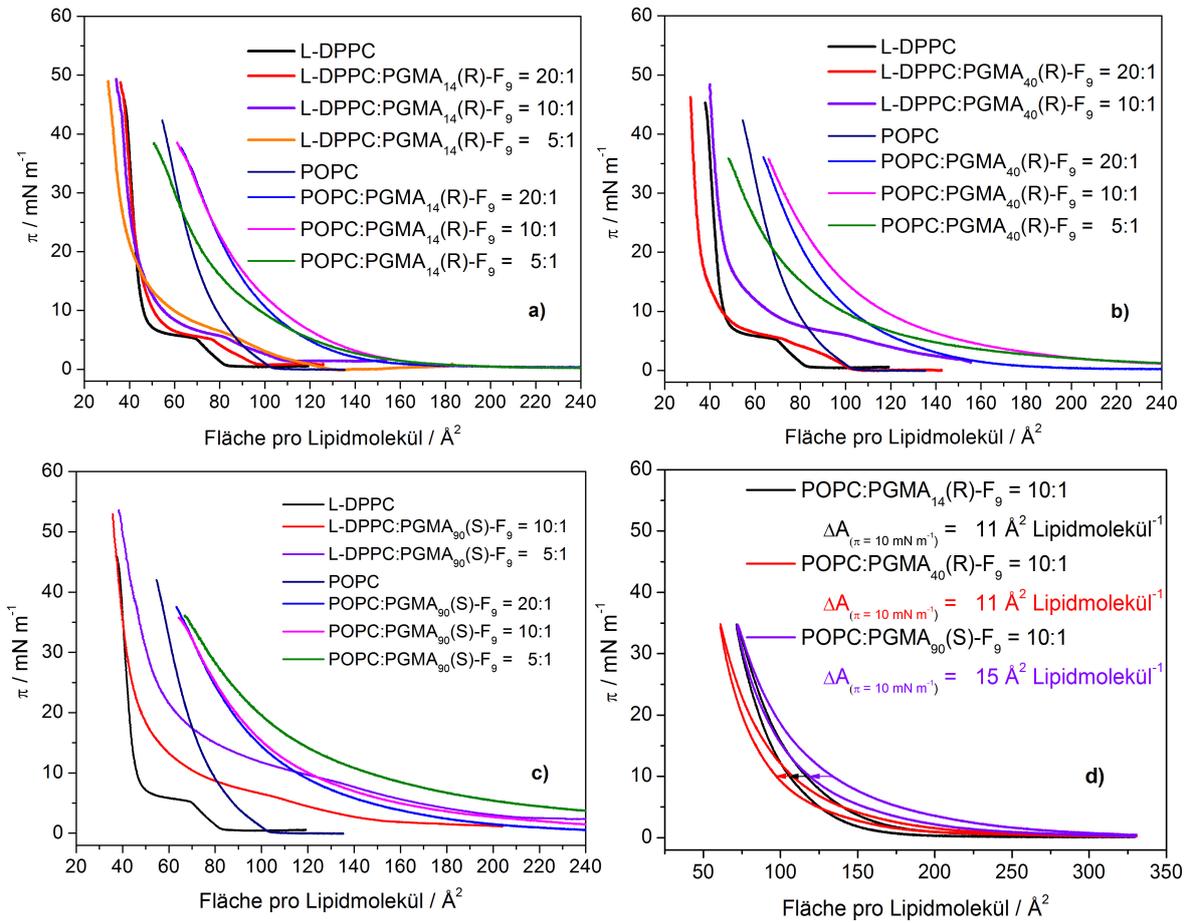


Abbildung A.3.: Kompressionsisothermen der gemischten Lipid:PGMA-Derivat-Monolayer (terminale Perfluoralkylkette) im Vergleich zur reinen Lipidisotherme. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

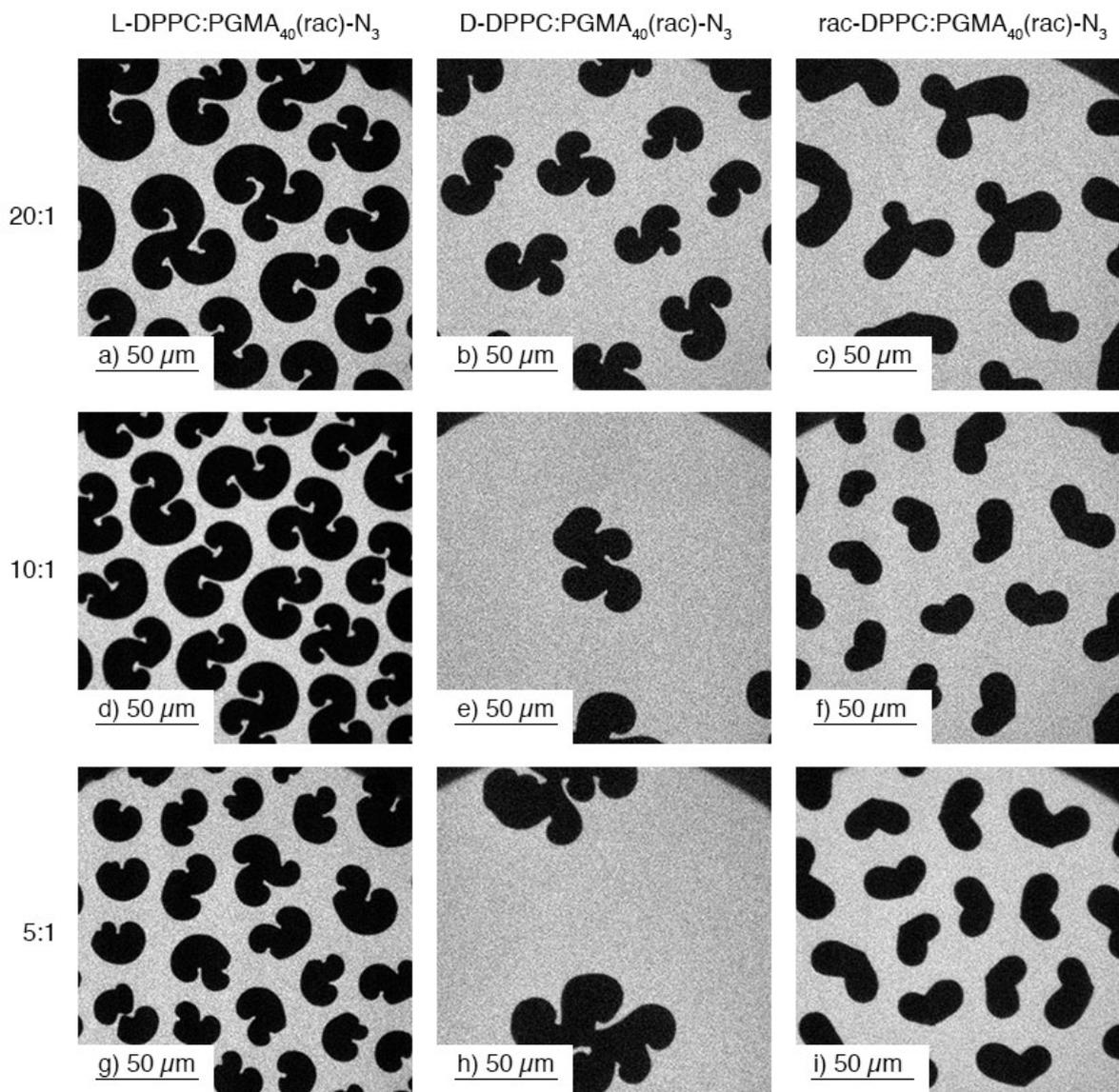


Abbildung A.4.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener DPPC:PGMA-Homopolymer-Monolayer. Die Mischungsverhältnisse können direkt aus der Abbildung abgelesen werden. a) $5,5 \text{ mN m}^{-1}$; b) $5,6 \text{ mN m}^{-1}$; c) $6,0 \text{ mN m}^{-1}$; d) $7,1 \text{ mN m}^{-1}$; e) $5,5 \text{ mN m}^{-1}$; f) $6,1 \text{ mN m}^{-1}$; g) $6,5 \text{ mN m}^{-1}$; h) $5,4 \text{ mN m}^{-1}$; i) $6,1 \text{ mN m}^{-1}$. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE diente als Fluoreszenz-Dopans.

