

Wechselwirkungen X-förmiger polyphiler Moleküle mit Phospholipiden in Modellmembranen

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät II,
Chemie, Physik und Mathematik

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Dipl.-Chem. Bob-Dan Lechner

geboren am 12. Oktober 1983 in Karl-Marx-Stadt

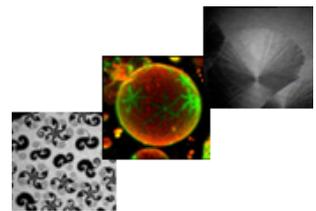
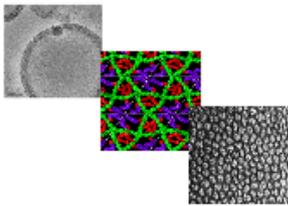
Gutachter:

1. Prof. Dr. Alfred Blume
2. Prof. Dr. Roland Winter

Tag der Verteidigung: 03. September 2015

FOR1145

Strukturbildung von synthetischen
polyphilen Molekülen mit
Lipidmembranen



„Erfahrung ist eine nützliche Sache. Leider macht man sie immer erst kurz nachdem man sie brauchte.“

Johann Wolfgang von Goethe
(1749-1832)

Gewidmet meinen Eltern

Abstract

Investigations on the interactions of complex synthetic, X-shaped bolapolyphilic molecules consisting of 2 or 3 chemically incompatible moieties with phospholipid model membranes were performed. Pure bolapolyphiles (BP) in the bulk formed liquid-crystalline phases but lyotropic phases in contact with water were not observed.

When BPs were incorporated into lipid vesicles, the interplay of different affinities (hydrophilic, lipophilic and fluorophilic) and the combination of rigid and flexible units within the molecules lead to the formation of a variety of structures. These systems were investigated by fluorescence microscopy and spectroscopy, electron microscopy, DSC, X-ray diffraction and infrared spectroscopy.

Incorporation of BPs into gel phase lipid (DPPC) bilayers usually lead to the formation of large BP-domains within the membrane and a separation into different lamellar species. The thermal behaviour of the lipid membranes was drastically altered upon BP incorporation and several endothermic transitions above T_m of pure DPPC occurred. In the liquid-crystalline phase, the BPs were homogeneously distributed in the membrane plane.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	XI
1 Einleitung.....	1
2 Das Modellsystem und dessen Parameter	3
2.1 Lipide	3
2.1.1 Polymorphismus der Lipidmembranen	3
2.2 Synthetische amphiphile und polyphile Moleküle	6
2.2.1 Der flüssigkristalline Zustand.....	9
2.2.2 Thermotrope Eigenschaften & Packung.....	9
2.3 Zielsetzung und Fragestellung.....	11
3 X-förmige Bolaamphiphile der Klassen Cm/n und Em/n.....	13
3.1 Lyotropes Verhalten der X-förmigen Bolaamphiphile Cm/n.....	14
3.1.1 Langmuir-Filme.....	14
3.2 Wechselwirkung X-förmiger Amphiphile der Klassen Cm/n und Em/n mit Phosphatidylcholinmembranen	18
3.2.1 TEM-Untersuchungen.....	18
3.2.2 LSFM-Untersuchungen	22
3.2.3 DSC-Untersuchungen	38
3.2.4 ATR-FTIR-Untersuchungen	45
3.2.5 Fluoreszenzdepolarisation/-anisotropie	54
3.2.6 Röntgenstreuexperimente	58
3.3 Zusammenfassung Cm/n und Em/n	81
4 Seitenkettenmodifizierte X-förmige Polyphile der Klasse Bm/n	85
4.1 Spektroskopische Eigenschaften	85
4.2 Lyotropes Verhalten der X-förmigen Polyphile Bm/n	88
4.2.1 Langmuirfilme.....	88
4.2.2 IRRAS-Untersuchungen	91
4.2.3 Zusammenfassung Bm/n (Langmuirfilme)	93
4.3 Wechselwirkung X-förmiger Bm/n-Polyphile mit Phosphatidylcholin-membranen.....	94
4.3.1 LSFM-Untersuchungen	94
4.3.2 DSC-Untersuchungen	96
4.3.3 Röntgenstreuexperimente	99
4.3.4 Zusammenfassung Bm/n-Lipid-Gemische (Röntgenexperimente)	106
4.4 Zusammenfassung Bm/n.....	108

5	Kopfgruppenmodifizierte X-förmige Amphiphile der Klassen C12r, F12/n und G12/n	109
5.1	Hydroxylkopfguppen - C12r	110
5.1.1	TEM-Untersuchungen.....	110
5.1.2	LSFM-Untersuchungen	110
5.1.3	DSC-Untersuchungen	112
5.1.4	ATR-FTIR-Untersuchungen	113
5.1.5	Fluoreszenzdepolarisationsuntersuchungen.....	114
5.1.6	Zusammenfassung C12r	114
5.2	Methyl-terminierte Oligo-Ethylenoxid-Kopfguppen - F12/n	116
5.2.1	Lyotropes Verhalten der F12/n-Mesogene	116
5.2.2	Wechselwirkungen der F12/n-Mesogene mit Phosphatidylcholinen in Membranen	118
5.2.3	Zusammenfassung F12/n	120
5.3	Glycerol-terminierte Oligo-Ethylenoxid-Kopfguppen - G12/3.....	122
5.3.1	TEM-Untersuchungen.....	122
5.3.2	LSFM-Untersuchungen	123
5.3.3	DSC-Untersuchungen	124
5.3.4	ATR-FTIR-Untersuchungen	125
5.3.5	Fluoreszenzdepolarisation/-anisotropie	127
5.3.6	Zusammenfassung G12/3.....	128
5.4	Zusammenfassung - kopfguppenmodifizierte X-förmige Mesogene.....	129
6	Zusammenfassung.....	131
6.1	Lyotropes Verhalten der Mesogene.....	131
6.2	Wechselwirkung mit PC in Membranen.....	132
7	Literatur	137
	Ein Wort des Dankes	147
A1	Anhang I - Materialien und Methoden.....	A1-1
A1.1	Chemikalien	A1-1
A1.1.1	Lipide	A1-1
A1.1.2	Mesogene.....	A1-1
A1.2	Langmuir-Filme, Grenzflächenaktivität und BAM	A1-1
A1.3	Präparation der Lipidsuspensionen.....	A1-2
A1.4	DSC.....	A1-3
A1.5	Bildgebende Analyseverfahren	A1-4
A1.5.1	AFM	A1-4
A1.5.2	TEM.....	A1-5

Inhaltsverzeichnis

A1.5.3	LFSM	A1-5
A1.6	Spektroskopische Analyseverfahren	A1-8
A1.6.1	Infrarotspektroskopie	A1-8
A1.6.2	UV/VIS-Spektroskopie	A1-12
A1.6.3	Fluoreszenzspektroskopie	A1-12
A1.7	Röntgenstreuung	A1-12
A1.7.1	Röntgenpulverdiffraktometrie mit Cu-K _α -Strahlung	A1-12
A1.7.2	Röntgenreflektivität und GIXD an orientierten Proben	A1-13
A1.8	Numerische Simulation auf DFT-Niveau	A1-17
A2	Anhang II	A2-1
A2.1	Epifluoreszenzmikroskopie	A2-1
A2.2	DSC	A2-1
A2.3	IRRAS	A2-2
A2.4	ATR-FTIR	A2-3
A2.5	Röntgenreflektivität	A2-4
A2.6	GIXD	A2-4
	Eidesstattliche Erklärung	B
	Lebenslauf	C
	Konferenzbeiträge	D
	Liste der Veröffentlichungen	E

A1

Abkürzungsverzeichnis

Allgemein:

$c_g/m_g/n_g$	Gesamtkonzentration/Gesamtmasse/Gesamtstoffmenge
M	molare Masse
x_i	Molenbruch der Komponente i
T / t	Temperatur/Zeit
pH / pD	pH-Wert/pD-Wert
k_B	Boltzmann-Konstante
TOC	Restgehalt organischen Kohlenstoffs im Reinstwasser (total organic carbon)
ESI-MS	Massenspektrometrie mit Elektronensprayionisation
NMR	Kernresonanzspektroskopie
\varnothing	Durchmesser
ppm	der millionste Teil (parts per million)
λ	Wellenlänge
RH	relative Luftfeuchte
R_f	Retentionsfaktor bei Dünnschichtchromatographie

Lipide und Chemikalien:

DPPC	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin
DOPC	1,2-Dioleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin
DMPC	1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin
DSPC	1,2-Distearyl- <i>sn</i> -Glycero-3-phosphocholin
POPC	1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin
Rh-DHPE	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphoethanolamine-N-(Lissamin-Rhodamin-B-sulfonyl), Ammoniumsalz
Rh	Rhodamin-B-Fluoreszenzlabel
DPH	Diphenylhexatrien
PIB- <i>b</i> -PEO	Blockcopolymer: Polyisobutylen-Polyethylenoxid
EO _{<i>n</i>}	Oligoethylenoxidkette mit n Monomereinheiten
TFE	2,2,2-Trifluorethanol
MeOH	Methanol (CH ₃ OH)
gly	Glycerolgruppe
<i>p</i> BBA	para-Brombenzoesäure (Referenzprobe bei Röntgenpulverexperimenten)

Aggregate und Phasenverhalten:

MLV	Multilamellares Vesikel (multilamellar vesicle)
SUV	kleines unilamellares Vesikel (small unilamellar vesicle)
LUV	großes unilamellares Vesikel (large unilamellar vesicle)
GUV	unilamellares Riesenvesikel (giant unilamellar vesicle)
L_c	lamellare Subgelphase einer Lipidmembran
$L_{\beta'}$	lamellare Gelphase einer Lipidmembran mit geneigten Alkylketten relativ zur Membrannormalen
$P_{\beta'}$	lamellare Ripplephase einer Lipidmembran (unduliert) mit geneigten Alkylketten relativ zur Membrannormalen

L_{α}	lamellare fluide Phase einer Lipidmembran
col_{hex}	columnar-hexagonale Mesophase der Mesogene
T_p	Temperatur der Vorumwandlung der Lipidaggregate von Gel- zur Ripplephase
T_m	Temperatur der Hauptumwandlung der Lipidaggregate von Gel- zur fluiden Phase
T_{add}	Temperatur von Zusatzumwandlungen von Mesogen-Lipid-Gemischen
$T_{präp}$	Präparationstemperatur
CPP	kritischer Packungsparameter (critical packing parameter)
V_{Ke}	Volumen einer Lipid-Acylkette
l_{Ke}	Länge einer Lipid-Acylkette
A_{Ko}	Fläche einer Lipidkopfgruppe

Infrarotspektroskopie

FTIR	Fourier Transformations-Infrarot (-Spektroskopie)
ATR	Abgeschwächte Totalreflexion (attenuated total reflection)
IRE	ATR-Kristall (internes Reflexionselement)
IRRAS	Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie
p/s	Polarisation der einfallenden Strahlung (parallel/senkrecht)
d_p	Eindringtiefe des IR-Lichtes in die Probe auf dem ATR-Kristall
γ	Einfallswinkel der IR-Strahlung
MD	Moleküldirektor
TDM	Übergangsdipolmoment (transition dipolar moment)
N	Membran-/Schichtnormale
α	Winkel zwischen MD und TDM
ipp	Schwingung mit TDM in der Molekülrückgratebene, parallel zu MD (in-plane parallel)
R^{ATR}	dichroitisches Verhältnis
θ	Tiltwinkel des MD (ATR-Experiment)
E_x, E_y, E_z	elektrische Feldamplituden in x-, y-, z-Richtung
k_x, k_y, k_z	Komponenten des integralen Absorptionskoeffizienten in x-, y-, z-Richtung
n_{21}	Brechungsindexverhältnis aus n_2/n_1 mit n_2 = Probe, n_1 = Kristall
Γ	Polarisatorgüte (IRRAS)

Monoschichtuntersuchungen

σ_D/σ_F	Oberflächenspannung von Wasser/eines organischen Filmes
π	Oberflächendruck
A_{mol}	molekulare Fläche
c_{spreit}	Spreitkonzentration (Langmuirfilme)
v_{kompr}	Kompressionsgeschwindigkeit der Barrieren einer Filmwaage
LB-Transfer	Langmuir-Blodgett-Übertrag
BAM	Brewsterwinkelmikroskopie (Brewster angle microscopy)
π_{tr}	Oberflächendruck bei Langmuir-Blodgett Überträgen
θ_B	Brewsterwinkel
R_s/R_p	Reflektivitäten von s- bzw. p-polarisiertem Licht
σ_D/σ_F	Oberflächenspannung von Wasser und eines organischen Filmes
n_w/n_f	Brechungsindex von Wasser und eines organischen Filmes

Kalorimetrie

c_p	Wärmekapazität der Probe
T_A/T_E	Anfangs- und Endtemperaturen der Umwandlung
ΔH	Umwandlungsenthalpie
ΔH_m	Hauptumwandlungsenthalpie
$\Sigma \Delta H_{add}$	Summe der Zusatzumwandlungsenthalpien
ΔH_{tot}	Summe aller Umwandlungsenthalpien

Mikroskopie

AFM	Rasterkraftmikroskopie (atomic force microscopy)
$k_0/k_{eff}/k_{nom}$	netto/effektive/nominelle Federkonstante des Cantilevers
l_{nom}	nominelle Länge des Cantilevers
F_z	wirkende Kraft auf den Cantilever in z-Richtung
d_z	Auslenkung des Cantilever in z-Richtung
Q	Qualitätsfaktor des Cantilevers
f_{res}	Resonanzfrequenz des Cantilevers
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
cryo-TEM	TEM mit vitrifizierten Proben

UV/VIS-Spektroskopie und Fluoreszenztechniken

UV/VIS	Ultravioletter/sichtbarer Bereich des Lichtes
E/ϵ_0	Extinktion/Extinktionskoeffizient
I/I_0	Lichtintensität nach/vor Passieren der Probe
c	Konzentration der Proben (c_g)
l_d	Durchstrahlänge der Küvette/Küvendicke
$\lambda^{ex}/\lambda^{em}$	Anregungs-/Emissionswellenlänge
T_{on}	Onsettemperatur
T_{off}	Offsettemperatur
ITO	Indiumzinnoxid $\{(In_2O_3)_{0.9}(SnO_2)_{0.1}\}$ (indium tin oxide)
$I(\gamma)$	Fluoreszenzintensität als Funktion der Kreiswinkels γ
R	normierte Fluoreszenzintensität
$g(\psi)$	Verteilungsfunktion
r	Fluoreszenzanisotropie
v/h	Indizes der Intensität (Fluoreszenzdepolarisationsexperimente): vertikal/horizontal

Röntgentechniken

$Cu-K_{\alpha'}$	charakteristische monochromatische Röntgenstrahlung von Cu ($\lambda_{Cu-K_{\alpha'}} = 0.153 \text{ nm}$)
s/θ	reziproker Abstand/Beugungswinkel der Bragg'schen Gleichung
I_0	Reflexintensität (Röntgenpulverdiffraktometrie)
cps	Zählrate (counts per second)
SAXS	Kleinwinkelstreuung (small angle X-ray scattering)
WAXS	Weitwinkelstreuung (wide angle X-ray scattering)
$Pbnm$	Symmetriegruppe
$(h \ k \ l)$	Miller'sche Indizes eines Reflexes
d	Wiederholabstand
d_{HH}	Kopfgruppen-Kopfgruppenabstand in einer Lipidbischicht
DESY	Deutsches Elektronensynchrotron

HASYLab	Hamburger Synchrotron-Labor
PETRA III	Positronen-Elektronen-Tandem-Ring-Anlage der dritten Generation
P08	Beamline 08 an PETRA III
T_{hydra}	Hydratationstemperatur
T_{refl}	Temperatur für Reflektivitätsmessungen
α_i, α_f	Einfalls- und Ausfallswinkel der Röntgenstrahlung bei Reflektivitätsmessungen
k_i, k_f	Wellenvektor des einfallenden und ausfallenden Strahls (spekuläre Reflexion)
α_r, α_r	Winkel und Streuvektor der nicht-spekulär gestreuten Strahlung
q_z	Streuvektor in z-Richtung (Reflektivität)
$I(q)$	Intensität der Streustrahlung
$R(q_z)$	Reflektivität
$S(q_z)$	Strukturfaktor in z-Richtung
$F(q_z)$	Formfaktor in z-Richtung
$F^{(-)}(q_z)$	kontinuierlicher Formfaktor in z-Richtung
Q_l	Gittervektor in z/l-Richtung (Realraum/reziproker Raum)
v_l	Phasenfaktor (Fourierkoeffizient)
L_0	Amplitude eines Peaks (Reflektivität)
ω_0	Halbwertsbreite eines Peaks (Reflektivität)
D	Netzebenenabstand
z	Abstand im Realraum (z-Richtung)
ρ_e	relative Elektronendichte (Reflektivität)
$\Delta\rho(z)$	Elektronendichtekontrast in z-Richtung
GIXD	Röntgenstreuung in streifendem Einfall (grazing incidence X-ray diffraction)
ϕ	Azimutwinkel (GIXD)
q_r	radialer Streuvektor entlang des Winkels ϕ (GIXD)
q_0	Reflexposition (GIXD)
$\rho(r)$	radiale Elektronendichte
$f(q)$	Lorentz-Funktion zur Anpassung eines WAXS-Reflexes (GIXD)

Quantenmechanische Rechnungen

DFT	Dichtefunktionaltheorie (density functional theory)
B3LYP	Becke-3-Term-Lee-Young-Parr-Funktional in der DFT
BVP86	Basissatz in der DFT
3-21g	Basissatz in der DFT
6-311g(2d,p)	Basissatz in der DFT
E	Gesamtenergie des Moleküls
ΔE_{rot}	Energieänderung bei Rotation, Rotationsbarriere
HF	Hartree-Fock
LSDA	lokale Spindichteapproximation (local spin density approximation)
GGA	normierte Gradientenapproximation (generalised gradient approximation)
SCF	Iterationsmethode (self consistent field)

1 Einleitung

Wasser bedeckt 70 % - 72 % der Erdoberfläche und ist der Ursprung allen irdischen Lebens. Die speziellen Eigenschaften des Wassers, wie Hydrophilie, Polarität der Moleküle und die Dichteanomalie sind die wesentlichen Voraussetzungen für selbstreproduzierendes Leben. Um dies zu ermöglichen sind Kompartimente des Wassers durch Membranen voneinander abgetrennt, die den so gebildeten Zellen einen begrenzten wässrigen Raum zur Verfügung stellen. Die wichtigsten Bestandteile von Zellmembranen sind Lipide, Proteine und Zucker. Eine besondere Eigenschaft der Lipide, ihre Amphiphilie, ermöglicht die einzigartige Funktionsweise und Struktur der Lipidmembranen. So stellen diese Membranen stabile und zugleich flexible Barrieren zwischen zwei Zellen dar oder grenzen intrazelluläre Kompartimente ab. Lipide machen ca. 40 % - 75 % der Membran aus,¹ wobei der Rest vor allem durch Proteine gefüllt wird. Proteine als Enzyme sorgen unter anderem für Zellstoffwechsel, Signaltransduktion, Zell-Zell-Kommunikation und fungieren als Sensoren für externe Stimuli.^{2,3} Ein Hauptbestandteil der eukaryotischen Lipidmembran machen dabei Phosphatidylcholine (PC) aus.⁴ Die Lipide bilden eine 2D-Flüssigkeit, in welcher sich die anderen Membranbestandteile relativ frei (fluide) bewegen können.⁵

Zellmembranen sind also hochkomplexe Systeme. Um z. B. auf medizinischem oder pharmakologischem Wege gezielt Einfluss auf die Struktur und das Verhalten einer Zellmembran nehmen zu können, ist es wichtig, den Aufbau der Membran und deren Wechselwirkungen mit Proteinen bzw. Peptiden zu verstehen. Um diese Interaktionen zu untersuchen, wird auf Grund der hohen Komplexität biologischer Membranen oft am Modellsystem einer reinen Lipidmembran, frei von ein- oder angelagerten Proteinen, gearbeitet.^{6,7} Die Wechselwirkungen von Proteinen⁸⁻¹² und Peptiden¹³⁻¹⁷ mit Lipidmembranen werden seit mehr als 70 Jahren intensiv untersucht. Dabei sind die grundlegenden Prinzipien der Strukturbildung und des Phasenverhaltens bei Ein- bzw. Anlagerung von Fremdmolekülen nicht erschöpfend verstanden und werden auch in Zukunft Gegenstand der Forschung sein. Oft werden Interaktionsstudien von Proteinen mit Lipidmembranen auf Grund der Größe und konformationellen Vielfalt der Proteine an Modellsystemen, die bestimmte Areale bzw. Affinitätsprofile der Proteine imitieren, durchgeführt. Zur Reduktion der Komplexität werden auch artifizielle Moleküle verwendet, die gezielt synthetisiert wurden, um in bestimmter Weise mit Lipidmembranen in Wechselwirkung zu treten. Diese Moleküle sind oft ebenso wie die Lipide amphiphil mit hydrophilen und lipophilen Bereichen im Molekül. Die Vielfalt der Möglichkeiten für die Wechselwirkung von artifiziellen, synthetischen Molekülen mit Lipidmodellmembranen und der Einfluss der Moleküle auf die Struktur der Membran und deren Eigenschaften, wie Flexibilität und Permeabilität, sollen anhand einiger Beispiele aufgezeigt werden:

Synthetische Makromoleküle sind oft von vergleichbarer Größe wie Proteine. Es konnte gezeigt werden, dass hydrophile, flexible Polymere durch Verankerung in der Membran eine weiche Corona um Lipidvesikel bilden können.¹⁸ Amphiphile Blockcopolymer wie PIB-*b*-PEO (Polyisobutylene-*b*-Polyethylenoxid) können die Membranstruktur und -permeabilität beeinflussen bzw. separierte Mikrodomänen von spezifischer Struktur und Packung bilden.¹⁹⁻²¹

Kleinere Moleküle wurden ebenso verwendet, um Membranwechselwirkungen zu untersuchen. So zeigen stäbchenförmige Oligospiroketale Mischbarkeit mit Phospholipidmodell- und biologischen Membranen.²²⁻²⁴ Die als „molecular rod“²⁵ bekannten Moleküle bestehen aus einem elongierten lipophilen Rückgrat mit konjugiertem π -System und nehmen in wässrigen Lipidsystemen eine Transmembranordnung ein.^{26,27} Amphiphile Multiblockmoleküle, die am zentralen Oligo-

(Phenylen-Alkinylen)-Kern EO₄-Einheiten, terminiert von Benzoat- oder Triazin-Funktionen, tragen, zeigen ebenso einen Einbau in fluide DOPC-Membranen (1,2-Dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin) mit Transmembranordnung.²⁸

Einige amphiphile Moleküle sind bekannt dafür, Ionenkanäle zu bilden.²⁹ Um als Ionenkanalmimetikum aktiv zu sein, müssen die Moleküle eine bolaamphiphilähnliche Struktur haben und so zwei hydrophile Kopfgruppen tragen. Die Moleküllänge muss der Länge der Lipiddoppelschicht entsprechen, wobei dafür lipophile Molekülteile vorhanden sein müssen, die mit den Lipidalkylketten wechselwirken und hydrophile Teile im Inneren der Kanäle, die Ionenleitung ermöglichen. Einfache Moleküle wie *Aplossan*, bestehend aus Diethanolaminkopfgruppen, verbunden durch Alkylketten und Bisphenylgruppen, erfüllen diese Kriterien.^{30,31} *Amphotericin* ist ein Polyen-Makrolidantibiotikum, das aus einer Ankergruppe (Mycosamin) für die Lipiddoppelschicht/Wasser-Grenzfläche, einer rigiden Polyengruppe zur Wechselwirkung mit dem lipophilen Membraninterieur und einem Polyol besteht.³² Die Moleküle sind spezifisch für die Interaktion mit Membranen bestimmter Dicke adaptierbar und werden pharmakologisch als Fungizide eingesetzt. Substituierte Oligo-*p*-Phenylene können in analoger Weise eine Transmembranordnung³³ einnehmen und in Abhängigkeit von der Länge ihres lipophilen, rigiden Rückgrates eine Membran bestimmter Dicke durchspannen.^{32,34} Dabei imitieren die Oligo-*p*-Phenylene eine künstliche Doppelhelixanordnung³⁵ und sind photochemisch aktiv,³⁶ was deren Detektion und Lokalisation mit UV-Spektroskopie und Fluoreszenzmethoden möglich macht. Es ist durch Peptidsubstitution an den Oligo-*p*-Phenylenen möglich, artifizielle β -Barrels zu erzeugen, die als α -Helix-Sensoren bzw. selektive Schleusen für Liganden oder Ionen fungieren können.^{37,38} Ebenso konnten Oligoester-Ionenkanäle, deren Moleküle eine Diphenylethingruppe tragen, synthetisiert und ihre selektive Ionenpermeabilität gezeigt werden.³⁹ Dabei dient die Diphenylethingruppe Lokalisierungsstudien mittels Fluoreszenzmethoden.

Es wurden zahlreiche synthetische Moleküle untersucht, die spezifisch mit Lipidmodellmembranen wechselwirken. Diese artifiziellen Moleküle werden an die Membranen an- oder in die Membranen eingelagert und können teilweise durch die Bildung selbstorganisierter Strukturen Eigenschaften biologischer Moleküle wie Proteine oder Peptide imitieren. Vor allem niedermolekulare Verbindungen mit einem speziell konstruierten Affinitätsprofil können in der Lage sein, die Membranoberfläche als Templat für die Bildung selbstorganisierter Strukturen zu nutzen. Damit ist es möglich, an vereinfachten, gut definierten Modellsystemen die komplexen Vorgänge der Strukturbildung in und an Lipidmembranen zu verstehen und die gewonnenen Erkenntnisse auf komplexere, biologische Systeme zu übertragen.

In ähnlicher Weise werden in dieser Arbeit die Wechselwirkungen von synthetischen X-förmigen Molekülen maßgeschneiderter Funktionalität mit Phospholipiden in Modellmembranen betrachtet.

2 Das Modellsystem und dessen Parameter

2.1 Lipide

Phospholipide sind die häufigsten Bestandteile biologischer Membranen. Die amphiphilen Moleküle bestehen aus einer hydrophilen Kopfgruppe und zwei lipophilen Ketten (Schwanz, Abbildung 1). Die zentrale Einheit bildet eine Glycerol, an dessen *sn*-3-Position die spezifische Kopfgruppe als Phosphorsäureester gebunden ist. Die Phosphatgruppe ist negativ geladen, und der Rest der Kopfgruppe kann variieren. Typische Kopfgruppen sind dabei Cholin, Ethanolamin, Serin und Inositol. Von der Ladung der Kopfgruppe hängt die Nettoladung des Lipidmoleküls ab. Im Rahmen der Arbeit wurden nur Lipide mit zwitterionischer Phosphatidylcholkopfgruppe (PC-Kopfgruppe) verwendet (Tabelle 1). An den Positionen *sn*-1 und *sn*-2 des Glycerols ist jeweils eine Fettsäure verestert (Abbildung 1).

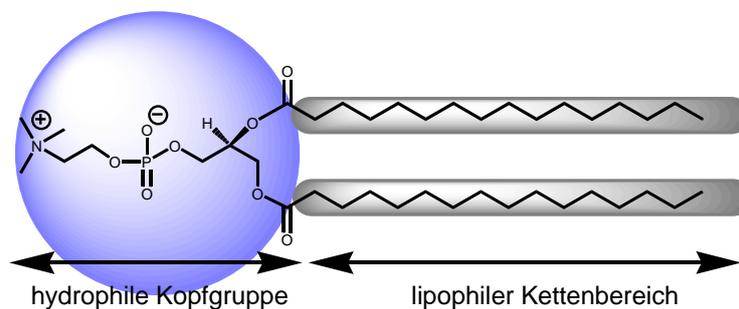


Abbildung 1. Struktur von DPPC: hydrophile PC-Kopfgruppe (blau) und zwei lipophile Palmitoylreste in *all-trans*-Konformation (lipophiler Teil, grau).

Phosphatidylcholine (PC) machen 86 % der Lipide in Eukaryontenzellen aus. Die zwitterionischen Kopfgruppen besitzen keine Nettoladung. Die physikalischen Eigenschaften der Phosphatidylcholine sind hauptsächlich durch die Länge der lipophilen Acylketten, die zwischen 10 und 24 Kohlenstoffatomen variiert, und deren Sättigungsgrad bestimmt.

Tabelle 1. Verwendete Lipide mit Abkürzung, Alkylkettenlängen und der Temperatur T_m der thermotropen Hauptumwandlung der durch diese Lipide gebildeten Membranen, *keine Membranbildung ohne andere Lipide.

Lipid	Abkürzung	Ketten	$T_m / ^\circ\text{C}$
1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin	DMPC	14:0-14:0	24
1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin	DPPC	16:0-16:0	42
1,2-Dipalmitoyl- d_{62} - <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin	DPPC- d_{62}	16:0-16:0	38
1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin	POPC	16:0-18:1	-2
1,2-Dioleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin	DOPC	18:1-18:1	-20
1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphoethanolamin-N-(Lissamin-Rhodamin-B-sulfonyl), Ammoniumsalz	Rh-DHPE	16:0-16:0	-*

2.1.1 Polymorphismus der Lipidmembranen

Suspendiert man Phospholipide in wässrigen Medien, bilden sich auf Grund des hydrophoben Effektes spontan Aggregate,⁴⁰ da wegen der amphiphilen Natur der Lipide keine Löslichkeit vorliegt. Dabei ist die Aggregatstruktur und die Ordnung der Lipidmoleküle abhängig von der Temperatur (thermotroper Polymorphismus, Abbildung 2 links) und dem Wassergehalt (Hydratationsgrad, lyotroper Polymorphismus, Abbildung 2 rechts). Es können verschiedene Aggregatstrukturen

auftreten, z. B. Mizellen, periodische 2D-Architekturen wie Lamellen, hexagonal gepackte Röhren oder bikontinuierliche kubische 3D-Phasen. Die Art der gebildeten Phase hängt nach Israelachvili *et al.*^{41,42} vom Größenverhältnis der beiden Teile unterschiedlicher Affinität und von der Stärke der Ausprägung der entsprechenden Affinität ab.⁴³ Detergenzien sowie Fettsäuren bilden oft mizellare Aggregate, während Lipide in der Regel lamellare oder hexagonale bzw. kubische Packungen aufweisen. Der kritische Packungsparameter CPP gibt an, welche der Packungsvarianten bevorzugt gebildet werden. Es fließen das Volumen der lipophilen Acylketten V_{Ke} und der Flächenbedarf der hydrophilen Kopfgruppe A_{Ko} sowie die Kettenlänge l_{Ke} ein. Ist $CPP < 1/3$, hat das Molekül eine Kegelgeometrie, und die Bildung von Kugelmizellen wird favorisiert. Bei $1/2 < CPP < 1$ ist die Geometrie des Moleküls die eines Kegelstumpfes bzw. Zylinders und Lamellen werden bevorzugt gebildet.

$$CPP = \frac{V_{Ke}}{A_{Ko} l_{Ke}} \quad (\text{Gl. 1})$$

Für DPPC sind diese Polymorphismen am besten untersucht und sollen hier kurz dargelegt werden.⁴ Es wird dabei lediglich auf lamellare Phasen eingegangen, die sich zumeist bei hinreichender Hydratation ausbilden.⁴⁴ Dies ist auf die Struktur der Lipidmoleküle zurückzuführen.^{41,42} Phospholipide weisen eine Kegelstumpfgeometrie auf, und die Bildung lamellarer Strukturen (Bischichten) mit geringen Lamellenbiegeradien wie Vesikeln ist bevorzugt. Durch Änderung der Kopfgruppenhydratation kann auch eine invers-hexagonale Phase (H_{II}) meist als Hochtemperaturphase gebildet werden.^{45,46} Die Bildung von Bischichten oder bikontinuierlichen kubischen Phasen ist bei entsprechenden Wassergehalten ebenso möglich. Bei Wassergehalten von $x_{\text{Wasser}} > 0.4$ treten fast immer lamellare Phasen mit einem thermotropen Polymorphismus auf.⁴⁷

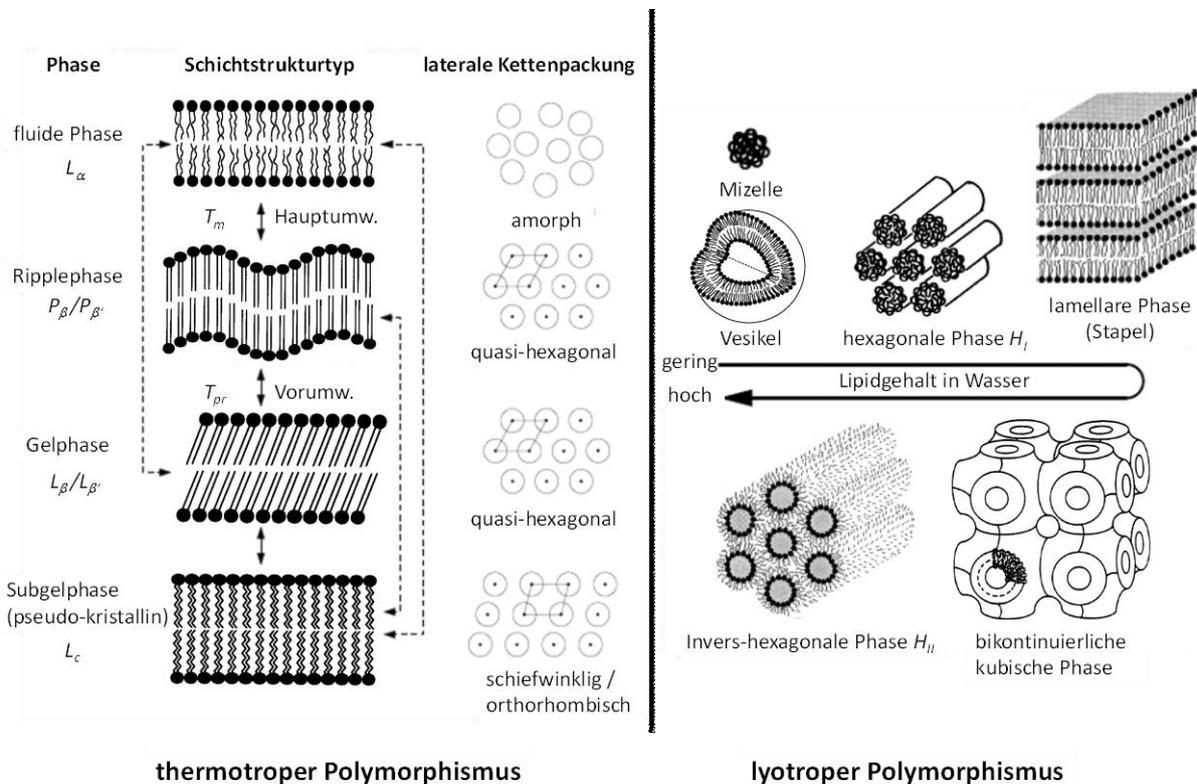


Abbildung 2. Schematische Darstellung lamellarer und nicht-lamellarer Lipiphasen: Thermotroper (links) und lyotroper (rechts) Polymorphismus von Phospholipidmembranen. Abbildung modifiziert nach Winter *et al.*, Seddon und Templer.^{4,48}

Die latenten Wärmen beim thermisch induzierten Übergang der einzelnen Phasen des thermotropen Polymorphismus können mit DSC-Messungen (Differential Scanning Calorimetry) verfolgt werden (Abbildung 3). Dies soll am Beispiel einer DPPC-Membran kurz erläutert werden. Bei tiefen Temperaturen kann durch Anwendung spezieller Temperierprogramme die Subgelphase L_c erreicht werden, in der die CH_2 -Segmente der Lipidacylketten in einem schiefwinkligen oder orthorhombischen Gitter angeordnet sind. Der mittlere Acylkettenabstand ist sehr klein und der Platzbedarf der *all-trans*-Acylketten ist analog zu kristallisierten Paraffinen, wodurch die Membran sehr rigide ist. Diese Phase wurde im Rahmen der Arbeit nicht erzeugt. Für $T < 35.8\text{ }^\circ\text{C}$ befindet sich die DPPC-Membran in der Gelphase $L_{\beta'}$ und die Acylketten nehmen *all-trans*-Konformation ein. Der Index ' sagt aus, dass die Acylketten relativ zur Membrannormalen ca. 30° geneigt sind (Abbildung 3). Die Membran in der $L_{\beta'}$ -Phase ist rigide und wenig flexibel, da die CH_2 -Segmente der Acylketten in einem quasi-hexagonalen *pseudo-herringbone*-Gitter der Symmetrie *Pbmn* dicht gepackt sind. Das Elektronendichteprofil einer DPPC-Bischicht in der $L_{\beta'}$ -Phase wurde von Nagle *et al.* mittels Röntgendiffraktionsexperimenten bestimmt (Abbildung 4).^{49–51} Die maximale Elektronendichte ρ_e ist im Bereich der Phosphatgruppen lokalisiert. Die Elektronendichte sinkt, je weiter man sich von den Phosphatgruppen entfernt. Im lipophilen Teil der Bischicht hat ρ_e ein globales Minimum an der Berührungsstelle der beiden Lipidmonoschichten. Im hydrophilen Kopfgruppenbereich wird ein lokales Minimum im Bereich des interlamellaren Überschusswassers (Quellwasser) zwischen zwei Bischichten erreicht.

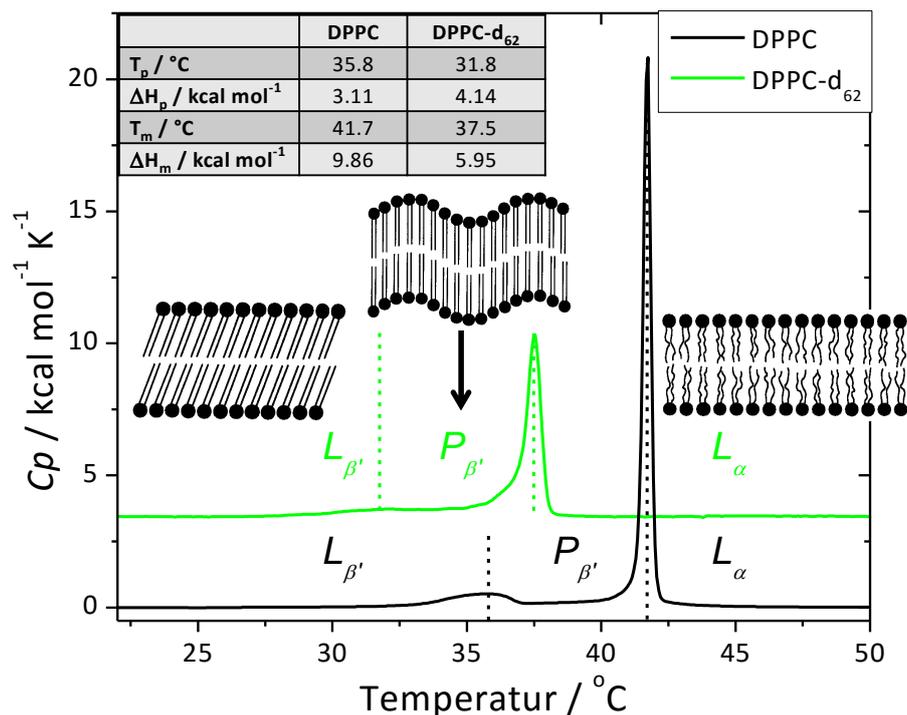


Abbildung 3. DSC-Thermogramme der wässrigen Suspensionen von DPPC (schwarz) bzw. DPPC-d₆₂ (grün); mit Schemata der lamellaren Phasen, die bestimmten Umwandlungstemperaturen und -enthalpien sind in der Tabelle zusammengestellt; $c = 2\text{ mM}$, Packungsmodelle nach Winter *et al.*⁴

Bei $T_p = 35.8\text{ }^\circ\text{C}$ zeigt die Membran eine Vorumwandlung mit einem wenig intensiven, breiten Peak im DSC-Thermogramm und bildet eine Überstruktur durch Undulation der Lamellen (Abbildung 3). Diese Ripplephase $P_{\beta'}$ weist ein 2D-Wiederholmuster auf großen Längenskalen (Lamellendicke und Rippleperiode) und eine hexagonale Packung der *all-trans*-Acylketten auf. Oberhalb der Hauptumwandlungstemperatur $T_m = 41.7\text{ }^\circ\text{C}$, bei der ein sehr intensives, scharfes Signal im DSC-

Thermogramm auftritt, sind die Alkylketten *fluide* und weisen *gauche*-Konformere auf. In dieser fluiden (auch flüssigkristallinen) L_α -Phase wächst der laterale Platzbedarf der ungeordneten Alkylketten, wobei die Membrandicke signifikant sinkt.^{4,49,50} Die im Rahmen dieser Arbeit bestimmten Hauptumwandlungstemperaturen $T_m(\text{DPPC}) = 41.7^\circ\text{C}$ bzw. $T_m(\text{DMPC}) = 24.2^\circ\text{C}$ stimmen gut mit Literaturwerten überein, die für DPPC mit $T_m(\text{DPPC})_{\text{Lit}} = 41.4^\circ\text{C} - 41.3^\circ\text{C}$ bzw. für DMPC mit $T_m(\text{DMPC})_{\text{Lit}} = 23.5^\circ\text{C} - 24.4^\circ\text{C}$ angegeben sind.⁵² Das Einführen perdeuterierter Acylketten wie beim Lipid DPPC- d_{62} verschiebt die Hauptumwandlung um $\Delta T_m = T_m(\text{DPPC}) - T_m(\text{DPPC-}d_{62}) = 4.2\text{ K}$ zu $T_m(\text{DPPC-}d_{62}) = 37.5^\circ\text{C}$ (Literaturwert $T_m(\text{DPPC-}d_{62})_{\text{Lit}} = 37.5^\circ\text{C}$)⁵³. Ebenfalls erhält man ein wenig intensive, breite Vorumwandlung bei $T_p(\text{DPPC-}d_{62}) = 31.8^\circ\text{C}$.

Bei den beschriebenen Phasenumwandlungen ändert sich lediglich die Konformation der Lipidacylketten, weshalb man auch von thermotropem Acylketten-Polymorphismus sprechen kann. Bei einem Wassergehalt zwischen 40 Gew.-% und 99 Gew.-% treten für PC-Membranen die besprochenen Phasen in der dargelegten Abfolge und mit vergleichbaren Umwandlungstemperaturen auf. Dies ist der Wasserkonzentrationsbereich, der auch bei biologischen Zellmembranen vorliegt. Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse wurden bei Wassergehalten in diesem Bereich aufgenommen. Es ist ein großer Vorteil, einen so großen Konzentrationsbereich zur Verfügung zu haben, da für viele Messmethoden unterschiedliche Substanzkonzentrationen nötig sein können.

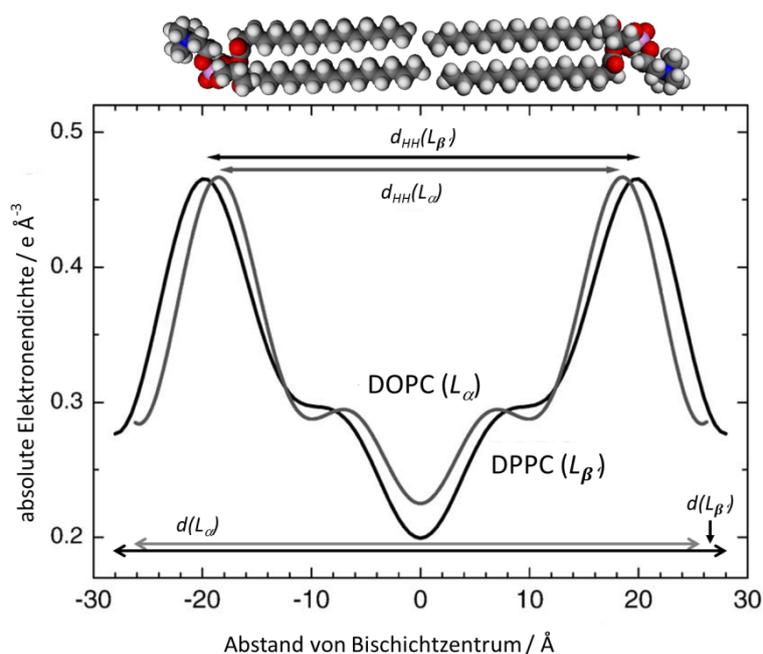


Abbildung 4. Elektronendichteprofil einer DPPC- (L_β , schwarz) bzw. DOPC- (L_α grau) Bilschicht; Abbildung modifiziert nach Nagle *et al.*⁴⁹⁻⁵¹.

2.2 Synthetische amphiphile und polyphile Moleküle

Wie bereits erwähnt, können auch synthetische Amphiphile mit Lipidmembranen in Wechselwirkung treten und deren Struktur verändern. Polyphile Moleküle besitzen per Definition von Tournilhac *et al.*^{54,55} mehr als zwei chemisch verschiedene Molekülteile, die hinsichtlich ihrer Mischbarkeit bzw. dem Segregationsverhalten unverträglich sind. Dies wurde mit Molekülen erreicht, die zusätzlich zu hydrophilen und lipophilen Bereichen fluorophile Areale wie Semiperfluoralkylketten aufweisen. Im Rahmen der Arbeit wurden amphiphile und polyphile X-förmige Bolaamphiphile auf ihr

Aggregationsverhalten in Wasser bzw. ihre Wechselwirkungen mit Phospholipiden in Membranen untersucht.

Die X-förmigen Amphiphile der Klasse Cm/n (Tabelle 2) bestehen aus einem langgestreckten, rigiden Oligo-(Phenylen-Alkinylen)-Grundgerüst, welches zu beiden Seiten durch Kopfgruppen aus Glycerol (gly) terminiert ist. Zwei laterale Alkylketten variabler Länge am mittleren Phenylring verleihen den Molekülen die X-förmige Struktur.