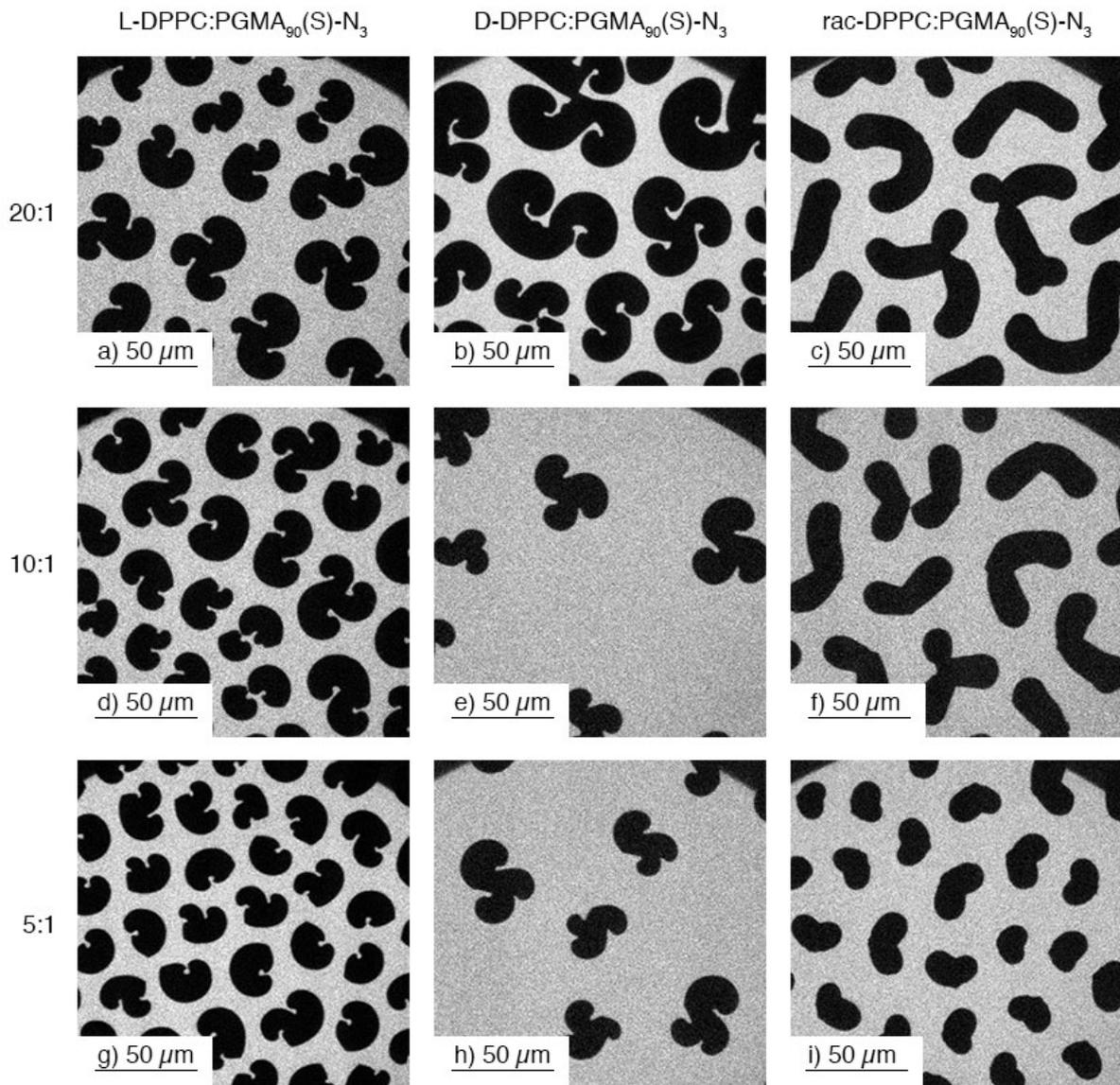


Abbildung A.5.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen verschiedener DPPC:PGMA-Homopolymer-Monolayer. Die Mischungsverhältnisse können direkt aus der Abbildung abgelesen werden. a) $6,5 \text{ mN m}^{-1}$; b) $6,8 \text{ mN m}^{-1}$; c) $6,3 \text{ mN m}^{-1}$; d) $7,7 \text{ mN m}^{-1}$; e) $6,0 \text{ mN m}^{-1}$; f) $6,7 \text{ mN m}^{-1}$; g) $9,2 \text{ mN m}^{-1}$; h) $6,7 \text{ mN m}^{-1}$; i) $7,4 \text{ mN m}^{-1}$. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE diente als Fluoreszenz-Dopans.

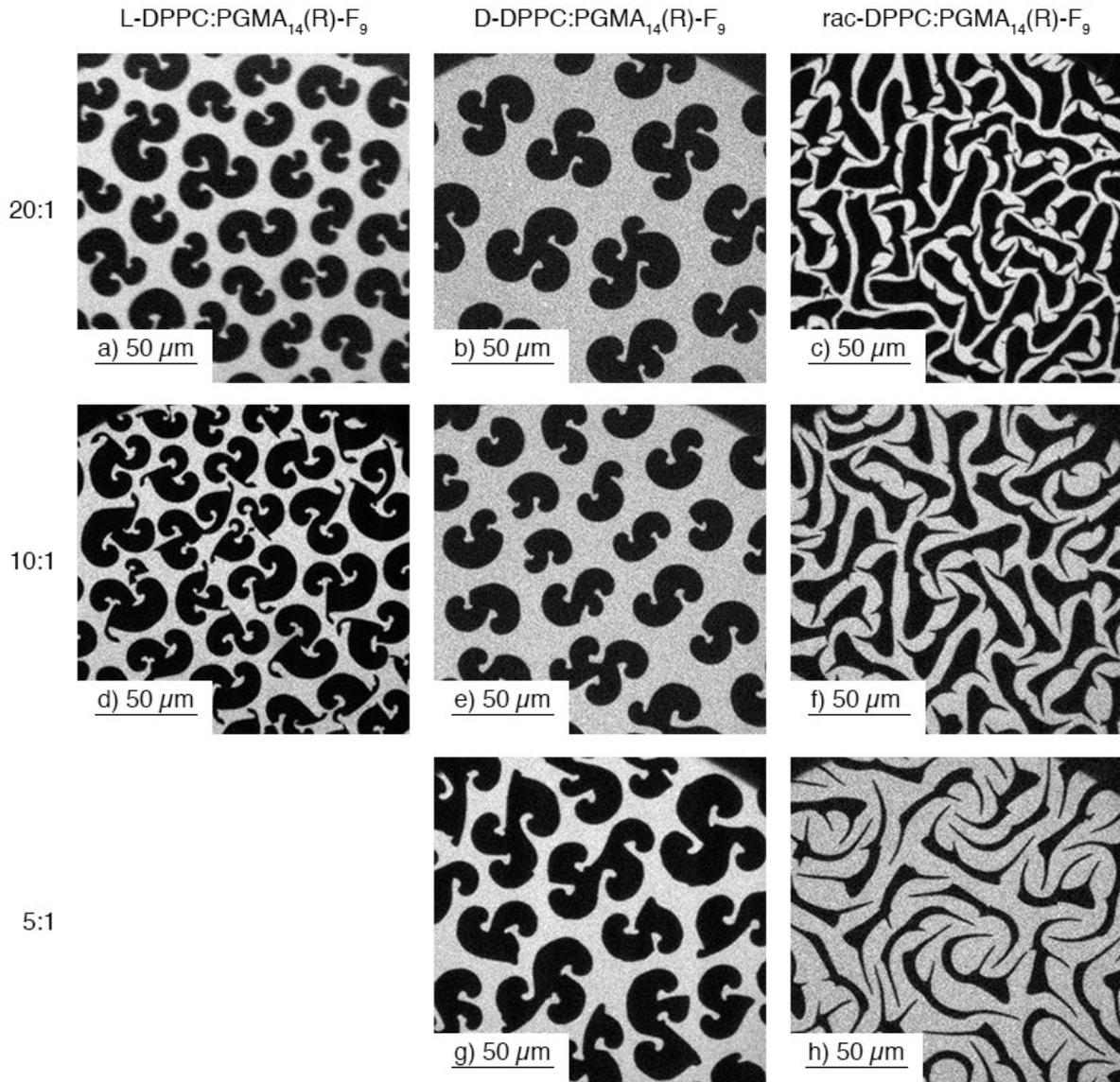


Abbildung A.6.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen von DPPC:PGMA₁₄(R)-F₉-Mischungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Die Mischungsverhältnisse können direkt aus der Abbildung abgelesen werden. a) 6,6 mN m⁻¹; b) 6,5 mN m⁻¹; c) 7,9 mN m⁻¹; d) 9,0 mN m⁻¹; e) 8,3 mN m⁻¹; f) 8,5 mN m⁻¹; g) 14,5 mN m⁻¹; h) 8,8 mN m⁻¹. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE diente als Fluoreszenz-Dopans.

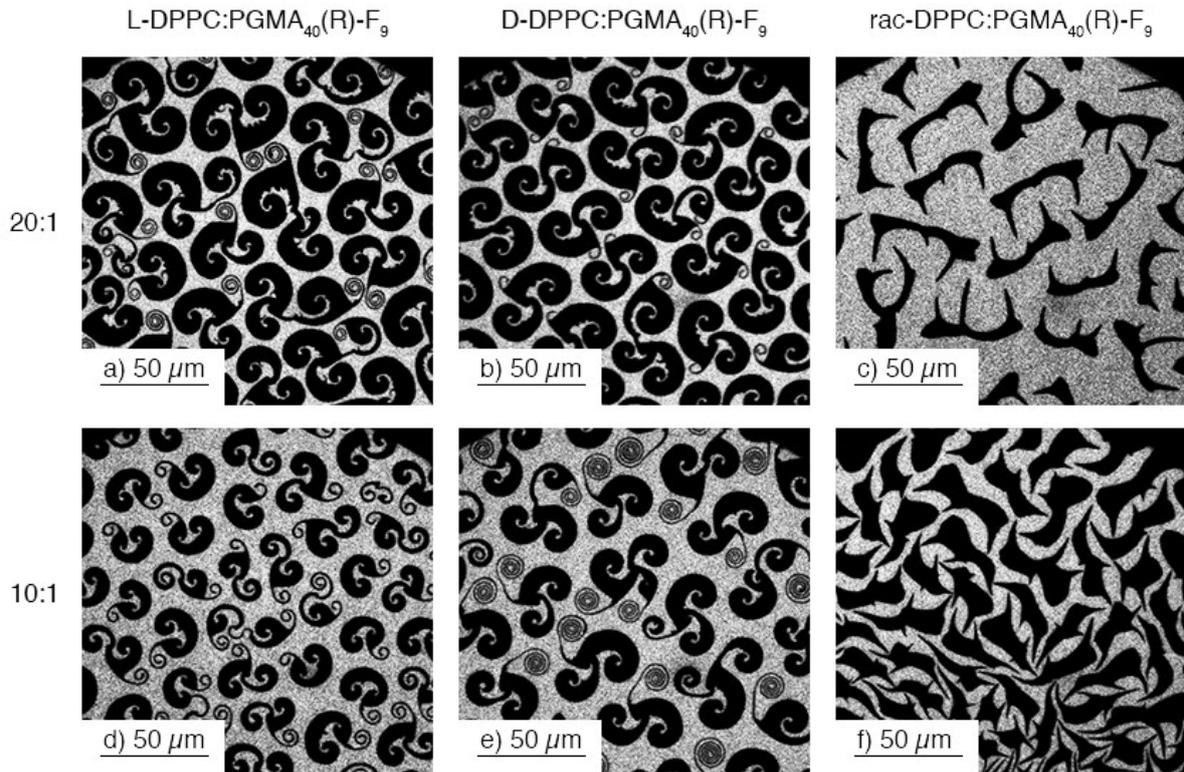


Abbildung A.7.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen von DPPC:PGMA₄₀(R)-F₉-Mischungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Die Mischungsverhältnisse können direkt aus der Abbildung abgelesen werden. a) 6,2 mN m⁻¹; b) 9,5 mN m⁻¹; c) 6,6 mN m⁻¹; d) 8,9 mN m⁻¹; e) 9,3 mN m⁻¹; f) 11,1 mN m⁻¹. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE diente als Fluoreszenz-Dopans.