Diese prinzipielle Molekülgeometrie liegt auch den anderen X-förmigen Mesogenen zugrunde, wobei lokale Variationen ausgewählter Molekülteile das Affinitätsprofil verändern (Tabelle 2). Durch symmetrische Verkürzung des Molekülrückgrates um je eine Phenylen-Alkinylen-Einheit, wird Verbindung Em/n erhalten. Die Amphiphile Fm/n und Gm/n tragen als Kopfgruppen $-EO_n\text{-Me}$ bzw. $EO_n\text{-gly}$. Diese Kopfgruppen sind im Vergleich zu den Cm/n-Mesogenen also vergrößert und die Bildung von Wasserstoffbrücken wird bei den Fm/n-Mesogenen reduziert. Das Grundgerüst der Verbindung C12r ist analog zu den Cm/n-Molekülen aufgebaut, allerdings sind die Kopfgruppen stark verkleinert und bestehen lediglich aus je einer OH-Funktion. Die Bm/n-Mesogene weisen die gleiche Kopfgruppenstruktur wie die Cm/n-Moleküle auf, jedoch ist eine der lateralen Alkylketten durch eine Semiperfluoralkylkette $-(CH_2)_4\text{-}(CF_2)_n\text{-F}$ substituiert. Damit besitzen die Moleküle Bm/n drei unterschiedliche, inkompatible Affinitäten (hydrophil, lipophil und fluorophil) und somit polyphilen Charakter. Eine Übersicht über die verwendeten Moleküle ist in Tabelle 3 zu finden.

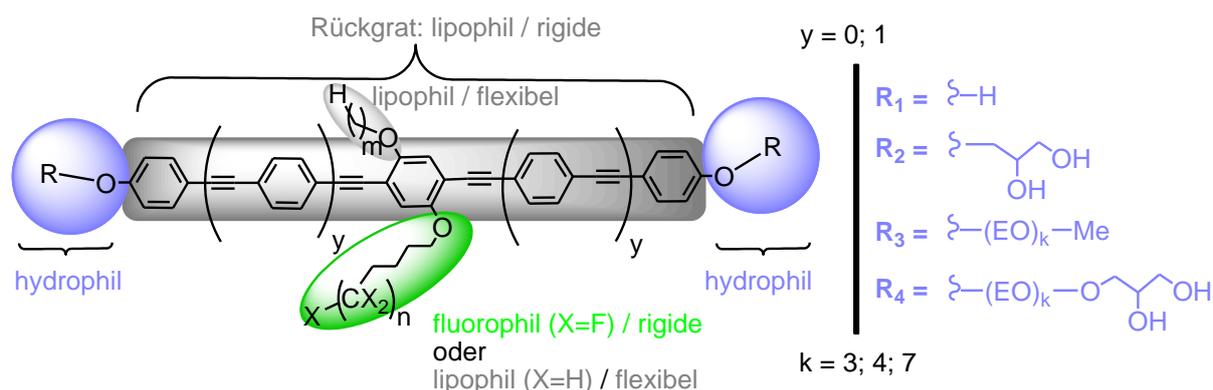


Abbildung 5. Allgemeine Struktur der X-förmigen Bolopolyphile Bm/n ($y = 1$; $X = F$, $R = R_2 = \text{gly}$) bzw. Bolaamphiphile Cm/n ($y = 1$; $X = H$, $R = R_2 = \text{gly}$), Em/n ($y = 0$; $X = H$, $R = R_2 = \text{gly}$), C12r ($y = 1$; $X = H$, $R = R_1 = \text{OH}$), Fm/n ($y = 1$; $X = H$, $R = R_3 = (\text{EO})_k\text{-Me}$) und Gm/n ($y = 1$; $X = H$, $R = R_4 = (\text{EO})_k\text{-gly}$); Farbcode für verschiedene Affinitäten: grau: lipophil, blau: hydrophil, grün: fluorophil, siehe auch Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden..

Tabelle 2. Nomenklaturüberblick

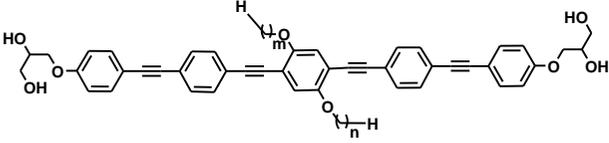
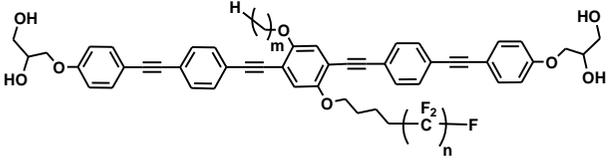
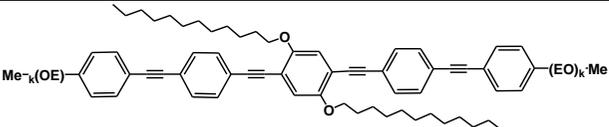
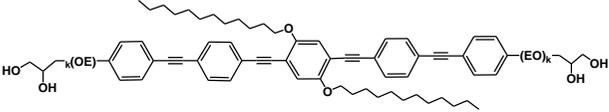
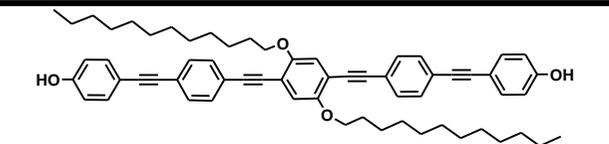
Name	y	X	R
Bm/n	1	F	$R_2 = \text{gly}$
Cm/n	1	H	$R_2 = \text{gly}$
Em/n	0	H	$R_2 = \text{gly}$
C12r	1	H	$R_1 = \text{OH}$
Fm/n	1	H	$R_3 = (\text{EO})_n\text{-Me}$
Gm/n	1	H	$R_4 = (\text{EO})_n\text{-gly}$

Es existieren für die Verbindungen mittlerweile drei verschiedene Nomenklaturen (Tabelle 3): Eine *Synthesenenomenklatur* (Buchstabenkürzel und fortlaufende Nummer), eine *Arbeitsnomenklatur*, die während des Generierens der in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse verwendet wurde, und eine *Publikationsnomenklatur*, die Buchstaben- und

Zahlencodes in chronologischer Reihenfolge des Erscheinens der entsprechenden Publikationen enthält. Obgleich die Nomenklatur zur Publikation der Daten die letzteingeführte Nomenklatur darstellt, soll hier die *Arbeitsnomenklatur* verwendet werden.

Synthetische amphiphile und polyphile Moleküle

Tabelle 3. Strukturen der untersuchten X-förmigen Moleküle: mit Mesophasensequenz, Symmetriegruppe und Gitterparameter a_x der thermotropen Mesophasen (bestimmt mittels Röntgenpulverdiffraktometrie); drei Nomenklaturvarianten sind angegeben: *Arbeitsnomenklatur* (innerhalb dieser Arbeit verwendet), *Synthesenomenklatur* und *Publikationsnomenklatur*; # Mesophasenstruktur zur Zeit des Redaktionsschlusses dieser Arbeit nicht bekannt; * monotrope Phase X = fortlaufende Nummer der synthetisierten Verbindungen.^{56,57}

Struktur	Nomenklatur der			Phasensequenz (thermotrop)	Mesophasensym.	Gitterparameter a_x /nm
	Diss.	Synth.	Publ.			
	Cm/n	HEPX	Bn			
	C6/6	HEP25	B6	Cr 216 N 224 Iso	-	-
	C12/12	HEP7	B12	Cr 177 col _{hex} 182 Iso	$p6mm$	$a_{hex} = 4.24$
	C18/18	HEP26	B18	Cr 158 (col _{hex} 156)* Iso	$p6mm$	$a_{hex} = 4.28$
	Bm/n	HEDX	Fm-n			
	B18/6	HED1	F18-6	Cr 140 col _{hex} 185 Iso	$p3m1_{sr}$	$a_{hex} = 4.45$
	B16/10	HED7	F16-10	Cr 155 col _{hex} 176 Iso	$p3m1_{sr}$	$a_{hex} = 4.43$
	B18/10	HED3	F18-10	cr 164 (col _{hex} 161)* Iso	$p3m1_{lr}$	$a_{hex} = 4.24$
	F12/n	HEPX				
	F12/4	HEP30	D12/4	Cr 98 Iso	-	keine Mesophase
	F12/7	HEP31	E12/7	Cr 87 Iso	-	keine Mesophase
	G12/3 allg. G12/n	HEP34	F12	Cr 131 (M 130)* Iso	-#	-#
	C12r	C12r	C12	Cr 184-188 Iso	-	keine Mesophase
	E12/12 allg. Em/n	BG044	-	Cr 113 Iso ⁵⁷	-	keine Mesophase

2.2.1 Der flüssigkristalline Zustand

Kristalline Phasen zeichnen sich durch eine Positionsfernordnung und im Fall nicht-kugelsymmetrischer Moleküle durch eine Richtungsfernordnung aus. Die Moleküle nehmen feste Gitterplätze ein und sind periodisch angeordnet. In isotropen Flüssigkeiten sind die Moleküle statistisch verteilt und (bei nicht-kugelsymmetrischen Molekülen) relativ zueinander orientiert und frei beweglich. Dadurch ist die Flüssigkeit makroskopisch beweglich (fließfähig). Flüssigkristalline Phasen vereinen die Eigenschaften beider Aggregatzustände. Sie zeigen sowohl Beweglichkeit der Moleküle und eine makroskopische Beweglichkeit der Flüssigkeit, als auch eine Richtungsfernordnung und die daraus resultierenden anisotropen, physikalischen Eigenschaften. Die Positionsfernordnung ist in der flüssigkristallinen Phase aufgehoben.

Man unterscheidet zwei Gruppen flüssigkristalliner Phasen. Flüssigkristalline Phasen, die als Funktion der Temperatur ausgebildet werden, heißen thermotrop-flüssigkristalline Zustände. Ist der Gehalt eines Lösungsmittels (oft Wasser) Ursache für die Bildung der Mesophase, spricht man von lyotrop-flüssigkristallinen Phasen.

2.2.2 Thermotrope Eigenschaften & Packung

Thermotrop-flüssigkristalline Moleküle wurden von Daniel Vorländer in Halle (Saale) erstmals synthetisiert und beschrieben.⁵⁸⁻⁶¹ Beim Schmelzprozess der kalamitischen Moleküle wird eine milchig-opake, anisotrope Flüssigkeit (flüssigkristalline Phase) gebildet, die erst bei weiterem Erwärmen bis oberhalb des Klärpunktes in eine klare, isotrope Flüssigkeit übergeht. Kalamitische Moleküle bilden oft nematische (*N*) oder smektische (*SmX*, *X* beschreibt die Reihenfolge ihrer Entdeckung (bzw. eine bestimmte Packungsvariante): *X* = *A*, *B*, *C*, ...) Mesophasen mit vorwiegend parallel zueinander angeordneten Molekülen.⁶² Diskotische Moleküle zeigen ebenso eine Vorzugsorientierung in der flüssigkristallinen Phase. Durch Stapelung der Diskoten werden columnare Phasen (*col_Y*, *Y* bezeichnet die Phasensymmetrie: *Y* = *hex*, *sq*, ...) gebildet.^{63,64}

Durch Einführen einer Seitenkette anderer chemischer Natur und Affinität an einem kalamitischen Molekül entstehen T-förmige Moleküle, und in der flüssigkristallinen Phase kommt es zur Segregation der Molekülteile verschiedener Affinität. Für die Molekülaggregation in eine flüssigkristalline Phase mit komplexer Morphologie ist die Balance zwischen Flexibilität und Rigidität entscheidend.⁶⁵ Durch Einbau rigider Elemente, welche die Beweglichkeit von Molekülteilen einschränken, können columnare, smektische und lamellare Mesophasen gebildet werden.⁶⁶ Die flexiblen Molekülteile können in die Freiräume zwischen rigiden Molekülteilen segregieren.⁶⁷

Die meisten der im Rahmen der Arbeit verwendeten Mesogene weisen im Temperaturbereich zwischen Feststoff und isotroper Flüssigkeit eine columnare, flüssigkristalline Mesophase auf (siehe Tabelle 3). In der Mesophase sind die Kanten der columnaren Zylinder durch die Molekülrückgrate besetzt, wobei die lateralen Ketten ins Zylinderinnere segregieren (Abbildung 6).^{62,68} Die Moleküle *Cm/n* tragen am rigiden Grundgerüst zwei laterale Alkylketten (*X*-Form) und aggregieren in der Mesophase nach analogem Prinzip (einfarbige Parkettierung, Abbildung 6A). Die Moleküle *Bm/n* tragen am rigiden Rückgrat zwei Ketten unterschiedlicher chemischer Natur (Alkyl- und Semiperfluoralkylkette), die in der Mesophase in verschiedene Zylinderinnenräume segregieren können (zweifarbige Parkettierung, Abbildung 6B).

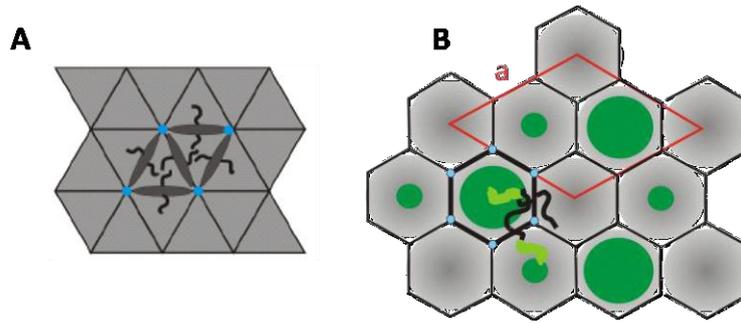


Abbildung 6. Packungsmodell thermotroper col_{hex} -Mesophasen einiger X-förmiger Mesogene; A: einfarbige Parkettierung mit der Symmetrie $p6mm$ (C12/12 bzw. C18/18); B: zweifarbige Parkettierung mit der Symmetrie $p3m1$ (Bm/n); die grauen Stäbchen markieren das Molekülrückgrat, blaue Kreise symbolisieren die hydrophilen Kopfgruppen mit dem Wasserstoffbrückennetzwerk, graue bzw. grüne Flächen markieren die Bereiche der Alkylketten bzw. Semiperfluoralketten.⁵⁶

2.3 Zielsetzung und Fragestellung

Die Wechselwirkungen von synthetischen X-förmigen Bolaamphiphilen bzw. Bolapolyphilen mit Lipidmodellmembranen sind Thema dieser Arbeit. Als membranbildende Lipide wurden Phosphatidylcholine (PC) verwendet. Es standen 11 X-förmige Mesogene zur Verfügung, die sich strukturell unterscheiden. Es wurde den Fragen nachgegangen, ob die Mesogene in Lipidmembranen eingebaut werden und wie der Einbau die Struktur und Organisation der Membran sowie deren thermotropes Phasenverhalten beeinflusst. Folgende Modifikationen an den Mesogenen wurden betrachtet:

- Variation der lateralen Alkylkettenlänge im Bereich C_6 bis C_{18} . Je länger die lateralen Ketten sind, desto größer ist der lipophile Anteil am Gesamtmolekül und die X-Form ist ausgeprägter.
- Variation der Länge des starren Rückgrates. Dabei wurde der Einfluss der Flexibilität der Mesogene auf den Einbau in PC-Membranen studiert.
- Variation der Affinität der lateralen Alkylketten, z. B. durch Einbringen einer Perfluoralkylkette im Bereich C_6 bis C_{10} . Je länger die Perfluoralkylkette ist, desto größer sind der fluorophile Bereich im Molekül und auch die Tendenz zur Segregation der perfluorierten Molekülteile.
- Variation der Kopfgruppengröße durch Einführung von z. B. Oligoethylenoxydeinheiten im Kopfgruppenbereich. Je größer die Kopfgruppen sind, desto hydrophiler ist das Molekül und desto mehr steigt die Affinität der Moleküle zu einer hydrophilen Umgebung. Dabei wurde insbesondere die Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen und deren Einfluss auf die Mischbarkeit mit PC in Membranen betrachtet.

Im besonderen Fokus stand die Fragestellung, ob sich die Mesogene als einzelne Moleküle in die Membranen einbauen oder ob durch Selbstaggregation Mesogen-Cluster entstehen. Auch wurde der Frage nachgegangen, welchen Einfluss der Phasenzustand der Membran auf die Mischbarkeit hat. Aus den Messungen wurden grundlegende Prinzipien für die Wechselwirkungen der Bolaamphiphile bzw. Bolapolyphile mit Lipiden in Membranen abgeleitet und Strukturmodelle entwickelt.

Darüber hinaus wurden die Mesogene hinsichtlich ihrer Suspendierbarkeit in Wasser und der Ausbildung lyotroper Phasen sowie ihres Verhaltens an der Luft/Wasser-Grenzfläche untersucht.

Für die Untersuchungen wurden eine Vielzahl an Messmethoden eingesetzt, um verschiedene Aspekte des Mesogeneinbaus in die Membranen zu beleuchten. Zur Visualisierung der Membranen wurde die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) eingesetzt. Auf Grund der Fluoreszenz der Mesogene konnte konfokale Fluoreszenzmikroskopie verwendet werden, um die Mesogene in den Membransystemen visuell zu lokalisieren. Das thermotrope Phasenverhalten wurde mit Differential Scanning Calorimetry (DSC) untersucht und die Acylkettenordnung mit Infrarotspektroskopie aufgeklärt. Fluoreszenzdepolarisationsmessungen und Fluoreszenzspektroskopie gaben Aufschluss über die Beweglichkeit der Mesogene innerhalb der Membransysteme. Die Packung der Moleküle wurde mit verschiedenen Röntgenstreuungsmethoden untersucht. Eine einwöchige Messzeit an der Beamline P08 des Hamburger DESY ermöglichte die Aufnahme hochaufgelöster Röntgendiffraktionsdaten.



3.1 Lyotropes Verhalten der X-förmigen Bolaamphiphile Cm/n

Die X-förmigen Amphiphile Cm/n sind in Wasser völlig unlöslich und nicht suspendierbar. Auch Versuche, Suspensionsvermittler wie β -Cyclodextrin, die als Wirtsverbindung ca. eine Hälfte des Cm/n-Grundgerüsts aufnehmen und umschließen können,^{69–72} zu verwenden, blieben erfolglos. In gasdichten DSC-Pfännchen wurde C12/12 mit H₂O mehreren Temperaturzyklen zwischen 2 °C und 99 °C ausgesetzt. Mittels Fluoreszenzspektroskopie konnte nach der Prozedur in der wässrigen Phase kein C12/12 detektiert werden (Anregung der Cm/n-Fluoreszenz ist sehr sensitiv, siehe S. 23), und die feste C12/12 Phase schien unverändert (keine Quellung). Um Informationen über das Assoziationsverhalten der X-förmigen Bolaamphiphile zu erhalten wurden Cm/n-Filme, nach Spreitung aus CHCl₃ auf eine Wasseroberfläche, untersucht und die Filme zum Teil auch auf feste Substrate übertragen.

3.1.1 Langmuir-Filme

C6/6 – Filme

Für den Vertreter mit den kürzesten lateralen Alkylketten, C6/6, erfolgt der *Lift-off* der π - A_{mol} -Isotherme bei $A_{mol} = 151 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (Abbildung 8A). Bis zu dieser molekularen Fläche sind die C6/6-Moleküle noch weit voneinander entfernt und treten nicht miteinander in Wechselwirkung. Für flach auf der Luft/Wasser-Grenzfläche liegende Cm/n-Moleküle ist ein Platzbedarf von ca. $180 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} - 200 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ beim *Lift-off* (abhängig von der Anordnung der beiden Alkylketten) zu erwarten. Beim C6/6-Film handelt es sich entweder um flach auf der Wasseroberfläche liegende C6/6-Moleküle mit sehr nahe beieinander liegenden Kopfgruppen (durch Wasserstoffbrückenbindungen) oder aufrecht stehende, stark geneigte C6/6-Moleküle. Während der Kompression sind zwei Änderungen des Anstiegs in der Form zweier Pseudoplateaus zu beobachten: Bei 1.9 mN m^{-1} ($108 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) und 4.4 mN m^{-1} ($80 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$). Innerhalb dieser Plateaus erfolgt eine Umorganisation der Moleküle im Film (z. B. Änderung des Tiltwinkels oder der Orientierung der Moleküle). Auf Grund der geringen Änderung der A_{mol} im Pseudoplateau ist die Bildung einer Doppel- oder Dreifachschicht unwahrscheinlich. Genaue Aussagen zur Art der Umwandlung im Pseudoplateau können ohne zusätzliche Untersuchungen nicht gemacht werden. Der Filmkollaps erfolgt bei $24.6 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (31.9 mN m^{-1}).

C12/12 – Filme

Für den C12/12-Film erfolgt der *Lift-off* der Kompressionsisothermen erst bei $41 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (Abbildung 8B). Bis $20 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (2.3 mN m^{-1}) steigt die Isotherme sehr flach an. Bei weiterer Kompression ist der Anstieg der π - A_{mol} -Isothermen sehr steil, bis der Kollaspunkt des Filmes bei $9.1 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (51.5 mN m^{-1}) erreicht ist. *Lift-off* und Verlauf der Isothermen sind für ein Molekül der Größe von C12/12 ungewöhnlich. C12/12 bildet keine stabilen Filme an der Luft/Wasser-Grenzfläche. Stoppt man die Kompression an einer Stelle der Isotherme ($\pi \neq 0 \text{ mN m}^{-1}$), ist π nicht stabil, sondern fällt ab. Beim Spreiten einer C12/12-Lösung kommt es zur Bildung sehr steifer Filme, die als gelbe Schicht auf dem Wasser sichtbar sind. Eine Kompression des Filmes führt zur sichtbaren Auslenkung des Drucksensors (Filterpapier oder Pt-Plättchen). Verwendet man Spreitlösung mit $c \geq 1 \text{ mM}$, bildet sich kein homogener Film, sondern ein gelb schimmerndes Blättchen an der Auftropfstelle. Die sehr große Dicke und hohe Steifigkeit des C12/12-Filmes sowie der *Lift-off* der Isothermen bei ungewöhnlich kleinen A_{mol} sind Indizien dafür, dass die Moleküle nicht flach auf der Wasseroberfläche liegen, sondern aufrecht stehen, oder dass keine Monoschichten, sondern nur

Multschichten ausgebildet werden. In einer Multischicht könnten die Moleküle auch flach auf der Wasseroberfläche liegen. Der erste flache Anstieg der Isotherme bis ca. $20 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ könnte auf eine Umorganisation der Molekülrückgrate oder der lateralen Alkylketten hinweisen.

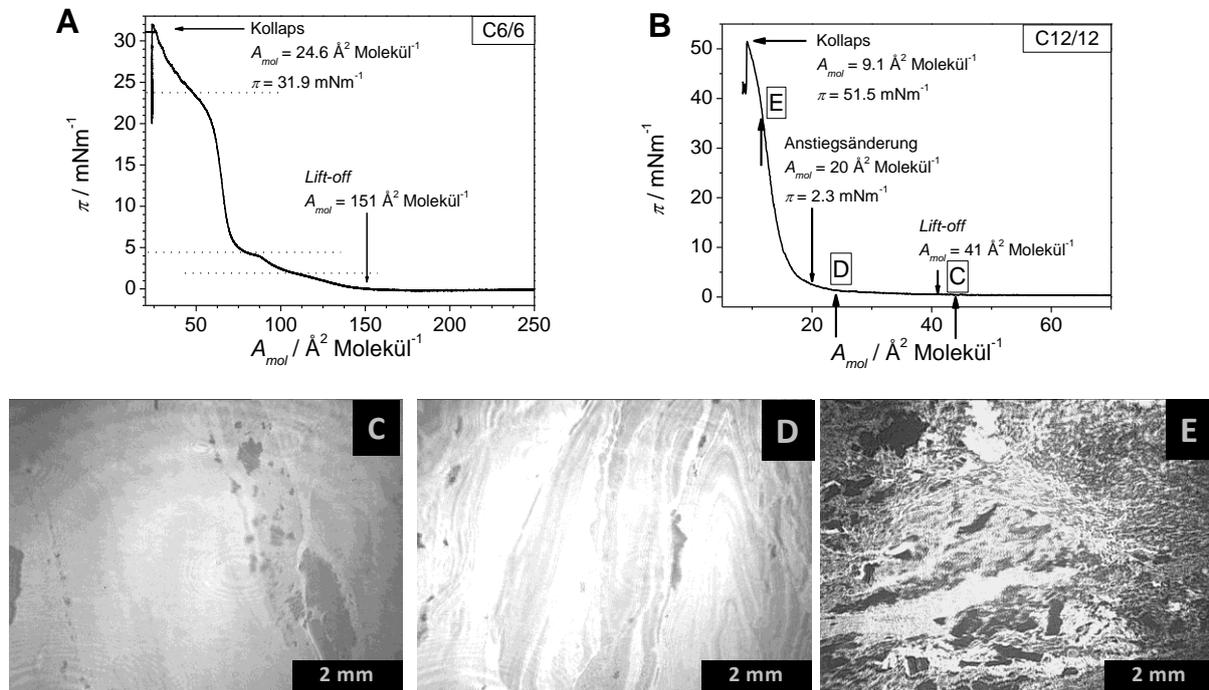


Abbildung 8. π - A_{mol} -Isothermen von A: C6/6 bzw. B: C12/12 an der Luft/Wasser-Grenzfläche bei $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$; BAM-Aufnahmen des C12/12-Films an den markierten Stellen in der Isotherme (B) bei C: $\pi = 0 \text{ mN m}^{-1}$, D: $\pi = 4.8 \text{ mN m}^{-1}$ und E: $\pi = 27.6 \text{ mN m}^{-1}$; Spreitkonzentration $c_{spreit} = 1 \text{ mM}$, Kompressionsgeschwindigkeit $v_{kompr} = 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

Zur Visualisierung der C12/12-Filme an der Luft/Wasser-Grenzfläche wurden simultan zur Kompression der Filme Aufnahmen mittels Brewsterwinkelmikroskopie (BAM) gemacht (Abbildung 8C-E). Kurz vor dem *Lift-off* ist ein fast geschlossener homogener Film zu sehen (Abbildung 8C), der nur wenige Defektstellen aufweist (dunkelgraue Areale entsprechen freier Wasseroberfläche). Am Ende des flachen Anstiegs ($\pi = 4.8 \text{ mN m}^{-1}$, $25 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) liegen bereits schlierenförmige Multschichten mit mindestens drei verschiedenen Graustufen und damit mindestens drei Schichten vor (Abbildung 8D). Punktuell ist die Wassersubphase noch zu erkennen. Während des steilen Anstieges ($\pi = 27.6 \text{ mN m}^{-1}$, $15 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) sind ausschließlich fraktale Multschichtstrukturen zu sehen, deren Gestalt an kristallines Material erinnert. C12/12-Filme bilden an der Luft/Wasser-Grenzfläche, ab dem *Lift-off*, offensichtlich Multschichten, die sich bei weiterer Kompression zu gut gepackten (möglicherweise kristallinen) 3D-Strukturen umwandeln, was auch die Ursache der hohen Steifigkeit der Filme ist.

Epifluoreszenzmikroskopie wurde, unter Nutzung der Fluoreszenz der C12/12-Moleküle, ebenfalls zur Visualisierung der Filme eingesetzt. Während der gesamten Kompression wurden allerdings nur undefinierte Schlierentexturen unterschiedlicher Helligkeit und damit unterschiedlicher lokaler C12/12-Konzentration gefunden (siehe Anhang, S. 1, Abbildung 108).

Um spektrale Information über die Filme zu erhalten und so Schichtdicke bzw. Orientierungen der Moleküle bestimmen zu können, wurden einfallswinkelabhängige IRRAS-Messungen (Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie) an verschiedenen Punkten der Kompressionsisotherme der C12/12-Filme an der Luft/Wasser-Grenzfläche mit Polarisation des Lichtes parallel und senkrecht zu

Einfalls-/Reflexionsebene (p - und s -polarisiertes IR-Licht) durchgeführt. Die Anpassung der Ringschwingungsbanden und CO-Banden der Ethergruppen (siehe Tabelle 4), die zur Orientierungsbestimmung der C12/12-Moleküle genutzt werden können, war leider nicht möglich. Folglich sollen die Daten hier nicht besprochen werden. Durch Fit der $\nu(OH)$ -Bande der Wassersubphase kann die Filmdicke bestimmt werden. Diese wächst mit steigendem π kontinuierlich und beträgt bei $\pi = 1$ mN/m bereits 4.2 nm, was auf eine Multischicht hinweist. Des Weiteren soll festgehalten werden, dass die Orientierung der C12/12-Moleküle im Film von der Vorbehandlung abhängig ist. So induziert die Kompression des Filmes offenbar eine andere Orientierung der C12/12-Moleküle als im frisch gespreiteten Film.

Um eine genauere Vorstellung von der Struktur und der Dicke des C12/12-Filmes zu erhalten, wurde dieser mittels Langmuir-Blodgett-Übertrag (LB-Übertrag) von der Luft/Wasser-Grenzfläche auf ein festes Si-Substrat transferiert und nach Trocknung via AFM abgebildet (Abbildung 9).

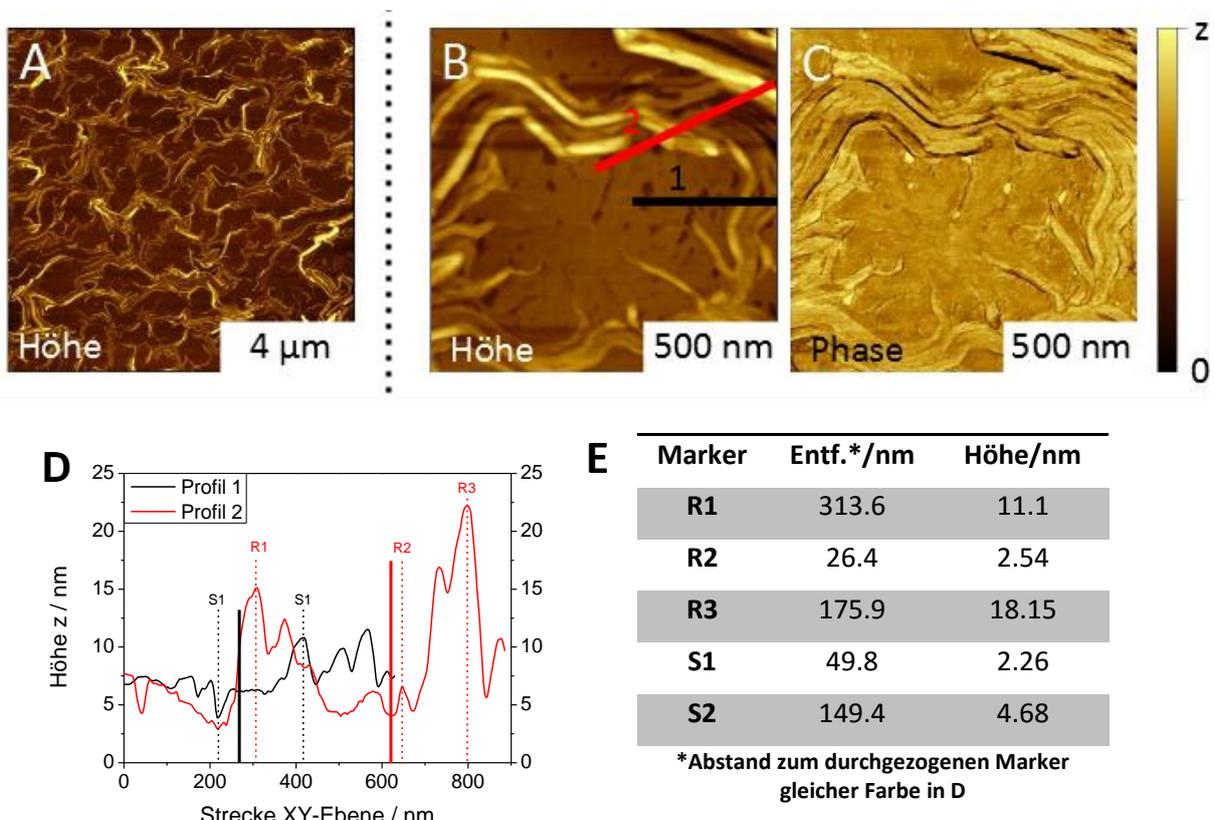


Abbildung 9. AFM-Aufnahmen eines Filmes von C12/12, der bei $\pi_{trf} = 19.8$ mN m⁻¹ auf Si übertragen wurde (LB-Transfer); A/B: Topographieaufnahmen; C: Phasenkontrastbild von B; D: Höhenprofile entlang der roten (1) bzw. schwarzen Markierung (2) in B; E: Distanzen und Höhendifferenzen von den gestrichelten roten bzw. schwarzen Linien in D relativ zum durchgezogenen Marker gleicher Farbe; Skalen: x/y-Ebene: 4 µm (A), 500 nm (B, C), z = 30 nm (A), 20 nm (B), 12° (C).

Auf den AFM-Aufnahmen sind kurze faserartige Strukturen zu erkennen, welche zum Teil in Bündeln parallel zueinander verlaufen. Die Fasern bedecken das Si-Substrat nicht flächig (Abbildung 9B). Zwischen den Fasern existiert eine nahezu geschlossene Schicht mit vergleichbarem Phasenkontrast und damit vergleichbaren Materialeigenschaften wie die Fasern (Abbildung 9C). Die ebenen Schichten weisen wenige Defekte in der Form von Vertiefungen auf. An diesen Stellen ist der Phasenkontrast größer (heller im Bild) und das Material folglich härter. Es könnte sich dabei um das Si-Substrat handeln.

Das entlang der Markierungen in Abbildung 9B extrahierte Höhenprofil verdeutlicht, dass weder die Fasern noch die Schichten eine definierte Höhe in z-Richtung aufweisen. Relativ zu einem beliebigen

Punkt der Proben sind alle möglichen Höhendifferenzen zu Punkten der umliegenden Umgebung zwischen $|\Delta z| = 1.5 \text{ nm} - 30 \text{ nm}$ zu finden, und es treten keine diskreten Höhenstufen auf. Damit ist erneut gezeigt, dass sich bei der Kompression keine geordnete Monoschicht zu Doppel- oder Dreifachschichten umorganisiert. Die maximale z-Ausdehnung übersteigt die Dicke des Mesogens und beträgt ein Vielfaches dessen Länge. Es handelt sich also um 3D-Strukturen unbekannter molekularer Struktur.

3.2 Wechselwirkung X-förmiger Amphiphile der Klassen Cm/n und Em/n mit Phosphatidylcholinmembranen

Im Fokus der Untersuchungen an X-förmigen Mesogenen stand die Analyse der Wechselwirkungen der Moleküle mit Lipidmodellmembranen. Es wurden Gemische von Cm/n oder E12/12 mit DPPC, DMPC, DOPC bzw. POPC in Wasser präpariert. Die wässrigen Suspensionen sind gelblich-trüb, weisen eine ausgeprägte Opaleszenz auf und sind im Bereich 2 °C bis 95 °C thermisch stabil. Das Vorliegen stabiler Suspensionen lässt auf einen Einbau der Mesogene in die Lipidmembran schließen.

3.2.1 TEM-Untersuchungen

Die Aggregate der opaleszenten Suspensionen aus X-förmigem Amphiphil und Phosphatidylcholin wurden mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) hinsichtlich ihrer Form und Gestalt untersucht. Dazu wurden entweder getrocknete, angefärbte (Uranylacetat) Proben oder vitrifizierte, wässrige Proben abgebildet. Die TEM-Untersuchungen wurden anhand der wässrigen Gemische von C12/12 bzw. C18/18 mit DPPC in verschiedenen Mischungsverhältnissen durchgeführt.

3.2.1.1 TEM mit negativ-kontrastierten Proben

C12/12 : DPPC = 1:10, 1:4 bzw. 1:1

Die TEM-Aufnahmen der Probe C12/12 : DPPC = 1:10, die bei $T_{präp} = 20$ °C präpariert wurde, zeigen kollabierte Vesikel ($\varnothing \approx 200$ nm – 450 nm, Abbildung 10A/B). Der Kollaps ist ein Resultat des Trocknungsprozesses bei der Präparation. Häufig sind die Vesikel umrandet mit einer Corona aus sehr kleinen Partikeln (Dicke der Corona ca. 100 nm, Abbildung 10B, Dreieck 1). Wahrscheinlich ist die Corona ein Artefakt des Kontrastierungsmittels. Die bei $T_{präp} = 50$ °C präparierte Probe liefert TEM-Aufnahmen mit wenigen kleineren Vesikeln ($\varnothing \approx 100$ nm - 200 nm). Hauptsächlich sind elongierte lamellare Schichten zu finden (Länge: bis 450 nm, Breite: 120 nm – 170 nm, Abbildung 10D). Die Lamellen sind teilweise übereinander gefaltet und müssen folglich sehr flexibel sein. Das Material zeigt Strahlenschäden durch den Elektronenstrahl (\varnothing bis 15 nm, orange Pfeile), ist also sehr strahlungsempfindlich.

Die Aggregate des Gemischs C12/12 : DPPC = 1:4 unterscheiden sich ($T_{präp} = 20$ °C) grundlegend von denen des 1:10-Gemischs. Die TEM-Aufnahmen zeigen ausschließlich Schichtstrukturen und keine Vesikel (Abbildung 10E/F). Die Schichten haben die Form kreisförmiger bis elliptischer Inseln. Oft sind zwei Inseln verknüpft und erinnern an planare Hanteln ($\varnothing \approx 85$ nm – 165 nm, Abbildung 10E, Dreieck 3). Sind mehrere Inseln verbunden (Abbildung 10F, Dreieck 4), entsteht eine Kettenstruktur (mehrere Mikrometer Länge) oder flächige Netzwerke (mehrere Quadratmikrometer Fläche). Innerhalb der Schichten sind kaum Defekte zu finden, was darauf hinweist, dass Lipid und Mesogen dicht gepackt sind. Da lediglich eine Spezies an Strukturen vorliegt, ist zu vermuten, dass ein gemischter 1:4-Komplex gebildet wird oder potentiell entmischte Domänen ähnliche Strukturen und gleiche Elektronendichte aufweisen.

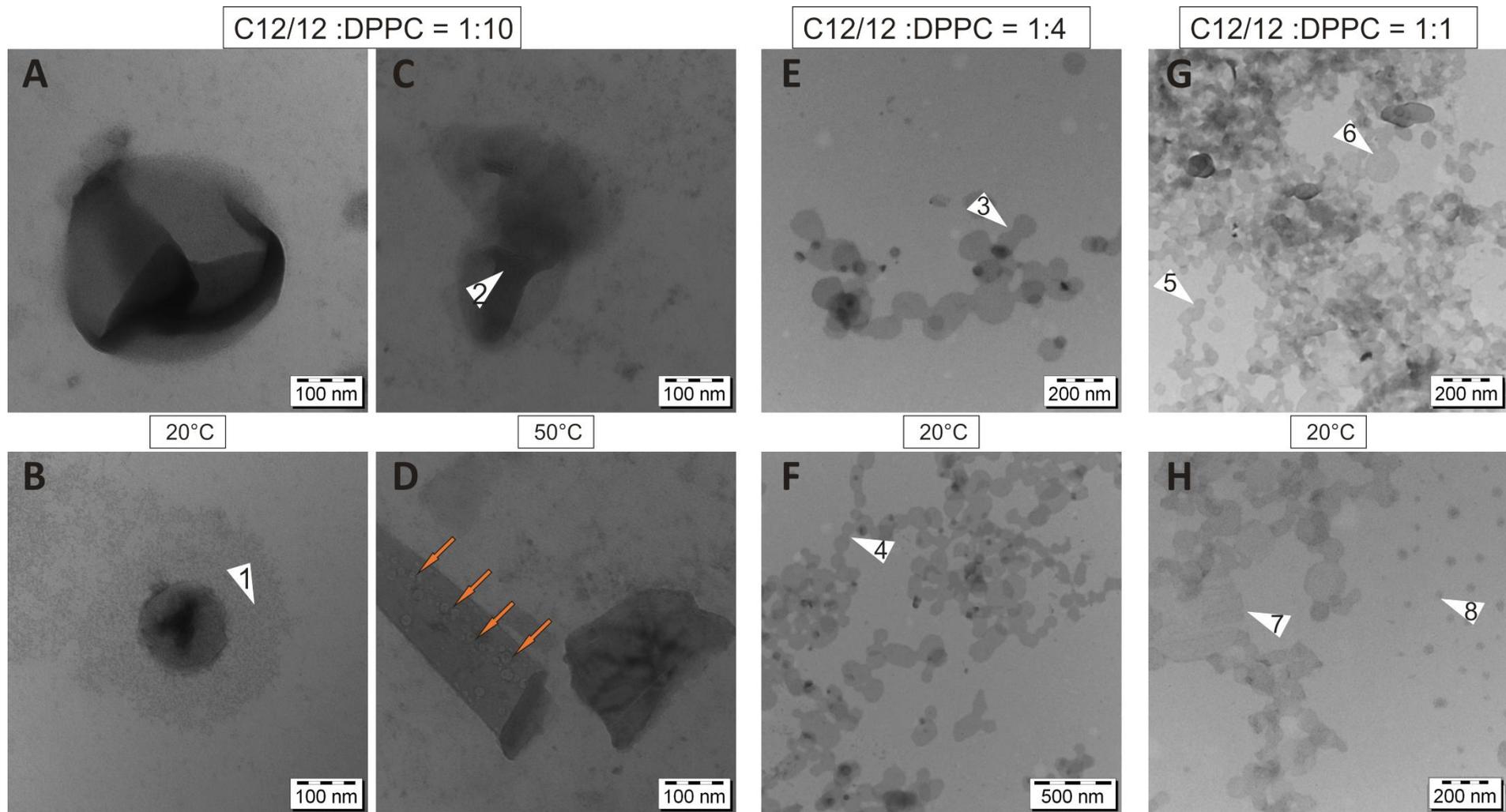


Abbildung 10. TEM-Aufnahmen negativ-kontrastierter (UO_2Ac_2), getrockneter Proben von C12/12 : DPPC = 1:X; A - D : X = 10; E/F: X = 4; G/H: X = 1; $T_{\text{präp}} = 20^\circ\text{C}$ (A, B, E - H) bzw. 50°C (B, C); markierte Besonderheiten: Vesikelcorona (Dreieck 1 in B), Rippenstruktur auf Vesikel (Dreieck 2 in C), Strahlenschäden bei der Bildaufnahme (orange Pfeile in D), planare Hantelstruktur (Dreieck 3 in E), planare Perlenkettenstruktur (Dreieck 4 in F und Dreieck 5 in G), runde geriffelte Schichten (Dreieck 6 in G und Dreieck 7 in H), kleine runde Strukturen (Dreieck 8 in H); Skalen: 100 nm (A - D), 200 nm (E, G, H), 500 nm (F).

Ähnliche Strukturen wie beim 1:4-Gemisch findet man auch bei der Probe C12/12 : DPPC = 1:1 ($T_{präp} = 20 \text{ °C}$). Es liegen planare Schichtstrukturen in der Form runder bzw. elliptischer Inseln ($\varnothing \approx 30 \text{ nm}$ und 150 nm) vor, die zu langen Ketten oder Netzwerken verknüpft sind (Abbildung 10G, Dreieck 5). Vereinzelt zeigen größere runde Schichten ($\varnothing \approx 150 \text{ nm} - 300 \text{ nm}$) parallele, langgestreckte Lamellenstrukturen (Länge: bis zu 300 nm , Breite: $20 \text{ nm} - 40 \text{ nm}$, Abbildung 10G, Dreieck 6 und H, Dreieck 7), bei denen es sich wahrscheinlich um auseinandergebrochene Schichten handelt. Auf Grund der praktisch defektfreien, planaren Schichtstrukturen ist davon auszugehen, dass Lipid und Mesogen dicht gepackt sind, analog zum 1:4-Gemisch.

3.2.1.2 Cryo-TEM

C12/12 : DPPC = 1:10 bzw. 1:4

Die Cryo-TEM-Bilder des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:10 ($T_{präp} = 20 \text{ °C}$) zeigen uni- oder multilamellare Vesikel ($\varnothing \approx 50 \text{ nm}$ bis mehrere Hundert Nanometer, Abbildung 11A, B, C). Die Vesikel sind zumeist facettiert und zeigen an einigen Stellen, Ecken bzw. Spitzen mit sehr kleinen Biegeradien im Vergleich zur Vesikelgesamtgröße (Dreieck 1 in Abbildung 11A). An diese Ecken schließen sich oft fast gerade, kaum gebogene Vesikelränder an (Dreieck 2 in Abbildung 11B). Möglicherweise deuten die geraden Kanten auf Areale höherer C12/12-Konzentration und geringfügig höherer Steifigkeit hin, während die stark gebogenen Bereiche eine hohe Elastizität aufweisen und eher lipidreich sind. Zusätzlich zu Vesikeln sind ausgedehnte, teilweise mikrometerlange Schichtstrukturen zu sehen (Abbildung 11B, Dreieck 3 und C). An einigen Stellen sind langgestreckte parallele Strukturen zu sehen (Dreieck 4 in Abbildung 11C). Da die Elektronendichte bei diesen Strukturen an jeder Seite des Randes höher ist, handelt es sich eher um aufgefaltete Tubuli als um zusätzlich aufgelagerte planare Schichtfragmente. Die Proben sind sehr empfindlich, und Strahlenschäden durch den Elektronenstrahl bei der Aufnahme sind deutlich zu sehen (orange Pfeile in Abbildung 11A). Die 1:10-Proben bestehen also aus zwei verschiedenen Strukturen, Vesikeln und planaren Lamellen, was darauf hinweist, dass C12/12 und DPPC nicht homogen gemischt sind, sondern eine Phasenseparation vorliegt.

Die Cryo-TEM-Aufnahmen des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:4 ($T_{präp} = 20 \text{ °C}$) zeigen ausgedehnte runde oder längliche Schichten von mehreren Mikrometern Breite und Länge (Abbildung 11D, E, F). Die Strukturen sind teilweise so groß, dass sie ganze Gridmaschen ($\varnothing = 2 \text{ }\mu\text{m}$) überspannen. Oft findet man auch Material neben den Gridmaschen (Abbildung 11E, Gridmasche - Dreieck 6 und F). An einigen Stellen sind die Schichten übereinander gefaltet, was eine hohe Flexibilität voraussetzt (Abbildung 11D, rechts untere Mitte). Analog zu den Aufnahmen des 1:10-Gemischs treten elongierte, parallele Tubuli auf, deren Elektronendichte an beiden Rändern jedes Tubulus höher ist als in der Röhrenmitte. Es handelt sich damit also eher um Tubuli anstelle von lateral begrenzten Schichten. Die Faltung zu einem Tubulus erfordert ein hohes Maß an Flexibilität. Man kann annehmen, dass es sich bei den Tubuli um eine Spezies anderer Zusammensetzung als bei den planaren Flächen handelt, oder dass die Lamellen so flexibel sind, dass sie an manchen Stellen die Faltung zu einem Tubulus ermöglichen.