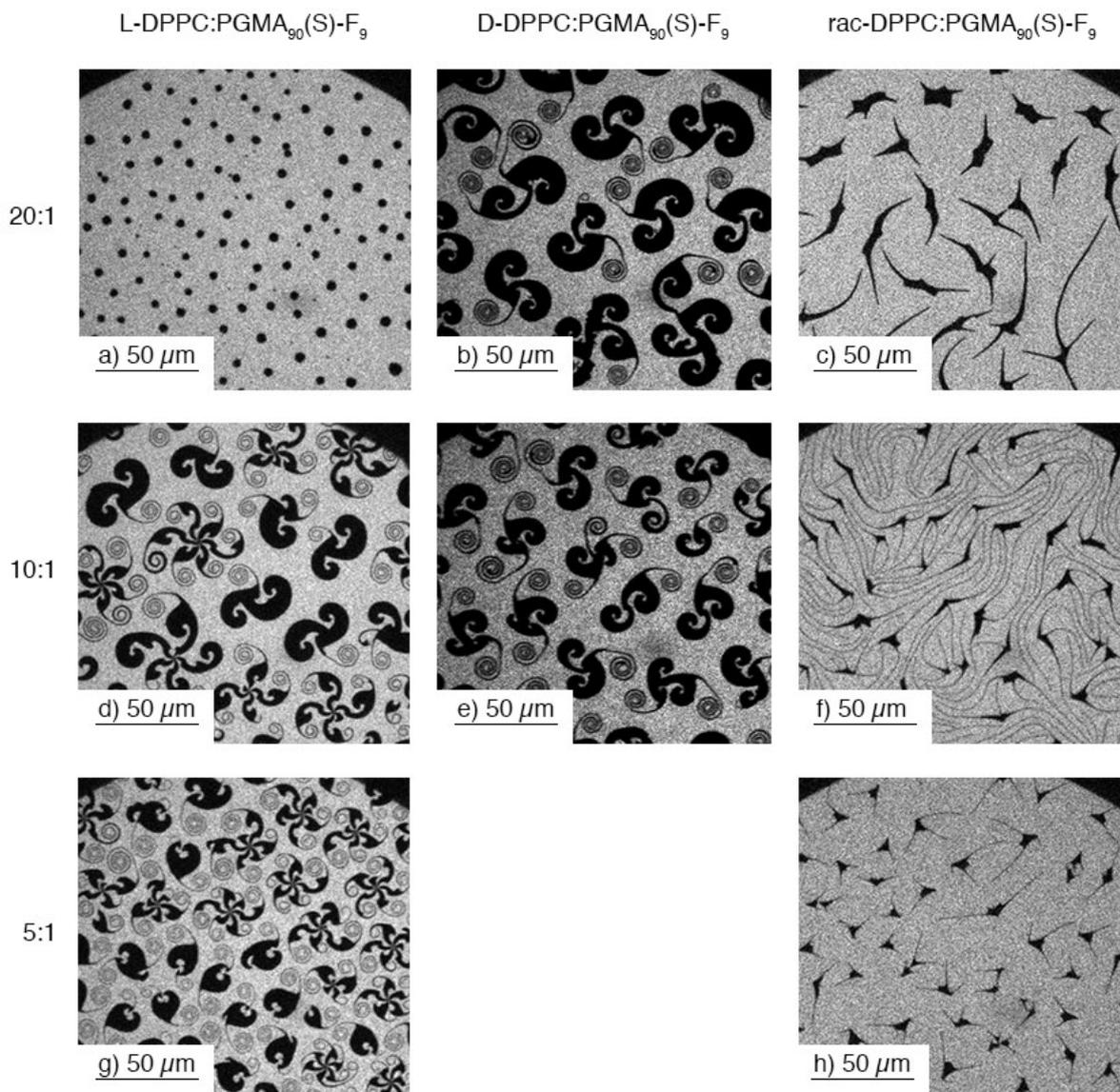


Abbildung A.8.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen von DPPC:PGMA₉₀(S)-F₉-Mischungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Die Mischungsverhältnisse können direkt aus der Abbildung abgelesen werden. a) 6,4 mN m⁻¹; b) 8,6 mN m⁻¹; c) 7,3 mN m⁻¹; d) 9,6 mN m⁻¹; e) 9,5 mN m⁻¹; f) 8,8 mN m⁻¹; g) 14,2 mN m⁻¹; h) 10,5 mN m⁻¹. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE diente als Fluoreszenz-Dopans.

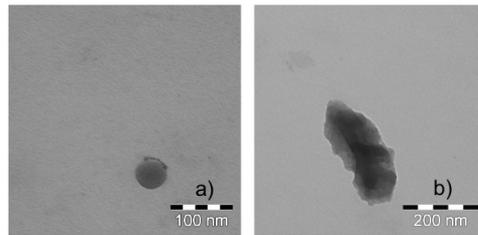


Abbildung A.9.: Repräsentative Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahmen des reinen Polymers PGMA₉₀(S)-F₉; a) negativ kontrastiert (UO₂(COOCH₃)₂), b) unkontrastiert. Die TEM-Proben wurden bei Raumtemperatur präpariert. Aufgrund ihrer geringen Aussagefähigkeit sind diese Resultate der elektronenmikroskopischen Experimente nur im Anhang gezeigt.

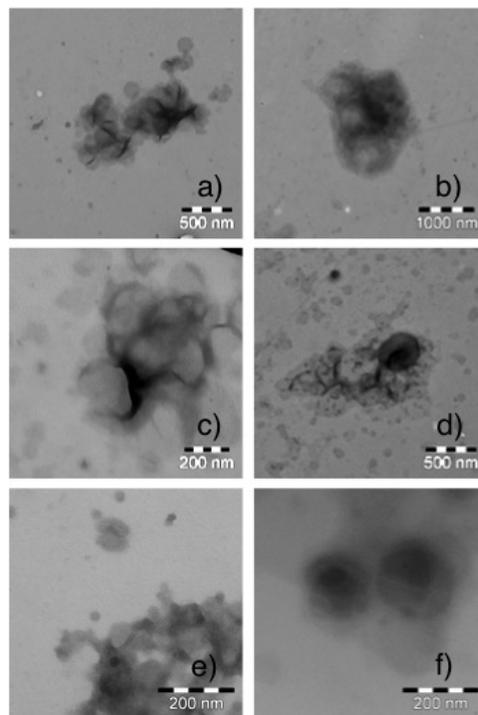


Abbildung A.10.: Repräsentative Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahmen der Mischungen L-DPPC:PGMA_n(c)-F₉ = 10:1; a) L-DPPC:PGMA₁₄(R)-F₉ negativ kontrastiert (UO₂(COOCH₃)₂), b) L-DPPC:PGMA₁₄(R)-F₉ unkontrastiert, c) L-DPPC:PGMA₄₀(rac)-F₉ negativ kontrastiert (UO₂(COOCH₃)₂), d) L-DPPC:PGMA₄₀(rac)-F₉ unkontrastiert, e) L-DPPC:PGMA₉₀(S)-F₉ negativ kontrastiert (UO₂(COOCH₃)₂), f) L-DPPC:PGMA₉₀(S)-F₉ unkontrastiert. Die TEM-Proben wurden bei Raumtemperatur präpariert. Aufgrund ihrer geringen Aussagefähigkeit sind diese Resultate der elektronenmikroskopischen Experimente nur im Anhang gezeigt.

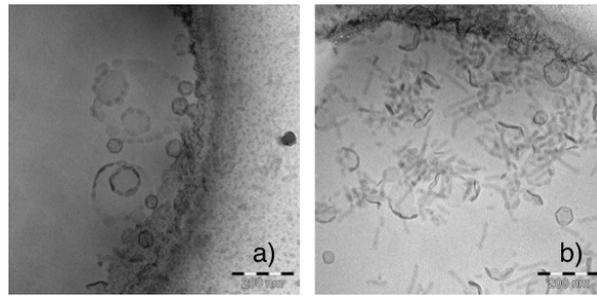


Abbildung A.11.: Repräsentative cryo-Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahmen der Mischung L-DPPC:PGMA₁₄(R)-F₉ = 10:1. Die cryo-TEM-Proben wurden vor der Vitrifizierung bei Raumtemperatur präpariert. Aufgrund ihrer geringen Aussagefähigkeit sind diese Resultate der elektronenmikroskopischen Experimente nur im Anhang gezeigt.

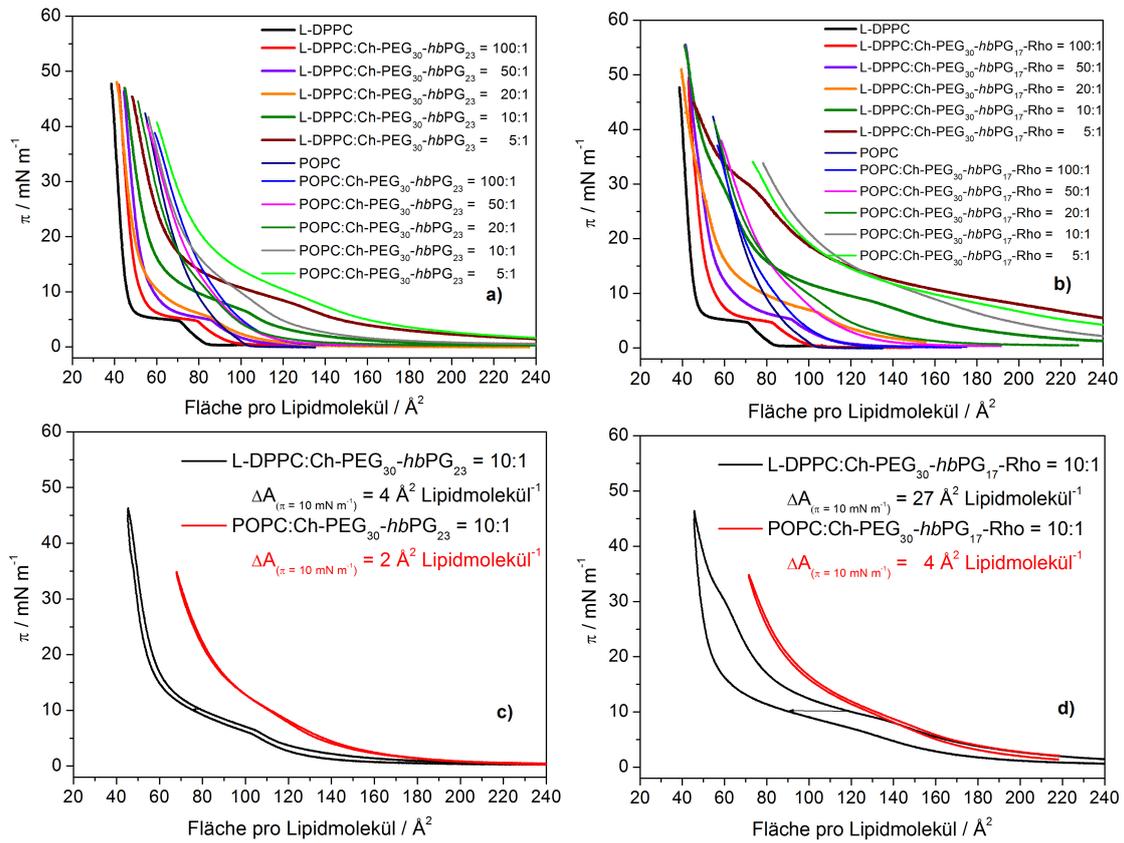


Abbildung A.12.: Kompressionsisothermen der gemischten Lipid:Block-Copolymer-Monolayer im Vergleich zur reinen Lipidisotherme. $\theta = 20^\circ\text{C}$.

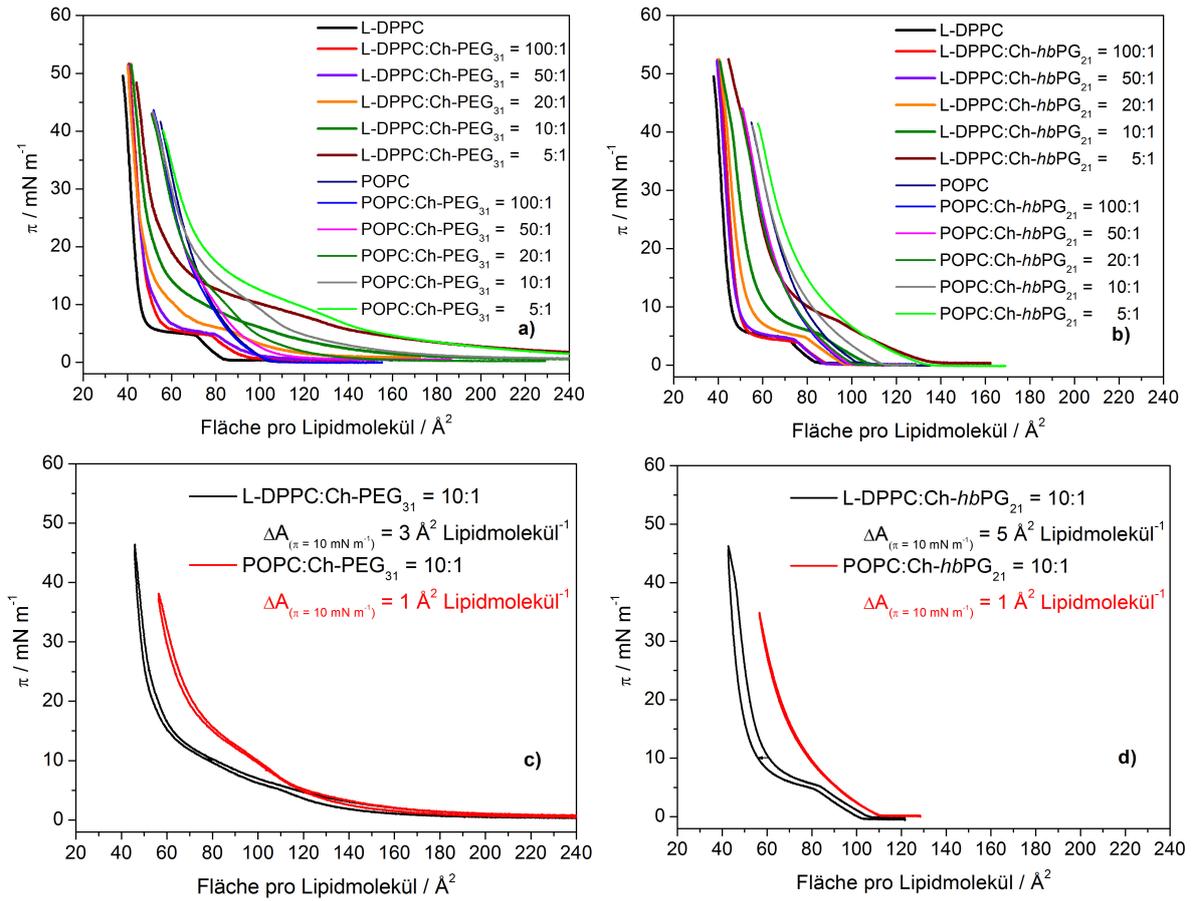


Abbildung A.13.: Kompressionsisothermen der gemischten Lipid-„Teilpolymer“-Monolayer im Vergleich zur reinen Lipidisotherme. $\theta = 20^\circ \text{C}$.