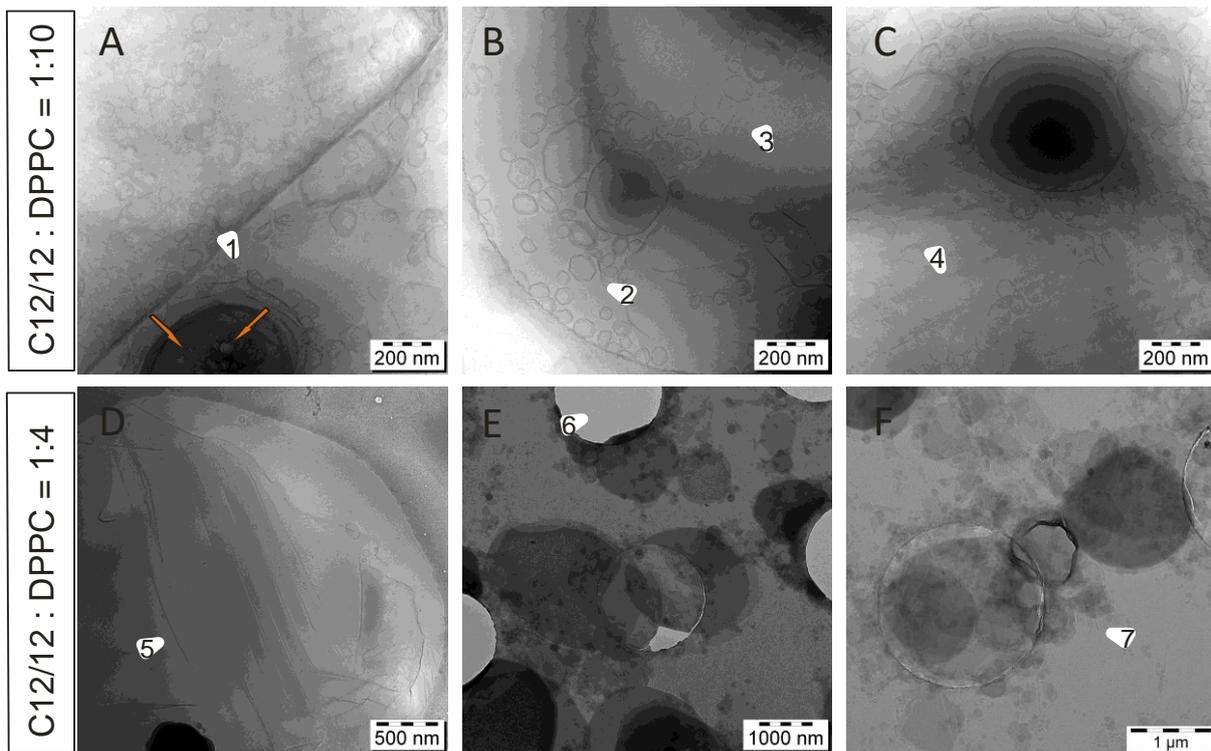


Abbildung 11. Cryo-TEM-Aufnahmen vitrifizierter wässriger Suspensionen von C12/12 : DPPC = 1:X; A – C: X = 10; D – F: X = 4; $T_{\text{präp}} = 20\text{ °C}$; markierte Besonderheiten: Strahlenschäden durch den Elektronenstrahl (orange Pfeile in A), eckige Vesikelränder (Dreieck 1 in A und Dreieck 2 in B), ausge dehnte planare Strukturen (Dreieck 3 in B), Röhrenstruktur (Dreieck 4 in C), Rippenstruktur (Dreieck 5 in D und Dreieck 7 in F), leere Gridmasche (Dreieck 6 in E); Skalen: 200 nm (A - C), 500 nm (D), 1 µm (E, F).

C18/18 : DPPC = 1:10 bzw. 1:4

Es wurden auch die DPPC-Gemische des Vertreters mit längeren Alkylketten (C18/18) präpariert. Die Suspensionen von C18/18 : DPPC = 1:10 und 1:4 wurden ebenfalls via Cryo-TEM untersucht ($T_{\text{präp}} = 20\text{ °C}$). Die Befunde sind ähnlich denen der analogen C12/12-DPPC-Gemische. Das 1:10-Gemisch zeigt vorwiegend unilamellare oder multischalige facettierte Vesikel ($\varnothing \approx 20\text{ µm} - 400\text{ µm}$, Dreieck 1 in Abbildung 12A/B). Die Facettierung ist für eine DPPC- L_{β} -Phase bei 20 °C (Präparations- und Quenchttemperatur) typisch.

Beim Gemisch C18/18 : DPPC = 1:4 treten ausschließlich planare Strukturen in der Form langgestreckter flächiger Lamellen (mehrere Mikrometer Länge) und keinerlei Vesikel auf (Abbildung 12B). Die Lamellen sind teilweise größer als eine TEM-Gridmasche und oft auch zwischen den Maschen des Probengrids zu finden. Einige der ausge dehnten Aggregate bestehen aus einer Vielzahl aneinander liegender mikrometerlanger, aber nur ca. 100 nm schmaler Lamellenstreifen. An den Aggregatenden sind die geschlossenen flächigen Strukturen in einzelne Streifen verästelt (Dreieck 3 in Abbildung 12C). Die Proben sind ebenfalls empfindlich und zeigen Strahlenschäden durch den Elektronenstrahl (oranger Pfeil in Abbildung 12C).

Offensichtlich liegen bei den Aggregaten der C18/18-DPPC-Gemische ähnliche molekulare Anordnungen wie bei den analogen C12/12-Gemischen vor. Die Länge der lateralen Mesogen-Alkylketten (zwischen C_{12} und C_{18}) scheint nur wenig oder keinen Einfluss auf die Aggregatmorphologie bzw. das grundlegende Mischungsverhalten zu haben, soweit das mit TEM bestimmbar ist.

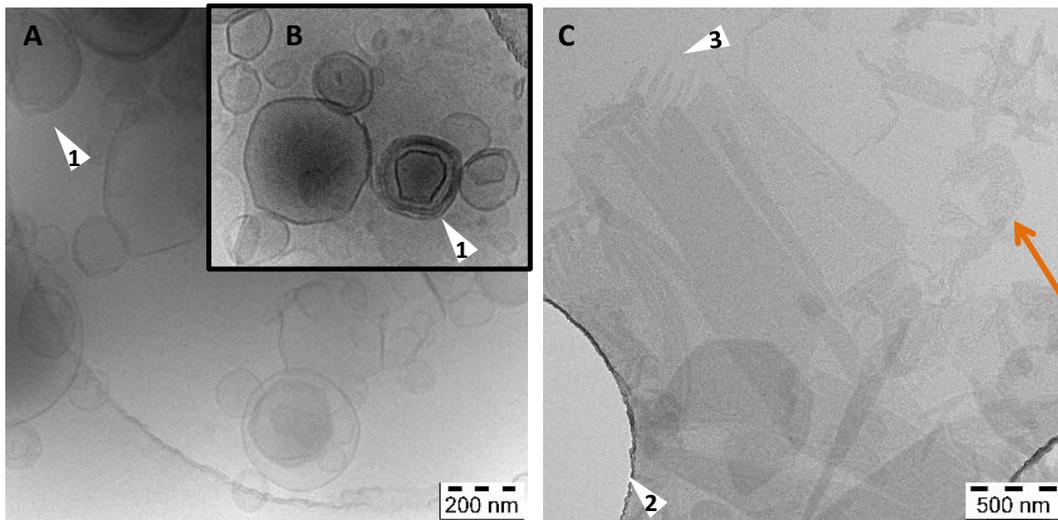


Abbildung 12. Cryo-TEM-Aufnahmen vitrifizierter wässriger Suspensionen von C18/18 : DPPC = 1:X; A/B: X = 10; C: X = 4, $T_{\text{prap}} = 20\text{ °C}$; markierte Besonderheiten: Multischalenvesikel mit eckigem Rand (Dreieck 1 in A/B), leere Masche auf dem TEM-Grid (Dreieck 2 in C), verästelte einzelne Schichtstrukturen (Dreieck 3 in C), Strahlenschäden (orangefarbener Pfeil in C); Skalen: 200 nm (A/B), 500 nm (C).

Die Cm/n-Moleküle besitzen im Vergleich zu DPPC nur sehr kleine hydrophile Kopfgruppen. Wenn sich die Mesogenmoleküle in eine DPPC-Membran einbauen, sind diese wahrscheinlich bevorzugt im lipophilen Acylkettenbereich der Lipidmembranen lokalisiert (vorausgesetzt, es tritt keine makroskopische Entmischung auf). Das Platzangebot im Acylkettenbereich der DPPC-Membran wird dadurch reduziert und die Bildung planarer Aggregate stabilisiert.⁴² Möglicherweise kommt es zur Reduktion des Acylkettentilts der DPPC-Moleküle, und es liegt eine L_{β} -Phase anstelle der für DPPC-Membranen typischen L_{β} -Phase mit geneigten Ketten vor. Die planaren Schichten treten vorwiegend bei höherem Mesogengehalt (1:4 und 1:1 Mischung) auf. Wahrscheinlich ist eine gewisse Menge der Mesogenmoleküle nötig, um eine Planarisierung der Membran durch Erhöhung ihrer Steifigkeit zu erreichen. Planare Schichten treten auch bei kleineren Mesogengehalten (C12/12 : DPPC = 1:10) und höheren Temperaturen (50 °C) auf. Die C12/12-Moleküle zeigen dann eine höhere Beweglichkeit in der (möglicherweise) fluiden DPPC-Membran und verteilen sich so besser über die Membran.

Das Problem planarer Bilschichten ist eine energetisch ungünstige Wechselwirkung der lipophilen Lipid-Alkylketten am Rand der Aggregate mit Wasser. Die gebildeten planaren Lamellen sind oft mehrere Quadratmikrometer groß und der Randeffect, der zur Vesikelbildung führt, ist eher klein.

3.2.2 LSFM-Untersuchungen

Die Moleküle der Klasse Cm/n sind gelbe oder gelbliche Feststoffe und zeigen in CHCl_3 -Lösung eine bläuliche Opaleszenz bzw. Fluoreszenz. Die Lage der Absorptions- und Emissionswellenlängen wurden mittels UV/VIS- und Fluoreszenzspektroskopie bestimmt.

3.2.2.1 UV/VIS und Fluoreszenzeigenschaften der X-förmigen Cm/n-Mesogene

Mit UV/VIS-Spektroskopie wurden die C12/12-Absorptionsmaxima zu 334 nm und 386 nm ermittelt. Ein Anregungsscan im Fluoreszenzspektrometer lieferte Anregungsmaxima für die Fluoreszenz (λ^{ex}) bei 333 nm und 378 nm (schwarze Linie in Abbildung 13). Regt man bei diesen Wellenlängen an, erhält man ein breites Fluoreszenzspektrum mit Fluoreszenzemissionsmaxima bei 428 nm und

449 nm (Schulter, Abbildung 13, rote Linie). Das Doppelmaximum der Absorption (bzw. bei Fluoreszenz) könnte durch die Bildung von Aggregaten⁷³ verursacht sein. Oligo-Phenylen-Alkinylene sind für die Bildung von Stapeln, die durch π - π -Wechselwirkungen⁷⁴ der Phenylringe stabilisiert sind, bekannt. Ein solches Aggregat der Cm/n-Moleküle kann zusätzlich durch Wasserstoffbrückenbindungen im Kopfgruppenbereich stabilisiert werden. Selbst bei der Charakterisierung der Substanzen mittels ESI-MS waren stets nur Dimere und keine Einzelmoleküle zu detektieren. Ebenfalls könnte die Struktur des UV/VIS-Spektrums auf die Anregung nur eines Teils des Rückgrates durch Drehung eines Phenylrings aus der coplanaren Anordnung ($\lambda^{\text{ex}} = 334$ nm) bzw. der Anregung des gesamten Molekülgerüsts ($\lambda^{\text{ex}} = 386$ nm) zurückzuführen sein.

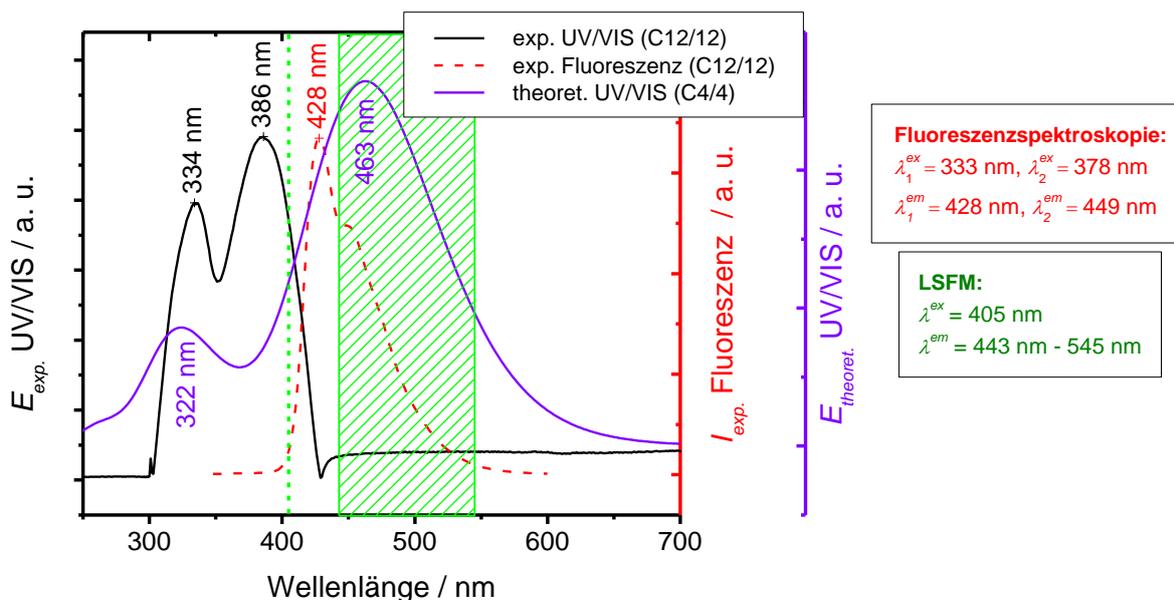


Abbildung 13. UV/VIS-Spektrum von C12/12 (schwarze Linie, $c_{\text{C12/12}} = 0.133$ mM) und Fluoreszenzspektrum von C12/12 (rote Linie, $c_{\text{C12/12}} = 1.33$ μM); theoretisches UV/VIS-Spektrum von C4/4 (violette Linie, berechnet mittels TD-DFT in der Gasphase); C12/12 jeweils gelöst in CHCl_3 ; gestrichelte grüne Linie: Anregungswellenlänge λ^{ex} bei LSFM-Experimenten; schraffierter grüner Kasten: Emissionsbereich λ^{em} bei LSFM-Experimenten.

Mittels zeitabhängiger Dichtefunktionaltheorie-Rechnungen (TD-DFT, time-dependent-DFT) wurden die ersten 10 angeregten Zustände des Modellmoleküls C4/4 (mit zwei lateralen C_4 -Alkylketten, siehe auch Abbildung 39B, S. 50) und folglich ein theoretisches UV/VIS-Spektrum ermittelt (violette Linie in Abbildung 13). Das resultierende theoretische UV/VIS-Spektrum der TD-DFT-Simulationen zeigt wie das experimentelle UV/VIS-Spektrum zwei Maxima, deren Wellenlängen aber stark von den experimentellen Daten abweichen. Die Berechnung von bis zu 20 angeregten Zuständen unter Einbeziehen von Triplett-Zuständen liefert das gleiche Ergebnis. Für den Peak bei kleineren Wellenlängen beträgt $\Delta\lambda_1 = \lambda_1(\text{DFT}) - \lambda_1(\text{exp.}) = 12$ nm, für den zweiten Peak ist $\Delta\lambda_2 = 77$ nm. Mögliche Ursachen für die Abweichungen sind:

- Die durch TD-DFT ermittelten theoretischen UV/VIS-Absorptionskanten entsprechen oft nicht akkurat den experimentellen Spektren,⁷⁵ und die bestimmten Energien der angeregten Zustände sind oft deutlich zu klein. Eine bessere Bestimmung der elektronisch angeregten Zustände und des UV/VIS-Spektrums ist nur mit sehr rechenzeitaufwändigen Simulationen durch Verwendung von störungstheoretischen Ansätzen oder coupled-cluster-Methoden möglich. TD-DFT-Rechnungen dienen also nur einer groben Abschätzung der angeregten Zustände.

- Die TD-DFT-Rechnungen wurden an C4/4 in der Gasphase durchgeführt. Die experimentellen Spektren wurden an CHCl_3 -Lösungen von C12/12 aufgenommen. Durch Solvatochromie kann es zur Verschiebung der Absorptionskante um mehrere zehn Nanometer kommen.^{76,77}
- Die C12/12-Moleküle neigen zur Bildung von Aggregaten. Die Aggregatbildung hat enormen Einfluss auf die Lage der Absorptionsmaxima.⁷³

3.2.2.2 DFT-Berechnungen der Rotationsbarrieren und Konjugation der Cm/n-Mesogene

Das ausgedehnte π -System ermöglicht eine Absorption und Fluoreszenz im Spektralbereich sichtbaren Lichtes. Allerdings sind die π -Elektronen nur schwach konjugiert, da man für ein derart großes konjugiertes System (Länge des lipophilen konjugierten Teils des Molekülrückgrates ca. 3.3 nm) eine deutlich intensivere Farbe und Fluoreszenz bei längerwelligem Licht erwarten würde.⁷⁸ Die Rotationsbarriere benachbarter Phenylringe wurde mittels der Berny-Methode (DFT, redundant coordinate, relaxed surface scan, GAUSSIAN)^{79–81} berechnet. Dafür wurde der Diederwinkel (Abbildung 14, grüne Markierung) zwischen den Phenylringen variiert und bei jedem Schritt die Gesamtenergie des Moleküls berechnet. Ein Plot der Energien als Funktion des Diederwinkels (Abbildung 14, links) ermöglicht es, die Energiebarriere der Rotation zu berechnen. Um Rechenzeit zu sparen, wurde nur das in Abbildung 14 gezeigte asymmetrische Molekülfragment gerechnet. Die Reduktion der Molekülgröße verändert zwar die Gesamtenergie des Moleküls, führt aber nur zu vernachlässigbar kleinen Differenzenergien zwischen den Extrema (ΔE_{rot}).

Die Konformation mit der geringsten Energie ist jene mit coplanarer Anordnung der Phenylringe. Die Rotationsbarriere um den Diederwinkel ist mit 4.26 kJ mol^{-1} so gering, dass bei Raumtemperatur die Rotation der Phenylringe thermisch angeregt ist. Eine Konjugation der p -Orbitale der sp -hybridisierten C-Atome der Alkynyl-Einheit mit den p -Orbitalen der Phenylringe liefert offensichtlich keine starke energetische Stabilisierung.

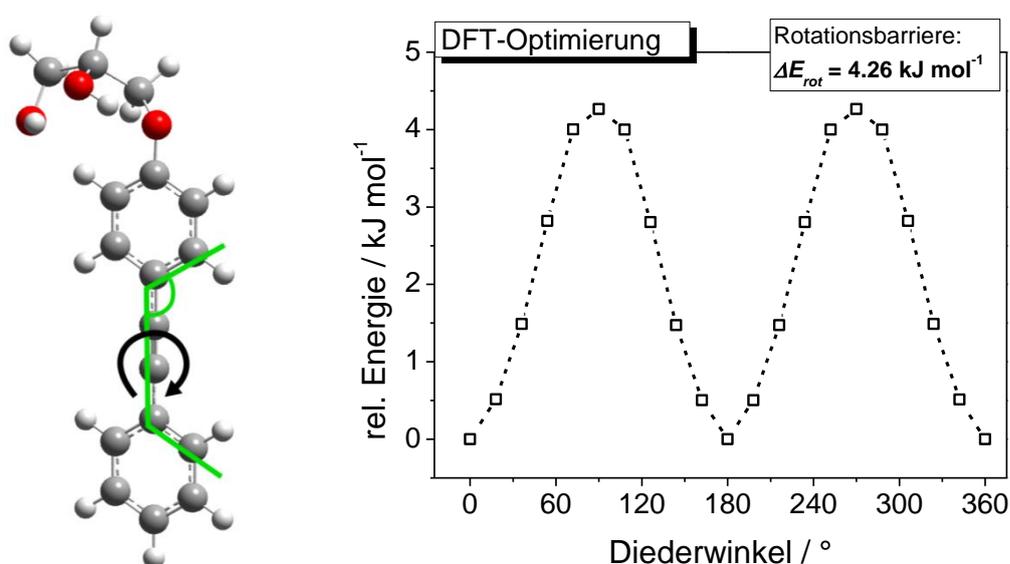


Abbildung 14. Links: Struktur des berechneten Molekülfragmentes (Fragment der Moleküle Cm/n bzw. Bm/n); Rechts: relative Gesamtenergie des Molekülfragmentes bei Rotation um den Diederwinkel (links grün markiert), Daten aus DFT-Rechnungen (redundant coordinate) mit BVP86, $\Delta E_{rot} = 4.26 \text{ kJ mol}^{-1}$.

3.2.2.3 LSFM-Untersuchungen

Mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie (LSFM, laser scanning fluorescence microscopy) können die Aggregate der Gemische aus Cm/n und Lipid ohne zusätzliche Fluoreszenzsonde visualisiert werden. Da bei LSFM-Experimenten eine Anregung bei 333 nm aus gerätetechnischen Gründen nicht möglich war, wurde die Mesogen-Fluoreszenz bei 405 nm, also auf der breiten Niedrigenergieflanke der Absorptionsbande, angeregt (grüne gestrichelte Linie in Abbildung 13). Zur Veranschaulichung wurde eine in CHCl_3 gelöste C6/6-Probe mit einem violetten Laserpointer ($\lambda = 405 \text{ nm}$) bestrahlt und die intensiv-blaue Fluoreszenz fotografisch festgehalten (Abbildung 15).

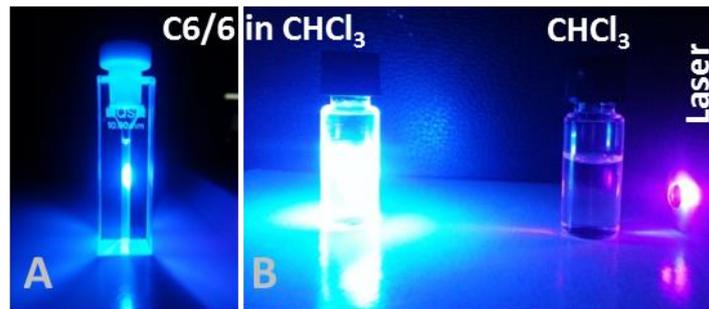


Abbildung 15. A: Fluoreszenz von C6/6 (gelöst in CHCl_3 , $c_{\text{C6/6}} = 10^{-4} \text{ M}$) bei Anregung mit einem violetten Laserpointer ($\lambda^{\text{ex}} = 405 \text{ nm}$) in der Mitte der Küvette; Vergleichsexperiment B: Gläschen mit C6/6-Lösung (links), Gläschen mit reinem CHCl_3 (Mitte), Laserpointer (rechts);

Um im Fall makroskopisch entmischter Mesogen-Lipid-Systeme die Lipiddomäne im LSFM sichtbar zu machen, wurde das Lipid Rh-DHPE zugegeben (0.5 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtmasse m_g). Rh-DHPE weist die gleiche Acylkettenlänge wie DPPC (16:0-Lipid) auf und verteilt sich homogen in einer DPPC-Membran. Rhodamin ist an der Aminfunktion der Kopfgruppe (hydrophiler Bereich) gebunden. Das Absorptionsmaximum des Rhodamins $\lambda^{\text{ex}}(\text{Rh}) = 561 \text{ nm}$ ist hinreichend in den langwelligen Spektralbereich verschoben, um nicht vom Fluoreszenzlicht des Mesogens angeregt zu werden. So sind Zweifarbeexperimente, bei denen beide Fluorophore (Cm/n und Rh-DHPE) simultan angeregt werden, möglich. Dies erlaubt die Lokalisation der einzelnen Fluoreszenzmarker. Da es sich bei der LSFM um eine optische Mikroskopiertechnik handelt, kann nicht wie bei den TEM-Untersuchungen mit SUV (small unilamellar vesicle, kleine unilamellare Vesikel) gearbeitet werden. Deshalb werden unilamellare Riesenvesikel (GUV, giant unilamellar vesicle) mittels Elektroformation generiert.⁸²

3.2.2.4 Aggregatstrukturen der wässrigen Suspensionen von DPPC und DOPC

Zuerst sollen die LSFM-Aufnahmen der reinen wässrigen Lipid-GUV von DPPC bzw. DOPC kurz besprochen werden.

Bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ liegen DPPC-Membranen in der L_{β} -Phase vor, und die Membran ist steif und wenig flexibel. Die DPPC-GUV in der Gelphase sind zumeist facettiert (Abbildung 16A/C, $\varnothing \approx 35 \mu\text{m} - 45 \mu\text{m}$). Teilweise sind offene Vesikel, also ohne durchgehend geschlossene Membran, zu sehen.^{83,84} Die LSFM-Aufnahmen zeigen auch wenige glatte, runde GUV (Abbildung 16A), was auf die Präparation oder einen osmotischen Gradienten zurückzuführen sein könnte. Mit fortschreitender Zeit nach der Präparation wandeln sich diese in facettierte Vesikel um.

DOPC-Membranen liegen bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ in der L_{α} -Phase vor ($T_m \approx -20 \text{ }^\circ\text{C}$).⁸⁵ Die LSFM-Aufnahmen zeigen ausnahmslos runde unilamellare (wenig multilamellare) GUV mit glatter Membran (Abbildung 16B/D, \varnothing bis $60 \mu\text{m}$).^{86,87} Die DOPC-GUV wurden auch bei $66 \text{ }^\circ\text{C}$, weit oberhalb T_m , präpariert, um alle Proben

gleich zu behandeln. Die hohe Fluidität der Acylketten führt zu einem verbesserten Quellverhalten in Wasser, was die GUV-Ausbeute im Vergleich zu DPPC-Proben gleicher Konzentration deutlich erhöht.

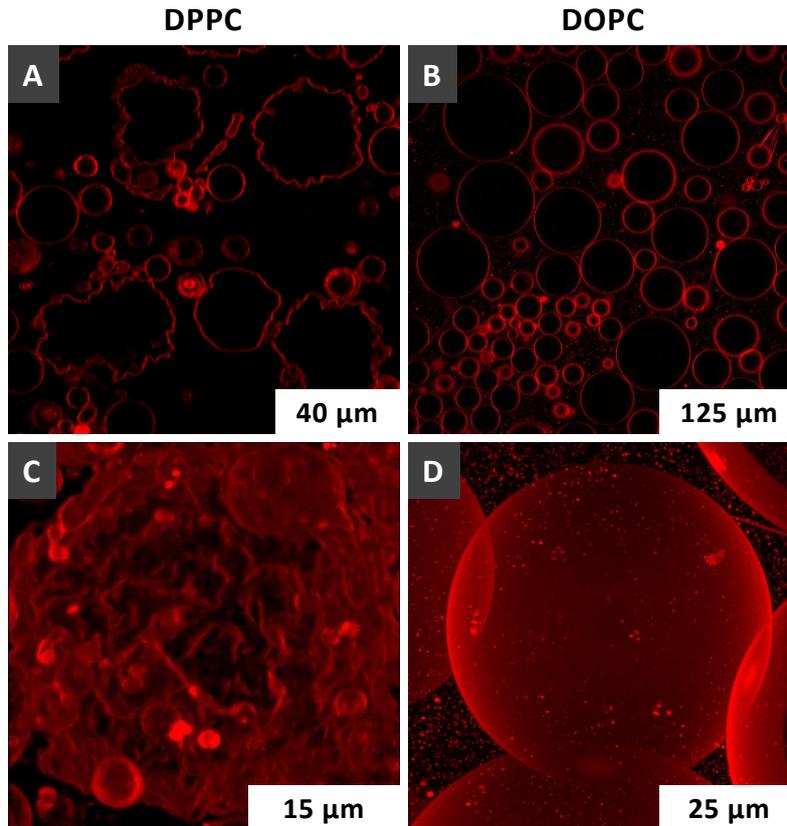


Abbildung 16. LSFM-Aufnahmen von DPPC-GUV in der L_{β} -Phase (A, C) und von DOPC-GUV in der L_{α} -Phase (B, D); jeweils mit 0.5 Gew.-% Rh-DHPE bei 20 °C; unten: Volumenbild mit 78 (C) bzw. 70 (D) Schnitten verschiedener Fokusebenen; Skalen: xy-Ebene: 40 µm (A), 125 µm (B), 15 µm (C), 25 µm (D), z-Richtung: 40.82 µm (C), 30.4 µm (D).

3.2.2.5 Aggregatstruktur der Gemische Cm/n mit DPPC

Es wurden Gemische von C12/12, C6/6, und C18/18 jeweils mit DPPC im Verhältnis 1:10 bzw. 1:4 mit LSFM untersucht, um den Einfluss der Länge der lateralen Alkylketten der Mesogene auf Form, Struktur und Größe der gebildeten Aggregate zu untersuchen und die Mischbarkeit bzw. eine Phasenseparations-tendenz festzustellen.

3.2.2.5.1 Cm/n : DPPC = 1:10

C12/12 : DPPC = 1:10

Das wässrige Gemisch C12/12 : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE) bildet durch Elektroformation Vesikel. Die LSFM-Aufnahmen zeigen sowohl perfekt runde Vesikel mit glatter Membran, als auch facettierte, teilweise *offene* GUV (\emptyset bis 60 µm, Abbildung 17). Dies stimmt mit den bereits diskutierten TEM-Aufnahmen überein (Abbildung 11A-C). DPPC-Membranen liegen bei der Messtemperatur in der L_{β} -Phase vor und bilden auf Grund ihrer steifen Membran typischerweise facettierte Vesikel. Allerdings treten beim untersuchten Gemisch hauptsächlich runde GUV mit glatter Membran auf. Die Vesikel sind im Durchschnitt größer als die GUV von reinen DPPC und weisen damit einen geringeren Krümmungsradius auf.^{88,89} Nimmt die Membranelastizität durch die Wechselwirkung von C12/12 mit DPPC ab, ist die Bildung größerer GUV mit kleineren Biegeadien begünstigt.

Wie bereits erwähnt, wurden Zweikanalmessungen durchgeführt, da die Fluoreszenzsignale der beiden Fluorophore spektral gut getrennt sind und so in zwei Messkanälen separat aufgenommen werden können. Im *grünen Kanal* wurde im Bereich $\lambda^{em} = 443 \text{ nm} - 545 \text{ nm}$ die Mesogen-Fluoreszenz detektiert ($\lambda^{ex} = 405 \text{ nm}$, jeweils links in Abbildung 17 und allen folgenden Zweikanalaufnahmen) und im *roten Kanal* zwischen $\lambda^{em} = 566 \text{ nm}$ und 681 nm die Fluoreszenz des Rhodamins ($\lambda^{ex} = 561 \text{ nm}$, jeweils rechts Abbildung 17 und allen folgenden Zweikanalaufnahmen). Die GUV der Probe C12/12 : DPPC = 1:10 zeigten eine gute räumliche Trennung der beiden Fluoreszenzsignale. Der Großteil der GUV-Membran fluoresziert im roten Kanal (Rh-DHPE). Innerhalb dieser Domänen ist kein oder kaum Signal im grünen Kanal zu detektieren, folglich enthalten diese Areale so gut wie kein C12/12, sondern sind durch die Lipidkomponenten dominiert. Das System ist offensichtlich makroskopisch entmisch. Die Mesogendomänen weisen zumeist eine sechszählige Symmetrie in der Form sechsstrahliger Sterne mit Winkeln von ca. 60° zwischen den Strahlen auf (Abbildung 17, oben). Die Hauptstrahlen sind mehrfach fraktal-verzweigt, wobei die Teilstrahlen unter dem angegebenen Winkel zum Hauptstrahl verlaufen. Das weist darauf hin, dass die molekulare Packung innerhalb der Domänen hexagonal ist. Die Sterne sind nicht regelmäßig über die GUV-Oberfläche verteilt, unterschiedlich groß und durchdringen sich teilweise. Sind nicht alle sechs Sternstrahlen ausgebildet, gleichen die verzweigten Strukturen z. B. Blattadern (Abbildung 17, unten). Die Winkel zwischen den Strahlen betragen auch hier 60° .

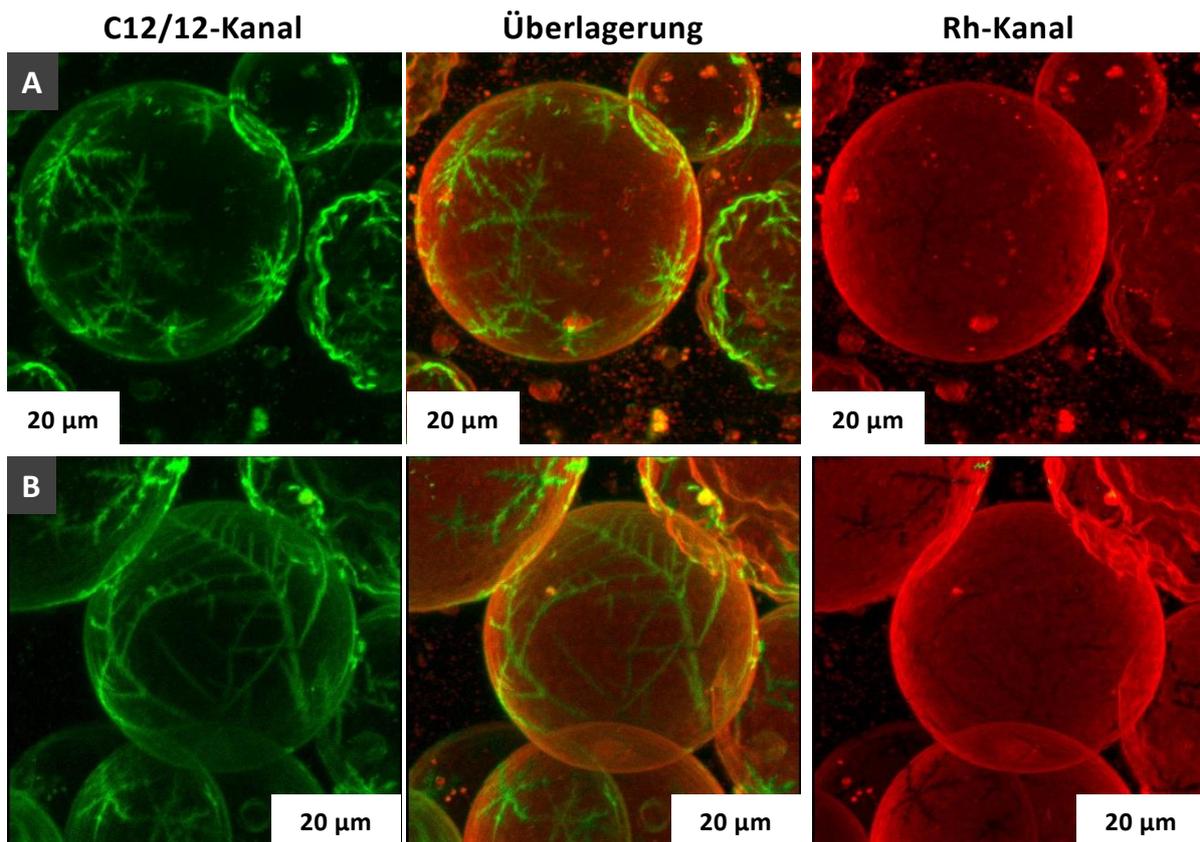


Abbildung 17. Volumenbilder zweier Serien LSFM-Aufnahmen von GUV aus C12/12 : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE) mit 42 (A) bzw. 117 (B) Schnitten verschiedener Fokusebenen; links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C12/12), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; Skalen: xy-Ebene: jeweils $20 \mu\text{m}$, z-Richtung: $20.05 \mu\text{m}$ (A), $44.02 \mu\text{m}$ (B).

Da trotz der Entmischung GUV gebildet werden, muss die C12/12-reiche Phase noch Lipid enthalten, um eine geschlossene Membran zu stabilisieren. Allerdings ist innerhalb der Mesogendomänen im roten Kanal kein Signal zu detektieren. Die Rh-Fluoreszenz wird in diesen Bereichen entweder

gelöscht, oder Rh-DHPE entmischt sich mit der mesogenreichen Domäne wegen seines im Vergleich zu DPPC höheren Platzbedarfes.

Das eingesetzte molekulare Verhältnis C12/12 : DPPC = 1:10 wird in den LSFM-Aufnahmen durch das Flächenverhältnis der beiden Domänen nicht korrekt wiedergegeben. Obgleich ein Teil DPPC in der mesogenreichen Phase lokalisiert ist, erscheint der Flächenanteil der C12/12-haltigen Domäne geringer als ein Elftel. Da C12/12 deutlich schlechter in CHCl_3 löslich ist als DPPC kann es beim Trocknen der vorgemischten Chloroformlösung zur Entmischung kommen, und es liegen lokal unterschiedliche Zusammensetzungen C12/12 : DPPC vor. Möglicherweise ist es auch aus energetischer Sicht günstiger, dass der C12/12-Anteil im GUV geringer als die eingesetzten 10 % ist, weil C12/12 die MembranstEIFigkeit und -krümmung der Vesikel stark beeinflusst. In Deckgläschennähe der Elektroformationskammer, wo die Probe aus CHCl_3 -Lösung aufgebracht wurde, befinden sich auch nach der Elektroformation große Substanzmengen in der Form flächiger, hantelförmiger oder zu Ketten verknüpfter Aggregate, die nicht als GUV abgelöst wurden. Diese Strukturen enthalten hauptsächlich C12/12 und fluoreszieren im *grünen Kanal*.

C18/18 : DPPC = 1:10

Das Gemisch C18/18 : DPPC = 1:10 bildet weitgehend runde bzw. facettierte GUV (Abbildung 18), ähnlich wie das analoge Gemisch mit C12/12. Im Vergleich zu C12/12 : DPPC = 1:10 sind die Vesikel größer ($\varnothing \approx 100 \mu\text{m}$), die Membranen der runden GUV nicht so glatt und weisen Unregelmäßigkeiten auf. Die facettierte GUV weisen teilweise deutliche Abweichung von der Kugelform auf (Abbildung 18, Dreieck 1).

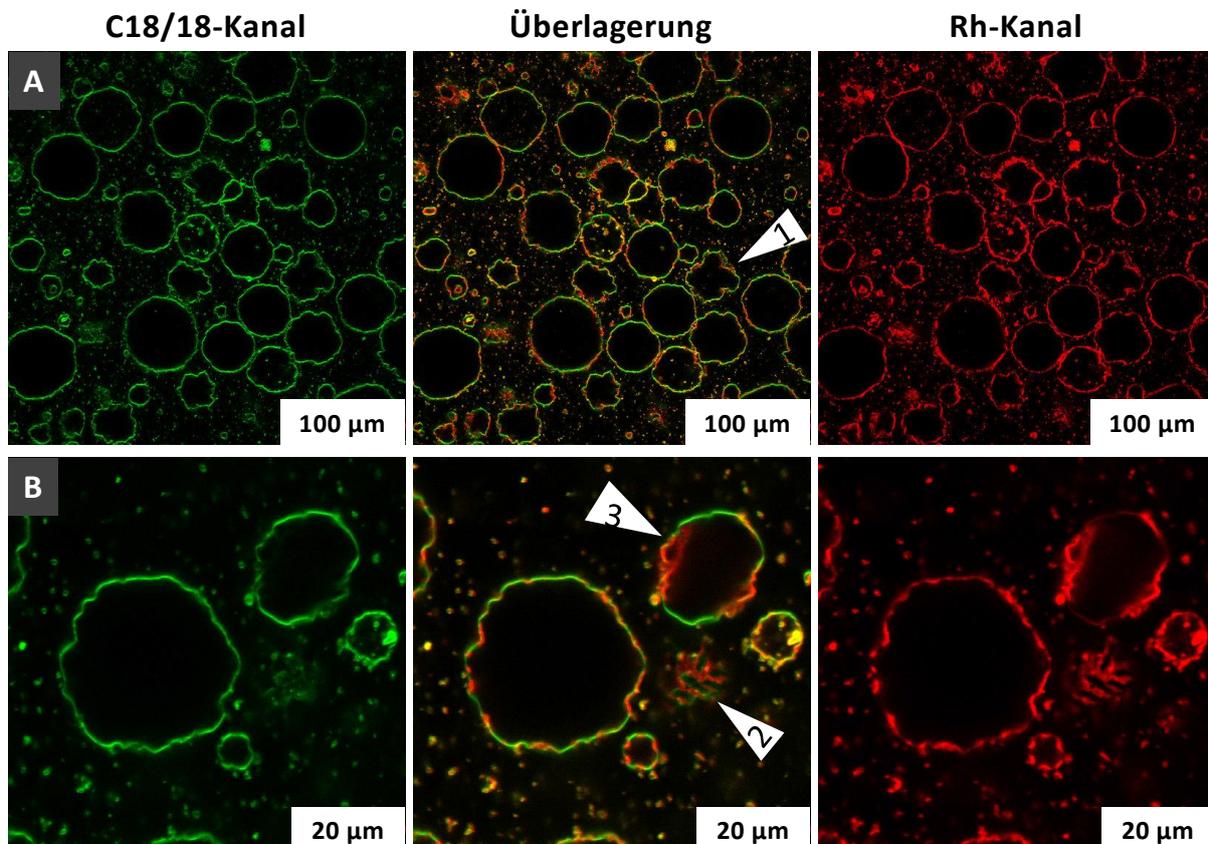


Abbildung 18. Zwei Serien LSFM-Aufnahmen vom GUV aus C18/18 : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C18/18), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; markierte Besonderheiten: stark facettierte GUV (Dreieck 1 in A), GUV-Kappe (Dreieck 2 in B), phasenseparierte GUV (Dreieck 3 in B); Skalen: 100 µm (A), 20 µm (B).

Auch hier zeigt die Zweikanaldarstellung eine Anreicherung des Mesogens in einigen Bereichen des Vesikels (grüner Kanal) und damit eine Entmischung (Abbildung 18, Dreieck 2 und Dreieck 3). Aufnahmen einer Fokusebene zeigen oft entmischte Membranflächen, die der oberen bzw. unteren *Kappe* eines GUV entsprechen (Abbildung 18, Dreieck 2). Die GUV-*Kappen* weisen abwechselnd rote bzw. grüne periodische Streifenmuster auf, die an das V-Profil von Autoreifen erinnern (Abbildung 18, Dreieck 2). Im Volumenbild, rekonstruiert aus mehreren Fokusebenen, wird deutlich, dass die Streifenmuster Ausschnitte sehr großer, meist sechsstrahliger, fraktal-verzweigter, C18/18-reicher Sterndomänen sind (Abbildung 19, oben und Mitte). Die Sterndomänen sind weniger regelmäßig, aber deutlich größer als beim analogen Gemisch mit C12/12 und umspannen teilweise fast ein ganzes GUV (Diagonale bis 50 μm).

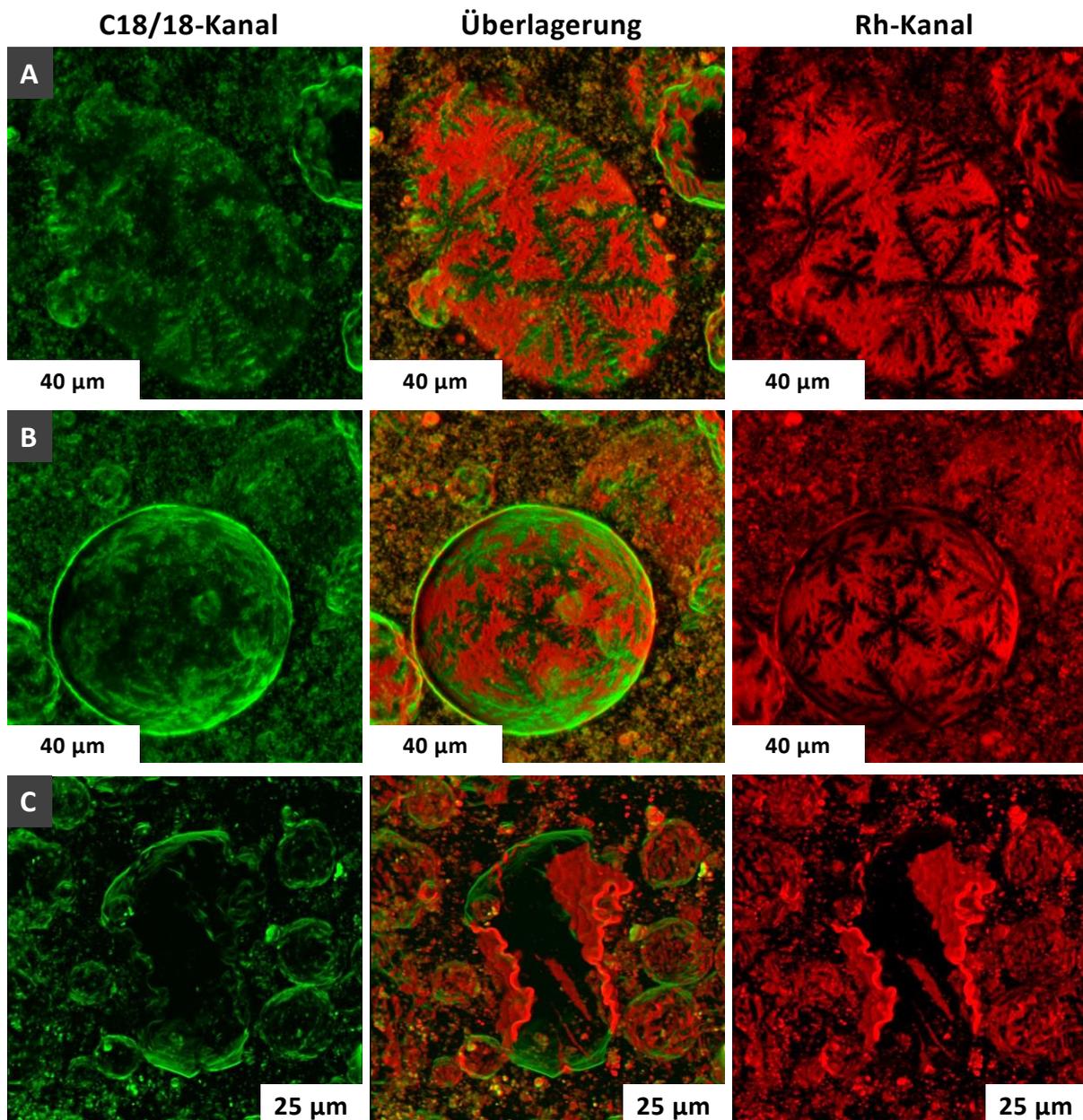


Abbildung 19. Volumenbilder dreier Serien LSFM-Aufnahmen von GUV aus C18/18 : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE) mit 41 (A), 107 (B), 46 (C) Schnitten verschiedener Fokusebenen; links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C18/18), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; Skalen: xy-Ebene: 40 μm (A, B), 25 μm (C), z-Richtung: 14.70 μm (A), 38.95 μm (B), 20.91 μm (C).