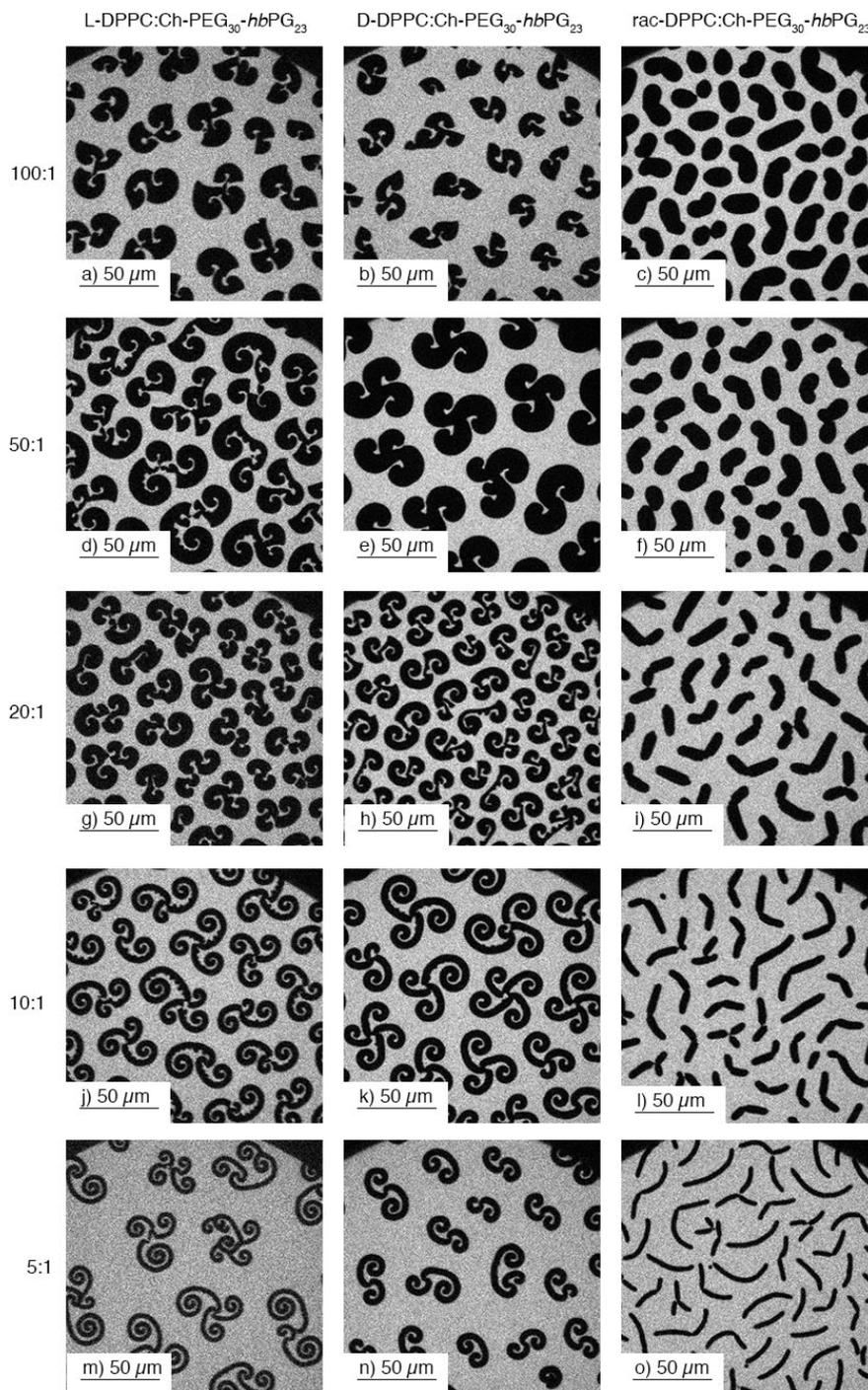


Abbildung A.14.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen von DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃-Mischungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Die Mischungsverhältnisse können direkt aus der Abbildung abgelesen werden. a) 5,8 mN m⁻¹; b) 5,7 mN m⁻¹; c) 6,5 mN m⁻¹; d) 6,8 mN m⁻¹; e) 7,3 mN m⁻¹; f) 6,9 mN m⁻¹; g) 11,8 mN m⁻¹; h) 10,1 mN m⁻¹; i) 8,1 mN m⁻¹; j) 11,1 mN m⁻¹; k) 10,0 mN m⁻¹; l) 9,5 mN m⁻¹; m) 12,5 mN m⁻¹; n) 13,1 mN m⁻¹; o) 12,6 mN m⁻¹. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ\text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE diente als Fluoreszenz-Dopans.

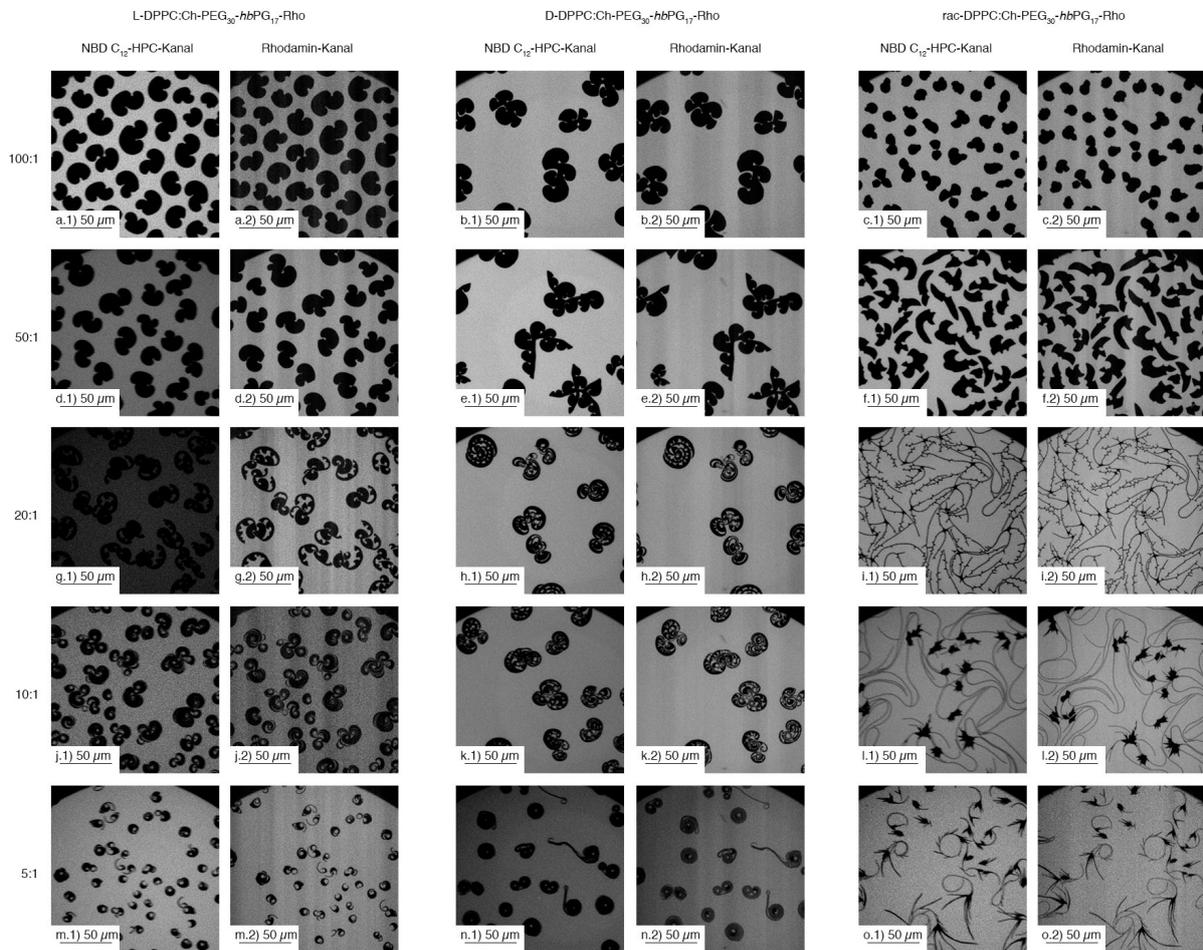


Abbildung A.15.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen von DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho-Mischungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Die Mischungsverhältnisse können direkt aus der Abbildung abgelesen werden. a.1,a.2) $6,3 \text{ mN m}^{-1}$; b.1,b.2) $6,0 \text{ mN m}^{-1}$; c.1,c.2) $6,9 \text{ mN m}^{-1}$; d.1,d.2) $7,4 \text{ mN m}^{-1}$; e.1,e.2) $6,9 \text{ mN m}^{-1}$; f.1,f.2) $8,5 \text{ mN m}^{-1}$; g.1,g.2) $8,8 \text{ mN m}^{-1}$; h.1,h.2) $8,0 \text{ mN m}^{-1}$; i.1,i.2) $8,4 \text{ mN m}^{-1}$; j.1,j.2) $13,5 \text{ mN m}^{-1}$; k.1,k.2) $11,0 \text{ mN m}^{-1}$; l.1,l.2) $10,7 \text{ mN m}^{-1}$; m.1,m.2) $15,5 \text{ mN m}^{-1}$; n.1,n.2) $16,8 \text{ mN m}^{-1}$; o.1,o.2) $16,3 \text{ mN m}^{-1}$. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE und 0,10-0,80 mol-% NBD C₁₂-HPC dienten als Fluoreszenz-Farbstoffe.

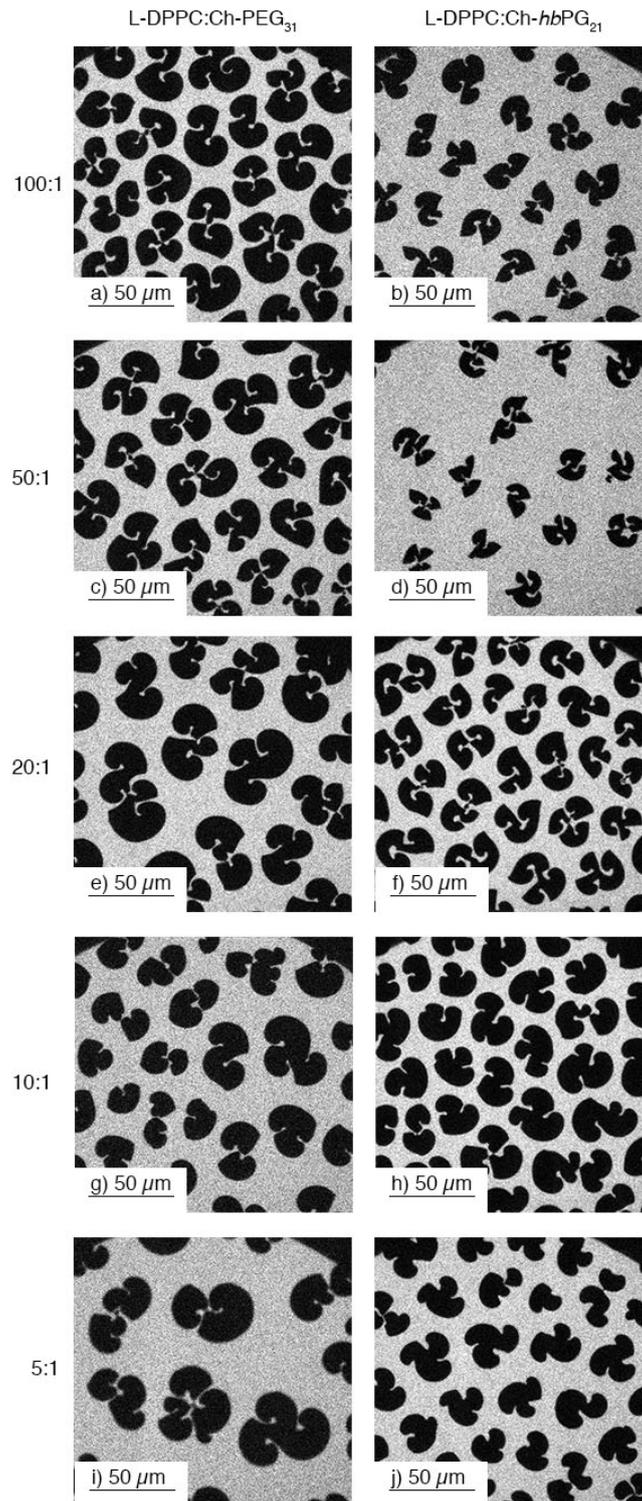


Abbildung A.16.: Epi-Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen von L-DPPC:Ch-PEG₃₁- bzw. L-DPPC:Ch-hbPG₂₁-Mischungen an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Die Mischungsverhältnisse können direkt aus der Abbildung abgelesen werden. a) $6,4 \text{ mN m}^{-1}$; b) $5,7 \text{ mN m}^{-1}$; c) $6,7 \text{ mN m}^{-1}$; d) $5,4 \text{ mN m}^{-1}$; e) $8,0 \text{ mN m}^{-1}$; f) $7,9 \text{ mN m}^{-1}$; g) $10,9 \text{ mN m}^{-1}$; h) $13,8 \text{ mN m}^{-1}$; i) $14,6 \text{ mN m}^{-1}$; j) $18,1 \text{ mN m}^{-1}$. Alle Bilder wurden bei konstanter Kompression des jeweiligen Monolayers aufgenommen. $\theta = 20^\circ \text{C}$. 0,01 mol-% Rho-DHPE dienen als Fluoreszenz-Dopans.

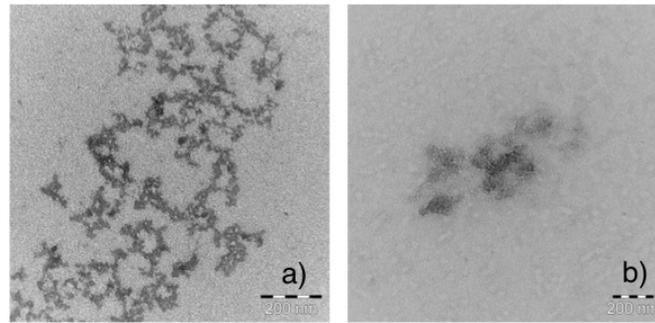


Abbildung A.17.: Repräsentative Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahmen der reinen hyperverzweigten Block-Copolymere mit Cholesterol-Anker; a) Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃, b) Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho. Die TEM-Proben wurden bei Raumtemperatur präpariert und negativ kontrastiert ($\text{UO}_2(\text{COOCH}_3)_2$). Aufgrund ihrer geringen Aussagefähigkeit sind diese Resultate der elektronenmikroskopischen Experimente nur im Anhang gezeigt.