Auch die facettierten GUV sind makroskopisch entmischt und teilweise von ungewöhnlicher Form. Abbildung 19 (unten) zeigt ein zylindrisches GUV (ca. $20\ \mu\text{m} \times 45\ \mu\text{m}$), dessen Grund- und Deckfläche von einer relativ glatten Membran gebildet wird, die ein Fluoreszenzsignal im grünen Kanal aufweist, wohingegen die Mantelfläche stark facettiert ist und vorwiegend im roten Kanal fluoresziert. Es existieren also ausgedehnte Domänen, in denen nur eine Sorte der beiden Fluorophore emittiert.

C6/6 : DPPC = 1:10

Das Gemisch C6/6 : DPPC = 1:10 bildet mittels Elektroformation ausschließlich facettierte, teilweise offene Vesikel (\varnothing bis $100\ \mu\text{m}$, Abbildung 20), wie es für DPPC-Membranen in der L_{β} -Phase typisch ist. Die GUV-Ausbeute ist dabei außergewöhnlich hoch. Damit unterscheiden sich die Aggregate deutlich von den gerade diskutierten, der analogen C12/12- bzw. C18/18-Gemische.

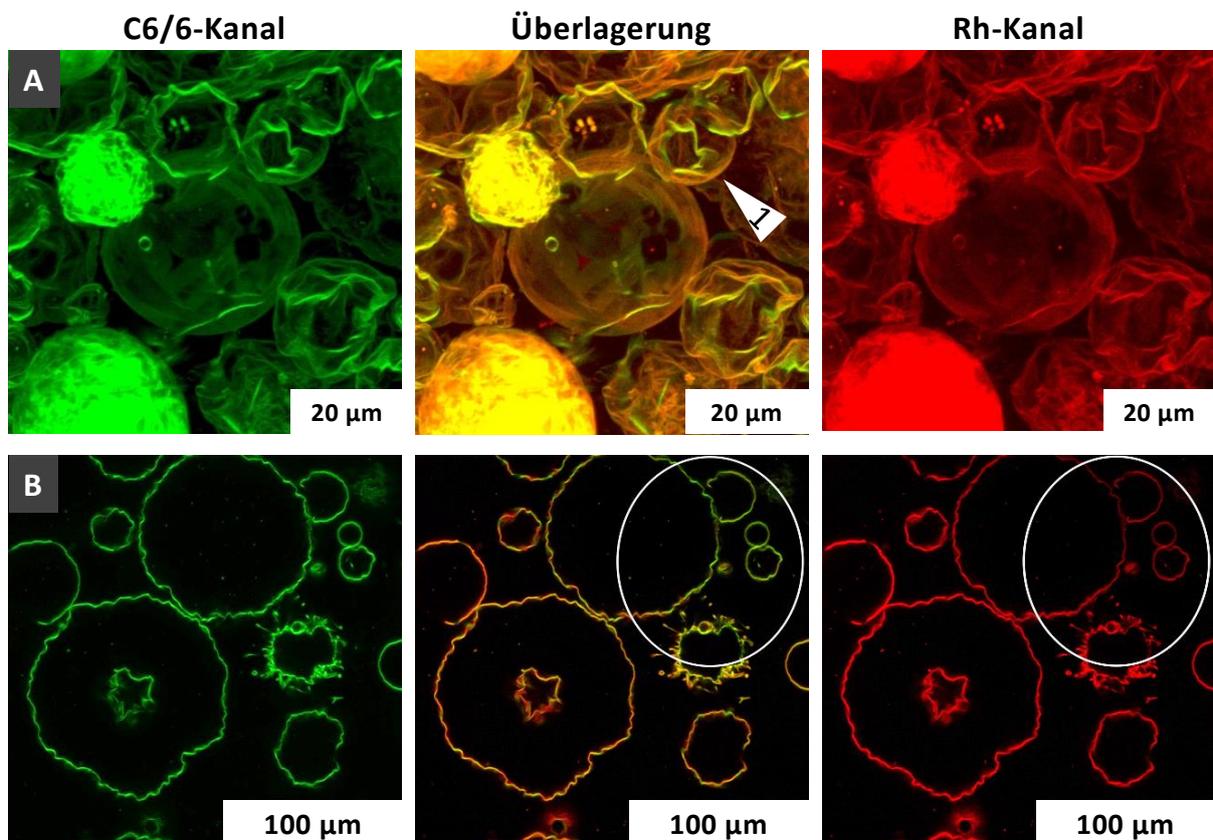


Abbildung 20. Zwei Serien LSFM-Aufnahmen von GUV aus C6/6 : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C6/6), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; A: Volumenbild mit 74 Schnitten verschiedener Fokusebenen; B: eine Fokusebene; markierte Besonderheiten: GUV mit nicht geschlossener Membran (Dreieck 1 in A), Areal in der Rh durch vorherige Zweikanalaufnahme irreversibel gebleicht wurde (weiße Ellipsen in B); Skalen: xy-Ebene: $20\ \mu\text{m}$ (A), $100\ \mu\text{m}$ (B), z-Richtung: $34.02\ \mu\text{m}$ (A).

Beide Fluorophore emittieren räumlich nicht getrennt und sind im Rahmen der Auflösung der Methode colokalisiert, womit keine makroskopische Phasenseparation vorliegt. Bei wiederholter Zweikanal-Aufnahme der gleichen Stelle wird das Rhodamin stark und irreversibel gebleicht, während die C6/6-Fluoreszenzintensität konstant bleibt (Ellipse in Abbildung 20B). Bei mehrfacher Abbildung der gleichen Stelle, indem nur der Rh-Marker angeregt wird, bleibt die Rh-Fluoreszenzintensität weitgehend konstant und ein Bleichen ist nicht zu beobachten. Der Bleicheffekt ist wahrscheinlich auf eine Art *cross-talk* (spektrale Überlappung der Absorptions-/ Emissionsbanden) der beiden Fluorophorspezies oder eine photochemische Reaktion⁹⁰⁻⁹³ zurückzuführen und scheint

vom Abstand der beiden Marker abzuhängen, da der Effekt bei den makroskopisch entmischten Proben (C12/12 : DPPC = 1:10 bzw. C18/18 : DPPC = 1:10) nicht auftritt. Damit ist der Bleicheffekt ein Indiz für die Nähe der beiden Fluorophore. Eine genaue Aussage zur Ursache des Bleichprozesses kann ohne zusätzliche Untersuchungen nicht gemacht werden.

Zusammenfassung Cm/n: DPPC = 1:10 (LSFM)

Die Länge der lateralen Mesogen-Alkylketten $m = n$ hat erheblichen Einfluss auf das Mischungsverhalten der Cm/n-Mesogene mit DPPC und die Struktur der gebildeten Aggregate. Für alle $m = n = 6; 12; 18$ bildet das Gemisch Cm/n : DPPC = 1:10 durch Elektroformation Vesikel. Das Gemisch mit C6/6, was die kürzesten Alkylketten trägt, zeigt in Zweikanalaufnahmen ausschließlich gemischte, facettierte, teilweise *offene* GUV, die für DPPC-Membranen in der L_{β} -Phase typisch sind. Die beiden Farbstoffe C6/6 und Rh (RH-DHPE) sind homogen über die gesamte Membran verteilt und befinden sich offensichtlich nah beieinander, sodass es zum *cross-talk* und damit dem irreversiblen Bleichen des Rh kommt. Die Cm/n-Vertreter mit längeren lateralen Alkylketten bilden im Gemisch mit DPPC (C12/12 : DPPC = 1:10 und C18/18 : DPPC = 1:10) runde GUV mit glatten Membranen, die makroskopisch phasensepariert sind. Die Cm/n-Domänen haben die Form sechsstrahliger, fraktal-verästelter Sterne oder Blattrippen mit hexagonaler Symmetrie. Die C12/12-DPPC-Gemische weisen regelmäßige kleinere Sterne auf, während die C18/18-DPPC-Vesikel sehr große, unregelmäßige, dendritische Domänen besitzen, die teilweise ganze GUV umspannen.

3.2.2.5.2 Cm/n : DPPC = 1:4

C12/12 : DPPC = 1:4

Die LSFM-Aufnahmen des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:4 zeigen zwei verschiedene Aggregatspezies. Neben wenigen makroskopisch entmischten GUV (\varnothing bis 20 μm , Abbildung 21) sind hauptsächlich planare, undulierte, löchrige, zweifarbige Lamellen mit mehreren hundert Mikrometern lateraler Ausdehnung zu finden (Abbildung 22). Das ist in guter Übereinstimmung mit den TEM-Aufnahmen des Gemisches, die ebenfalls ausgedehnte, planare Schichten zeigen (Abbildung 11). Die phasenseparierten, mesogenreichen Domänen der GUV weisen keine definierte Struktur auf wie beim 1:10-Gemisch, sondern sind langgestreckt, verzweigt oder zusammenhängend flächig.

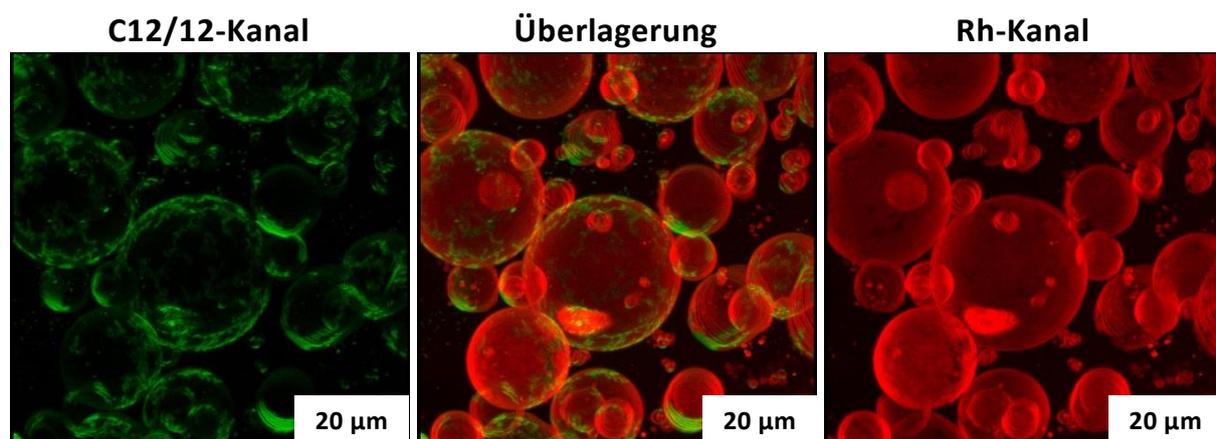


Abbildung 21. Volumenbild einer Serie LSFM-Aufnahmen von GUV aus C12/12 : DPPC = 1:4 mit 73 Schnitten verschiedener Fokusebenen; links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C12/12), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; Skalen: xy-Ebene: 20 μm , z-Richtung: 28.94 μm .

Die laterale Ausdehnung der gewellten Schichten ist so groß, dass es mit den zur Verfügung stehenden Objektivsätzen nicht möglich ist, eine Aufnahme einer vollständigen Lamelle festzuhalten. Ein Schnitt durch das Volumenbild einer Lamelle in z-Richtung (Abbildung 23) macht deutlich, dass es

sich um flache Schichten handelt. Die Schichtdicke ist, bedingt durch die limitierte Auflösung dieses optischen Verfahrens, nicht genau bestimmbar. Die Auflösung in z-Richtung liegt bei den vorliegenden Aufnahmen im Bereich 300 nm – 400 nm. Es ist davon auszugehen, dass die Schichtdicken der Lamellen im Bereich der Dicke einer DPPC-Doppelschichtmembran liegen.

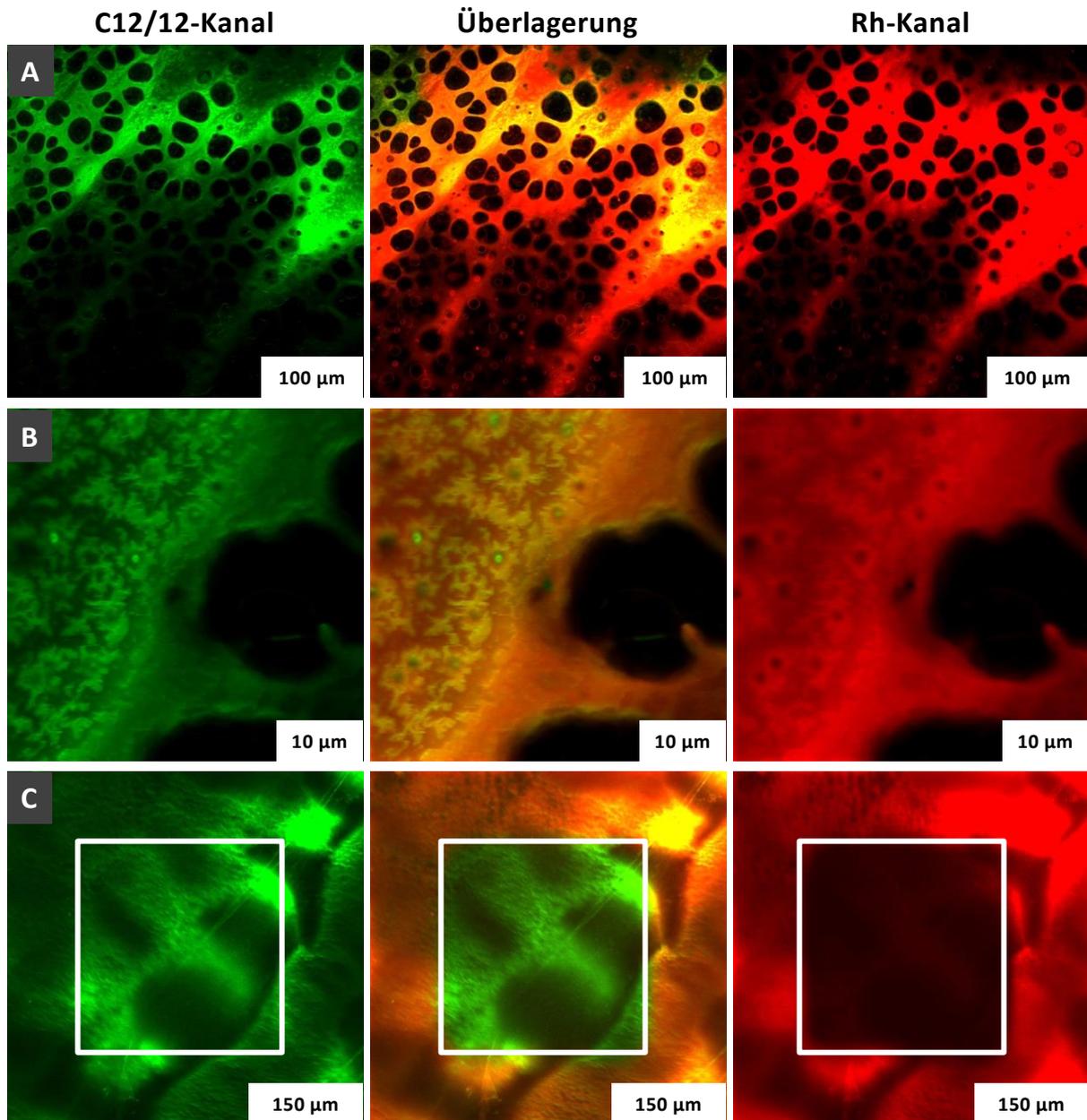


Abbildung 22. Drei Serien LSFM-Aufnahmen von Lamellen aus C12/12 : DPPC = 1:4 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); jeweils links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C12/12), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; C: Aufnahme einer Stelle der Probe, in der durch vorhergehende Zweikanalaufnahme des markierten Ausschnittes (weißer Kasten in C) das Rh irreversibel gebleicht wurde; Skalen: 100 µm (A), 10 µm (B), 150 µm (C).

Die Löcher sind membrandurchspannend (\varnothing bis 30 µm, Abbildung 23) und weisen verschiedene Formen auf. Bei hoher Vergrößerung sind auf den Lamellen kleine Inseln mit fraktalen Rändern sichtbar ($\varnothing \approx 2 \mu\text{m} - 4 \mu\text{m}$, Abbildung 22B), die gleichmäßig C12/12- und Rh Fluoreszenzintensität aufweisen. Oft ist im runden Zentrum der Inseln nur C12/12-Fluoreszenzintensität und kein Rh-Fluoreszenzsignal zu verzeichnen. Die welligen Schichten sind also weitgehend zweifarbig mit colokalisierten Fluorophoren. Auf Grund der limitierten lateralen Auflösung des Mikroskops kann

nicht ausgeschlossen werden, dass eine Meso- oder Mikrophasenseparation vorliegt. Das Auftreten irreversibler Bleicheffekte bei mehrfachem Abbilden der gleichen Stelle im Zweikanalexperiment gibt einen Hinweis auf die Nähe der beiden Fluorophorspezies zueinander (Abbildung 22C). Wiederholtes Abbilden der gleichen Probenstelle mit ausschließlicher Anregung des Rh führt stets zur gleichen Rh-Fluoreszenzintensität, und ein Bleichen ist nicht zu beobachten. Abbildung 22C zeigt einen Lamellenausschnitt (Kantenlänge $212.5\ \mu\text{m}$) mit einem Areal, das zuvor im Zweikanalexperiment einmal aufgenommen wurde (Kantenlänge $106.2\ \mu\text{m}$). Das Rhodamin im markierten Areal weist nur noch eine sehr geringe Fluoreszenzintensität auf.

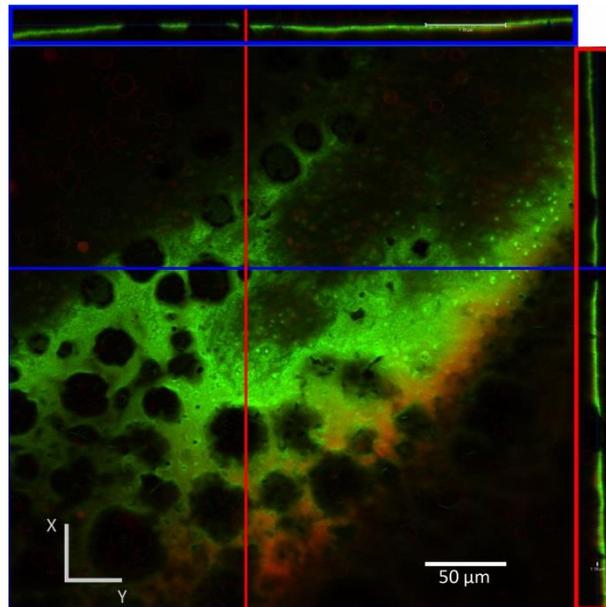


Abbildung 23. Volumenbild einer Serie LSFM-Aufnahmen von Lamellen aus C12/12 : DPPC = 1:4 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE) mit 63 Schnitten verschiedener Fokusebenen, blauer Kasten am oberen Rand: Blick in x-Richtung auf die yz-Ebene an der blauen Linie; roter Kasten am rechten Rand: Blick in y-Richtung auf die xz-Ebene an der roten Linie; Skalen: xy-Ebene: $50\ \mu\text{m}$, z-Richtung: $24.92\ \mu\text{m}$.

C6/6 : DPPC = 1:4

Die Aggregate des Gemischs C6/6 : DPPC = 1:4 haben die Form facettierter, teilweise *offener* GUV oder runder GUV mit glatter Membran (\varnothing bis $90\ \mu\text{m}$, Abbildung 24). Beide GUV-Spezies sind partiell phasensepariert. Die entmischten Domänen sind zumeist streifenförmig mit fraktalen Rändern (Abbildung 24A und B), wobei sowohl C6/6-reiche als auch Rh-DHPE-reiche Domänen existieren.

Bei gleichzeitiger Anregung der Fluoreszenz beider Fluorophorspezies kommt es zum irreversiblen Bleichen des Rh, was bei wiederholter Abbildung der gleichen Stelle sichtbar gemacht werden kann (Übersichtsaufnahme mit markiertem, zuvor abgebildetem Ausschnitt (Kasten) in Abbildung 24C). Dieses Verhalten ist analog zu den Gemischen C6/6 : DPPC = 1:10 und C12/12 : DPPC = 1:4 und ein Indiz für die Nähe der Fluorophore bzw. für eine potentielle partielle Mischbarkeit.

Zusammenfassung Cm/n : DPPC = 1:4 (LSFM)

Das 1:4-Gemisch von C6/6, dem Cm/n-Vertreter mit den kürzesten Alkylketten, mit DPPC (C6/6 : DPPC = 1:4) bildet bevorzugt facettierte oder runde glatte GUV, während die Probe des analogen Gemischs mit C12/12 (längeren Alkylketten) neben wenigen facettierten GUV vor allem planare, löchrige, gewellte Schichten enthält. Die Aggregatspezies beider Gemische sind partiell phasensepariert.

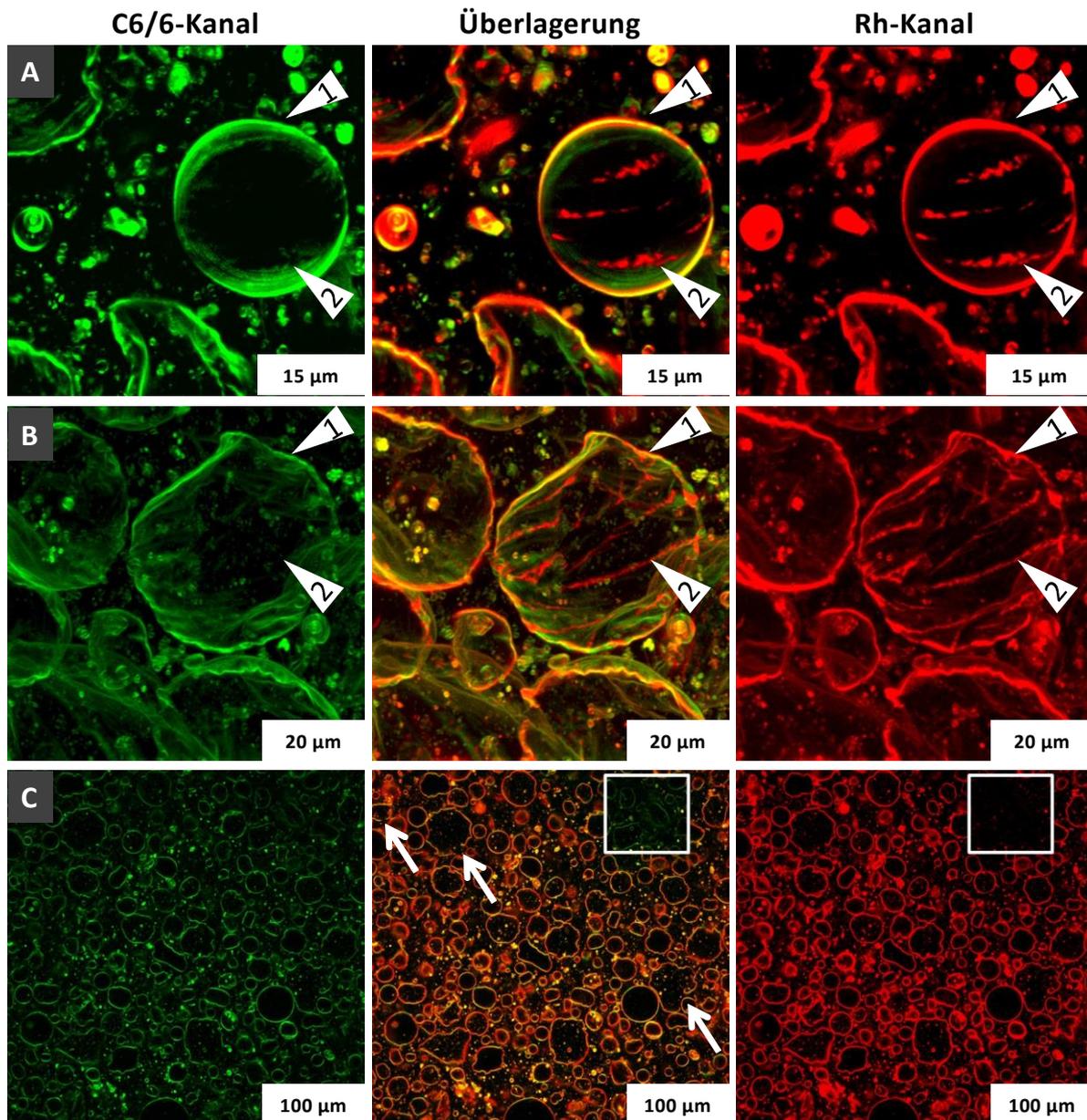


Abbildung 24. Drei Serien LSFM-Aufnahmen von GUV aus C6/6 : DPPC = 1:4 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); jeweils links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C6/6), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; Volumenbild mit 23 (A) bzw. 44 (B) Schnitten verschiedener Fokusebenen; markierte Besonderheiten: colokalisierte Fluorophore (Dreieck 1 in A und B), entmischte Domänen (Dreieck 2 in A und B), stark facettierte GUV (weiße Pfeile in C), Areal in dem Rh durch vorherige Zweikanalaufnahme irreversibel gebleicht wurde (weißer Kasten in C); Skalen: xy-Ebene: 15 µm (A), 20 µm (B), 100 µm (C), z-Richtung: 11.66 µm (A), 22.79 µm (B).

3.2.2.6 Aggregatstruktur der Gemische Em/n mit DPPC

Um den Einfluss der Länge des Mesogenrückgrates auf die Struktur der Mesogen-Lipid-Aggregate zu untersuchen, wurde das analoge Gemische des rückgratmodifizierten C12/12-Derivates E12/12, dessen starres Grundgerüst symmetrisch um zwei Phenylen-Alkinylen-Einheiten verkürzt ist (Strukturformel in Abbildung 5 oder Abbildung 7 mit $\gamma=0$, $n=m=12$), mit DPPC via LSFM untersucht. Das starre Rückgrat von E12/12 ist deutlich kürzer als das der Cm/n-Mesogene, wobei die elektronische Struktur ähnlich ist und die Länge der lateralen Alkylketten der von C12/12 entspricht. Die E12/12-Fluoreszenz kann ebenfalls bei 405 nm angeregt werden. Die Fluoreszenz des Mesogens ist intensiv, und so können mit LSFM auch sehr kleine Substanzmengen detektiert werden.

E12/12 bildet als reine Substanz keine thermotrop-flüssigkristalline Mesophase aus, ist deutlich besser in organischen Lösungsmitteln löslich bzw. suspendierbar als die Cm/n-Mesogene und zeigt ebenfalls, wenn auch nicht so stark ausgeprägt, die typische Opaleszenz der Lösung. Eine Löslichkeit oder Suspendierbarkeit von E12/12 in Wasser konnte ebenfalls nicht festgestellt werden (geprüft mit DLS, DSC, Elektroformation).

Das Gemisch E12/12 : DPPC = 1:10 bildet ausschließlich runde glatte GUV (Abbildung 25, $\varnothing \approx 5 \mu\text{m} - 100 \mu\text{m}$) und bei 20 °C sind keine facettierten Vesikel zu beobachten. Einige GUV sind makroskopisch entmischt, wobei entweder keine E12/12-Fluoreszenz in Arealen mit Rh-Fluoreszenz zu finden ist und umgekehrt (Abbildung 25B) oder die Membran komplett im *grünen Kanal* leuchtet und einzelne Insele domänen auftreten, die auch Rh-Fluoreszenz zeigen (Abbildung 25A). Die Domänen weisen keine bestimmte Form auf und variieren stark in ihrer Größe ($\varnothing \approx 1 \mu\text{m} - 10 \mu\text{m}$). Die Farbstoffverteilung in diesen Vesikeln ist also gerade umgekehrt wie in allen bisher besprochenen phasenseparierten GUV mit Cm/n-Mesogenen, bei denen Cm/n-Domänen innerhalb einer mit Rh-DHPE-angereicherten Membran zu finden sind. Möglicherweise kommt es zu einer Phasenseparation des Dreikomponentensystems und Rh-DHPE wird aus Teilen der Membran gedrängt, in denen E12/12 inkorporiert ist.

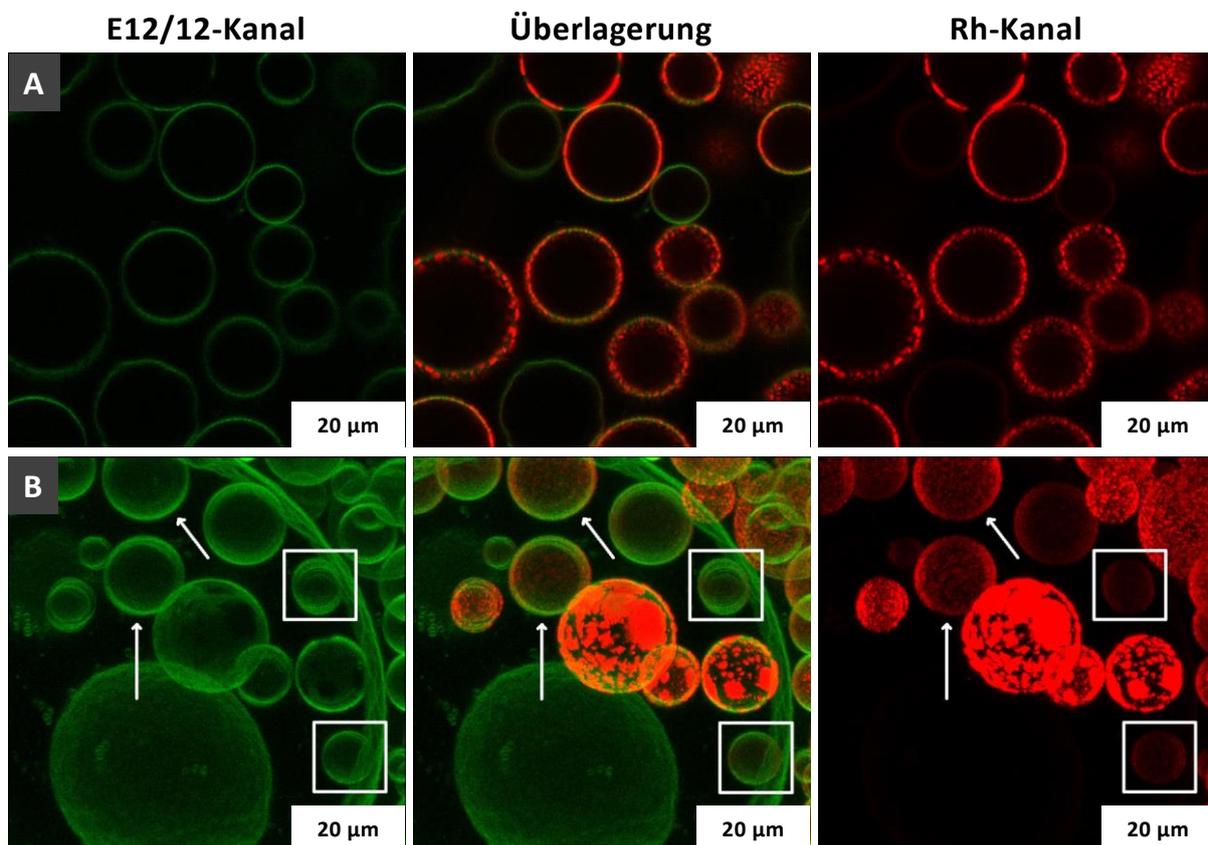


Abbildung 25. Zwei Serien LSFM-Aufnahmen von GUV aus E12/12 : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); jeweils links: grüner Kanal (Fluoreszenz des E12/12), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; B: Volumenbild mit 50 Schnitten verschiedener Fokusebenen; markierte Besonderheiten: Bereiche mit orientierten Fluorophormolekülen (weiße Pfeile in B), Areal ohne Rh-Fluoreszenz (weiße Rechtecke in B); Skalen: xy-Ebene: 10 μm (A, B), z-Richtung: 22.83 μm (B).

Zudem treten GUV auf, die so gut wie kein Rh-DHPE enthalten (oder alles enthaltene Rh wurde auf Grund der Nähe der beiden Fluorophorspezies gebleicht), deren Membran aber durchgängig E12/12-Fluoreszenz zeigt (Abbildung 25B, weiße Rechtecke). Da E12/12 nicht in Wasser suspendierbar ist,

müssen die im grünen Kanal fluoreszierenden *GUV*-Membranen sowohl Mengen als auch *DPPC* enthalten. Es scheint also lediglich eine Phasenseparation der beiden Fluorophore vorzuliegen.

3.2.2.7 Aggregatstruktur der Gemische C12/12 mit DOPC

Um den Einfluss des Phasenzustandes der Lipidmembran auf das Mischungsverhalten mit Cm/n-Mesogenen und die Form und Struktur der gebildeten Aggregate zu untersuchen, wurde das Gemisch C12/12 : DOPC = 1:10 mittels LSFM vermessen. DOPC-Membranen sind bei 20 °C fluide (L_{α} -Phase), da ihre Hauptumwandlung auf Grund der ungesättigten Acylketten bereits bei $T_m = -20$ °C stattfindet.

Die Probe C12/12 : DOPC = 1:10 zeigt ausschließlich runde *GUV* mit glatter Membran (Abbildung 26) und sehr hoher *GUV*-Ausbeute. Die *GUV*-Durchmesser variieren zwischen 1 μm und ca. 70 μm , wobei Größen von 10 μm – 20 μm häufiger sind. Auf Grund der hohen Fluidität der DOPC-Membran existieren keine facettierten *GUV*. Beide Farbstoffe weisen eine gleichmäßige Fluoreszenz innerhalb der Membran auf, und es gibt keinen Hinweis auf eine makroskopische Phasenseparation durch Bildung von Domänen, in denen eines der Fluorophore angereichert ist.

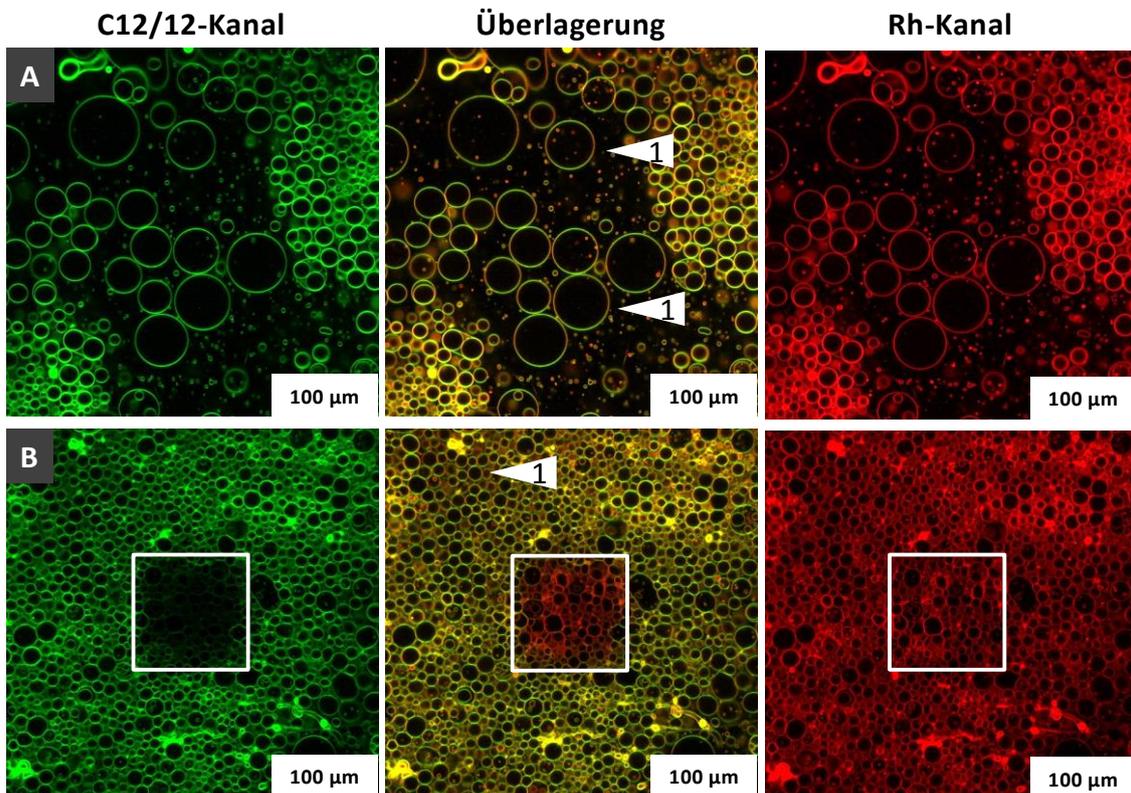


Abbildung 26. Zwei Serien LSFM-Aufnahmen von *GUV* aus C12/12 : DOPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C12/12), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; markierte Besonderheiten: periodische Variation der C12/12-Fluoreszenzintensität entlang der *GUV*-Membran (Dreieck 1 in A und B), Areal in dem C12/12 durch vorherige Zweikanalaufnahme irreversibel gebleicht wurde (weißer Kasten in B); Skalen: jeweils 100 μm .

Bei wiederholtem Abbilden der gleichen Stelle einer Probe kommt es zu irreversiblen Bleicheffekten (Abbildung 26B). Anders als bei den bisher beobachteten Bleicheffekten (siehe C12/12 : DPPC = 1:4 auf S. 32; C6/6 : DPPC = 1:4 auf Seite 34 bzw. 1:10 auf S. 30) werden beim Gemisch C12/12 : DOPC = 1:10 die C12/12-Moleküle gebleicht, während die Rh-Fluoreszenzintensität unverändert bleibt. Möglicherweise ist Ursache des Bleichens eine photochemische Reaktion.

Die C12/12-Fluoreszenzintensität ändert sich periodisch entlang der Membran. Die seitlichen Flanken der GUV zeigen eine geringe, während Ober- und Unterseite (relativ zum Bild) eine starke Fluoreszenz aufweisen. Der Effekt ist eine Folge der senkrechten Polarisation des verwendeten Anregungslasers und weist auf eine Vorzugsorientierung der Fluorophore relativ zur Membrannormale hin. Das E-Feld des Laserlichtes wechselwirkt umso stärker mit dem elektronischen Übergangsdipolmoment der Absorption, je besser die beiden Vektoren parallel ausgerichtet sind. Das Rh-Fluorophor des Rh-DHPE ist an der Lipidkopfgruppe einfachgebunden und somit frei drehbar. Rh zeigt also keine Vorzugsorientierung und damit eine gleichmäßige Fluoreszenzintensität.

Die mittlere Vorzugsorientierung des Fluorophoren kann nach Corry *et al.* durch Plot und Fit der Fluoreszenzintensität als Funktion des Winkels γ entlang der GUV-Membran am Meridian des Vesikels bestimmt werden (Abbildung 27).⁹⁴ Dafür muss der Winkel zwischen dem elektronischen Übergangsdipolmoment (TDM) der Fluoreszenz und dem Moleküldirektor (MD) der C12/12-Moleküle bekannt sein. Der Vektor des elektronischen TDM wurde mittels TD-DFT-Rechnungen abgeschätzt. Es ergab sich ein Winkel zwischen TDM und MD von $\theta = 2.09415^\circ$. Das elektronische Übergangsdipolmoment verläuft also nahezu parallel zu MD .

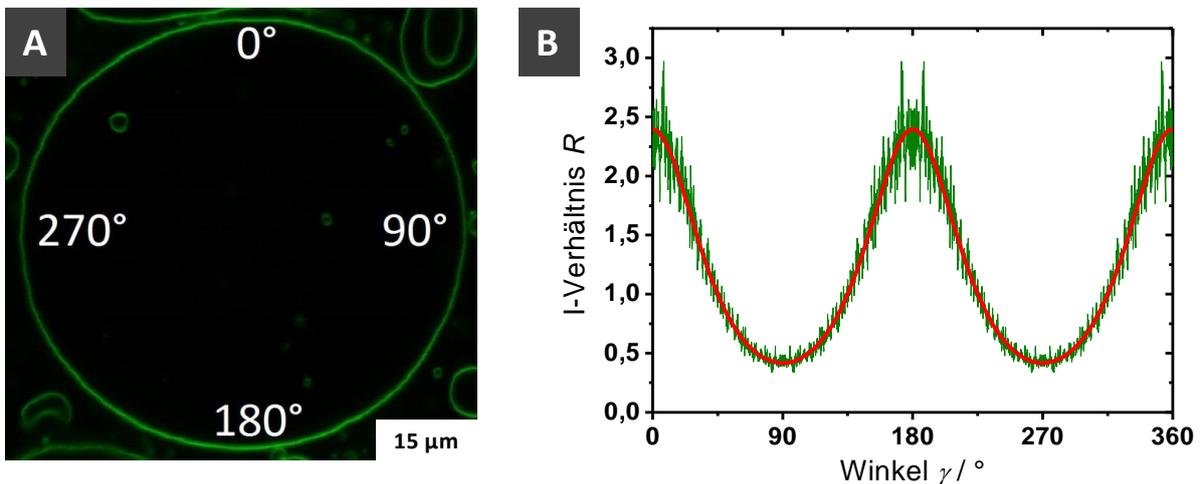


Abbildung 27. A: LSFM-Aufnahme von C12/12 : DOPC = 1:10 (Fluoreszenz des C12/12); B: periodische Fluoreszenzintensitätsvariation der normierten C12/12-Fluoreszenz R entlang der GUV-Membran in Abhängigkeit von γ ; Skala: 15 μm .

Nach Normierung der Fluoreszenzintensitäten können die Daten gefittet werden, um die Parameter B und u zu bestimmen, mit denen dann der maximale Orientierungswinkel α_{max} des Molekülrückgrates zur Membrannormale bestimmt werden kann. Für das System C12/12 : DOPC = 1:10 wurde α_{max} zu ca. 45° bestimmt. Der Wert α_{max} gibt den maximalen Öffnungswinkel eines Kegels an, innerhalb dessen die Tilts der Molekülrückgrate verteilt sind. Eine mittlere Ausrichtung der C12/12-Moleküle ist also nur indirekt im angegebenen α_{max} enthalten, sondern direkt nur der maximale Tiltwinkel. Der maximale Tiltwinkel ist groß und liegt nahe am magischen Winkel von 54.7° , bei welchem der Ordnungsparameter $S = 0$ ist und ein isotropes, ungeordnetes System vorliegt. Allerdings würden isotrop verteilte Fluorophore keine anisotrope Fluoreszenzintensität entlang der GUV-Membran hervorrufen. Die starke Neigung der Molekülhauptachsen ist also wahrscheinlich (Abbildung 28).

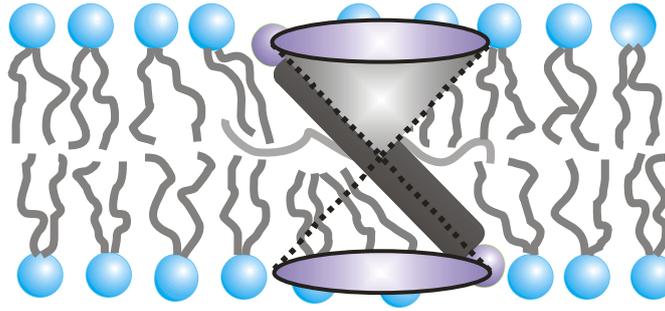


Abbildung 28. Modell einer fluiden DOPC-Membran mit einem inkorporiertem C12/12-Molekül; der Doppelkegel weist auf eine mögliche Präzession des C12/12-Rückgrates hin, die Anordnung der lateralen Alkylketten von C12/12 (hellgrau) ist experimentell nicht gesichert.

Zusammenfassung Cm/n- DOPC-Gemische (LSFM)

C12/12 bildet mit DOPC im wässrigen System stabile Suspensionen. Bei Raumtemperatur werden vesikuläre Aggregate mit homogen über die fluide DOPC-Membran verteilte C12/12-Moleküle (Abbildung 28) gebildet. C12/12 ist also mischbar mit der sehr fluiden DOPC-Membran. Als Vorzugsorientierung der C12/12-Molekülrückgrate wurde ein maximaler Tiltwinkel von α_{\max} zu ca. 45° bestimmt.

3.2.3 DSC-Untersuchungen

Das thermotrope Verhalten der Gemische von Cm/n bzw. Em/n mit DPPC, DMPC, DOPC bzw. POPC in Wasser wurde mittels DSC untersucht. Durch die Verwendung einer Vielzahl verschiedener Lipide konnte auch der Einfluss des Lipides auf die Wechselwirkung mit den Mesogenen studiert werden.

C12/12 mit DPPC bzw. DMPC

Die Beimengung kleiner Mengen an C12/12 zur DPPC-Membran (z. B. Verhältnis 1:50) führt zu kaum detektierbaren Änderungen im DSC-Thermogramm. Die *Vorumwandlung* $T_p(\text{C12/12:DPPC}=1:50) = 34.9^\circ\text{C}$ ist im Vergleich zu reinen DPPC-Membranen um 0.9 K zu niedrigeren Temperaturen verschoben. Das Auftreten einer Vorumwandlung weist darauf hin, dass die Eigenschaften der DPPC-Membran nahezu unverändert sind. Die Umwandlung in der Nähe der Hauptumwandlung des reinen Lipides bei $T_m(\text{C12/12:DPPC}=1:50) = 41.7^\circ\text{C}$ (Abbildung 29, A, diese Umwandlung sei als Hauptumwandlung des Gemisches bezeichnet) ist im Vergleich zu DPPC um 0.2 K zu höheren Temperaturen verschoben. Das Thermogramm des Gemisches C12/12 : DMPC = 1:50 weist ebenfalls eine Vorumwandlung bei $T_p(\text{C12/12:DMPC}=1:50) = 14.5^\circ\text{C}$ auf, die im Vergleich zu reinen DMPC-Membranen wenig (0.8 K) zu höheren Temperaturen verschoben ist. Die Hauptumwandlung des Gemisches bei $T_m(\text{C12/12:DMPC}=1:50) = 24.5^\circ\text{C}$ liegt im Bereich der Hauptumwandlung des reinen Lipids (0.3 K zu höheren Temperaturen verschoben). Die Position von T_m ändert sich auch bei höheren C12/12-Gehalten nicht wesentlich (maximal Änderung für C12/12 : DPPC 0.5 K bzw. für C12/12 : DMPC 1.2 K), während die Peakintensität mit steigendem $x_{\text{C12/12}}$ abnimmt. Für C12/12-DPPC-Gemische existiert ein T_m -Maximum bei $x_{\text{C12/12}} = 0.2$ ($T_m(\text{C12/12:DPPC})_{\max} = 42.2^\circ\text{C}$), wobei T_m für die DMPC-Mischungen einen kontinuierlichen Anstieg mit steigendem $x_{\text{C12/12}}$ erfährt. Bei C12/12 : DMPC = 1:1 ist der Peak bei T_m gänzlich verschwunden, wobei die analoge DPPC-Mischung noch einen deutlich erkennbaren, wenn auch schwachen Peak bei T_m aufweist.

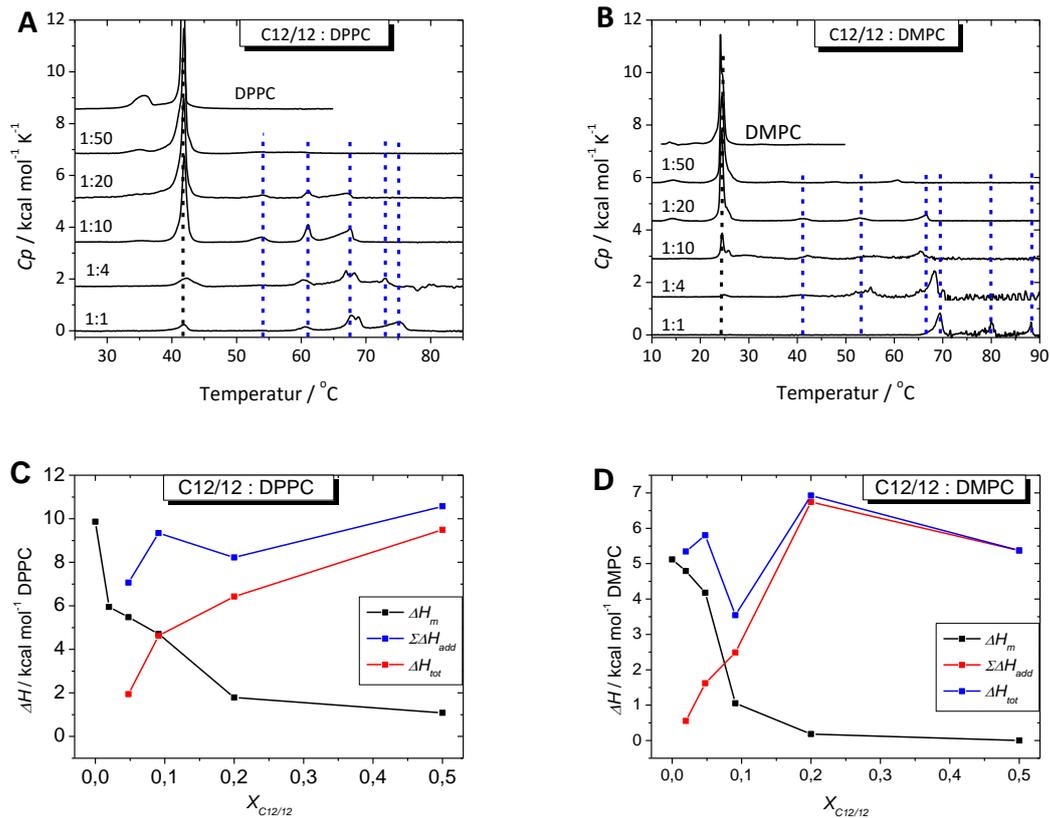


Abbildung 29. DSC-Thermogramme verschiedener Gemische von C12/12 mit DPPC (A) bzw. DMPC (B) in wässriger Suspension; das Molverhältnis ist angegeben; C/D: Umwandlungsenthalpien der Gemische als Funktion von $x_{\text{C12/12}}$; Enthalpie der Hauptumwandlung (ΔH_m , schwarz), Summe der Enthalpien aller Zusatzumwandlungen ($\Sigma \Delta H_{add}$, rot) und Summe der Enthalpien aller Umwandlungen (ΔH_{tot} , blau), die Vorumwandlungsenthalpie ist nicht aufgetragen; jeweils $c_{\text{Lipid}} = 2 \text{ mM}$.

Die Thermogramme der Gemische C12/12 : Lipid = 1:20 zeigen neben der Hauptumwandlung ein Tripel zusätzlicher Umwandlungen (T_{add}), die ca. 25 K – 30 K zu höheren Temperaturen als T_m verschoben sind: $T_{add}(\text{C12/12:DPPC}=1:20) = 53.9^\circ\text{C}$, 61.1°C und 66.8°C bzw. $T_{add}(\text{C12/12:DMPC}=1:20) = 41.1^\circ\text{C}$, 52.8°C und 66.6°C . Die Zusatzumwandlungen sind auch bei höheren $x_{\text{C12/12}}$ vorhanden. Die Temperaturen T_{add} und die Peakintensitäten der zusätzlichen Übergänge steigen mit $x_{\text{C12/12}}$ leicht an, wobei sich die Peakstruktur ebenfalls leicht ändert. Die Peaks sind den thermotropen Umwandlungen von C12/12-Lipid-Komplexen zuzuordnen. Die PC-Acyllketten der Komplexe werden offenbar bei höheren Temperaturen als T_m ungeordnet bzw. fluide. Die Änderung der Peakstruktur ist auf eine Änderung der Zusammensetzung der C12/12-Lipid-Domänen zurückzuführen.

Die Mischbarkeit von Mesogen und Lipid ist offensichtlich abhängig von der Länge der Lipidacylketten. Kleine Mengen C12/12 (Verhältnis 1:50) induzieren in der kürzerkettigen DMPC-Membran eine Entmischung, und es treten zusätzliche Umwandlungen bei T_{add} auf. In Membranen mit dem längerkettigen DPPC ist dies nicht der Fall. Bei hohen C12/12-Anteilen ($x_{\text{C12/12}} = 0.5$) in der DMPC-Mischung verschwindet die Hauptumwandlung der lipidreichen Phase, weil möglicherweise alle DMPC-Moleküle der vormals lipidreichen Phase in die andere(n), mesogenreichen Phase(n) übergegangen sind und die lipidreiche Phase (im Rahmen der Detektionsgrenzen der Methode) nicht mehr existiert oder die lipidreiche Phase eine andere Struktur aufweist, sodass kein Übergang mehr möglich ist. Die entsprechende DPPC-Mischung weist auch bei $x_{\text{C12/12}} = 0.5$ noch den bekannten

Übergang bei T_m auf und so existiert auch bei diesem Mischungsverhältnis noch die Phasenseparation in lipidreiche und mesogenreiche Phase.

Trägt man die Umwandlungsenthalpien gegen $x_{C12/12}$ auf, ergibt sich für die Enthalpie der Hauptumwandlung ΔH_m (Abbildung 29C/D) und Vorumwandlung ΔH_p (nicht in der Abbildung dargestellt) eine Abnahme mit steigendem Mesogengehalt, analog zur bereits beschriebenen Abnahme der Peakintensität. Mit steigendem $x_{C12/12}$ nimmt ΔH_m nicht linear ab, womit auch der Gehalt an Lipid in der mesogenreichen Phase stärker steigt als aus dem Mischungsverhältnis ersichtlich ist. Für C12/12 : DMPC = 1:10 beträgt $\Delta H_m(x_{C12/12} = 0.1) = 0.96 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ DMPC}$, was nur 19 % der Hauptumwandlungsenthalpie der reinen DMPC-Membran entspricht ($\Delta H_m(x_{C12/12} = 0.0) = 5.12 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ DMPC}$). Da ΔH_m jeweils auf die DMPC-Stoffmenge bezogen ist, sind 81 % des DMPC in den C12/12-DMPC-Domänen gebunden, sodass das Verhältnis C12/12 : DMPC für diese Mischung eher 1:4 sein müsste. Für das analoge 1:10-Gemisch mit DPPC ist die Umwandlungsenthalpie auf 50 % reduziert, und 50 % des DPPC sind in den C12/12-DPPC-Domänen lokalisiert. Das C12/12:DPPC-Verhältnis beträgt 1:5.5. Die Intensitäten und Umwandlungsenthalpien der drei zusätzlichen Signale bei T_{add} steigen mit $x_{C12/12}$. In Abbildung 29C/D ist die Summe der Enthalpien der drei Zusatzpeaks $\Sigma\Delta H_{add}$ gegen $x_{C12/12}$ aufgetragen (rot). $\Sigma\Delta H_{add}$ steigt mit $x_{C12/12}$ an. Die Peakflächen der drei Umwandlungen wachsen systematisch in gleicher Weise. Die Summe über die Umwandlungsenthalpien aller Peaks bleibt im betrachteten $x_{C12/12}$ -Bereich nahezu konstant. Das ist ein Hinweis darauf, dass die Lipid-Acyllketten in den Gemischen bei hohen Temperaturen denselben Grad an Unordnung bzw. Fluidität erreichen, wobei sich der Umwandlungsvorgang über einen größeren Temperaturbereich (T_m und T_{add}) erstreckt.

C12/12 mit POPC bzw. DOPC

Da die Thermogramme der Systeme C12/12 : DPPC bzw. C12/12 : DMPC jeweils Zusatzumwandlungen 25 K bis 30 K oberhalb T_m aufweisen, wurden auch Gemische aus C12/12 und dem Phospholipid POPC mit einer ungesättigten Oleoylkette vermessen, um zu überprüfen, ob die *Komplexbildung* nur bei PCs mit gesättigten Acylketten auftritt. Die Umwandlungstemperatur $T_m(\text{POPC})$ von POPC beträgt $-2 \text{ }^\circ\text{C}$.⁹⁵ Das Thermogramm des Gemisches C12/12 : POPC = 1:4 weist ein Tripel an Zusatzumwandlungen bei $T_{add} = 18.6 \text{ }^\circ\text{C}$, $28.9 \text{ }^\circ\text{C}$ und $32.6 \text{ }^\circ\text{C}$ auf (Abbildung 30). C12/12 verursacht im Gemisch mit POPC eine Phasenseparation, und so scheint auch in Membranen aus PCs mit ungesättigten Acylketten eine *Komplexbildung* mit C12/12 möglich.

Die Hauptumwandlung von DOPC-Membranen (zwei ungesättigte Oleoylketten) liegt bei $T_m(\text{DOPC}) = -20 \text{ }^\circ\text{C}$.^{85,95} Das Thermogramm des Gemisches C12/12 : DOPC = 1:4 zeigt innerhalb des gemessenen Temperaturbereiches ($2 \text{ }^\circ\text{C} - 95 \text{ }^\circ\text{C}$) keinerlei Umwandlungen (Thermogramm nicht abgebildet). Möglicherweise liegen alle Zusatzumwandlungen bei $T < 2 \text{ }^\circ\text{C}$ und es liegt für $T \geq 2 \text{ }^\circ\text{C}$ kein entmischtes System sondern fluide, gemischte Membranen vor.

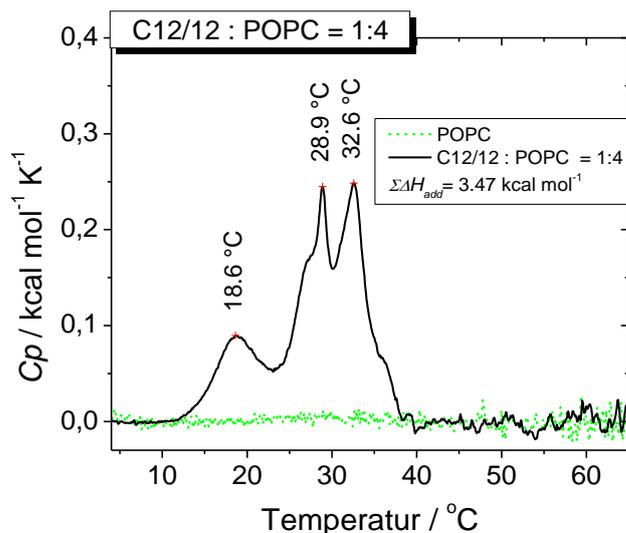


Abbildung 30. DSC-Thermogramme der wässrigen Suspensionen von POPC (grün) und C12/12 : POPC = 1:4 (schwarz); die Umwandlungsenthalpie für das Gemisch ist angegeben (Kasten); jeweils $c_{POPC} = 2 \text{ mM}$.

C18/18 mit DPPC bzw. DMPC

Die Proben aus C18/18 und DPPC bzw. DMPC verhalten sich ähnlich den analogen C12/12-Systemen (Abbildung 31). Das Thermogramm des Gemisches C18/18 : DPPC = 1:50 weist einen Hauptumwandelungspeak bei $T_m = 42,6 \text{ °C}$ auf (Abbildung 31A), der aber im Vergleich zu DPPC leicht zu höheren Temperaturen verschoben ist (0,9 K). Die Intensität des Hauptumwandelungspeaks sinkt stark mit steigendem $x_{C18/18}$, wobei die Peakposition sich kaum verändert. Bei C18/18 : DPPC = 1:10 ist der Umwandelungspeak bei T_m vollständig verschwunden. Für C18/18 : DPPC = 1:50 tritt ein Zusatzpeak bei $T_{add} = 47,9 \text{ °C}$ auf, dessen Position sich mit wachsendem $x_{C18/18}$ stark zu höherer Temperatur verschiebt. Die Thermogramme belegen die im LSFM gefundene Phasenseparation in eine lipidreiche Domäne und mindestens eine mesogenreiche Domäne. Das Thermogramm des 1:10-Gemischs zeigt nur eine Umwandlung (mit Schulter) bei $T_{add}(C18/18:DPPC=1:10) = 55,4 \text{ °C}$. Es liegt offensichtlich eine Art 1:10-Komplex vor. Die C18/18-DMPC-Gemische verhalten sich ähnlich, allerdings treten die Zusatzumwandlungen erstmals bei einem Mischungsverhältnis von 1:20 auf (Abbildung 31B). Der Hauptumwandelungspeak bei T_m liegt unabhängig vom C18/18-Gehalt relativ konstant bei $24,9 \text{ °C}$ und wird mit steigendem $x_{C18/18}$ kleiner. Anders als bei den DPPC-Gemischen verschwindet der Peak bei T_m für hohe C18/18-Anteile nicht.

Die Hauptumwandlungsenthalpie ΔH_m sinkt wie die Peakintensität mit steigendem $x_{C18/18}$ für die C18/18-Gemische mit DPPC bzw. DMPC stärker, als durch das Molverhältnis zu erwarten ist (Abbildung 31C/D). ΔH_m beträgt für das Gemisch C18/18 : DPPC = 1:20 nur 24 % der Umwandlungsenthalpie von DPPC-Membranen. Damit sind 76 % des DPPC in der mesogenreichen Domäne lokalisiert. Für C18/18 : DMPC = 1:20 ist ΔH_m 67 % der Umwandlungsenthalpie des reinen Lipides, und so sind 33 % des DMPC in den mesogenreichen Domänen gebunden. Die Enthalpien der Zusatzumwandlungen $\Sigma\Delta H_{add}$ für die C18/18-DPPC-Gemische bleiben unabhängig von $x_{C18/18}$ ungefähr konstant, wobei $\Sigma\Delta H_{add}$ für die C18/18-DMPC-Gemische mit dem C18/18-Gehalt steigt. Für die letzteren Gemische ist allerdings kein klarer Trend zu erkennen.

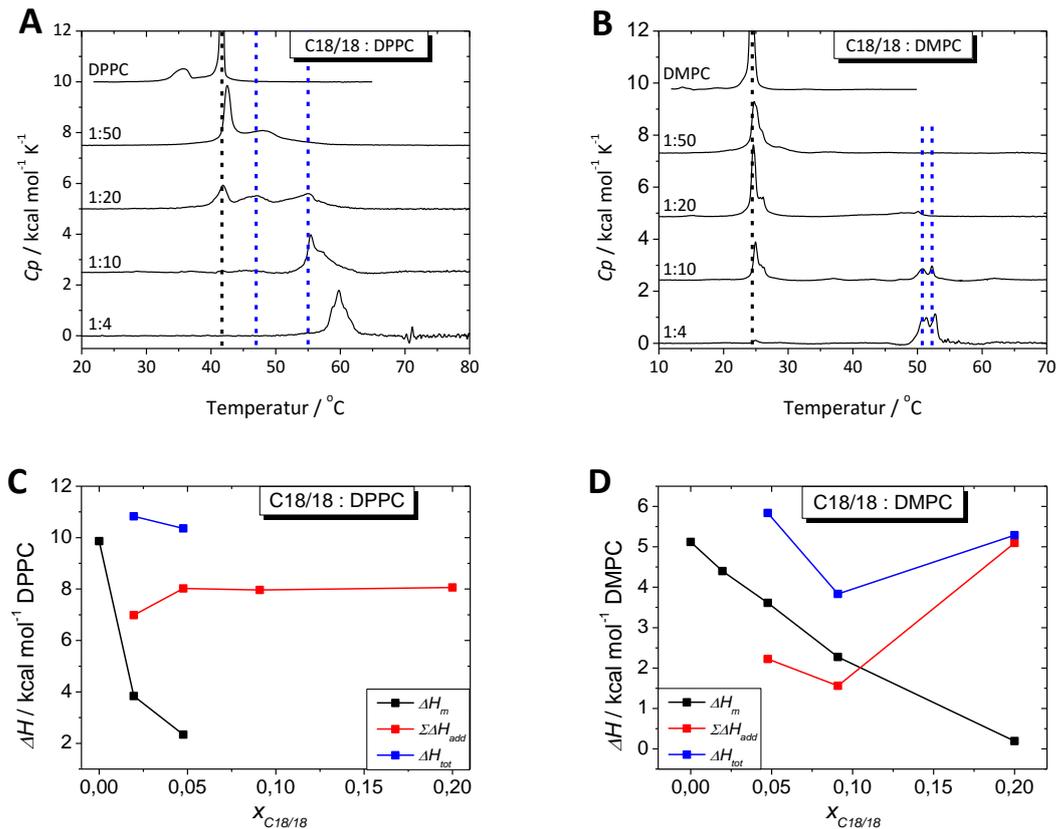


Abbildung 31. DSC-Thermogramme verschiedener Gemische von C18/18 mit DPPC (A) bzw. DMPC (B) in wässriger Suspension; das Molverhältnis ist angegeben; C/D: Umwandlungsenthalpien als Funktion von $x_{\text{C18/18}}$, Enthalpie der Hauptumwandlung (ΔH_m , schwarz), Summe der Enthalpien aller Zusatzumwandlungen ($\Sigma \Delta H_{add}$, rot) und Summe der Enthalpien aller Umwandlungen (ΔH_{totr} , blau); jeweils $c_{\text{Lipid}} = 2 \text{ mM}$.

Ähnlich wie bei analogen C12/12-Systemen ist die Phasenseparationstendenz der C18/18-Lipid-Gemische abhängig von der Lipidacylkettenlänge. C12/12 mit kurzen lateralen C₁₂-Alkylketten zeigt eine höhere Affinität zum kürzerkettigen DMPC, während das langkettige C18/18 höhere Affinität zum langkettigen DPPC aufweist.

C6/6 mit DPPC bzw. DMPC

Das thermotrope Verhalten der C6/6-DPPC-Gemische weicht von dem der längerkettigen Vertreter der Klasse Cm/n ab. Die Thermogramme zeigen, unabhängig vom Mischungsverhältnis, nur eine thermotrope Hauptumwandlung und keine Zusatzumwandlung bei hohen Temperaturen (Abbildung 32A). Dennoch scheint das Phasenverhalten komplex zu sein. T_m ist für niedrige C6/6-Gehalte im Vergleich zu DPPC-Membranen zu niedrigeren Temperaturen verschoben (0,7 K für C6/6 : DPPC = 1:50), und es tritt ein zweiter Peak bei 37,6 °C auf. Eine Erniedrigung von T_m könnte auf Wechselwirkungen der Mesogene mit dem Acylkettenbereich der DPPC-Membran hinweisen. Bei höheren $x_{\text{C6/6}}$ (z. B. C6/6 : DPPC = 1:20) ist T_m des Gemischs höher als bei einer reinen DPPC-Membran. Die Aufspaltung des Peaks bleibt für alle Mischungsverhältnisse erhalten. Das Phasenverhalten der C6/6-DMPC-Gemische ist analog zu den bisher besprochenen Gemischen von C12/12 oder C18/18 mit DPPC bzw. DMPC. In den Thermogrammen existiert jeweils eine Hauptumwandlung im Bereich der Hauptumwandlung des reinen DMPC, und für $x_{\text{C6/6}} \geq 0,09$ tritt ein zusätzlicher Doppelpack bei höheren Temperaturen auf (Abbildung 32B), dessen Peakposition, Peakintensität und Umwandlungsenthalpie mit wachsendem $x_{\text{C6/6}}$ steigen. T_m bleibt, unabhängig von

der Zusammensetzung, ungefähr konstant, während die Intensität und die Enthalpie des Hauptumwandlungspeaks mit steigendem Gehalt an Mesogen abnehmen. Das System C6/6-DMPC ist phasensepariert in DMPC-reiche und C6/6-reiche Domänen. Beim äquimolaren Gemisch verschwindet der Hauptumwandlungspeak vollständig.

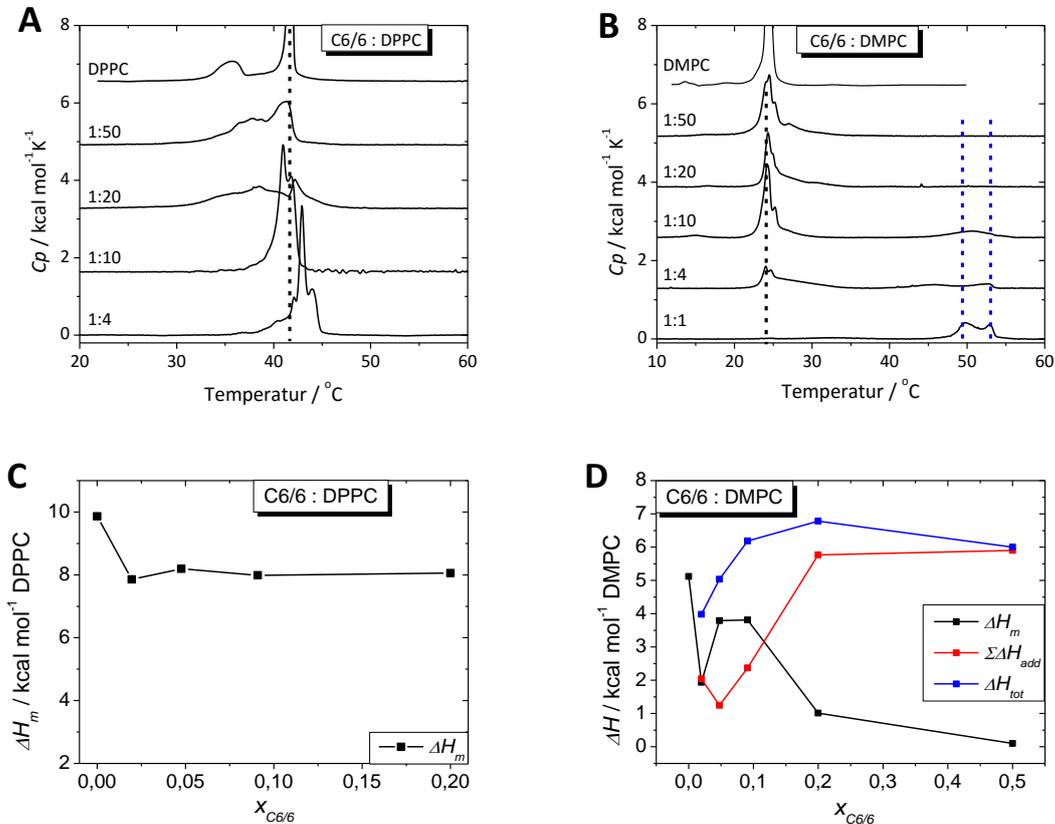


Abbildung 32. DSC-Thermogramme verschiedener Gemische von C6/6 mit DPPC (A) bzw. DMPC (B) in wässriger Suspension; das Molverhältnis ist angegeben; C/D: Umwandlungsenthalpien als Funktion von $x_{C6/6}$, Enthalpie der Hauptumwandlung (ΔH_m , schwarz), Summe der Enthalpien aller Zusatzumwandlungen ($\Sigma\Delta H_{add}$, rot) und Summe der Enthalpien aller Umwandlungen (ΔH_{tot} , blau); jeweils $c_{Lipid} = 2 \text{ mM}$.

Ein Plot der Hauptumwandlungsenthalpien als Funktion des $x_{C6/6}$ zeigt, dass ΔH_m beim Gemisch C6/6 : DPPC = 1:50 nur noch 78 % der Umwandlungsenthalpie einer DPPC-Membran beträgt. Möglicherweise sind 22 % des Lipides in einer mesogenreichen Phase lokalisiert. Bei höheren Gehalten an C6/6 bleibt ΔH_m nahezu konstant. Die DPPC-Acyllketten der Gemische haben in der fluiden Phase offenbar eine geringere Unordnung als in reinen DPPC-Membranen. Für die Gemische C6/6 mit DMPC sinkt ΔH_m mit steigendem $x_{C6/6}$ stärker, als das eingesetzte Molverhältnis angibt. So beträgt ΔH_m des 1:20-Gemisches 74 % der Umwandlungsenthalpie der reinen DMPC-Membran. Somit sind 26 % des DMPC in der mesogenreichen Phase lokalisiert. ΔH_{add} steigt mit dem Gehalt an C6/6 an. ΔH_{tot} ist für die meisten Gemische höher als beim reinen DMPC. Möglicherweise ist die Fluidität der DMPC-Acyllketten der Gemische in der L_α -Phase größer als bei reinen DMPC-Membranen.

C6/6 scheint mit DPPC besser mischbar zu sein als mit dem kürzerkettigen DMPC. Die Thermogramme der C6/6-DMPC-Gemische geben einen deutlichen Hinweis auf eine Phasenseparation. Das Gemisch C6/6 : DMPC = 1:1 bildet wahrscheinlich einen 1:1-Komplex. Offenbar ist die Mischbarkeit von C6/6 mit Lipidmembranen ebenso wie bei analogen C12/12 oder C18/18-Gemischen von der Alkylkettenlänge des Lipids abhängig. Das kurz-kettige C6/6 scheint besser

mit langkettigen PCs mischbar zu sein, anders als die anderen Cm/n-Vertreter, die mit PCs vergleichbarer Acylkettenlänge besser mischbar sind.

E12/12 mit DPPC

Die Thermogramme der Gemische des im rückgratverkürzten Moleküls E12/12 mit DPPC sind für geringe Mesogengehalte ähnlich denen der C6/6-DPPC-Mischungen. Es existiert ein Umwandlungspeak bei T_m mit einer Schulter auf der Niedertemperaturseite (Abbildung 33A). Für $x_{E12/12} \geq 0.2$ tritt ein Zusatzsignal bei 60.3 °C auf, welches sich mit weiter steigendem E12/12-Gehalt kaum verschiebt. Die Summe der Hauptumwandlungsenthalpien bleibt für $x_{E12/12} \leq 0.2$ nahezu konstant. Die DPPC-Acylketten in der L_α -Phase weisen also die gleiche Unordnung wie bei DPPC-Membranen auf, und E12/12 hat wenig Einfluss auf die Struktur der Phasen. Bei höheren E12/12-Anteilen, dem Auftreten einer Zusatzumwandlung bei höheren Temperaturen und einer potentiellen Entmischung sinkt ΔH_m leicht (Abbildung 33B), während $\Sigma\Delta H_{add}$ mit wachsendem $x_{E12/12}$ ansteigt. Beim äquimolaren Verhältnis beträgt ΔH_m des Gemisches 73 % von ΔH_m reiner DPPC-Membranen. E12/12 muss also einen Enthalpiebeitrag an der Hauptumwandlung haben. ΔH_{tot} ist für das entmischte System um den Beitrag $\Sigma\Delta H_{add}$ größer als bei DPPC-Membranen.

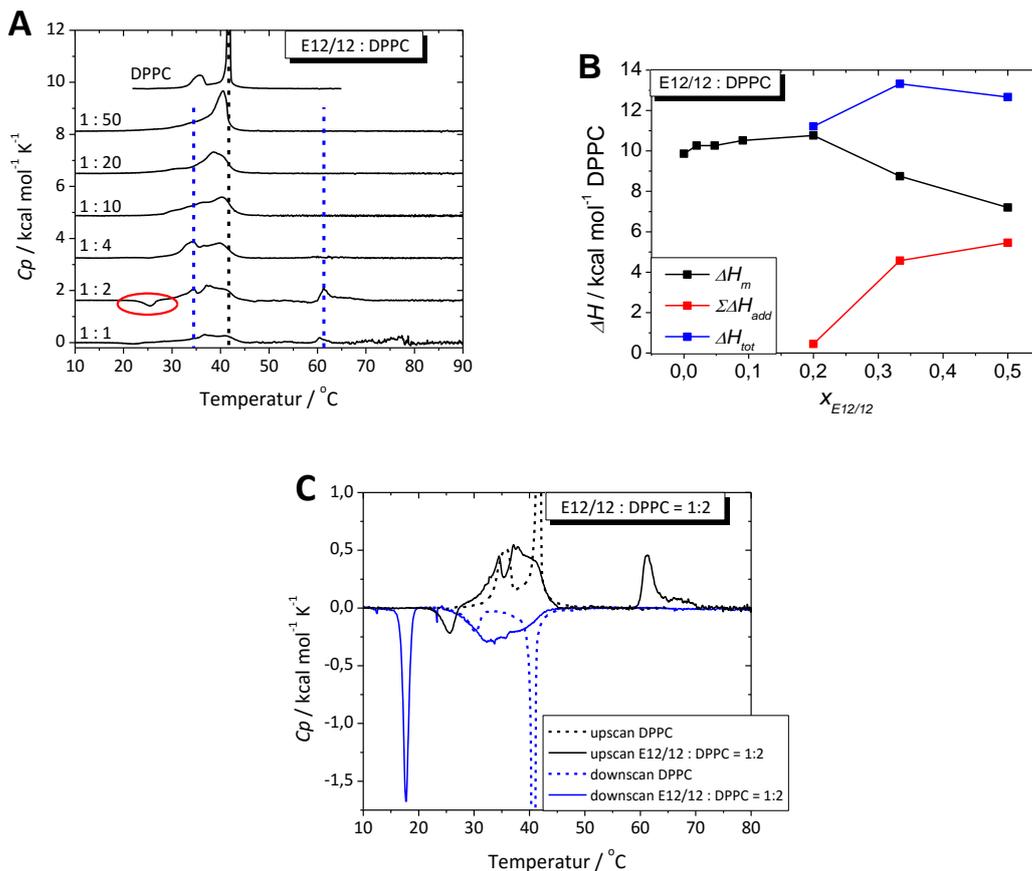


Abbildung 33. A: DSC-Thermogramme verschiedener Gemische von E12/12 mit DPPC in wässriger Suspension; das Molverhältnis ist angegeben; B: Umwandlungsenthalpien als Funktion von $x_{E12/12}$, Enthalpie der Hauptumwandlung (ΔH_m , schwarz), Summe der Enthalpien aller Zusatzumwandlungen ($\Sigma\Delta H_{add}$, rot) und Summe der Enthalpien aller Umwandlungen (ΔH_{tot} , blau); C: Aufheiz- und Abkühlkurven des Gemisches E12/12 : DPPC = 1:2 und einer reinen DPPC-Membran; jeweils $c_{DPPC} = 2 \text{ mM}$.

Für $x_{E12/12} \geq 0.33$ (E12/12 : DPPC = 1:2) tritt ein zusätzlicher exothermer Umwandlungspeak bei $T = 25.5 \text{ °C}$ ($\Delta H = -0.73 \text{ kcal mol}^{-1}$, Abbildung 33C) auf. Die Abkühlkurven zeigen den

Hauptumwandelungspeak bei 33.7 °C und eine zusätzliche sehr scharfe Umwandlung bei 17.7 °C ($\Delta H = -2.82 \text{ kcal mol}^{-1}$). Exotherme Peaks beim Aufheizen deuten auf die Ausbildung einer metastabilen Struktur beim Abkühlen hin, die sich erst beim Aufheizen zur thermodynamisch stabilen Phase umwandelt. Die starke Hysterese kann dabei auf einen kinetischen Effekt oder eine echte Metastabilität zurückzuführen sein. Die Gesamtenthalpie aller endothermen Prozesse beim Aufheizen beträgt $8.882 \text{ kcal mol}^{-1}$ und die Gesamtenthalpie aller exothermen Prozesse beim Abkühlen $8.884 \text{ kcal mol}^{-1}$. Der Umwandlungsprozess ist also reversibel.

Zusammenfassung Cm/n-PC-Gemische (LSFM)

Die Gemische der Mesogene C12/12 bzw. C18/18, die lange Alkylketten tragen, mit DPPC oder DMPC sowie die Gemische des rückgratmodifizierten E12/12 mit DPPC bzw. von C6/6 (kürzeste Alkylketten) mit DMPC zeigen in den DSC-Thermogrammen zusätzlich zur Hauptumwandlung bei T_m einen oder mehrere Peaks bei höherer Temperatur, was auf eine Entmischung hinweist. T_m ist bei Variation des Mesogenanteils im Gemisch konstant und liegt in der Nähe der Hauptumwandlung des reinen Lipids. Dieser Peak entspricht der Umwandlung einer stabilen lipidreichen Phase, die kaum Mesogen enthält. Es tritt zudem oft ein Tripel an Zusatzumwandlungen bei 20 K bis 30 K oberhalb T_m auf, was auf Umwandlungen mindestens einer mesogenreichen Phase zurückzuführen ist. Die Zusatzumwandlungen sind ebenfalls bei C12/12-POPC-Gemischen zu beobachten, obgleich $T_m(\text{POPC}) \approx -2 \text{ °C}$ mit der verwendeten Methode nicht detektierbar ist. Die Entmischung ist also unabhängig vom Sättigungsgrad der PC-Acylketten. Die Thermogramme der Gemische von C6/6 mit DPPC weisen keine Zusatzumwandlungen auf, aber die Hauptumwandlung verschiebt sich mit wachsendem $x_{\text{C6/6}}$. Wie auch die LSFM-Aufnahmen vermuten lassen, könnten die C6/6-DPPC-Proben gemischt sein. Die DSC-Kurven für E12/12 mit DPPC zeigen erst ab $x_{\text{E12/12}} \geq 0.2$ einen Zusatzpeak, was auf eine Entmischung hindeutet. Für geringere E12/12-Gehalte scheint das System gemischt zu sein.

Für nahezu alle Gemische sinkt ΔH_m deutlich schneller mit steigendem Mesogengehalt, als durch das eingesetzte Molverhältnis zu erwarten. Somit ist ein erheblicher Anteil PC in den mesogenreichen Domänen der entmischten Systeme lokalisiert. Zudem kann ein Zusammenhang zwischen Mesogen-Alkylkettenlänge und der Lipid-Acylkettenlänge in Bezug auf das Mischungsverhalten festgestellt werden. Das längerkettige C18/18 zeigt eine höhere Affinität zum längerkettigen DPPC, während das kürzerkettige C12/12 eher zu DMPC mit kürzeren Acylketten die größere Affinität hat.

3.2.4 ATR-FTIR-Untersuchungen

Um die Konformation oder Orientierung von Molekülteilen, die charakteristische Schwingungen im Infrarotbereich zeigen, zu untersuchen, wurden an den Gemischen Cm/n : PC infrarotspektroskopische Messungen durchgeführt. Für Transmissionsmessungen sind wegen der hohen Eigenabsorption von Wasser hohe Probenkonzentrationen und geringe Schichtdicken erforderlich, was mit den zu untersuchenden Systemen nur schwer realisierbar ist. Zudem weisen hochkonzentrierte Mesogen-Lipid-Proben starke Mie-Streuung auf. Aus diesem Grund wurde die abgeschwächte Totalreflexion (ATR) als Messmethode eingesetzt. Prinzipiell kamen zwei verschiedene ATR-Systeme zum Einsatz:

- eine BioATR-II-Einheit von Bruker mit einem ZnSe-geträgerten runden Si-Kristall ($\varnothing \approx 1.5 \text{ mm}$), mit der wässrige Suspensionen untersucht wurden. Durch Vesikelspreitung^{96,97} bilden sich multilamellare Membransysteme auf dem Kristall.

- eine ATR-Einheit, bestehend aus einem trapezoiden Ge-Kristall (Probenfläche $5.88 \text{ cm} \times 1.00 \text{ cm}$), mit dem orientierte Proben untersucht wurden. Die Proben werden aus CHCl_3 -Lösung aufgebracht, das CHCl_3 wird verdampft und die Proben via Gasphase mit H_2O oder D_2O hydratisiert. Zur Bestimmung von Orientierungen erfolgten die Messungen mit polarisiertem Licht.

3.2.4.1 FT-IR-Messung an Proben hergestellt durch Vesikelspreitung

Um die thermotrope Umwandlung der Lipidacylketten beim Übergang von L_{β^-} in L_{α} -Phase zu verfolgen, wurden C12/12 : DPPC- d_{62} -Proben verschiedener Zusammensetzung am BioATR-III temperaturabhängig vermessen. Um die Banden der Mesogen-Alkylketten von denen der PC-Acylokette unterscheiden zu können, wurde DPPC- d_{62} mit perdeuterierten Acylketten verwendet. Die Banden der CH_2 - bzw. CD_2 -Valenzschwingungen sind damit spektral gut voneinander getrennt detektierbar. Bei Auswertungen werden stets die symmetrischen Valenzschwingungen $\nu_s(\text{CH}_2)$ bzw. $\nu_s(\text{CD}_2)$ angegeben.

DPPC- d_{62}

Die Wellenzahl der asymmetrischen und symmetrischen CD_2 -Valenzschwingung $\nu_{as/s}(\text{CD}_2)$ der Acylketten verschieben sich mit der Temperatur zu höheren Werten. Bei T_m kommt es zur sprunghaften Änderung von $\nu_s(\text{CD}_2) = 2088.3 \text{ cm}^{-1}$ bei 25°C zu $\nu_s(\text{CD}_2) = 2093.5 \text{ cm}^{-1}$ bei 50°C (Abbildung 34). Das entspricht dem Übergang von L_{β^-} -Phase (25°C) mit *all-trans*-Acylketten in die L_{α} -Phase (50°C), in der die Acylketten *gauche*-Konformere aufweisen und ungeordnet sind.^{98–100} Der sigmoidale Verlauf der Kurve $\nu_s(\text{CD}_2) = f(T)$ weist auf die Phasenumwandlung hin, wobei die absoluten Wellenzahlagen ein Indikator für die Kettenkonformation und damit die Membranfluidität/-rigidität sind. Der Schwerpunkt der Sigmoiden in Abbildung 34B liegt bei 37.7°C und damit 0.4 K höher als die durch DSC bestimmte T_m (Abbildung 3). Eine Wellenzahländerung der CD_2 -Banden im Temperaturbereich der Vorumwandlung (L_{β^-} zu $P_{\beta'}$) ist nicht zu beobachten, da die Lipid-Acylokette in der $P_{\beta'}$ -Phase ebenso geordnet sind wie in der L_{β^-} -Phase.

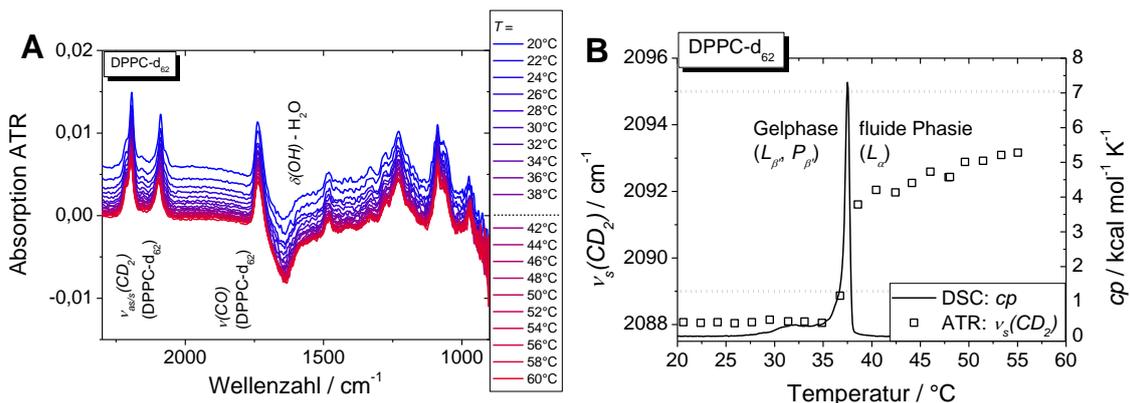


Abbildung 34. A: ATR-FTIR-Spektren einer wässrigen (H_2O) Suspension von DPPC- d_{62} bei verschiedenen Temperaturen; B: Lage der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Schwingungsbande (Symbole) als Funktion der Temperatur und DSC-Thermogramm (durchgezogene Linie); waagerechte, gepunktete Linien markieren die Literaturwerte der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Bande für DPPC- d_{62} in der L_{β^-} bzw. L_{α} -Phase;^{98–100} $c_{\text{Lipid}} = 2.0 \text{ mM}$.

C12/12 : DPPC- $d_{62} = 1:10, 1:4$ bzw. $1:1$

In Analogie zur DPPC- d_{62} -Membran, variieren die Positionen beider Streckschwingungsbanden ($\nu_s(\text{CH}_2)$ des C12/12 und $\nu_s(\text{CD}_2)$ des DPPC- d_{62}) des Gemischs C12/12 : DPPC- $d_{62} = 1:10$ mit der Temperatur. Für $T < 35^\circ\text{C}$ bleibt die Wellenzahl der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Bande konstant bei 2089.4 cm^{-1}

(Abbildung 35B, Symbole). Bei höheren Temperaturen steigt die Position der Bande an und erreicht bei 58 °C wieder einen nahezu konstanten Wert von 2095.7 cm⁻¹. Der Anstieg zeigt zwei Stufen bei 40 °C und 55 °C. Der erste Prozess ist korreliert mit der Hauptumwandlung der lipidreichen Phase bei T_m (DSC), und der zweite Prozess ist evtl. mit dem ersten Zusatzpeak im Thermogramm bei 53.7 °C korreliert. Die Position der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Bande steigt zwischen 20 °C (2851.7 cm⁻¹) und 50 °C (2858.3 cm⁻¹) und bleibt dann konstant (siehe Anhang, S. 3, Abbildung 110). Die $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Wellenzahlagen sind im gesamten Temperaturbereich typisch für fluide Alkylketten.

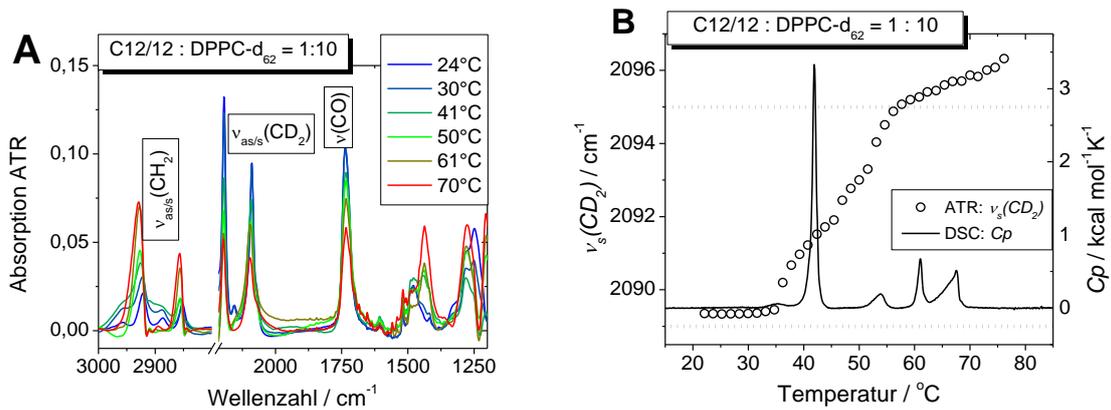


Abbildung 35. A: ATR-FTIR-Spektren einer wässrigen (D₂O) Suspension des Gemisches C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:10 bei verschiedenen Temperaturen; B: Wellenzahlagen der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Schwingungsbande als Funktion der Temperatur (Symbole) und DSC-Thermogramm des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:10 (H₂O, durchgezogene Linie); waagerechte, gepunktete Linien markieren die Literaturwerte der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Bande für DPPC-d₆₂ in der L_{β^-} bzw. L_{α} -Phase; ⁹⁸⁻¹⁰⁰ $c_{\text{Lipid}} = 2.0 \text{ mM}$.