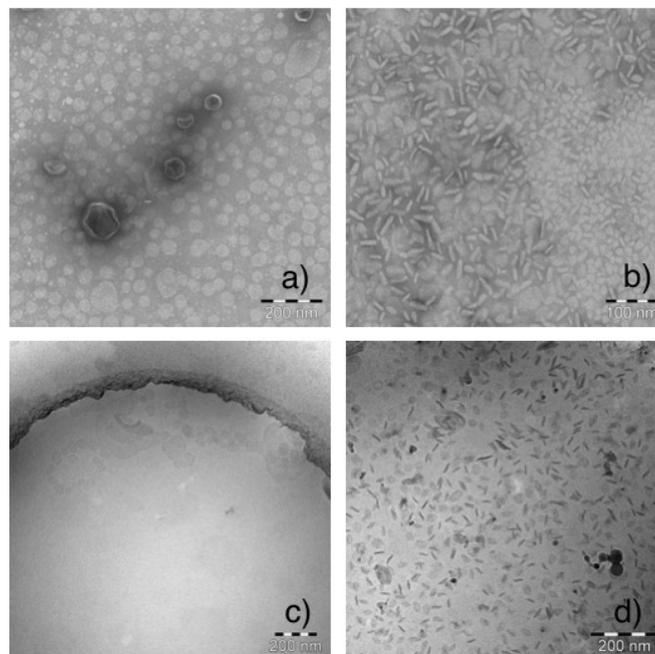


Abbildung A.18.: Repräsentative Transmissions- und cryo-Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahmen der Mischung L-DPPC: hyperverzweigtes Block-Copolymer = 10:1; a) L-DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃, TEM; b) L-DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho, TEM; c) L-DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₂₃, cryo-TEM; d) L-DPPC:Ch-PEG₃₀-hbPG₁₇-Rho, cryo-TEM. Die TEM-Proben wurden bei Raumtemperatur präpariert und negativ kontrastiert ($\text{UO}_2(\text{COOCH}_3)_2$). Die cryo-TEM-Proben wurden vor der Vitrifizierung bei Raumtemperatur präpariert. Aufgrund ihrer geringen Aussagefähigkeit sind diese Resultate der elektronenmikroskopischen Experimente nur im Anhang gezeigt.

Lebenslauf

Name	Peggy Scholtysek
Geburtsdatum	02.07.1985
Geburtsort	Halle/Saale
Nationalität	Deutsch

Schulbildung

07/2005	Abitur Abschlussnote: Sehr gut (1,2) Abiturzeugnis schließt den Abschluss „Großes Latinum“ ein
09/1996 - 07/2005	Europaschule Landesgymnasium Latina August Herrmann Francke, Halle/Saale
09/1992 - 07/1996	Grundschule Wilhelm Busch, Halle/Saale

Hochschulbildung

ab 08/2010	Promotion in der Arbeitsgruppe „Biophysikalische Chemie“ unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Blume Projektarbeit im Rahmen der Forschergruppe FOR 1145 „Struktur- turbildung von synthetischen polyphilen Molekülen mit Lipidmem- branen“
08/2010-03/2014	Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Arbeitsgruppe „Biophysika- lische Chemie“ unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Blume Projektarbeit im Rahmen der Forschergruppe FOR 1145 „Struk- turbildung von synthetischen polyphilen Molekülen mit Lipidmem- branen“
10/2009 - 07/2010	Anfertigung der Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe „Biophysikali- sche Chemie“ unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Blume Projektarbeit im Rahmen der Forschergruppe FOR 1145 „Struk- turbildung von synthetischen polyphilen Molekülen mit Lipidmem- branen“

10/2005 - 07/2010

Studium der Chemie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Studienabschluss: Diplom

Abschlussnote: Sehr gut (1,1)

Supplement Master's degree (M. Sc.)

Konferenzbeiträge

Vorträge - Workshops im Rahmen der Forschergruppe FOR 1145

07.06.2013	„Influence of Ch-PEG ₃₀ - <i>hb</i> PG _{xx} -Block-Copolymers on DPPC- and POPC-model systems“ 6th Workshop, Halle/Saale
07.06.2012	„PGMA _n (c)-F in interaction with DPPC monolayers“ 5th Workshop, Oppurg
25.11.2011	„Epi-Fluorescence microscopy on co-spread DPPC/polymer mixtures“ 4th Workshop, Alterode
20.05.2011	„Chiral PGMA derivatives in interaction with DPPC“ 3rd Workshop, Freyburg/Unstrut
22.10.2010	„Influence of a facial amphiphile on DPPC- and DMPC- model systems“ 2nd Workshop, Wittenberg

Posterbeiträge - Konferenzen

16.09.-17.09.2013	„Deformation of DPPC domains at the air/water interface caused by line-active hyperbranched block-copolymers with cholesterol anchor“ 3rd Symposium on Phospholipids in Pharmaceutical Research, Heidelberg
12.09.-14.09.2012	„Domain formation in monolayers of chiral phospholipids interacting with polymers at the air/water interface“ 15th International Conference „Polymeric Materials“ P2012, Halle/Saale
10.07.-13.07.2012	„Chiral phospholipids in interaction with chiral polymers: Formation of flower-, spiral- and fingerprint domains at the air/water interface“ 14th International Conference on Organized Molecular Films, Paris Gewinn eines von zwei Posterpreisen, vergeben von der Firma Biolin Scientific, Finnland

-
- | | |
|-------------------|---|
| 12.09.-13.09.2011 | „Chiral phospholipids in interaction with chiral polymers: Formation of flower- and spiral-domains at the air/water interface“
2nd Symposium on Phospholipids in Pharmaceutical Research, Heidelberg |
| 02.06.-04.06.2011 | „Influence of a facial amphiphile on lipid model systems“
110th Bunsentagung, Annual German Conference on Physical Chemistry, Berlin |
| 30.03.-01.04.2011 | „Influence of a facial amphiphile on lipid model systems“
German Liquid Crystal Conference 2011, 39. Arbeitstagung Flüssigkristalle, Hamburg |
| 21.02.-23.02.2011 | „Influence of a facial amphiphile on lipid model systems“
7th Zsigmondy Colloquium, Münster |
-

Veröffentlichungen

Erstautoren-Beiträge

- 2014 | Scholtysek, P.; Müller, S. S.; Meister, A.; Schöps, R.; Frey, H.; Blume, A.; Kressler, J. Linear-hyperbranched block copolymers with cholesterol endgroup interact with phospholipids in mono- and bilayers. **2014 in preparation.**
- 2012 | Scholtysek, P.; Li, Z.; Kressler, J.; Blume, A. Interactions of DPPC with semitelechelic poly(glycerol methacrylate)s with perfluoroalkyl endgroups. *Langmuir* **2012**, *28*, 15651-15662.
- 2012 | Scholtysek, P.; Achilles, A.; Hoffmann, C.-V.; Lechner, B.-D.; Meister, A.; Tschierske, C.; Saalwächter, K.; Edwards, K.; Blume, A. A T-shaped amphiphilic molecule forms closed vesicles in water and bicelles in mixtures with the phospholipid dipalmitoyl-phosphatidylcholine. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 4871-4878.

Zweitautoren-Beiträge

- 2013 | Naolou, T.; Jbeily, M.; Scholtysek, P.; Kressler, J. Synthesis and Characterization of Stearoyl Modified Poly (Glycerol Adipate) Containing ATRP Initiator on its Backbone. *Adv. Mater. Research* **2013**, *812*, 1-11.
- 2012 | Adekunle, O.; Schulz, M.; Lechner, B.-D.; Scholtysek, P.; Bacia, K.; Blume, A.; Kressler, J.; Binder, W. Controlling the Localization of Polymer-Functionalized Nanoparticles in Mixed Lipid/Polymer Membranes. *ACS Nano* **2012**, *6*, 8713-8727.
- 2011 | Schulz, M.; Glatte, D.; Meister, A.; Scholtysek, P.; Kerth, A.; Blume, A.; Bacia, K.; Binder, W. Hybrid lipid/polymer giant unilamellar vesicles: Effects of incorporated biocompatible PIB-PEO block copolymers on vesicle properties. *Soft Matter* **2011**, *7*, 8100-8110.
-

Eigenständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Peggy Scholtysek

Halle/Saale, den 20.05.2014