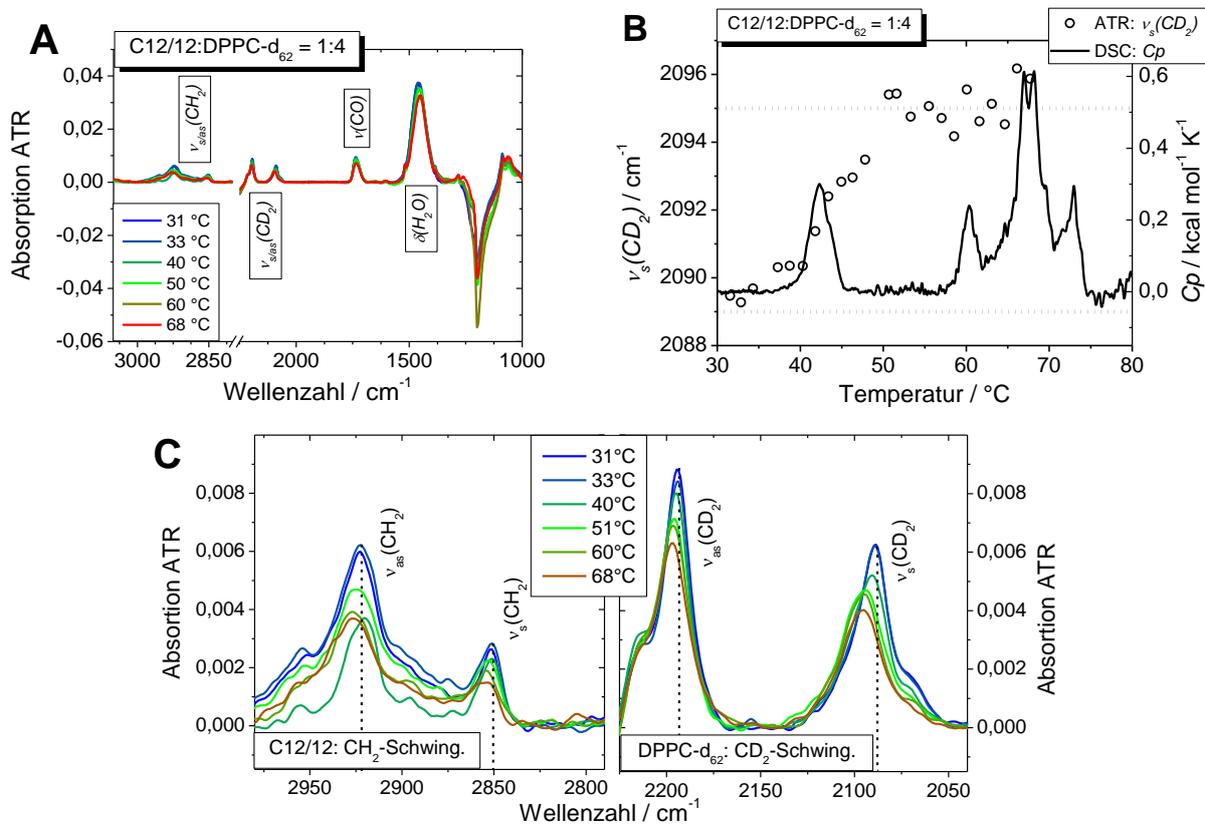


Abbildung 36. A: ATR-FTIR-Spektren einer wässrigen (D₂O) Suspension des Gemisches C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:4 bei verschiedenen Temperaturen mit Zuordnung der wichtigsten Schwingungsmoden; C: Ausschnitt des CH₂- und CD₂-Schwingungsbereiches; B: Wellenzahlagen der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Schwingungsbande (Symbole) als Funktion der Temperatur und DSC-Thermogramm des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:4 (H₂O, durchgezogene Linie); waagerechte, gepunktete Linien markieren die Literaturwerte der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Bande für DPPC-d₆₂ in der L_{β^-} bzw. L_{α} -Phase; ⁹⁸⁻¹⁰⁰ $c_{\text{Lipid}} = 2 \text{ mM}$.

Auch beim Gemisch C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:4 ändern sich die Bandenlagen der $\nu_{as/s}(CD_2)$ des Lipides systematisch mit der Temperatur (Abbildung 36). Für $T < 34$ °C ist $\nu_s(CD_2)$ annähernd konstant bei 2089.7 cm^{-1} und steigt mit der Temperatur kontinuierlich an, bis die Bandenlage bei $T \geq 56$ °C wieder ungefähr konstant bei $\nu_s(CD_2) \approx 2095.1\text{ cm}^{-1}$ ist (Abbildung 36B). Diese Bandenlage weist auf fluide Acylketten hin. Die Frequenz der $\nu_s(CH_2) = 2851.5\text{ cm}^{-1}$ der lateralen Alkylketten des C12/12 entspricht ebenfalls einem fluiden Zustand der Alkylketten.¹⁰¹

Für das Gemisch C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:1 tritt eine temperaturinduzierte Verschiebung der $\nu_s(CD_2)$ -Bande bei höheren Temperaturen auf (Abbildung 37). Für $T < 41$ °C ist die $\nu_s(CD_2)$ -Bande konstant bei 2089.7 cm^{-1} , steigt bis 65 °C auf 2095.1 cm^{-1} und bleibt für höhere Temperaturen wieder ungefähr konstant. Das Umwandlungsintervall beginnt bei $T > T_m$ und ist nicht mit der Hauptumwandlung der lipidreichen Phase, sondern mit der ersten Zusatzumwandlung bei 60.6 °C korreliert. Die $\nu_s(CH_2)$ -Schwingungsbande ändert ihre Position zwischen ca. 35 °C (2850.1 cm^{-1}) und 55 °C (2854.4 cm^{-1}) ebenfalls, wobei die Werte im gesamten Temperaturbereich auf das Vorliegen fluider Alkylketten hindeuten (siehe Anhang, S. 3, Abbildung 111).

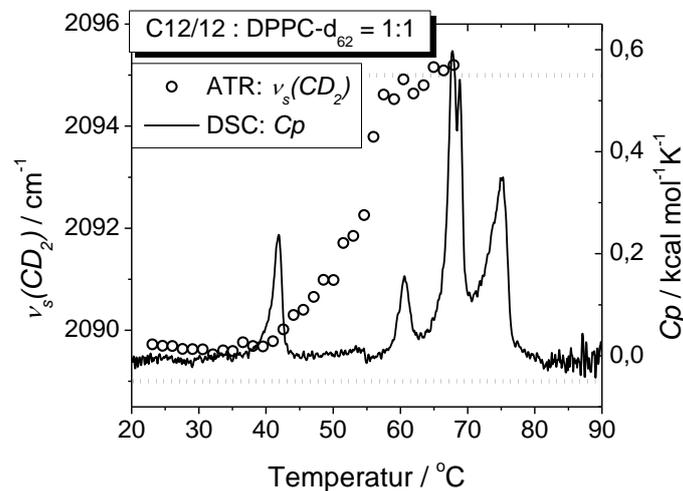


Abbildung 37. Wellenzahl der $\nu_s(CD_2)$ -Schwingungsbande (Symbole) einer wässrigen (D_2O) Suspension des Gemisches C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:1 als Funktion der Temperatur und DSC Thermogramm des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:1 (H_2O , durchgezogene Linie); waagerechte, gepunktete Linien markieren die Literaturwerte der $\nu_s(CD_2)$ -Bande für DPPC-d₆₂ in der L_{β^-} - bzw. L_{α} -Phase; ⁹⁸⁻¹⁰⁰ $c_{Lipid} = 2\text{ mM}$.

C18/18 : DPPC-d₆₂ = 1:10, 1:4 bzw. 1:1

Drei Gemische C18/18 : DPPC-d₆₂ = 1:x (x = 1; 4; 10) in D_2O wurden via BioATR II untersucht. Das temperaturabhängige, schwingungsspektroskopische Verhalten der Gemische ist ähnlich wie das analoger Gemische mit C12/12 (Abbildung 38) und die absoluten Wellenzahlagen bzw. deren Änderung während der thermotropen Übergänge sind vergleichbar. Für das 1:10-Gemisch ist die $\nu_s(CD_2)$ -Schwingungsbande bei $T < 38$ °C konstant (2089.2 cm^{-1}), steigt bis ca. 63 °C an (2095.4 cm^{-1}) und ist für höhere Temperaturen wieder konstant (Abbildung 38A). Beim 1:4-Gemisch findet die Verschiebung der symmetrischen CD_2 -Valenzschwingungsbande in einem engeren Temperaturintervall, zwischen 44 °C ($\nu_s(CD_2) = 2089.3\text{ cm}^{-1}$) und 60 °C ($\nu_s(CD_2) = 2095.1\text{ cm}^{-1}$), korreliert mit der einzigen Umwandlung im DSC, statt. Diese *Zusatzumwandlung* ist also auf die Lipidhauptumwandlung zurückzuführen. Die Phasenumwandlung der Membran des 1:1-Gemisches geschieht zwischen 41 °C ($\nu_s(CD_2) = 2089.2\text{ cm}^{-1}$) und 61 °C ($\nu_s(CD_2) = 2094.8\text{ cm}^{-1}$). Der Anstieg zeigt zwei Stufen bei 44 °C und 54 °C.

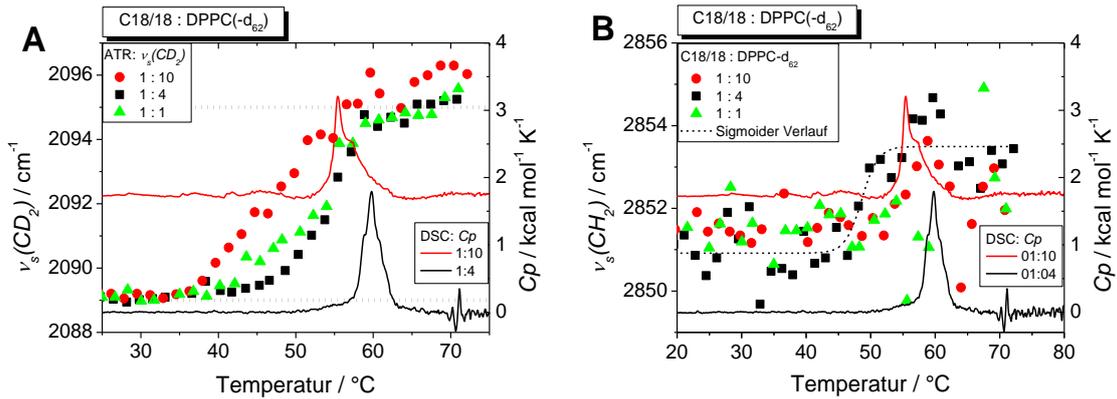


Abbildung 38. Wellenzahl der $\nu_s(CD_2)$ -Schwingungsbande (A, Symbole) bzw. $\nu_s(CH_2)$ -Schwingungsbande (B, Symbole) einer wässrigen (D_2O) Suspension der Gemische C18/18 : DPPC-d₆₂ = 1:x, mit x = 1 (grün), x = 4 (schwarz), x = 10 (rot) als Funktion der Temperatur; jeweils DSC-Thermogramme (durchgezogene Linien) der Gemische C18/18 : DPPC = 1:x mit x = 4 (schwarz), x = 10 (rot) in H_2O ; die gestrichelte Linie in B zeigt den Verlauf der $\nu_s(CH_2)$ -Bandenlagen zur besseren Orientierung; waagerechte, gepunktete Linien in A markieren die Literaturwerte der $\nu_s(CD_2)$ -Bande für DPPC-d₆₂ in der L_{β} - bzw. L_{α} -Phase; ⁹⁸⁻¹⁰⁰ $c_{Lipid} = 2.0\ mM$.

Der absolute Wert der $\nu_s(CH_2)$ -Bandenlage der C18/18-Alkylkettenschwingung bei 30 °C von $\nu_s(CH_2) \approx 2851\ cm^{-1}$ ist vergleichbar mit dem der Daten der C12/12-Gemische bei gleicher Temperatur. Die $\nu_s(CH_2)$ -Position ändert sich über den gesamten untersuchten Temperaturbereich wenig $\Delta\nu(CH_2) \approx 0.5\ cm^{-1} - 3\ cm^{-1}$ (Abbildung 38B). DSPC, das PC mit C₁₈-Acylketten, zeigt ebenfalls eine kleine Änderung der $\nu_s(CH_2)$ -Bandenlage bei $T_m(DSPC) = 53\ ^\circ C$.¹⁰² von $\nu_s(CH_2) = 2850.5\ cm^{-1}$ auf $\nu_s(CH_2) = 2853.5\ cm^{-1}$.¹⁰¹ Da für alle C18/18-PC-Gemische die $\nu_s(CH_2)$ -Bandenlage mindestens $2851\ cm^{-1}$ ist, enthalten die C18/18-Alkylketten auch bei $T < T_m$ bereits *gauche*-Konformere.

Zusammenfassung Cm/n-PC-Gemische (ATR-Vesikelspreitung)

Bei allen untersuchten Gemischen C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:x (x = 4; 10) und C18/18 : DPPC-d₆₂ = 1:10 tritt analog zur DPPC-d₆₂-Membran im Bereich der thermotropen Hauptumwandlung bei T_m eine Änderung der $\nu_{as/s}(CD_2)$ -Bandenlagen mit sigmoidalem Verlauf auf (verschobenes T_m , da ATR-Messungen mit DPPC-d₆₂ und DSC-Untersuchungen mit DPPC durchgeführt). Für das Gemisch C18/18 : DPPC-d₆₂ = 1:4 tritt diese Änderung oberhalb von T_m ein, da bei T_m keine thermotrope Umwandlung existiert (DSC, siehe S. 42). Die absoluten Bandenlagen der Gemische und deren Verschiebung sind, unabhängig vom Anteil an Mesogen, gleich denen von reinen DPPC-d₆₂-Membranen (L_{β} : $\approx 2089\ cm^{-1}$, L_{α} : $\approx 2095\ cm^{-1}$). Das DPPC-d₆₂ in der lipidreichen Phase der entmischten Systeme ist wie in einer reinen Lipidprobe organisiert und zeigt gleiche temperaturabhängige Alkylketten-Beweglichkeiten. Die lipidreiche Phase enthält offensichtlich nur wenig Mesogen, oder das Mesogen hat keinen Einfluss auf die Anordnung und die Konformation der Lipid-Acylketten. Möglicherweise liegt der Umwandlung ein mehrstufiger Prozess zugrunde.

Die $\nu_{as,s}(CH_2)$ -Schwingungsbande der Mesogenalkylketten liegen bei Raumtemperatur für alle Gemische beider Mesogene bei ca. $2851\ cm^{-1}$, was auf fluide Alkylketten hindeutet. Die $\nu_s(CH_2)$ -Bande verschiebt sich mit der Temperatur zu höheren Wellenzahlen und damit nehmen der Anteil an *gauche*-Konformeren und die Kettenbeweglichkeit weiter zu.

3.2.4.2 DFT-Simulationen des Schwingungsspektrums der X-förmigen Amphiphile

Mittels DFT-Simulation (B3LYP, 6-311G, GAUSSIAN)^{81,103} wurde durch Energieminimierung die Geometrie des Modellmoleküls C4/4 im Grundzustand berechnet. C4/4 (Abbildung 39B) weist die gleiche Rückgrat- und Kopfgruppenstruktur wie die Cm/n-Mesogene auf, jedoch sind die lateralen Alkylketten kürzer (C₄) als bei den experimentell untersuchten Cm/n-Verbindungen. C4/4 wurde als Modellmolekül gewählt, um die Rechenzeit zu reduzieren. Mittels des geometrieoptimierten Modells wurden ein simuliertes Infrarotspektrum und die Lage der Übergangsdipolmomente (*TDM*) jeder Schwingungsbande berechnet. Ziel der Simulationen war es vor allem, die Ringschwingungen des Molekürückgrates zu identifizieren.

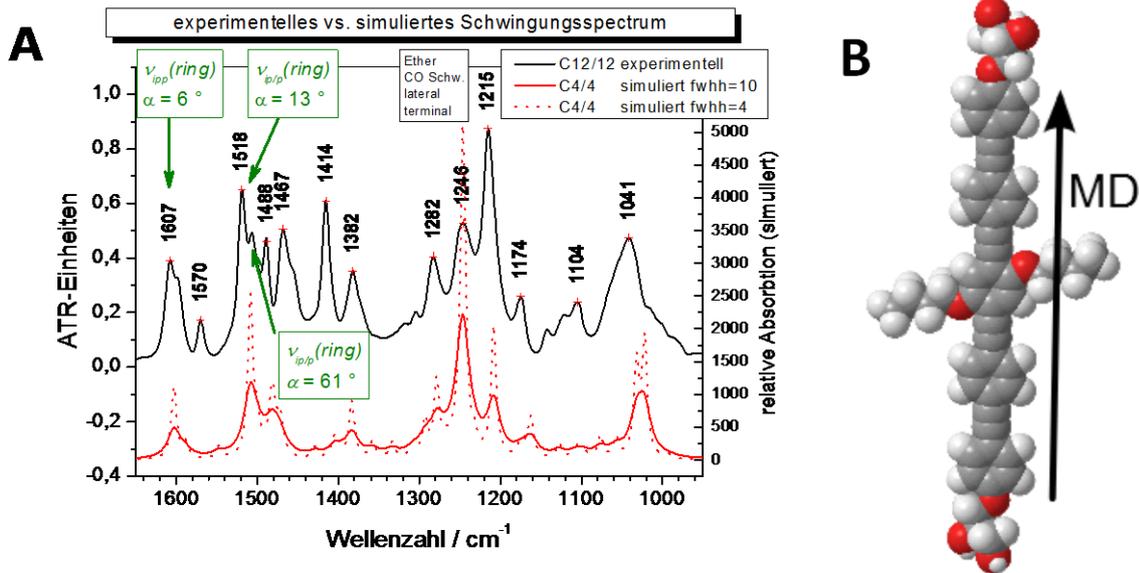


Abbildung 39. A: Vergleich des experimentellen ATR-FTIR-Spektrums von C12/12 (schwarze Linie, 20°C) mit dem simulierten Infrarotspektrum von C4/4 (rote Linien) zwischen 900 cm⁻¹ und 1700 cm⁻¹; das simulierte Spektrum ist mit zwei verschiedenen Halbwertbreiten (fwhh, full width half height) dargestellt (durchgezogene und gepunktete rote Linie); B: Kalottenmodell des geometrieoptimierten Modellmoleküls C4/4 mit Moleküldirektor (*MD*, Pfeil); α ist der Winkel, den die Vektoren *TDM* und *MD* einschließen.

Alle Phenylringe im Grundzustand von C4/4 sind nach der Geometrieoptimierung coplanar (Abbildung 39B). Auch für die Simulation der Rotationsbarrieren der Phenylringe des asym. Fragmentes (Abbildung 14) konnte die coplanare Anordnung der Phenylringe als energetisch günstigste Anordnung bestätigt werden. Diese Geometrie ist durch (schwache) Konjugation stabilisiert. Dennoch wird ein reales Molekül bei Raumtemperatur auf Grund der niedrigen Rotationsbarriere (siehe oben, Abbildung 14) der Phenylringe in einer beliebigen Stellung der individuellen Phenylringebenen zueinander vorliegen. Die Alkylketten befinden sich bei diesem optimierten Modellmolekül ebenfalls in der Phenylringebene in *all-trans*-Konformation. Im realen Molekül bei Raumtemperatur weisen diese kurzen Alkylketten wahrscheinlich *gauche*-Konformere auf und sind ungeordnet.

Zur Zuordnung der entsprechenden Schwingungsmoden zu den Banden im exp. Schwingungsspektrum, wurde das simulierte IR-Spektrum von C4/4 mit einem experimentellen Infrarotspektrum von C12/12 verglichen. Dabei war der Ring-Schwingungsbereich zwischen 900 cm⁻¹ und 1700 cm⁻¹ im besonderen Fokus. Für jede Bande wurde der Winkel α zwischen dem *TDM*-Vektor und dem Moleküldirektor (*MD*, Moleküllängsachse) bestimmt. So konnten zwei Banden die ausschließlich Schwingungen des elongierten Molekürückgrates zuzuordnen sind und deren *TDM*s in der Phenylring-Ebene nahezu parallel zum *MD* verlaufen (*ipp* \equiv in plane parallel) identifiziert werden:

$\nu_{ipp1}(ring) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ ($\alpha = 13^\circ$) und $\nu_{ipp2}(ring) = 1609 \text{ cm}^{-1}$ ($\alpha = 6^\circ$). Die Schultern bei $\nu(ring) = 1507 \text{ cm}^{-1}$ ($\alpha = 61^\circ$) und $\nu(ring) = 1598 \text{ cm}^{-1}$ ($\alpha = 86^\circ$) sind ebenfalls Schwingungen ausschließlich der Phenylringe und Alkinylen-Einheiten des Rückgrates, zeigen aber nur ein kleines Übergangsdipolmoment (Tabelle 4).

Tabelle 4. Ausgewählte Schwingungen des Moleküls C12/12, zugeordnet mit Hilfe des theoretischen IR-Spektrums (ermittelt durch DFT-Geometrieoptimierung); die Symbolik der Schwingungen und Lage der TDMs relative zum MD (eingeschlossener Winkel α) sind angegeben.

Position, Orientierung	Symbol	ν/cm^{-1}	$\alpha/^\circ$
CO lateral, senkrecht	$\nu_{lat}(CO)$	1215	89
CO terminal, parallel	$\nu_{ter}(CO)$	1246	4
Phenylringe, parallel	$\nu_{ipp}(ring)$	1282	10
Phenylringe	$\nu(ring)$	1507	61
Phenylringe, in-plane parallel	$\nu_{ipp}(ring)$	1518	13
Phenylringe, in-plane senkrecht	$\nu_{ips}(ring)$	1598	86
Phenylringe, in-plane parallel	$\nu_{ipp}(ring)$	1609	6

3.2.4.3 FT-IR-Messung an orientierten Proben (ATR I)

IR-Messungen an orientierten Multischichten können bei Kenntnis der Lagen der TDM bestimmter Schwingungen dazu dienen, die Orientierung von Molekülen im Schichtsystem zu bestimmen. Es wird zu diesem Zweck mit *p*- oder *s*-polarisiertem Licht gearbeitet, um die Anisotropie der IR-Absorption sichtbar zu machen. Die orientierten Proben werden als dicke Filme auf einem Ge-Kristall präpariert, der im Spektralbereich $> 1000 \text{ cm}^{-1}$ eine hohe Transmittivität für IR-Licht zeigt. Durch die höhere Probenkonzentration in unmittelbarer Nähe des Kristalls, werden intensivere Banden als bei den bisher besprochenen IR-Messungen erreicht und auch die Ringschwingungsbanden sind detektierbar.

C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:4

Für C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:4 sind die Intensitäten der beiden Ringschwingungsbanden $\nu_{ipp}(ring) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu_{ipp}(ring) = 1609 \text{ cm}^{-1}$ mit *p*- bzw. *s*-polarisiertem Licht deutlich unterschiedlich (Abbildung 40). Beide Ringschwingungen zeigen eine hohe Intensität im Spektrum mit *p*-polarisiertem Licht und eine niedrige Intensität im Spektrum mit *s*-polarisiertem Licht.

Aus dem Intensitätsverhältnis R^{ATR} (Gl. 11) einer Bande, gemessen mit *p*- bzw. *s*-polarisiertem IR-Licht, ist der Ordnungsparameter S_θ (Gl. 16) und die Orientierung der TDMs (Gl. 17) relativ zur Membrannormale zugänglich. Bei bekanntem α (Winkel zwischen TDM und MD, aus DFT-Rechnungen) kann der Tiltwinkel θ der C12/12-Rückgrate relativ zur Kristallnormalen bestimmt werden.¹⁰⁴ Das Modell setzt homogen in der Lipidmembran verteilte Moleküle mit einer Vorzugsorientierung voraus. Aus den LSFM-Aufnahmen des vorliegenden Gemisches ist bekannt, dass C12/12 und DPPC makroskopisch phasensepariert und die Mesogenmoleküle somit nicht homogen in der Membran verteilt sind. Die Berechnung ergibt somit einen Mittelwert über verschiedene Orientierungen. Dem großen *p/s*-Verhältnis der Ringschwingung bei $\nu_{ipp}(ring) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ mit $R^{ATR}(1518) = 8$ (Tabelle 5) kann formal ein Wert $S_\theta = 0.69$ zugeordnet werden. S_θ ist für kleine $\alpha_{1508} = 13^\circ$ bis zu sehr hohen R^{ATR} definiert (siehe Abbildung 103 in Kapitel „Materialien und Methoden“). Das Verhältnis R^{ATR} wurde für die $\nu_{ipp}(ring) = 1609 \text{ cm}^{-1}$ nicht berechnet, da das Spektrum mit *s*-Polarisation eine derart geringe Bandenintensität aufweist, dass die Bestimmung des Integrals keine zuverlässigen Werte liefert. Da DPPC-d₆₂ bei 13 °C sicher in der L_β -Phase vorliegt, kann außerdem aus dem R^{ATR} der $\nu_s(CD_2)$ -Valenzschwingungen die Orientierung der Lipidacylketten berechnet werden. Mit $R^{ATR}(\nu_s(CD_2)) = 1.02$ ergibt sich $S_\theta = 0.80$ und ein Tiltwinkel

$\theta = 21^\circ$. In der Literatur wird der Acylkettentiltwinkel in der Gelphase in Abhängigkeit vom Hydratationsgrad zwischen 24° und 30° angegeben.¹⁰⁵ Der gefundene θ -Wert deutet also auf eine nicht vollständige Hydratation oder eine Änderung des Acylkettentiltwinkels auf Grund des Einbaus von C12/12 hin.

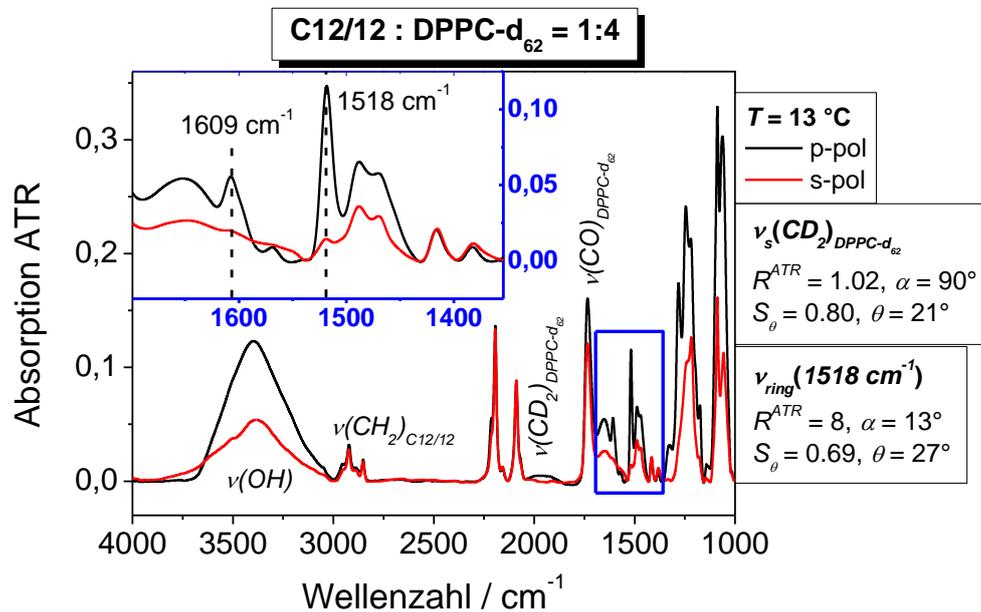


Abbildung 40. ATR-FTIR-Spektren einer orientierten Probe von C12/12 : DPPC- d_{62} = 1:4 (H_2O) mit *p*- (schwarz) und *s*-polarisiertem IR-Licht (rot) zwischen 4000 cm^{-1} und 1000 cm^{-1} bei $13\text{ }^\circ\text{C}$; im einbeschriebenen Kasten ist die Region der C12/12-Ringschwingungen vergrößert und die Bandenlagen zweier Ringschwingungen sind markiert; $c_g = 4.4\text{ mM}$.

$R^{ATR}(v(1518\text{cm}^{-1}))$ und damit $S_\theta(v(1518\text{cm}^{-1}))$ ändern sich mit steigender Temperatur unsystematisch (Abbildung 41). Das dichroitische Verhältnis $R^{ATR}(v(1518\text{cm}^{-1}))$ liegt im gesamten Temperaturbereich zwischen 6 und 9, was einer hohen Ordnung der C12/12-Moleküle mit Vorzugsorientierung entspricht. Mit der Temperatur steigt das $R^{ATR}(v(CD_2))$, während $S_\theta(v(CD_2))$ leicht sinkt. Bei T_m beginnt der Ordnungsparameter abzufallen, da die Lipid-Acylketten in der L_α -Phase fluide sind (Tabelle 5).

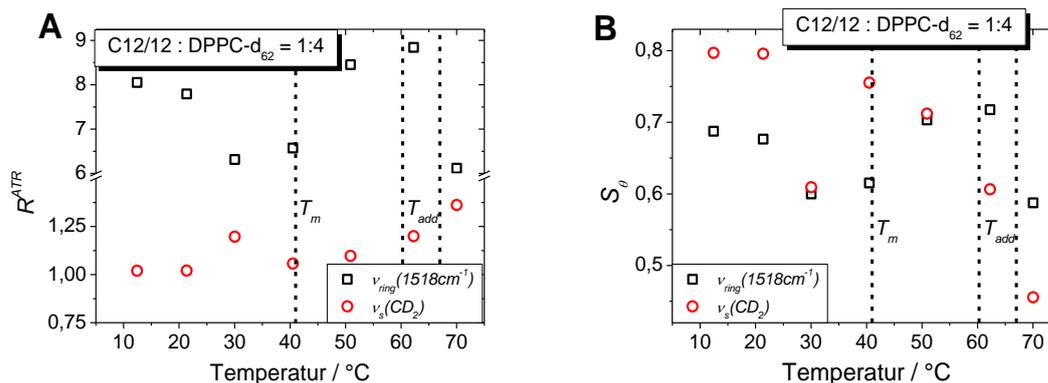


Abbildung 41. Daten aus ATR-FTIR-Messungen an einer orientierten Probe des Gemisches C12/12 : DPPC- d_{62} = 1:4; Dichroitisches Verhältnis R^{ATR} (A) und Ordnungsparameter S_θ (B) jeweils als Funktion der Temperatur; beide Größen sind für die C12/12-Ringschwingungsbande $\nu_{pp}(ring) = 1518\text{ cm}^{-1}$ (schwarz) und die $\nu_s(CD_2)$ -Schwingungsbande des DPPC- d_{62} (rot) aufgetragen; die vertikalen Linien markieren Haupt- und Zusatzumwandlungen (DSC).

C12/12 : DOPC- d_{62} = 1:10

Von den LSFM-Aufnahmen ist bekannt, dass die Probe C12/12 : DOPC = 1:10 gemischte runde Vesikel mit homogen in der Membran verteilten Mesogenmolekülen bildet. Der Neigungswinkel θ der

C12/12-Molekülrückgrate relativ zur Membrannormale wurde aus den LSFM-Daten zu ca. 45° bestimmt.

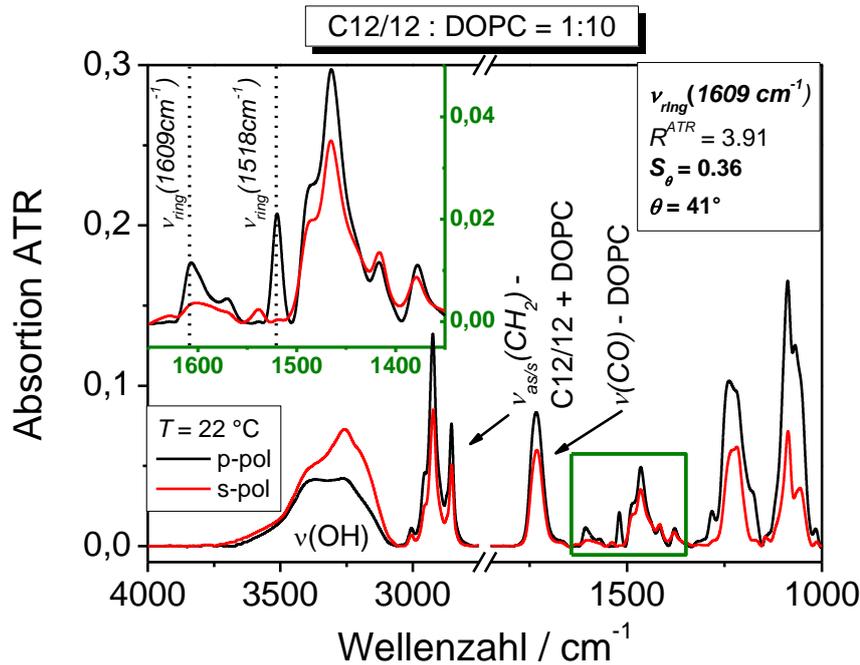


Abbildung 42. ATR-FTIR-Spektren einer orientierten Probe von C12/12 : DOPC = 1:10 (D_2O) mit *p*- (schwarz) und *s*-polarisiertem IR-Licht (rot) zwischen 4000 cm^{-1} und 1000 cm^{-1} bei 22°C ; im einbeschriebenen Kasten ist die Region der Ringschwingungen (grünes Viereck) vergrößert und die Bandenlagen zweier C12/12-Ringschwingungen sind markiert.

Das dichroitische Verhältnis der Ringschwingungsbande $\nu(\text{ring}) = 1609\text{ cm}^{-1}$ bei 22°C wurde zu $R^{\text{ATR}} = 3.91$ bestimmt und daraus wurden der Ordnungsparameter $S_\theta = 0.36$ sowie der mittlere Tiltwinkel der Molekülrückgrate $\theta = 41^\circ$ im Rahmen des Modells bestimmt (Tabelle 5). Der Winkel θ ist ein Mittelwert über eine Verteilung von θ -Werten. Aus dem Experiment kann aber nicht auf die Verteilungsfunktion geschlossen werden. Der Tiltwinkel θ ist in guter Übereinstimmung mit dem durch LSFM bestimmten Tiltwinkel $\alpha_{\text{max}} \approx 45^\circ$ (Modell in Abbildung 28). Die starke Polarisationsanisotropie der Ringschwingungsbanden muss als Effekt gut geordneter Molekülteile mit einer deutlichen Vorzugsorientierung interpretiert werden. Für dieses Gemisch wurde die Bande bei 1518 cm^{-1} nicht zur Berechnung von R^{ATR} verwendet, da diese im Spektrum mit *s*-Polarisation eine so geringe Intensität aufweist, dass die Bestimmung des Integrals keine zuverlässigen Werte liefert. Für $\nu_{\text{ipp}}(\text{ring}) = 1518\text{ cm}^{-1}$ sind damit $R^{\text{ATR}} > 10$ und $S_\theta > 0.7$, was auf hochgeordnete C12/12-Moleküle hindeutet.

Tabelle 5. Daten (α , R^{ATR} , S_θ und θ) zur mittleren Orientierung der C12/12-Molekülrückgrate bzw. Lipid-Acylketten in den Gemischen C12/12 : DOPC = 1:10 in D_2O und C12/12 : DPPC- d_{62} = 1:4 in H_2O bei verschiedenen Temperaturen.

	C12/12 : DOPC = 1:10		C12/12 : DPPC- d_{62} = 1:4		
	$\nu_{\text{ipp}}(\text{ring}) = 1609\text{ cm}^{-1}$		$\nu_s(\text{CD}_2)$	$\nu_{\text{ipp}}(\text{ring}) = 1518\text{ cm}^{-1}$	
T/ $^\circ\text{C}$	22	13	70	13	70
$\alpha/^\circ$	6	90	90	13	13
R^{ATR}	3.91	1.02	1.36	8.0	6.0
S_θ	0.36	0.80	0.46	0.69	0.58
$\theta/^\circ$	41	21	37	27	32

Zusammenfassung Cm/n-PC-Gemische (ATR-orientierte Proben)

Die schwachen C12/12-Ringschwingungsbanden, $\nu_{ipp}(ring) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu_{ipp}(ring) = 1609 \text{ cm}^{-1}$, konnten durch die Verwendung dickerer Filme mit geringeren Wassergehalten, Ge als internes Reflexionselement (IRE) mit einer hohen IR-Transmitivität für $\nu > 1000 \text{ cm}^{-1}$, sowie mehr internen Reflexionen, ausgewertet werden. Die Verwendung von linearpolarisiertem IR-Licht ermöglicht die Bestimmung der Orientierung durch Ermittlung des Ordnungsparameter S_θ und des mittleren Tiltwinkels θ der C12/12-MDs relativ zur Kristallnormalen (Membrannormalen). Für die makroskopisch entmischte Probe C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:4 konnte gezeigt werden, dass die C12/12-Moleküle in den mesogenreichen Domänen stark orientiert sind. Die C12/12-Ringschwingungsbanden weisen im fluiden Gemisch C12/12 : DOPC = 1:10 ebenfalls eine große Polarisationsanisotropie auf, und der mittlere Tiltwinkel der C12/12-MDs von $\theta = 41^\circ$ relativ zur Membrannormale konnte bestimmt werden.

3.2.5 Fluoreszenzdepolarisation/-anisotropie

Fluoreszenzdepolarisationsmessungen sind geeignet, die Beweglichkeit von Fluorophoren wie z. B. DPH (Diphenylhexatrien, siehe auch Abbildung 43B) als Sonden innerhalb von Lipidmembranen zu untersuchen.^{106–110} Temperaturabhängige Messungen der Fluoreszenzanisotropie (r) können zudem Aufschluss über Phasenumwandlungen der Membran geben. Fluorophore besitzen in fluiden Membranen hohe Beweglichkeit und eine geringe Fluoreszenzanisotropie, während die Fluorophore in Lipidmembranen in der L_{β^-} -Phase hohe Anisotropiewerte zeigen. Für derartige Untersuchungen an den Gemischen Cm/n : DPPC ist kein externer Fluoreszenzmarker nötig, da die Cm/n-Moleküle selbst eine intensive Fluoreszenz aufweisen (Abbildung 13 und Abbildung 15) und so direkt als Fluoreszenzsonde verwendet werden können.

DPPC mit DPHPC

Zur Kontrolle wurde die Fluoreszenzanisotropie der wässrigen Suspension DPHPC : DPPC = 1:500 zwischen 4°C und 90°C (2 K Schritte) bestimmt ($\lambda^{ex}(DPH) = 340 \text{ nm}$). Für $T < T_m$ ist die Fluoreszenzanisotropie von DPHPC konstant bei $r = 0.30$. Durch kontinuierliches Aufheizen der Probe sinkt die Anisotropie bei T_m sprunghaft ab und erreicht bei ca. 45°C ein Plateau bei $r = 0.16$ (Umwandlung L_{β^-} in L_α -Phase) und bleibt für $T > 45^\circ\text{C}$ ungefähr konstant (Abbildung 43).

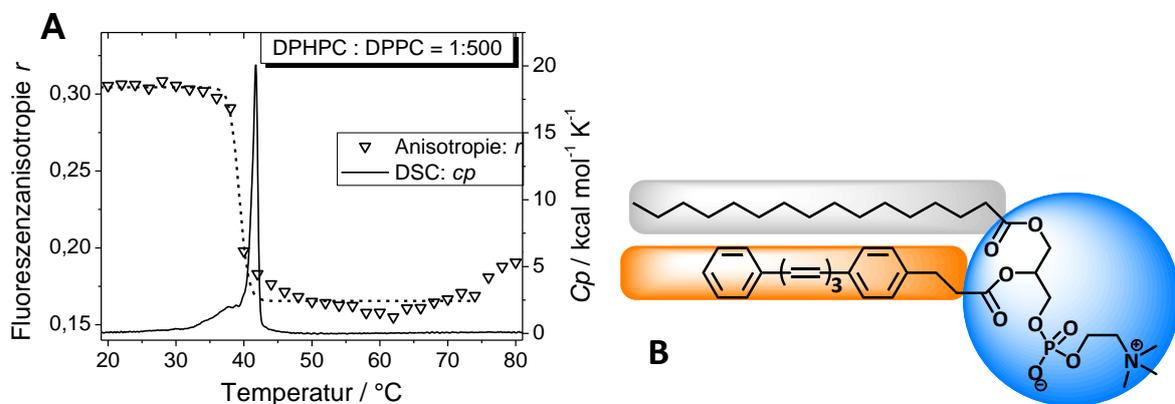


Abbildung 43. A: Fluoreszenzanisotropie (Dreiecke) einer wässrigen Suspension aus DPHPC : DPPC = 1:500 als Funktion der Temperatur ($\lambda^{ex} = 340 \text{ nm}$, $\lambda^{em} = 424 \text{ nm}$, $c_g = 1 \text{ mM}$) und DSC-Thermogramm (durchgezogene Linie) einer wässrigen DPPC-Suspension ($c_g = 2 \text{ mM}$); die gestrichelte Linie markiert den Verlauf der Fluoreszenzanisotropie; B: Struktur von DPHPC (Fluorophor DPH in Seitenkette orange unterlegt).

C12/12 mit DPPC bzw. DOPC

Im Gegensatz zum Fluoreszenzspektrum des reinen C12/12 in CHCl_3 mit Emissionsmaxima bei 428 nm und 449 nm (siehe oben, S. 23, Abbildung 13), sind die Emissionsmaxima von C12/12 im Gemisch C12/12 : DPPC = 1:10 bei 20 °C deutlich zu größeren Wellenlängen verschoben mit dem globalen Maximum bei 466 nm und je einer Schulter bei kleinerer (486 nm) und größerer Wellenlänge (446 nm, Abbildung 44A). Die große Verschiebung ist ein Effekt starker π - π -Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Ringen der C12/12-Moleküle (Aggregatbildung) bei Einlagerung in DPPC-Membranen.^{73,111–114} Beim Erwärmen ändert sich das Fluoreszenzspektrum am Anfang nur wenig, indem die Intensität der Schulter leicht zunimmt. Für $T \geq 75$ °C, oberhalb aller thermotropen Umwandlungen des Gemisches (Hochtemperaturphase, siehe DSC, S. 39), ist das Fluoreszenzspektrum dem von C12/12 in CHCl_3 nahezu identisch. Das deutet darauf hin, dass die C12/12-Moleküle bei dieser Temperatur (homogen) molekular (oder in der Form sehr kleiner Aggregate wie Dimere) in der Membran verteilt sind und keine Phasenseparation vorliegt. Bei dieser Temperatur treten keine starken π - π -Wechselwirkungen bzw. Wasserstoffbrücken auf, die größere Aggregate stabilisieren.

Die Gemische C12/12 : DPPC = 1:10 und 1:4 liegen, wie mit LSFM und DSC gezeigt werden konnte (siehe S. 27, S. 32 bzw. S. 39), bei Raumtemperatur makroskopisch entmischt vor. Für beide C12/12-DPPC-Gemische ist die Fluoreszenzanisotropie r bis zur Onsettemperatur (T_{on}) annähernd konstant und sinkt bei weiter steigender Temperatur stark ab, bis r bei der Offsettemperatur (T_{off}) wieder konstant bleibt (Abbildung 44B). Beim 1:10-Gemisch sinkt die Anisotropie zwischen $T_{on} = 45$ °C und $T_{off} = 70$ °C. Die Abnahme von r ist also nicht mit der DSC-Hauptumwandlung, sondern mit den thermotropen Zusatzumwandlungen korreliert. Für das 1:4-Gemisch sinkt r zwischen $T_{on} = 60$ °C und $T_{off} = 78$ °C. Diese Umwandlung liegt also noch weiter oberhalb von T_m als beim 1:10-Gemisch und erstreckt sich über den gesamten Bereich der Zusatzumwandlungen. Die C12/12-Moleküle werden bei hohen Temperaturen mobil innerhalb der DPPC-Membran. Die phasenseparierten C12/12-reichen Aggregate, die bei Raumtemperatur durch π - π -Wechselwirkungen der aromatischen Molekülrückgrate in der Form langgestreckter Filamente vorliegen, zerfallen bei den Zusatzumwandlungen (DSC) zu einzelnen Molekülen bzw. zu kleineren Aggregaten (Dimeren), was die Beweglichkeit der Mesogenmoleküle bzw. -aggregate erhöht.

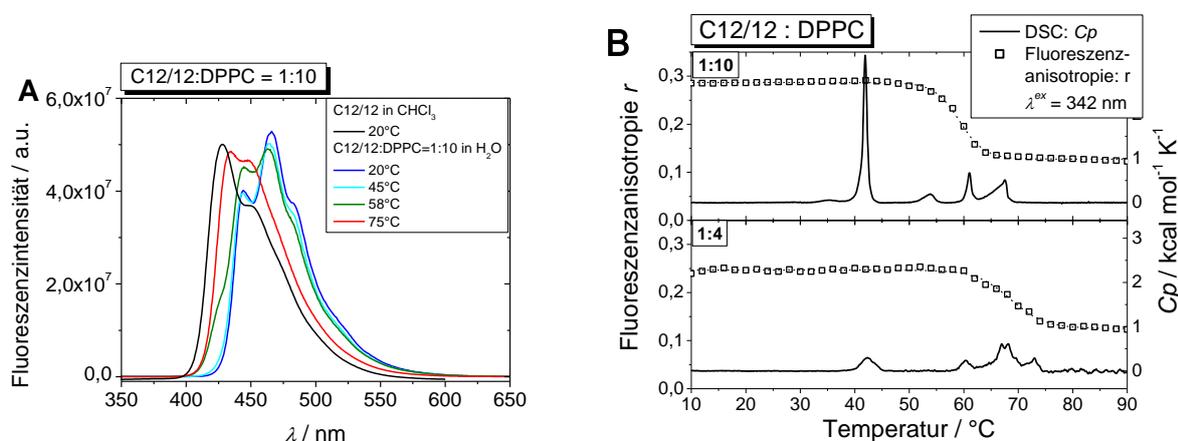


Abbildung 44. A: Fluoreszenzspektren von C12/12 in CHCl_3 (20 °C) bzw. von einer wässrigen Suspension des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:10 bei verschiedenen Temperaturen; B: Fluoreszenzanisotropie r (Symbole, Anregungswellenlänge $\lambda^{ex} = 342$ nm und Detektionswellenlänge $\lambda^{em} = 466$ nm, $c_g(r) = 0.5$ mM) der Gemische C12/12 : DPPC = 1:10 (oben) und 1:4 (unten) als Funktion der Temperatur und DSC-Thermogramme (durchgezogene Linien, $c_{DPPC}(DSC) = 2.0$ mM); die gestrichelten Linien in B sind zur besseren Orientierung für die Änderung von r .

Vor der Umwandlung sind die Anisotropiewerte der Gemische 1:10 ($r(T=26\text{ °C}) = 0.29$) bzw. 1:4 ($r(T=26\text{ °C}) = 0.24$) kleiner als für die DPHPC-DPPC-Mischung ($r(T=26\text{ °C}) = 0.30$). Offensichtlich besitzen die Mesogenmoleküle in der mesogenreichen Phase bereits vor der Umwandlung ($T > T_{on}$) eine geringfügig höhere Beweglichkeit als DPHPC in der DPPC-Membran. Vor allem im potentiellen 1:4-Komplex haben die Mesogenmoleküle mehr Bewegungsfreiheit als im 1:10-Gemisch. Nach der Umwandlung sind die r -Werte für beide Gemische mit $r(T=80\text{ °C}) = 0.13$ gleich, und die Mesogenmoleküle zeigen damit gleiche Beweglichkeit.

C18/18 mit DPPC-d₆₂

Alle untersuchten Gemische C18/18 : DPPC-d₆₂ zeigen ein ähnliches Verhalten wie die bereits besprochenen C12/12-DPPC-Gemische. Die Anisotropie nimmt bei gleicher Gesamtkonzentration und Temperatur mit steigendem Gehalt an C18/18 ab ($r_{T=26\text{ °C}}(1:10) = 0.28$; $r_{T=26\text{ °C}}(1:4) = 0.25$; $r_{T=26\text{ °C}}(1:1) = 0.18$). r bleibt bis zu einer bestimmten Temperatur konstant und sinkt dann in sigmoidalem Verlauf ab. In Abbildung 45 sind Anisotropiekurven als Funktion der Temperatur den DSC-Thermogrammen gegenübergestellt. Die Abnahme von r erfolgt jeweils nur bei den Temperaturen des Hochtemperaturpeaks (T_{add}).

Zusammenfassung Cm/n-PC-Gemische (Fluoreszenzdepolarisation)

Die Fluoreszenzanisotropie von Cm/n in Gemischen mit DPPC ist für $T < T_{on}$ nahezu konstant und sinkt bei steigender Temperatur mit sigmoidalem Verlauf ab, um dann erneut konstant zu bleiben. Für die Gemische von DPPC mit C12/12 bzw. C18/18 ist der Anisotropieabfall nicht mit der Hauptumwandlung der lipidreichen Phase bei T_m (DSC), sondern mit den ersten beiden oder allen drei Zusatzumwandlungen (T_{add}) korreliert. Dabei findet eine Umorganisation der mesogenreichen Phase mit einer Beweglichkeitssteigerung der Mesogene statt. Wahrscheinlich kommt es dabei zur Umwandlung der restlichen Lipide, die in der mesogenreichen Phase enthalten sind oder zur Umorganisation der Packung der Mesogenmoleküle.

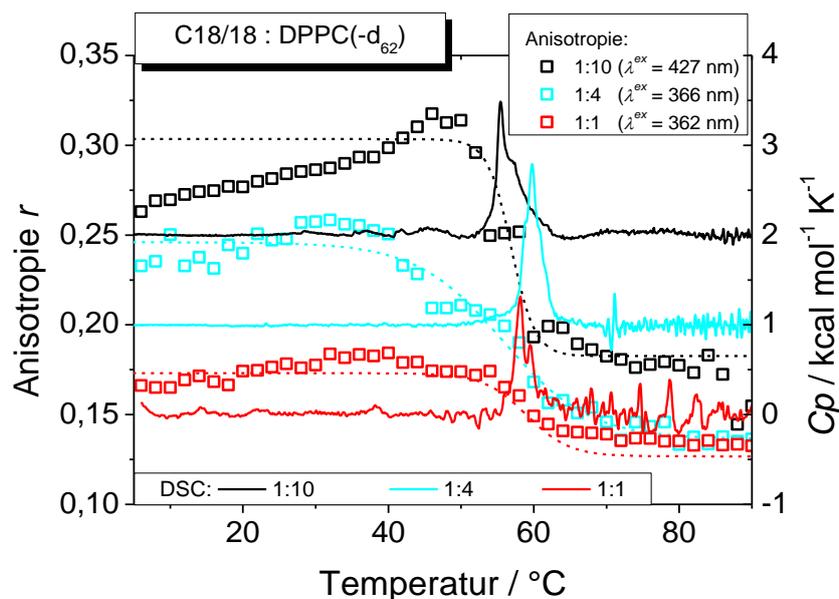


Abbildung 45. Fluoreszenzanisotropie (Symbole) von wässrigen Suspensionen aus C18/18 : DPPC-d₆₂ = 1:10 (schwarz), 1:4 (cyan), 1:1 (rot) als Funktion der Temperatur ($\lambda^{em} = 466\text{ nm}$, λ^{ex} ist im Graphen angegeben, $c_g = 0.1\text{ mM}$) und DSC-Thermogramme (durchgezogene Linien, $c_{DPPC} = 2.0\text{ mM}$) der Gemische; die gestrichelten Linien dienen als Hilfe zum besseren Verfolgen des Anisotropieverlaufs; $r(T)$ und C_p sind als Wasserfalldiagramm dargestellt und damit in y-Richtung Offset-verschoben.

Mittels temperaturabhängiger ATR-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass für die Gemische Cm/n : DPPC(-d₆₂) die Lipid-Acylkettenumwandlung der lipidreichen Phase mit der Hauptumwandlung bei T_m korreliert, während mit den temperaturabhängigen Anisotropiemessungen belegt werden konnte, dass die Zusatzumwandlungen im Thermogramm auf eine Erhöhung der Beweglichkeit der Mesogene zurückzuführen ist.

3.2.6 Röntgenstreuexperimente

Mit Röntgenmethoden sind detaillierte Informationen zur molekularen Packung der Lipide bzw. Mesogene in vollständig hydratisierten Gemischen aus Cm/n und DPPC zugänglich. Es wurden verschiedene Methoden verwendet: Röntgendiffraktion an Kapillarproben (50 Gew.-% H₂O) wurde unter Verwendung von Cu-K_{α1}-Strahlung an einer Röntgenapparatur mit positionsabhängigem Detektor für den Kleinwinkel- (SAXS, small angle X-ray scattering) und Weitwinkelbereich (WAXS, wide angle X-ray scattering) im eigenen Labor durchgeführt. Außerdem konnten an der *high-resolution diffraction beamline* P08 am Hamburger DESY (HASYLAB) orientierte, hydratisierte Multischichten (mehrere Tausend Doppelschichten, 99 % relative Luftfeuchte (RH, relative humidity) auf einem Si-Substrat mittels Synchrotronstrahlung untersucht werden.

3.2.6.1 Pulverdiffraktometrie mit Cu-K_α-Strahlung C12/12 mit DPPC

Mit Kapillarproben der Gemische C12/12 : DPPC = 1:10 und 1:4 wurden temperaturabhängige Pulverdiffraktometrieuntersuchungen durchgeführt. Die Diffraktogramme bei verschiedenen Temperaturen können als Kontourplot dargestellt werden, indem das Intensitätsprofil in Graustufen umgerechnet wird. Die Pulverdiffraktogramme beider Gemische zeigen im SAXS-Bereich bis zu vier scharfe äquidistante Peaks, die auf das Vorliegen einer lamellaren Struktur hindeuten (Abbildung 46). Die Wiederholabstände d (Membrandicke + interlamellare Wasserschichtdicke + Kopfgruppenhydratationsschicht) innerhalb der Multischichtstapel wurden für verschiedene Temperaturen bestimmt. Bei Raumtemperatur sind die Wiederholabstände der Doppelschichten beider Gemische, $d_{1:10}(25\text{ °C}) = 7.25\text{ nm}$ (Abbildung 47) und $d_{1:4}(20\text{ °C}) = 7.14\text{ nm}$ (Abbildung 48), signifikant größer als für eine vollständig hydratisierte DPPC-Doppelschicht in der L_{β} -Phase $d(20\text{ °C})_{\text{DPPC}} = 6.35\text{ nm}$.¹¹⁵ Die Dicke der interlamellaren Überschusswasserschicht (Quellwasser) der Gemische ist also vergrößert, was durch eine veränderte Kopfgruppenkonformation stabilisiert werden kann, oder der Acylkettentilt ist verkleinert. Die Lage der beiden WAXS-Reflexe des Acylkettengitters für das 1:10-Gemisch $s_{110}(25\text{ °C}) = 2.33\text{ nm}^{-1}$ und $s_{020}(25\text{ °C}) = 2.43\text{ nm}^{-1}$ bzw. das 1:4-Gemisch $s_{110}(20\text{ °C}) = 2.31\text{ nm}^{-1}$ und $s_{020}(20\text{ °C}) = 2.47\text{ nm}^{-1}$ ist der von reinen DPPC-Membranen ähnlich. Die WAXS-Reflexe überlagern sich beim 1:10-Gemisch teilweise, während sie beim 1:4-Gemisch deutlich getrennt sind. Die Acylkettensegmente der Gemische sind wie DPPC-Membranen in der L_{β} -Phase nach der angegebenen Indizierung in einem orthorhombischen *pseudo herringbone*-Gitter der Symmetriegruppe $Pbnm$ gepackt, wobei die *all-trans*-Acylketten relativ zur Membrannormale geneigt sind.^{116–118}

Beim Abkühlen kommt es zur Aufspaltung der WAXS-Reflexe und damit zu einer geänderten Acylkettenpackung. Bei $T < 0\text{ °C}$ kristallisiert Überschusswasser und scharfe Eisreflexe treten auf.^{117,119} Der Wiederholabstand ist verkleinert ($d_{1:10}(-25\text{ °C}) = 6.06\text{ nm}$ und $d_{1:4}(-20\text{ °C}) = 6.13\text{ nm}$), was durch die Reduktion der interlamellaren Wasserschichtdicke bzw. der Änderung der Kopfgruppenkonformation interpretiert werden kann. Nach erneutem Aufheizen und Schmelzen des Eises werden die ursprünglichen Wiederholabstände wiedergefunden. Das Ausfrieren von Überschusswasser (Dehydratation/Rehydratation) ist folglich ein reversibler Prozess. Als Folge der Rehydratation des interlamellaren Bereichs existiert bei -6 °C für beide Gemische ein langgezogener Schmelzprozess als Änderung im SAXS-Bereich, wie er für entmischte Systeme mit Gefrierpunkterniedrigung typisch ist.

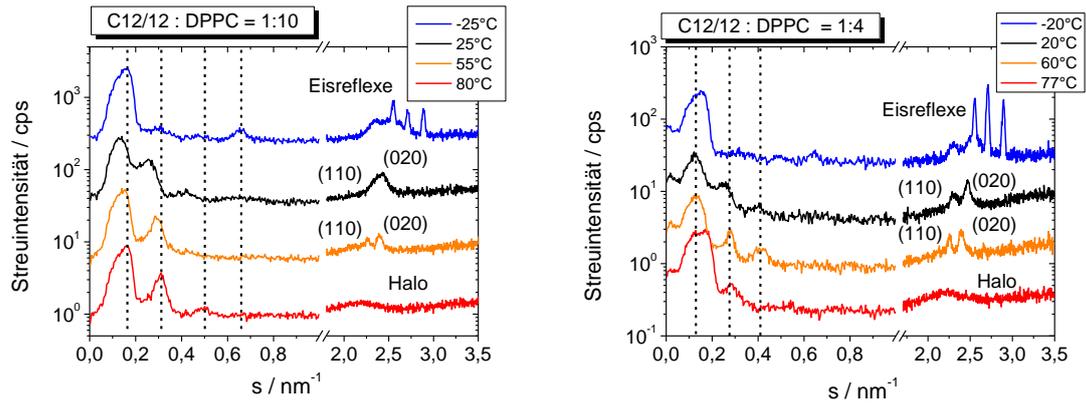


Abbildung 46. Röntgenpulverdiffraktogramme von wässrigen Suspensionen der Gemische C12/12 : DPPC = 1:10 (A) bzw. 1:4 (B); jeweils mit 50 Gew.-% H₂O; Kapillarproben.

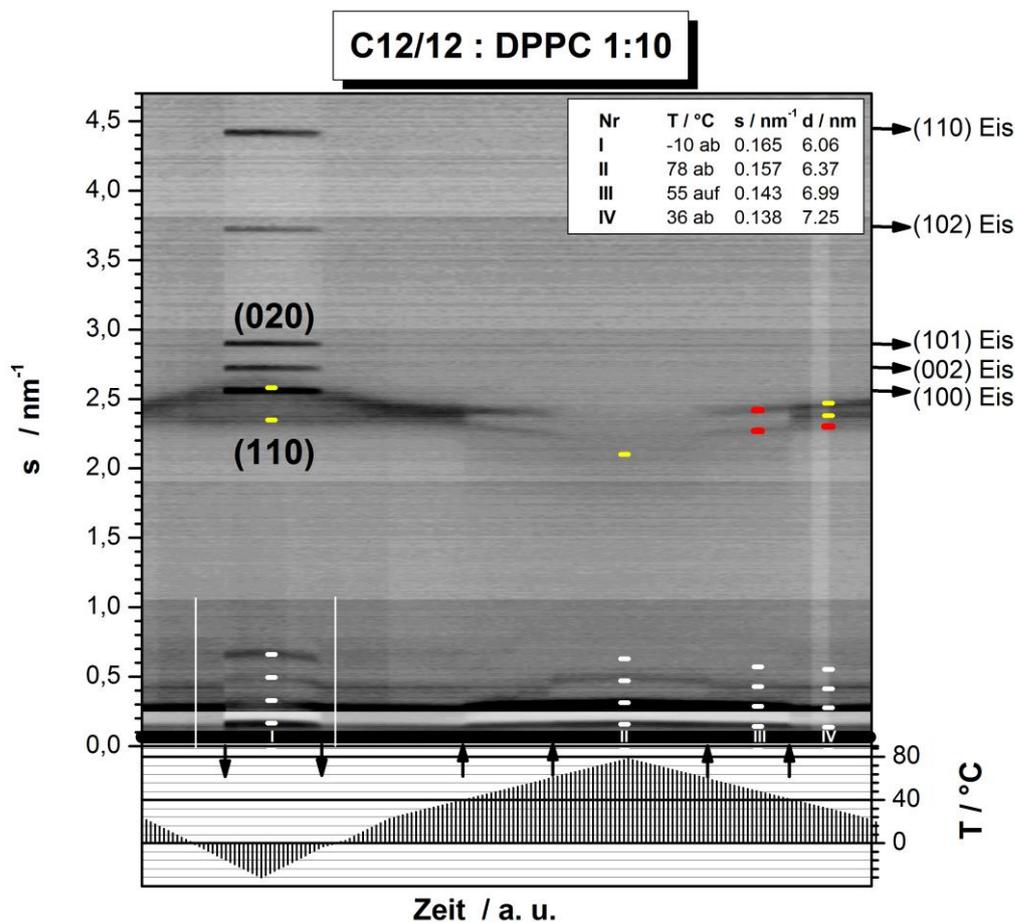


Abbildung 47. Konturplot der Röntgendiffraktogramme einer wässrigen Suspension des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:10 (50 Gew.-% H₂O, Kapillarprobe); die Streuintensitäten sind im oberen Teil des Diagramms in Graustufen dargestellt (linke Achse: reziproker Abstand s); im unteren Teil ist das gemessene Temperaturprofil abgebildet (rechte Achse: Temperatur); der Kasten fasst ausgewählte reziproke und Realraum-Membrandicken zusammen, die bei den mit römischen Zahlen (I - IV) markierten Temperaturen bestimmt wurden; nach oben zeigende Pfeile markieren Phasenübergänge der Probe und nach unten zeigende Pfeile das Erstarren bzw. Schmelzen von Überschusswasser; im Bereich zwischen Erstarren und Schmelzen von Überschusswasser treten zusätzlich scharfe Eisreflexe auf, deren Indizierung mit waagerechten Pfeilen am rechten Rand ausgewiesen ist; die Reflexe im SAXS-Bereich sind mit weißen, kurzen waagerechten Strichen jeweils an den Positionen I - IV markiert; gelbe Striche im WAXS-Bereich zeigen die Peaks der lipidreichen Phase, während rote Striche auf Reflexe der mesogenreichen Phase verweisen, wobei deren Position aus den 1D-Streukurven genau bestimmt wurde; die vertikalen weißen Linien markieren 0 °C; die Indizierung der WAXS-Reflexe bei I beziehen sich auf die DPPC-Streukomponente.

Bei höheren Temperaturen gehen die beiden scharfen WAXS-Reflexe in einen Halo über, was ein typisches Merkmal des Phasenübergangs von Gelphase zu fluider Phase ist. Beim 1:10-Gemisch tritt der Prozess bei 42 °C auf und korreliert mit der Hauptumwandlung bei T_m (DSC), während das 1:4-Gemisch die Umwandlung bei 50 °C zusammen mit der ersten Zusatzumwandlung (T_{add1}) zeigt. Im WAXS-Bereich sind für das 1:10-Gemisch neben dem Halo ($s_{Halo} = 2.18 \text{ nm}^{-1}$) allerdings noch immer scharfe Reflexe mit leicht veränderten Positionen bei $s_{1:10}(T > 42 \text{ °C}) = 2.25 \text{ nm}^{-1}$ und 2.39 nm^{-1} zu beobachten. Die scharfen Reflexe weisen auf eine geordnete DPPC-Acyllkettenpackung mit anderer Geometrie als in der Ausgangsstruktur hin. So koexistieren bei $T > 42 \text{ °C}$ offenbar zwei lamellare Membranspezies, eine L_α - und eine L_β -Phase. Die lipidreiche Phase des makroskopisch entmischten Systems C12/12 : DPPC = 1:10 zeigt bei 42 °C die übliche Hauptumwandlung und liegt dann in der L_α -Phase vor, während der Lipidanteil der mesogenreichen Phase in der Gelphase bleibt. Beim 1:4-Gemisch ist dieser Übergang weniger deutlich ausgeprägt, da die Weitwinkelreflexe breit und deren Änderungen klein sind. Oberhalb von 50 °C ist sogar ein dritter WAXS-Reflex zu verzeichnen ($s_{1:4}(T > 50 \text{ °C}) = 2.25 \text{ nm}^{-1}$, 2.37 nm^{-1} und 2.40 nm^{-1}), was auf eine zweite geordnete lamellare (C12/12-reiche) Phase (L_β) oder ein zugrundeliegendes schiefwinkliges Gitter hinweist. Der Wiederholabstand in diesem Temperaturbereich ist für beide Gemische kleiner als bei 25 °C ($d_{1:10}(T = 55 \text{ °C}) = 6.99 \text{ nm}$ und $d_{1:4}(T = 60 \text{ °C}) = 7.00 \text{ nm}$).

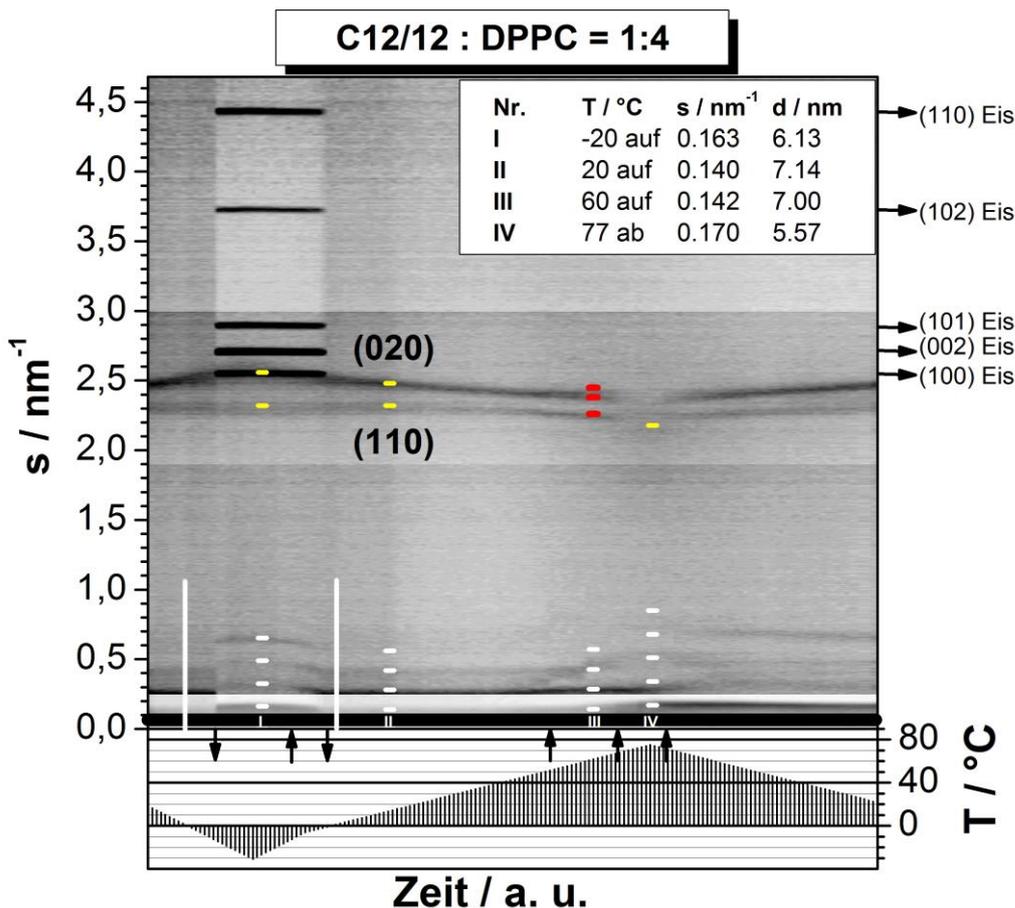


Abbildung 48. Konturplot der Röntgendiffraktogramme einer wässrigen Suspension des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:10 (50 Gew.-% H₂O, Kapillarprobe); für Details zum Konturplot siehe Abbildung 47.

Oberhalb von 68 °C existiert für beide Gemische nur noch je eine fluide Phase. Im Weitwinkelbereich sind ausschließlich Halos bei $s_{1:10}(T > 68 \text{ °C}) = 2.20 \text{ nm}^{-1}$ bzw. $s_{1:4}(T > 68 \text{ °C}) = 2.33 \text{ nm}^{-1}$ und keine scharfen Reflexe zu beobachten. Die Wiederholabstände in der Hochtemperaturphase sind weiter

gesunken ($d_{1:10}(T=78\text{ °C}) = 6.37\text{ nm}$ bzw. $d_{1:4}(T=77\text{ °C}) = 5.57\text{ nm}$). Vollständig hydratisierte DPPC-Membranen in der L_α -Phase weisen meist einen Wiederholabstand von $d_{DPPC}(50\text{ °C}) = 6.70\text{ nm}$ auf.¹¹⁵ Die fluiden Membranen der Gemische weisen vermutlich eine reduzierte interlamellare Wasserschichtdicke oder veränderte Kopfgruppenkonformationen auf.

Bei erneutem Abkühlen treten bei $T < 68\text{ °C}$ zuerst die scharfen WAXS-Reflexe der entmischten Gelphasen wie zwischen der ersten und zweiten Umwandlung im Röntgen auf. Der Prozess der Phasenseparation ist also reversibel.

3.2.6.2 Röntgenreflektometrie

Mittels hochauflösender Synchrotronstreuexperimente an orientierten Multischichtsystemen konnten die Befunde der Pulverdiffraktometrieuntersuchungen verifiziert werden. Durch die deutlich höhere Auflösung war es möglich, die Entmischung auch im SAXS-Bereich aufzulösen.

DPPC und DOPC

Die Reflektivitätskurven orientierter DPPC- bzw. DOPC-Multischichten zeigen bis zu neun scharfe äquidistante Bragg-Reflexe im SAXS-Bereich (Abbildung 49A/C) was auf eine lamellare Packung hinweist. Die Positionen der Streuvektoren q_z für Messungen bei 25 °C und die durch Quellungsexperimente bestimmten Vorzeichen der Fourierkoeffizienten^{120–122} jedes Peaks sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Bei 25 °C ergeben sich die in Abbildung 49B/D dargestellten Elektronendichteprofile¹²³ mit Wiederholabständen von $d(25\text{ °C})_{DPPC} = 6.13\text{ nm}$ ($L_{\beta'}$) bzw. $d(25\text{ °C})_{DOPC} = 5.14\text{ nm}$ (L_α) und Kopfgruppendifferenzen von $d_{HH}(25\text{ °C})_{DPPC} = 4.30\text{ nm}$ bzw. $d_{HH}(25\text{ °C})_{DOPC} = 3.66\text{ nm}$. Der Verlauf der Elektronendichte im lipophilen Teil der Membran weist auf eine mäßige Ordnung der Multischichten hin. Für hochgeordnete Lamellenstapel würde sich ein Elektronendichteprofil analog dem in Abbildung 4 abgebildeten ergeben.^{50,124} Nach Nagle *et al.* sind Wiederhol- und Kopfgruppenabstand vollständig hydratisierter DPPC-Membranen in der L_β -Phase bei $d = 6.35\text{ nm}$ und $d_{HH} = 4.42\text{ nm}$.^{125,126} Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten d - bzw. d_{HH} -Werte sind etwas geringer als die Literaturwerte, was auf eine geringere Hydratisierung der Probe zurückzuführen ist.^{115,116,127,128} Bei festkörpergeträgerten, orientierten Multischichten ist eine perfekte Hydratation oft schwierig.^{129,130} White *et al.* geben d -Werte für DOPC-Membranen in Abhängigkeit vom Hydratationsgrad zwischen 4.84 nm (34 % RH) und 4.98 nm (93 % RH) an.^{131,132} Die durch die vorliegenden Messungen ermittelten d -Werte sind höher, was auf eine erhöhte interlamellare Wasserschichtdicke oder auf eine andere Kopfgruppenkonformation zurückzuführen ist. Hristova *et al.* konstatieren einen Rückgang der Anzahl an Bragg-Reflexen mit steigendem Hydratationsgrad und finden lediglich sechs scharfe Peaks bei 93 % RH. Die hier vermessenen DOPC-Multischichten sind geringfügig besser hydratisiert (99 % RH) und weisen neun scharfe Reflexe auf. Möglicherweise sind die vermessenen DOPC-Proben besser geordnet (große Domänen und kleine Mosaikversetzung der Bilschichtpakete).

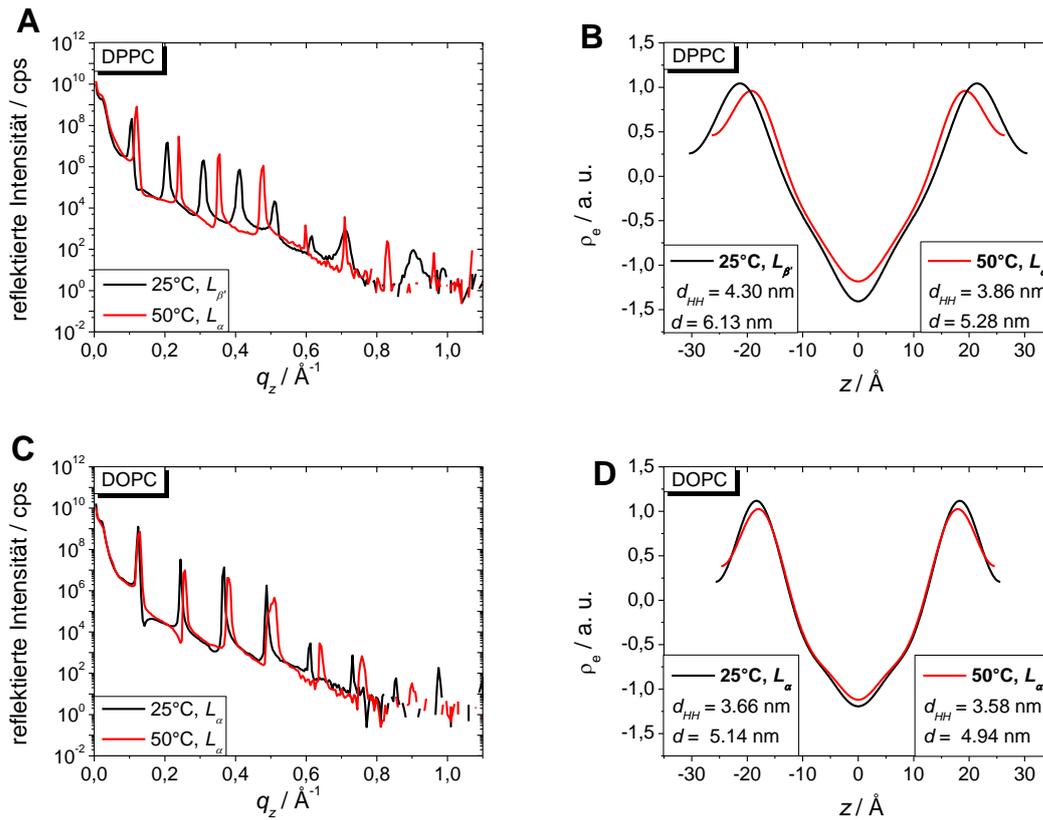


Abbildung 49. Reflektivitätskurven von orientierten DPPC- (A) bzw. DOPC-Multischichtstapeln (C) und Elektronendichteprofile der DPPC-Membran (B) in der L_{β} - (25 °C, schwarz) bzw. L_{α} -Phase (50 °C, rot) und der DOPC-Membran (D) jeweils in der L_{α} -Phase bei 25 °C (schwarz) bzw. 50 °C (rot); jeweils 99 % RH.

Bei 50 °C sind die Peakpositionen zu größeren q_z -Werten verschoben (Abbildung 49A/C). DPPC befindet sich bei 50 °C wie DOPC in der L_{α} -Phase. Die relativen Intensitäten der Bragg-Peaks höherer Beugungsordnungen (ab 5. Ordnung, bezogen auf die Intensität des Reflexes der ersten Beugungsordnung) sind für DOPC geringer als bei der DPPC-Probe in der L_{α} -Phase. Da es sich nicht um systematisch ausgelöschte Beugungsordnungen handelt, muss die Orientierung der DOPC-Multischicht weniger gut als bei DPPC sein. Die berechneten Elektronendichteprofile zeigen verringerte Wiederholabstände ($d(50\text{ °C})_{DPPC} = 5.28\text{ nm}$ bzw. $d(50\text{ °C})_{DOPC} = 4.94\text{ nm}$) und Kopfgruppendifferenzen ($d_{HH}(50\text{ °C})_{DPPC} = 3.86\text{ nm}$ bzw. $d_{HH}(25\text{ °C})_{DOPC} = 3.58\text{ nm}$, Abbildung 49B/D). Nagle *et al.* bestimmte für DPPC in der L_{α} -Phase die Werte $d(50\text{ °C})_{DPPC} = 6.7\text{ nm}$ und $d_{HH}(50\text{ °C})_{DPPC} = 3.85\text{ nm}$.^{50,125} Die gemessenen Werte für d_{HH} stimmt mit dem von Nagle *et al.* sehr gut überein und der geringere d -Wert deutet wieder auf geringere Hydratation hin. Obwohl DOPC keine Umwandlung zwischen 25 °C und 50 °C zeigt, ist die Membrandicke bei höherer Temperatur leicht verringert. Wie erwartet sind die d - und d_{HH} -Wert der DOPC-Membran bei 25 °C geringer als bei der DPPC-Membran in der L_{α} -Phase (50 °C), während die DOPC-Membran besser hydratisiert ist.^{50,115,126} Da bei beiden Proben das gleiche Präparationsprotokoll (besonders Hydratation, siehe Materialien und Methoden, S. 13) angewendet wurde, scheint die Präparationstemperatur relativ zu T_m ein wichtiger Parameter zur Kontrolle der Quellung bzw. der Hydratation zu sein. Es sollte demnach weit oberhalb T_m in der L_{α} -Phase hydratisiert werden, um eine vollständige Hydratation und bessere Parallelisierung der Lamellen zu erreichen (im Experiment: bei DPPC-Proben bei $T_{hydra} = T_m + 20\text{ K}$ und bei DOPC-Proben bei $T_{hydra} = T_m + 80\text{ K}$). Die absolute Änderung der Elektronendichte vom Kopfgruppenbereich zum Membraninneren ist für beide Proben bei 50 °C geringer, da die

Elektronendichte ρ_e im Inneren der Membran auf Grund der fluiden Acylketten weniger ausgeprägte positionsabhängige Änderungen zeigt.^{50,115,116,126}

Tabelle 6. Streuvektoren q_z inkl. Amplituden und verwendete Phasenfaktoren¹²⁰⁻¹²² von orientierten DPPC- bzw. DOPC-Multischichten aus Reflektivitätsmessungen bei 25 °C (Abbildung 49A/C); die Amplituden wurden normiert auf die Amplitude der ersten Beugungsordnung; die angegebenen Werte wurden zur Berechnung des Elektronendichteprofiles in Abbildung 49B/D verwendet.

Index	DPPC			DOPC		
	q_z	Amplitude	Phase	q_z	Amplitude	Phase
1	0.105077	1	-	0.1241	1	-
2	0.20634	0.436676	-	0.244589	0.337539	-
3	0.30866	0.20486	+	0.3679	0.311971	+
4	0.410638	0.140838	-	0.4878	0.154066	-
5	0.50901	0.0220406	-	0.610191	0.00977803	-
6	0.614589	0.00265499	+	0.731165	0.00489186	-
7	0.710721	0.00565207	-	0.853676	0.00201242	-
8	0.819999	6.6925e-005		0.975322	0.00366118	+
9	0.904474	0.00236983				

C12/12

Reflektivitätsdaten von orientierten, Si-geträgerten C12/12-Proben bei 99 % RH weisen lediglich drei Reflexe bei $q_z(25\text{ °C})_{C12/12} = 0.395\text{ Å}^{-1}$, 0.594 Å^{-1} und 0.789 Å^{-1} auf (siehe Anhang, S. 4, Abbildung 114). Die Reflexe treten im q_z -Verhältnis von 1:1.5:2 auf. Ohne weitere Informationen (z. B. Einkristallstrukturanalyse) können die Peaks nicht interpretiert werden.

C12/12 : DPPC = 1:10

Für das Gemisch C12/12 : DPPC = 1:10 wurden bei fünf Temperaturen, jeweils vor bzw. nach einer Phasenumwandlung (DSC), Reflektivitätskurven aufgenommen ($T_{Ref}(C12/12:DPPC=1:10) = 25\text{ °C}$, 48 °C , 58 °C , 64 °C und 75 °C).

Bei 25 °C treten in der Reflektivitätskurve acht scharfe, äquidistante (q_z -Verhältnis: 1 : 2 : 3 : 4 : ...) Bragg-Reflexe auf, welche auf eine lamellare Struktur schließen lassen (Abbildung 50A). Die Reflexe der 3. und 4. Beugungsordnung weisen eine Schulter auf Seite größerer q_z -Werte auf ($q_z = 0.306\text{ Å}^{-1}$; 0.399 Å^{-1}), deren Ursprung allerdings ungeklärt ist. Eine Übereinstimmung mit den Peakpositionen der C12/12-Reflektivitätskurve kann nicht gefunden werden. Die scharfen übrigen Peaks sind eindeutig äquidistant und das zugrundeliegende 1D-Gitter ist lamellar. Die 6. Beugungsordnung ist systematisch ausgelöscht (Vierteck in Abbildung 50A). Es könnte auch eine zufällige Auslöschung vorliegen, wenn die Phase des Reflexes ± 0 ist. Das berechnete Elektronendichteprofil ergibt eine Membran mit dem Kopfgruppenabstand $d_{HH}(25\text{ °C}) = 4.6\text{ nm}$ und dem Wiederholabstand $d(25\text{ °C}) = 6.45\text{ nm}$ (Abbildung 50B). Eine Zumischung von C12/12-Molekülen in die DPPC-Membran verursacht eine Vergrößerung der d - bzw. d_{HH} -Werte. Der Einbau von C12/12 findet also im Alkylkettenbereich der Membran statt. Die maximale Elektronendichteänderung der Mischmembran (Maximum-Minimum-Abstand der Elektronendichtekurve) ist im Vergleich zu DPPC-Membranen ein wenig geringer. Durch den Einbau der C12/12-Moleküle in die DPPC-Membran ist die Elektronendichte im Berührungsbereich der beiden Monoschichten einer Membran höher als bei der reinen DPPC-Membran. Der Verlauf der Elektronendichte im Acylbereich der Membran deutet auf eher wenig geordnete Bischen hin, wie bereits bei den reinen DPPC-Bischichtstapeln beobachtet (siehe auch Abbildung 4).^{50,124}

Bei $T = 48\text{ °C}$, oberhalb T_m , weist die Reflektivitätskurve eine Vielzahl scharfer Reflexe auf (Abbildung 50C). Bei genauerer Betrachtung wird deutlich, dass die Reflexe zwischen $q_z = 0.2\text{ Å}^{-1}$ und 0.4 Å^{-1} stets paarweise auftreten. Zwischen den Peaks treten immer wieder zwei (zahlenmäßig unterschiedliche) gleiche Differenzen auf, die sich unter Zuhilfenahme einer ganzzahligen Ordnung auf $z = 0$ extrapolieren lassen. Damit wird die Vielzahl an Reflexen als Superposition zweier unabhängig streuender 1D-Gitter interpretiert, der zwei unterschiedliche Lamellentypen zugrunde liegen. Auch mittels LSFM und DSC wurden für das Gemisch C12/12 : DPPC = 1:10 Hinweise auf makroskopisch phasenseparierte Strukturen gefunden. Für Reflexe höherer Beugungsordnung ist die Peakaufspaltung in zwei unabhängig streuende 1D-Gitter wenig offensichtlich. Das Peaksplitting ist beim Gemisch C18/18 : DPPC = 1:10 bei 62 °C deutlich ausgeprägter (siehe unten, Abbildung 54). Der Reflex der ersten Beugungsordnung weist für das analoge C12/12-DPPC-Gemisch eine Schulter auf der Seite größerer q_z -Werte auf bzw. ist verbreitert. Die Gesamtpeakfläche (bzw. Peakintensität) entspricht ungefähr der Summe der Einzelpeakflächen (bzw. Peakintensitäten) des ersten und zweiten Peaks des analogen Gemischs C18/18 : DPPC = 1:10 bei 62 °C (0.5 % Abweichung, siehe S. 69). Der *erste breite Peak* der Reflektivitätskurve von C12/12 : DPPC = 1:10 (48 °C) ist also eine Superposition von zwei Reflexen erster Beugungsordnung unabhängig streuender 1D-Gitter.

Ähnliche Reflektivitätskurven mit zwei 1D-Reflexserien und damit zwei unabhängig streuenden Membrantypen treten bei den Temperaturen 58 °C (Abbildung 50E) und 64 °C auf (Abbildung 50E). Es konnten ebenfalls jeweils zwei Periodizitäten indiziert werden. Durch Fit der Reflexe der beiden verschiedenen 1D-Gitter können mit den ermittelten Intensitäten für jede der drei Temperaturen zwei unterschiedliche Elektronendichteprofile für die beiden Lamellenspezies berechnet werden (Abbildung 50D/F/H). Der Verlauf der Elektronendichte im Acylbereich der Membran weist auf eine bessere Ordnung in den Bischichten hin als bei den DPPC-Membranen in der L_{β} -Phase (25 °C).^{50,124} Der breite Reflex erster Ordnung wurde jeweils mit zwei Reflexen gefittet. C12/12 : DPPC = 1:10 besitzt bei 48 °C (Abbildung 50D) bzw. 58 °C (Abbildung 50F) jeweils eine *dickere* Membran, die höhere d_{HH} -Werte als die zur Referenz geplottete DPPC-Membran in der L_{β} -Phase (25 °C) aufweist und eine *dünnere* Membran, deren Kopfgruppendifferenz im Bereich der DPPC-Referenz liegen. Der Einbau des C12/12 in die mesogenreiche lamellare Phase hat also eine Aufweitung der Membran zur Folge. Die *dünnere* Membran ist auf die DPPC-reiche Phase zurückzuführen, welche wenig Mesogen enthält. Für beide Membranen ist der Wiederholabstand geringer als bei der reinen DPPC-Membran. Der Wiederhol- und Kopfgruppenabstand beider Membranspezies ist in Abbildung 51 als Funktion der Temperatur geplottet. Im generellen Trend sinken d_{HH} und d mit der Temperatur. Die Änderung ist für $T > 58\text{ °C}$ aber eher gering.

Das berechnete Elektronendichteprofil bei 64 °C besitzt eine Elektronendichteverteilung ohne Maxima im Bereich der Phosphatgruppen (Abbildung 50H). Für die Reflektivitätskurven bei dieser Temperatur war kein eindeutiger Fit der beiden Peakserien möglich, was die Interpretation der Reflektivitätsdaten bei dieser Temperatur erschwert.

In der Hochtemperaturphase (75 °C) liegt eine Serie äquidistanter Reflexe vor (Abbildung 50I). Die Reflexe der 3. und 4. Beugungsordnung zeigen eine Schulter ($q_z = 0.368\text{ Å}^{-1}$, 0.492 Å^{-1}) auf der Seite höherer q_z -Werte. Das ermittelte Elektronendichteprofil und damit d_{HH} und d sind ähnlich wie bei einer DPPC-Membran in der L_{α} -Phase (50 °C). Bei 75 °C sollte eine DPPC-Membran allerdings bereits erheblich dünner sein, was auf eine Membranaufweitung durch den Mesogeneinbau hinweist.

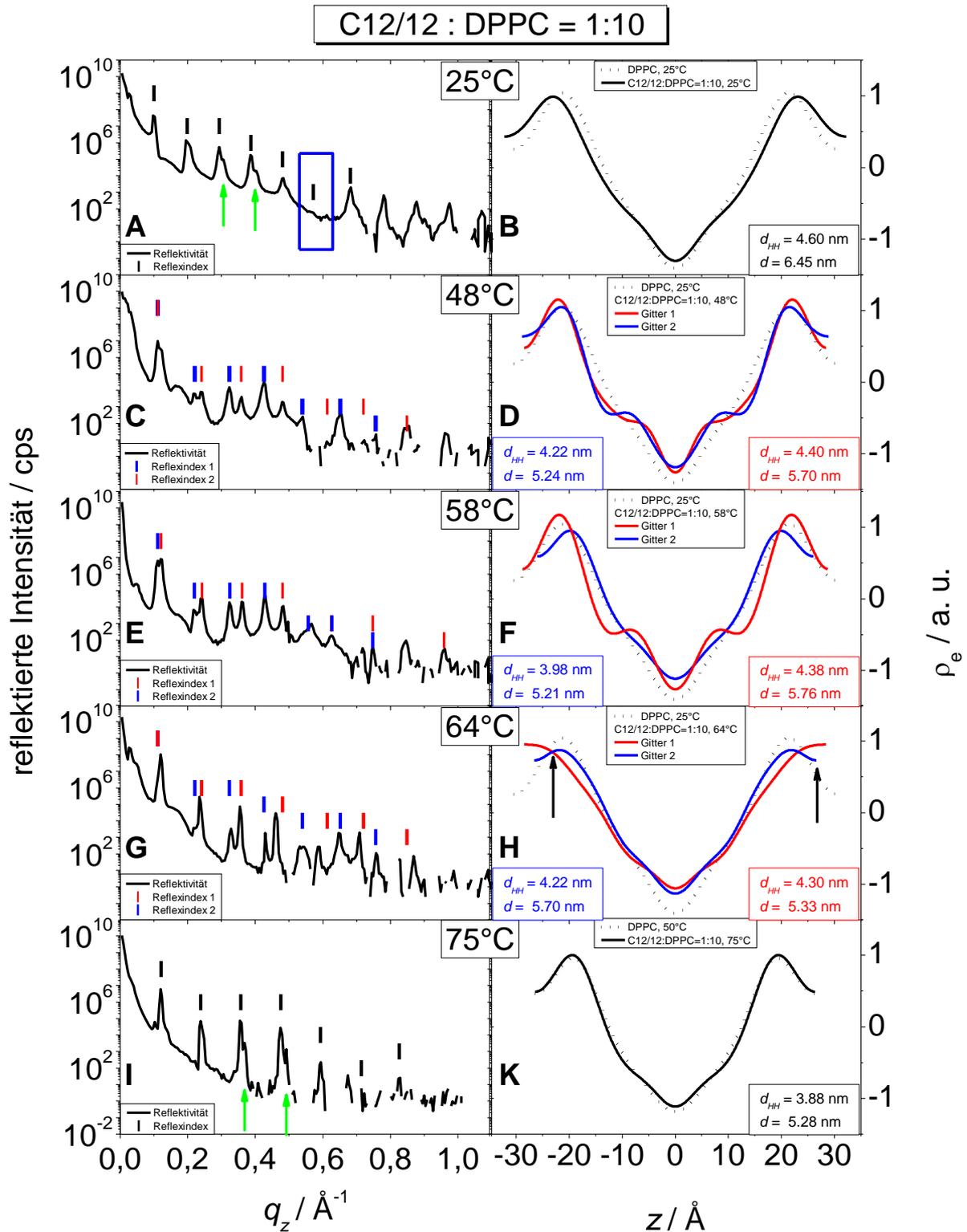


Abbildung 50. Links: Röntgenreflektivitätskurven orientierter Multischichten von C12/12 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (A), 48 °C (C), 58 °C (E), 64 °C (G), 75 °C (I) und 99 % RH; rechts daneben: Elektronendichteprofile der Bilschichten; vertikale Striche markieren die indizierten Reflexe eines 1D-Gitters; für 25 °C und 75 °C wurde eine Serie Reflexe indiziert und gefittet (schwarze Striche); für 25 °C < T < 75 °C wurden zwei 1D-Gitter indiziert und gefittet (rote und blaue Striche); den Elektronendichteprofilen des Gemisches sind jeweils die Elektronendichtekurven von DPPC in der L_{β} -Phase (B: 25 °C, D, F, H, gestrichelte Linie) bzw. in der L_{α} -Phase (K: 50 °C, gepunktete Linie) gegenübergestellt; markierte Besonderheiten: ausgelöschte 6. Beugungsordnung (Viereck in A), ungewöhnlicher Verlauf des Elektronendichteprofiles bei 64 °C (schwarze Pfeile in H), q_z -Werte der Peakschultern (grüne Pfeile in A und I).

Von DSC- bzw. LSFM-Untersuchungen ist bekannt, dass C12/12 : DPPC = 1:10 bei 25 °C ebenfalls phasensepariert ist. Allerdings können in der Reflektivitätskurve keine zwei Serien an Bragg-Reflexen gefunden werden. Möglicherweise sind die Dickeunterschiede der beiden Membranspezies zu gering und/oder die in xy-Richtung (lateral) entmischten Domänen sind in z-Richtung nicht korreliert. Bei $T = 48\text{ °C}$, 58 °C und 64 °C liegen zwei 1D-Reflexserien vor, die auf zwei unabhängig streuende Lamellenspezies zurückzuführen sind. In der Hochtemperaturphase, oberhalb aller thermotropen Umwandlungen (75 °C), existiert nur ein Lamellentyp, und eine Phasenseparation liegt nicht vor.

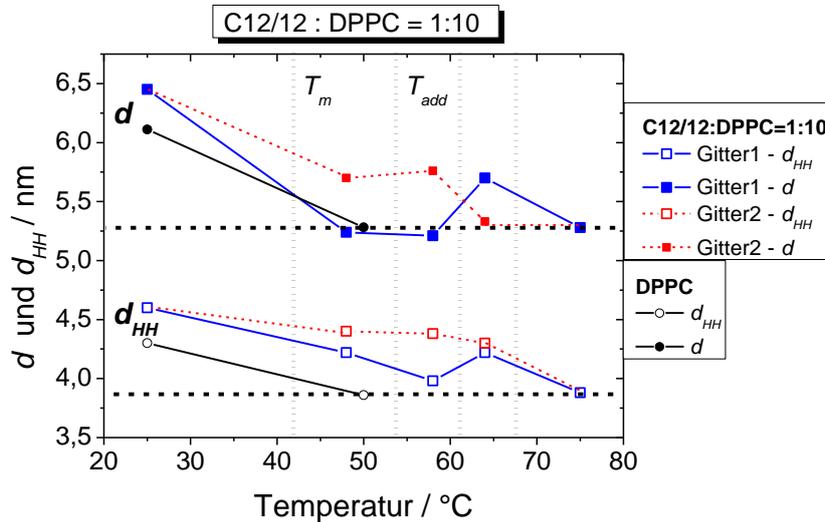


Abbildung 51. Verlauf der Kopfgruppenabstände d_{HH} (offene Symbole) und der Wiederholabstände d (ausgefüllte Symbole) orientierter Multischichten von C12/12 : DPPC = 1:10 (rot = Gitter 1, blau = Gitter 2, Daten aus Abbildung 50) und von DPPC (schwarz, Daten aus Abbildung 49) als Funktion der Temperatur; jeweils 99 % RH; vertikale Linien markieren thermotrope Umwandlungen des Gemisches (DSC); horizontale Linien charakterisieren die Strukturdaten der L_α -Phase der DPPC-Membran.

C12/12 : DPPC = 1:4

Das System C12/12 : DPPC = 1:4 zeigt Reflektivitätskurven mit ähnlicher Reflexvielfalt wie das 1:10-Gemisch (Abbildung 52 links). Bei 25 °C sind schwache Doppelpeaks mit äquidistanten Abständen zu beobachten, was, analog zum 1:10-Gemisch, die Indizierung zweier unabhängig streuender 1D-Gitter zulässt. Anders als beim 1:10-Gemisch ist beim 1:4-Gemisch die Phasenseparation bei 25 °C mittels Röntgenreflektivität deutlich zu beobachten. Die in xy-Richtung phasenseparierten Membranspezies sind für das 1:4-Gemisch in z-Richtung offenbar besser korreliert. Den Reflektivitätskurven bei 48 °C und 71 °C liegen ebenfalls zwei entmischte lamellare Aggregate zugrunde, und es wurden jeweils zwei Reflexserien verschiedener 1D-Gitter indiziert. Auf Grund der schwachen Intensitäten der Peaks höherer Beugungsordnung, wurden lediglich die indizierten Bragg-Reflexe der ersten vier Beugungsordnungen zur Berechnung der Elektronendichteprofile verwendet.

In der Hochtemperaturphase des 1:4-Gemischs bei 78 °C zeigt die Reflektivitätskurve nur einen Satz äquidistanter Peaks einer lamellaren Struktur. Die Peaks bei $q_z = 0.59\text{ \AA}^{-1}$ und $q_z = 0.789\text{ \AA}^{-1}$ liegen auf Positionen, auf denen die reine C12/12-Probe ebenfalls Reflexintensität aufweist. Zudem existiert zwischen der 3. und 4. Beugungsordnung des 1D-Gitters ein Zusatzreflex bei $q_z = 0.395\text{ \AA}^{-1}$, der ebenfalls auf der Position eines C12/12-Reflexes liegt. Offensichtlich liegt C12/12 als Reinstoff auch außerhalb des Membranverbundes vor, und die Hochtemperaturphase ist, anders als beim 1:10-Gemisch, nicht homogen gemischt. Der Zusatzreflex bei $q_z = 0.395\text{ \AA}^{-1}$ ist auch in den

Reflektivitätskurven bei 48 °C und 71 °C zu finden, was darauf hindeutet, das es sich bei dieser zusätzlichen Entmischung um ein Präparationsartefakt handelt (siehe unten).

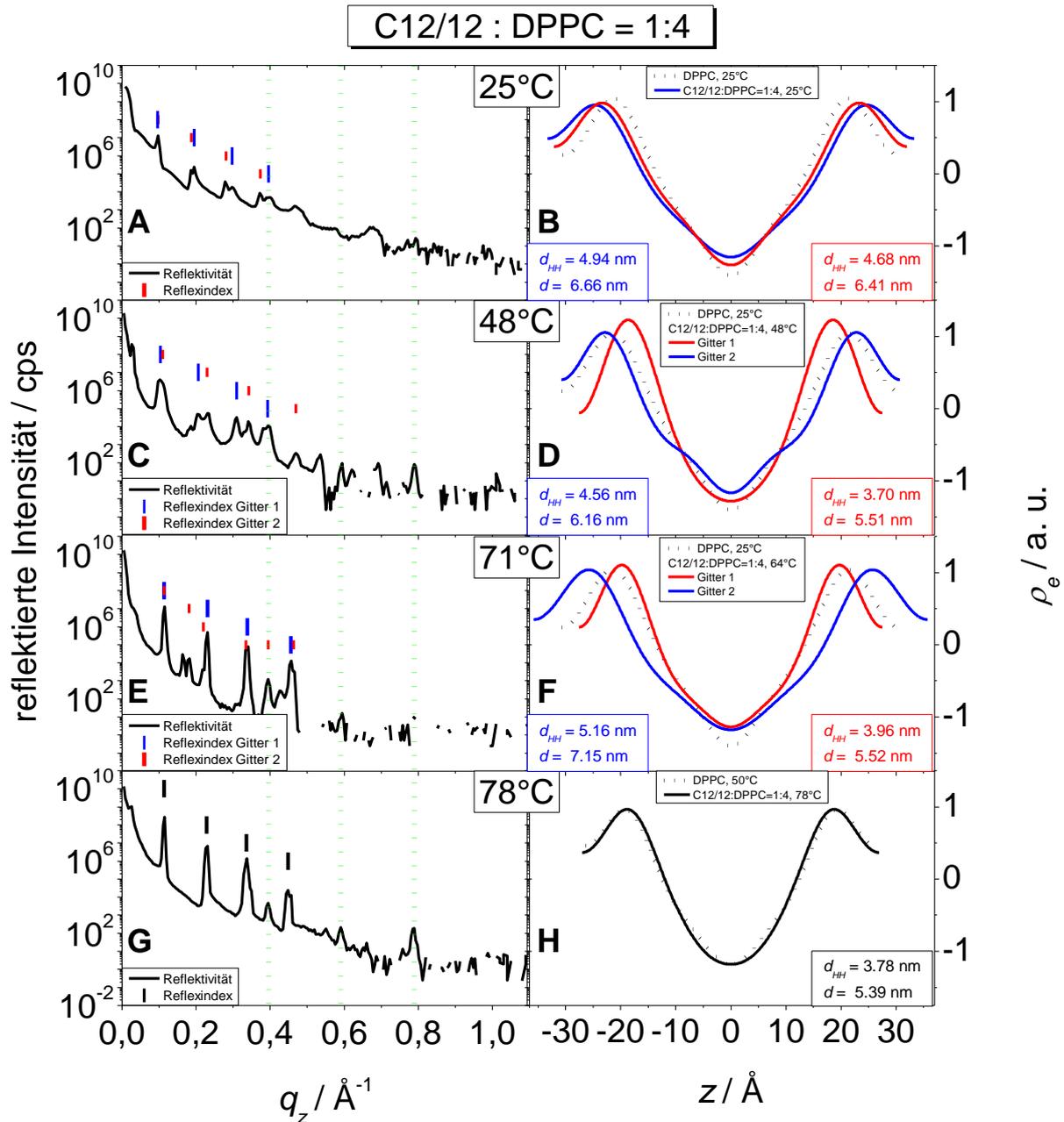


Abbildung 52. Links: Röntgenreflektivitätskurven orientierter Multischichten von C12/12 : DPPC = 1:4 bei 25 °C (A), 48 °C (C), 71 °C (E), 78 °C (G) und 99 % RH; rechts daneben: Elektronendichteprofile der Bischen; vertikale Striche markieren die indizierten Reflexe des 1D-Gitters; für $T < 78$ °C wurden zwei 1D-Gitter indiziert und gefittet (rote und blaue Striche); für 78 °C wurde eine Serie Reflexe indiziert und gefittet (schwarze Striche); den Elektronendichteprofilen des Gemisches sind jeweils die Elektronendichtekurve von DPPC in der L_{β} -Phase (B, D, F; 25 °C, gestrichelte Linie) bzw. in der L_{α} -Phase (H: 50 °C, gestrichelte Linie) gegenübergestellt; markierte Besonderheiten: Reflexpositionen der orientierten C12/12-Probe (grüne vertikale gestrichelte Linien, Werte aus Abbildung 114).

Für $T < 78$ °C wurden jeweils zwei Elektronendichteprofile berechnet (Abbildung 52 rechts). Für 25 °C sind beide Membranen dicker als DPPC-Membranen in der L_{β} -Phase bei gleicher Temperatur, für 48 °C und 71 °C ist jeweils eine der Gemischmembranen dicker und eine dünner als die DPPC-Membranen in der L_{β} -Phase (50 °C). Das für die Hochtemperaturphase berechnete Elektronendichteprofil weist eine Membran mit $d_{HH} = 3.78$ nm und $d = 5.39$ nm aus. Die Membran ist

dicker als DPPC-Membranen bei 50 °C (L_α -phase), was auf eine Aufweitung der Membran durch Einbau von C12/12 und/oder eine Vergrößerung der interlamellaren Wasserschicht hindeutet, die durch eine Konformationsänderung der Kopfgruppe stabilisiert ist. Generell sinken Wiederhol- und Kopfgruppenabstand beider Lamellentypen mit steigender Temperatur, wobei die Unterschiede für $T > 48$ °C klein sind (Abbildung 53). Die zweite Bischicht ist bei 71 °C deutlich dicker als für die geringeren Temperaturen. Die DPPC-Acyllketten der C12/12-reichen Phase weisen bei 71 °C offenbar noch immer *all-trans*-Konformation und einen verringerten Tilt auf.

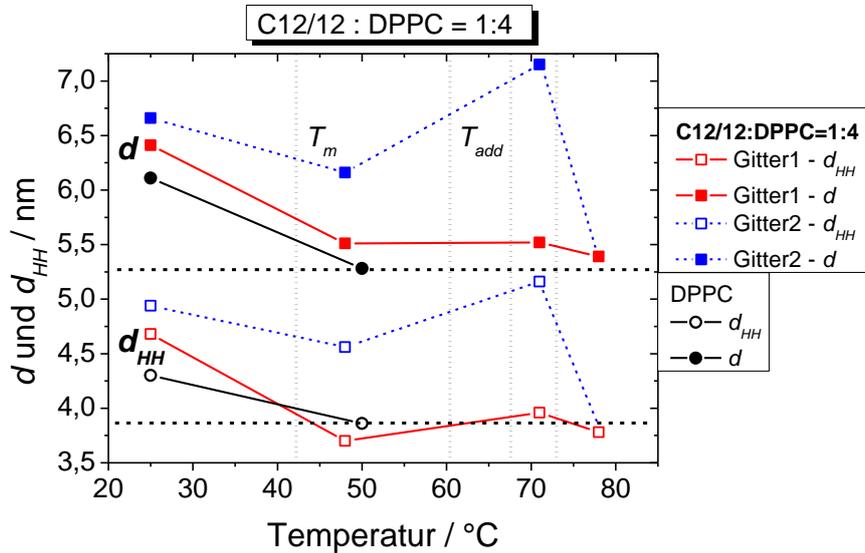


Abbildung 53. Verlauf der Kopfgruppenabstände d_{HH} (offene Symbole) und der Membranwiederholabstände d (ausgefüllte Symbole) orientierter Multischichten von C12/12 : DPPC = 1:4 (Gitter 1: blau, Gitter 2: rot, Daten aus Abbildung 52) und von DPPC (schwarz, Daten aus Abbildung 49) als Funktion der Temperatur; jeweils bei 99 % RH, vertikale Linien markieren thermotrope Umwandlungen des Gemisches (DSC); horizontale Linien charakterisieren die Strukturdaten der L_α -Phase der DPPC-Membran.

C18/18 : DPPC = 1:10

Im DSC-Thermogramm des Gemischs C18/18 : DPPC = 1:10 tritt nur ein sehr schwacher Peak bei $T_m = 42$ °C auf (Abbildung 31). Dennoch wurden Reflektivitätsmessungen bei 25 °C ($<T_m$), 46 °C ($>T_m$) und 62 °C ($>T_{add}$) durchgeführt (Abbildung 54). Die bei 25 °C bzw. 46 °C aufgenommenen Reflektivitätskurven zeigen jeweils eine Serie äquidistanter Bragg-Peaks, denen ein 1D-Gitter zugrunde liegt. (Abbildung 54A). Auch C18/18 : DPPC = 1:10 bildet damit in diesem Temperaturbereich lamellare Schichten. Die Reflektivitätsdaten bei 25 °C geben keinen Hinweis auf eine Entmischung von Mesogen und Lipid. Allerdings ist die Amplitude des Reflexes 5. Beugungsordnung sehr schwach und möglicherweise systematisch ausgelöscht. Die äquidistanten Bragg-Peaks der Reflektivitätskurve bei 46 °C sind weniger scharf, konnten aber ebenfalls als 1D-Gitter indiziert werden. Einige Reflexe weisen große Schultern auf oder sind stark verbreitert (Reflex 2., 3. und 4. Beugungsordnung in Abbildung 54C). Wie bei 25 °C ist der Reflex der 5. Beugungsordnung systematisch ausgelöscht. Bei 62 °C zeigt die Reflektivitätskurve eine Vielzahl scharfer, schmaler Peaks, die jeweils paarweise auftreten. Der Abstand vom ersten zum dritten Peak und der Abstand vom zweiten zum vierten Peak kann periodisch wiedergefunden werden (Abbildung 54E). Es ergeben sich also zwei Sätze äquidistanter 1D-Reflexe. In der Hochtemperaturphase existieren durch eine Phasenseparation in lipidreiche und mesogenreiche Phase damit zwei unabhängig voneinander streuende Bischichttypen. Eine der beiden Reflexserien (Abbildung 54E: Gitter 1, blau) weist, wie dies für die beiden niedrigeren Temperaturen der Fall war, einen schwachen

(systematisch ausgelöschten) Reflex 5. Beugungsordnung auf. Für die Hochtemperaturphase von C18/18 : DPPC = 1:10 ist die Separation der Bragg-Peaks in zwei Reflexserien mit zugrundeliegenden unabhängig streuenden 1D-Gittern am deutlichsten von allen Mesogen-PC-Gemischen zu erkennen. Auch die Reflexe der jeweils ersten Beugungsordnung sind gut separiert, da sich die Wiederholabstände um 10 Å voneinander unterscheiden.

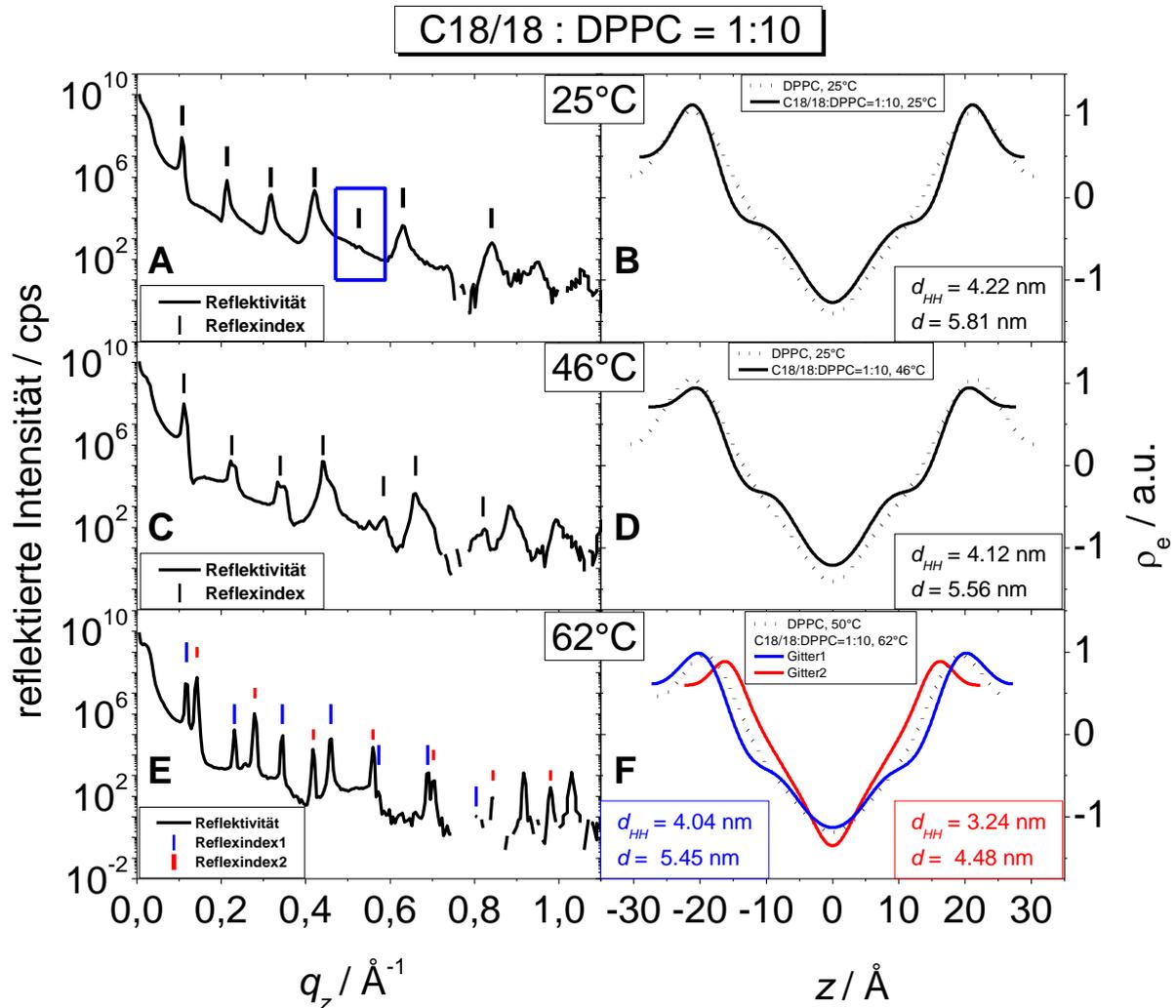


Abbildung 54. Links: Röntgenreflektivitätskurven orientierter Multischichten von C18/18 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (A), 46 °C (C), 62 °C (E) und 99 % RH; rechts daneben: Elektronendichteprofile der Bischichten; vertikale Striche markieren die indizierten Reflexe des 1D-Gitters; für $T < 62 \text{ °C}$ wurde eine Serie Reflexe indiziert und gefittet (schwarze Striche); für 62 °C wurden zwei 1D-Gitter indiziert und gefittet (rote und blaue Striche); den Elektronendichteprofilen des Gemisches sind jeweils die Elektronendichtekurve von DPPC in der L_β -Phase (B, D: 25 °C, gestrichelte Linie) bzw. in der L_α -Phase (F: 50 °C, gestrichelte Linie) gegenübergestellt; markierte Besonderheiten: ausgelöschte 5. Beugungsordnung (Viereck in A).

Für alle Reflektivitätskurven wurden Elektronendichteprofile berechnet. Für die Messungen bei 25 °C bzw. 46 °C wurde je ein Profil erstellt. Der Kopfgruppen- bzw. Wiederholabstand bei 25 °C ist mit $d_{HH} = 4.22 \text{ nm}$ und $d = 5.81 \text{ nm}$ geringer (Abbildung 54B) als bei einer DPPC-Membran bei dieser Temperatur. Folglich muss die interlamellare Wasserschicht reduziert oder die Kopfgruppenkonformation verändert sein im Vergleich zu DPPC-Membranen. Aus dem Elektronendichteprofil bei 46 °C ergeben sich $d_{HH} = 4.12 \text{ nm}$ und $d = 5.56 \text{ nm}$, was deutlich größer als bei einer DPPC-Membran in der L_α -Phase (50 °C) ist (Abbildung 54D). Bei 46 °C ist der Kopfgruppenabstand des Gemisches nur 0.1 nm kleiner als bei 25 °C. Dieser Unterschied vor und nach der Hauptumwandlung ist bei DPPC-Membranen mit 0.44 nm deutlich größer. In der Hochtemperaturphase resultieren zwei unabhängige Elektronendichteprofile (Abbildung 54F) mit

$d_{HH} = 3.26$ nm und $d = 4.48$ nm bzw. $d_{HH} = 4.00$ nm und $d = 5.41$ nm. Die d - und d_{HH} -Werte des *dünnere*n Gitters 1 sind geringer als die einer DPPC-Membran bei 50 °C. Geht man davon aus, dass die Lipidacylketten in der lipidreichen Phase bei 62 °C im fluiden Zustand vorliegen, kann das Elektronendichteprofil des *dünnere*n Gitters 1 der DPPC-reichen Phase zugeordnet werden. Das durch den Einbau von C18/18-Molekülen *dickere* Gitter 2 entspricht dann der mesogenreichen Phase. Generell sinken die Wiederhol- und Kopfgruppenabstände (des Gitters 1) mit steigender Temperatur (Abbildung 55). Das in der Hochtemperaturphase auftretende Gitter 2 weist allerdings nur unwesentlich geringere d - bzw. d_{HH} -Werte auf als das Gitter bei 46 °C.

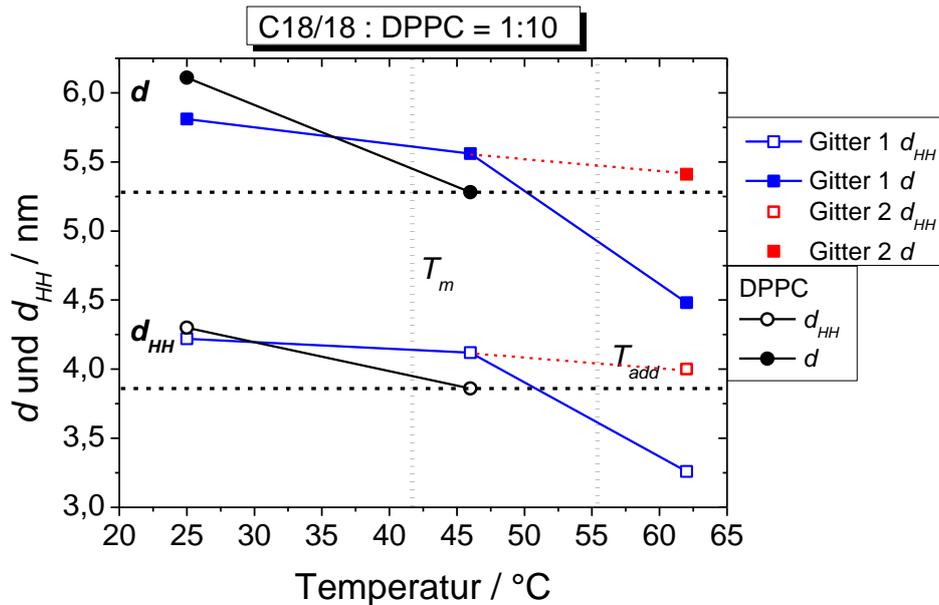


Abbildung 55 Verlauf der Kopfgruppenabstände d_{HH} (offene Symbole) und der Membranwiederholabstände d (ausgefüllte Symbole) orientierter Multischichten von C18/18 : DPPC = 1:10 (Gitter 1: blau, Gitter 2: rot, Daten aus Abbildung 54) und von DPPC (schwarz, Daten aus Abbildung 49) als Funktion der Temperatur; jeweils bei 99 % RH; vertikale Linien markieren thermotrope Umwandlungen des Gemisches (DSC); horizontale Linien charakterisieren die Strukturdaten der L_{α} -Phase der DPPC-Membran.

Von LSFM-Aufnahmen und DSC-Messungen ist bekannt, dass auch bei Raumtemperatur für das Gemisch C18/18 : DPPC = 1:10 eine makroskopische Entmischung vorliegt. Da eine Entmischung mittels Röntgenreflektivität nicht gefunden wird, ist davon auszugehen, dass gleich zusammengesetzte Domänen der in xy-Richtung phasenseparierten Aggregate in z-Richtung nicht hinreichend korreliert sind, um die Reflexe des zweiten Membrantyps zu erhalten.

C6/6 : DPPC = 1:10

Die Reflektivitätskurven orientierter Proben von C6/6 : DPPC = 1:10 bei 25 °C bzw. 50 °C weisen bis zu acht äquidistante Bragg-Reflexe auf, die auf eine lamellare Packung hindeuten. Bei 25 °C in der L_{β} -Phase scheint der Reflex der 6. Beugungsordnung (systematisch) ausgelöscht. Das Streuverhalten des Gemisches ist dem von DPPC-Membranen sehr ähnlich.

Das berechnete Elektronendichteprofil der Bischen bei 25 °C (Abbildung 56B) liefert mit $d_{HH} = 4.26$ nm einen unwesentlich kleineren Wert als für DPPC-Membranen bei gleicher Temperatur, während der Wiederholabstand ($d = 6.32$ nm) der Schichten größer ist als für DPPC-Membranen. Die Dicke der interlamellaren Wasserschicht ist größer und die Lipidkopfgruppen im Gemisch weisen eine andere Konformation als in der reinen DPPC-Probe auf. Die maximale Elektronendichteänderung in der Gemisch-Membran ist ein wenig größer als für die reine DPPC-Membran. Bei 50 °C sind sowohl

$d = 5.31$ nm als auch $d_{HH} = 3.92$ nm des Gemischs größer als bei DPPC-Membranen. In der L_α -Phase induzieren die zugemischten Mesogenmoleküle also eine Aufweitung der Membran.

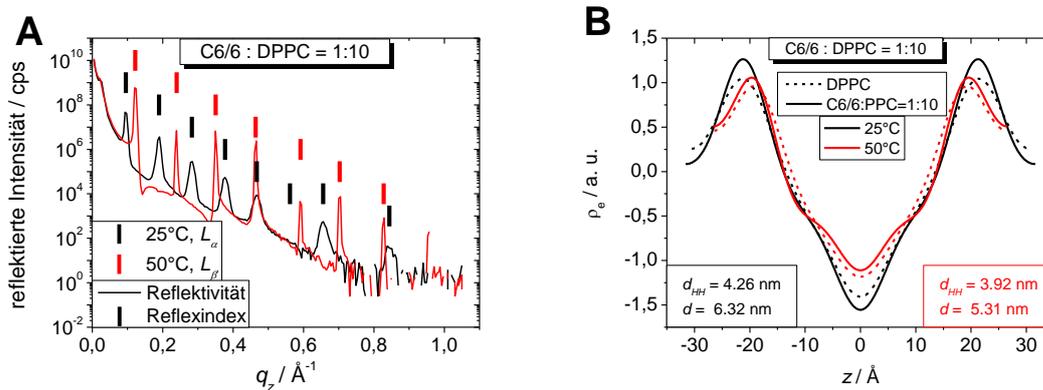


Abbildung 56. A: Röntgenreflektivitätskurven orientierter Multschichten von C6/6 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (schwarz) bzw. 50 °C (rot) und 99 % RH; B: Elektronendichteprofile der Bischichten bei den entsprechenden Temperaturen; vertikale Striche markieren die indizierten Reflexe des 1D-Gitters; den Elektronendichteprofilen des Gemisches sind in B jeweils die Elektronendichtekurve von DPPC (gestrichelte Linie) in der L_β -Phase (25 °C) bzw. in der L_α -Phase (50 °C) gegenübergestellt.

C6/6 kann in DPPC-Bischichten eingebaut werden, ohne einen spezifischen Streueffekt zu erzeugen oder das thermotrope bzw. lyotrope Verhalten der DPPC-Membran gravierend zu ändern

C12/12 : DOPC = 1:10

Wassergesättigte DOPC-Membranen befinden sich im ganzen Temperaturbereich für wässrige Suspensionen in der L_α -Phase. Auch das Gemisch C12/12 : DPPC = 1:10 befindet sich in der fluiden Phase (L_α), da zwischen 2 °C und 95 °C keine thermotrope Umwandlung nachweisbar ist (DSC). Die Reflektivitätskurve des Gemisches bei 25 °C weist fünf äquidistante scharfe Bragg-Peaks auf (Abbildung 57A), was auf eine lamellare Packung zurückgeführt werden kann. Die Reflexanzahl in q_z -Richtung ist kleiner als bei reinem DOPC bei 25 °C, was darauf hindeutet, dass die Stapelordnung der Schichten durch den Einbau der C12/12-Moleküle gestört ist. Obgleich die Intensitäten der Reflexe ab der 5. Beugungsordnung bei der reinen DOPC-Membran auch deutlich geringer sind, fehlen die Reflexe höherer Beugungsordnung beim Gemisch fast gänzlich. Es ist eine Schulter bei $q_z = 0.395$ \AA^{-1} zu beobachten, die auf einem q_z -Wert von reinem C12/12 liegt. Dies weist auf das Vorliegen von reinem C12/12 in der Probe hin. Bei 50 °C treten sieben scharfe äquidistante Bragg-Reflexe auf und der Film scheint besser geordnet zu sein. Das Streuverhalten des Gemisches ist dem von DOPC-Membranen ähnlich.

Für beide Temperaturen können Elektronendichteprofile berechnet werden. Die resultierenden d - bzw. d_{HH} -Werte sind für beide Temperaturen kleiner als bei reinen DOPC-Bischichten (Abbildung 57B). Ein reduzierter Kopfgruppenabstand kann nur durch eine erhöhte Membranfluidität, also eine höhere Anzahl an *gauche*-Konformeren, erreicht werden. Der Wiederholabstand des Membrangemisches bei 50 °C ist um 0.40 nm kleiner als bei 25 °C, wobei der Kopfgruppenabstand bei 50 °C nur geringfügig sinkt. Offensichtlich führt der Temperaturanstieg zu einem Wasserverlust im Lipidkopfgruppenbereich, der stärker ausgebildet ist als bei reinen DOPC-Bischichten (Abbildung 49). Möglicherweise tritt eine Konkurrenz der Lipidkopfgruppen durch Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen mit eingebauten C12/12-Glycerolkopfgruppen auf. Anhand des d_{HH} -Wertes ist denkbar, dass die C12/12-Moleküle (Rückgratlänge 4.0 nm - 4.4 nm) eine Transmembrananordnung einnehmen und dabei relativ zur Membrannormale getiltet sind. Das

würde eine Mischbarkeit stabilisieren. Die Elektronendichtedifferenz vom Maximum (Lipid-Phosphatgruppen) zum Minimum (Berührungsstelle der beiden Monoschichten) ist bei den Gemisch-Membranen bei 25 °C im Vergleich zur reinen DOPC-Membran deutlich erhöht.

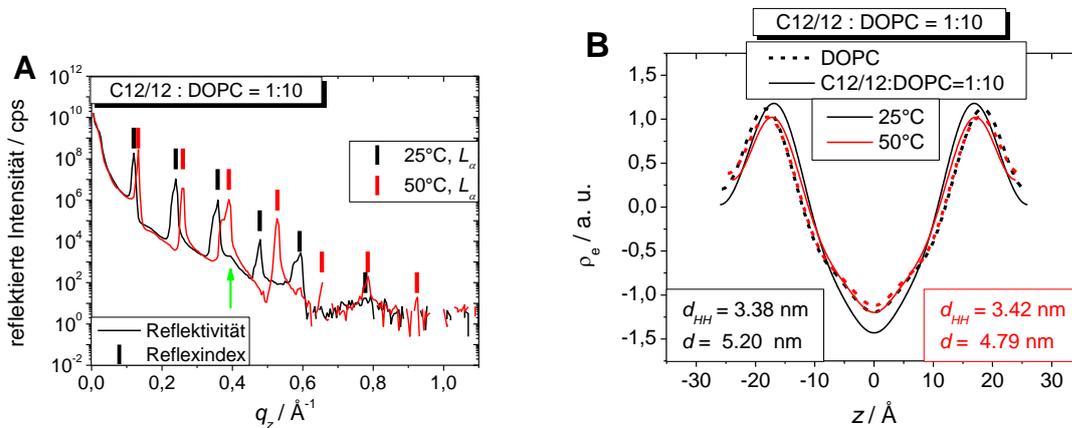


Abbildung 57. A: Röntgenreflektivitätskurven orientierter Multschichten von C12/12 : DOPC = 1:10 bei 25 °C (schwarz) bzw 50 °C (rot) und 99 % RH; B: Elektronendichteprofile der Bischichten bei den entsprechenden Temperaturen; vertikale Striche markieren die indizierten Reflexe des 1D-Gitters; den Elektronendichteprofilen des Gemisches sind in B jeweils die Elektronendichtekurve von DOPC (gestrichelte Linie) bei 25 °C bzw. 50 °C gegenübergestellt; markierte Besonderheiten: Schulter zwischen 3. und 4. Beugungsordnung bei 25 °C (grüner Pfeil in A).

Zusammenfassung Cm/n-PC-Gemische (Röntgenreflektivität)

Mit Hilfe der Röntgenreflektivitätsmessungen wurden für alle untersuchten Gemische Cm/n : PC lamellare Aggregatstrukturen gefunden. Eine Übersicht über die ermittelten Kopfgruppen- und Wiederholabstände zeigt Tabelle 7. Die Wechselwirkung der Lipide mit den Mesogenen führt nicht zur Destabilisierung der für reine Lipidmembranen typischen Bischichtlamellen. Für die Gemische von DPPC mit C12/12 und C18/18 tritt in Abhängigkeit von der Temperatur Phasenseparation in zwei entmischte, unabhängig streuende, lamellare Aggregate auf.

Die Reflektivitätskurven des Gemischs C18/18 : DPPC = 1:10 bei 62 °C zeigen am deutlichsten das Vorliegen zweier unabhängig streuender Lamellenspezies. Offensichtlich führen die langen C₁₈-Ketten des Mesogens zu einem hinreichenden Lamellendickenunterschied bei dennoch guter Ordnung der Schichten, was in den Reflektivitätskurven deutlich sichtbar und klar unterscheidbare Datensätze liefert. Obgleich die Reflektivitätskurven des Gemisches bei 25 °C und 46 °C noch keinen Hinweis auf die Entmischung in zwei Lamellenspezies geben, ist von den LSFM-Aufnahmen bekannt, dass eine makroskopische laterale Entmischung vorliegt (Abbildung 17 und Abbildung 19). Bei diesen Temperaturen sind die in der xy-Ebene entmischten Domänen in der dritten Dimension nicht hinreichend korreliert, um eine zweite Serie Bragg-Reflexe in den Reflektivitätskurven zu liefern.

Das Gemisch C6/6 : DPPC = 1:10 (C6/6 mit den kürzesten lateralen Alkylketten) zeigt bei keiner Temperatur eine Entmischung. Mesogene mit längeren lateralen Alkylketten (C12/12 bzw. C18/18) induzieren stets eine Phasenseparation im Gemisch mit DPPC. Das Gemisch C12/12 : DOPC = 1:10 verhält sich trotz längerer Alkylketten bei den beiden gemessenen Temperaturen ähnlich und liefert ein einziges 1D-Streugitter. Mit LSFM-Messungen wurde gezeigt, dass die C12/12-Moleküle homogen in fluiden DOPC-Membranen verteilt sind. Der Einfluss der Alkylkettenlänge und der Einfluss der Fluidität der Lipide auf die Mischbarkeit von Cm/n-Mesogenen und Lipiden ist damit nachgewiesen.

Tabelle 7. Kopfgruppenabstände d_{HH} bzw. Wiederholabstände d von DPPC- bzw. DOPC-Membranen und von Gemischen Cm/n : PC = 1:x (mit m = n = 6; 12; 18, x = 10; 4 und PC = DPPC; DOPC).

	T/ °C	Parameter Gitter 1		Parameter Gitter 2	
		d_{HH}/nm	d/nm	d_{HH}/nm	d/nm
DPPC	25			4.30	6.13
	50	3.86	5.28		
C12/12 : DPPC = 1:10	25	4.60	6.45		
	48	4.22	5.24	4.40	5.70
	58	3.98	5.21	4.38	5.76
	64	4.22	5.70	4.30	5.33
	75	3.88	5.28		
C12/12 : DPPC = 1:4	25	4.68	6.41	4.94	6.66
	48	3.70	5.51	4.56	6.16
	71	3.96	5.52	5.16	7.15
	78	3.78	5.39		
C18/18 : DPPC = 1:10	25	4.22	5.81		
	46	4.12	5.56		
	62	3.24	4.48	4.04	5.45
C6/6 : DPPC = 1:10	25			4.26	6.32
	50	3.92	5.31		
DOPC	25	3.66	5.14		
	50	3.58	4.94		
C12/12 : DOPC = 1:10	25	3.38	5.20		
	50	3.42	4.79		

3.2.6.3 Röntgenbeugung mit streifendem Einfall (GIXD)

Die Proben, die bei den Röntgenreflektivitätsmessungen verwendet wurden, wurden ebenfalls zur Aufnahme der GIXD-Daten eingesetzt. Die Proben wurden in streifendem Einfall bestrahlt ($\alpha_i = 0.2^\circ$). Sowohl die spekulär reflektierten Bragg-Peaks auf dem Meridian des Flächendetektors (analog zu Reflektivitätsmessungen $\alpha_i = \alpha_f$, siehe auch Materialien und Methoden, S. 17) als auch das im Winkel ψ gestreute Röntgenlicht wurde detektiert. Damit kann die Weitwinkelstreuung des Acylkettengitters der Lipide im Bereich $q_r = 1.3 \text{ \AA}^{-1} - 1.4 \text{ \AA}^{-1}$ sowie der Tiltwinkel von *all-trans*-Acylketten bzw. der Öffnungswinkel fluider Acylketten detektiert werden.¹³³ Schwerpunkt der GIXD-Analysen soll die Alkylkettenpackung der Lipide sein. Die SAXS-Streuung der lamellaren Systeme soll in diesem Kapitel nicht ausführlich behandelt werden, da die lamellare Struktur dieser Proben im Rahmen der Reflektivitätsmessungen bereits diskutiert wurde.

DPPC und DOPC

Bei 25 °C zeigen die DPPC-Membranen im WAXS die erwarteten zwei Bragg-Reflexe im orthorhombischen CH_2 -Gitter mit den *Millerschen* Indizes (020) und (110) im Azimutwinkelbereich $5^\circ - 60^\circ$ (Abbildung 58A).^{134,135} Ein Satz 1D-Streukurven (Abbildung 58B) der Form $L_o(\phi) = f(q_r)$ im Bereich $1.2 \text{ \AA}^{-1} - 1.7 \text{ \AA}^{-1}$ kann aus den 2D-Beugungsbildern entlang der Schnittebenen (Abbildung 58A) im Azimutwinkel ϕ zum Äquator errechnet werden. Der (020)-Reflex ($q_o(020) = 1.4374 \text{ \AA}^{-1}$; $s_{(020)} = 2.288 \text{ nm}^{-1}$) ist im Vergleich zu den Pulverdiffraktometriedaten aus den Messungen an Kapillarproben ($s_{(020)}(\text{DPPC}, 25^\circ\text{C})_{\text{kapill}} = 2.357 \text{ nm}^{-1}$) zu etwas niedrigeren Werten verschoben, während der (110)-Reflex ($q_o(110) = 1.5103 \text{ \AA}^{-1}$; $s_{(110)} = 2.404 \text{ nm}^{-1}$) gut mit den

Pulverdiffraktometriedaten ($s_{(110)}(DPPC, 25\text{ °C})_{\text{kapill}} = 2.402\text{ nm}^{-1}$) übereinstimmt. Das Maximum des (110)-Reflexes und damit der Tiltwinkel der Acylketten liegen bei $\alpha = 26^\circ$. Der erwartete Tiltwinkel einer vollständig hydratisierten DPPC-Membran beträgt 32° .^{45,115,124,136,137} Da aus den Reflektivitätsmessungen bekannt ist, dass die Multischichten nicht vollständig hydratisiert sind, ist ein reduzierter Kettentilt zu erwarten (siehe Reflektivitätsdaten, S. 62).

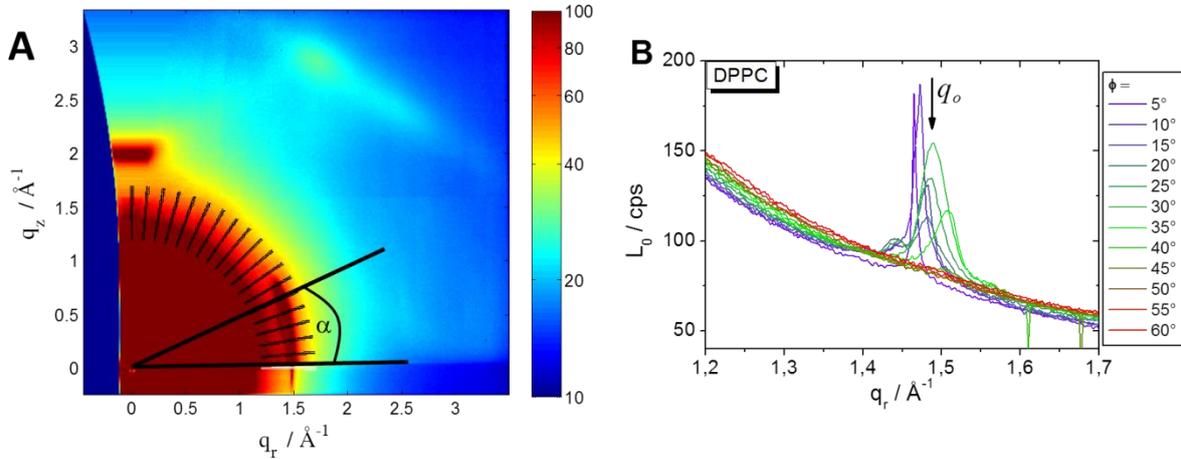


Abbildung 58. A: GIXD-Aufnahmen von DPPC-Multischichten bei 25 °C, der Tiltwinkel α der *all-trans*-Acylketten ist markiert; B: Streuintensität für Schnitte unter verschiedenen Azimutwinkeln ϕ im WAXS-Bereich (1.2 Å – 1.7 Å) an den in A markierten Positionen; da für $\phi > 60^\circ$ keine scharfen Reflexe zu beobachten sind wurde in B nur der Bereich ϕ (0°C - 60°C) dargestellt, die Peaklagen entlang $L_0 = f(q_r)$ werden durch q_0 charakterisiert.

In der L_α -Phase bei 50 °C ist im WAXS lediglich ein Halo zu beobachten, der sich über einen Winkelbereich $\phi = 0^\circ - 30^\circ$ erstreckt (siehe Anhang, S. 4, Abbildung 115). Die DPPC-Membran ist bei 50 °C fluide und die Acylketten sind ungeordnet, weshalb keine scharfen Reflexe im WAXS beobachtet werden können. Der maximale Öffnungswinkel der fluiden Acylketten beträgt 30° .

DOPC-Membranstacks zeigen bei 25 °C und 50 °C im WAXS ebenfalls ein Halo (siehe Anhang, S. 5, Abbildung 116) im Azimutwinkelbereich $\phi = 0^\circ - 30^\circ$. Die Peakintensität verschwindet bei $\phi = 40^\circ$ ($L_0(\phi > 40^\circ) = 0$). Der maximale Öffnungswinkel der Acylketten der DOPC-Membranen beträgt 40° . Wegen der höheren Membranfluidität der DOPC Membranen (25 °C bzw. 50 °C) im Vergleich zur fluiden DPPC-Membran (50 °C), ist der maximale Öffnungswinkel der Acylketten für die DOPC-Bisichten für die beiden gemessenen Temperaturen höher.

C12/12

Orientierte C12/12-Proben weisen im WAXS-Bereich ($1 \leq q_r \leq 2$) ca. 7 sehr scharfe Reflexe auf, die teilweise über den gesamten Azimutwinkelbereich verteilt sind (siehe Anhang, S. 6, Abbildung 117). Eine Indizierung der WAXS-Reflexe ist ohne weitere Information zur Packung der C12/12-Moleküle (z. B. Einkristallstrukturanalyse) nicht möglich.

C12/12 : DPPC = 1:10

Das Gemisch C12/12 : DPPC = 1:10 zeigt bei 25 °C im WAXS-Bereich zwei scharfe Reflexe ($q_0(DPPC) = 1.470\text{ Å}^{-1}$ und 1.533 Å^{-1}), die mit den Positionen der Reflexe von DPPC-Membranen bei 25 °C übereinstimmen (Abbildung 59A). Die Reflexe sind hauptsächlich in der Äquatorialebene des Detektors lokalisiert und zeigen kaum Intensität für $\phi > 28^\circ$. Die Intensitätsverteilung dieser Peaks als Funktion des Azimutwinkels verschiebt sich bei höheren Temperaturen, was darauf hindeutet,

dass sich die Packung der Acylkettensegmente ändert. Der mittlere Tiltwinkel der DPPC-Acylketten bei 25 °C ($\alpha < 20^\circ$) ist im Vergleich zu DPPC-Membranen reduziert. Zusätzlich treten Reflexe bei $q_0 = 1.342 \text{ \AA}^{-1}$ und 1.284 \AA^{-1} auf (Abbildung 59F). Es gibt keine Übereinstimmung zwischen diesen Reflexlagen und denen von C12/12 (Abweichung bis zu 0.035 \AA^{-1} , siehe Anhang, S. 8, Abbildung 119). Bei einem Streuvektor $q_0 = 1.716 \text{ \AA}^{-1}$ wird ein weiterer Peak gefunden, dessen Position identisch mit einem Reflex von C12/12 ist. Es ist davon auszugehen, dass unterschiedliche laterale Packungen koexistieren.

Da eine Entmischung in lipidreiche und mesogenreiche Phase in lateraler Richtung (xy-Ebene) vorliegt, sind Zusatzreflexe zu erwarten. Die Lage der beiden WAXS-Reflexe der DPPC-Acylketten (lipidreiche Phase) ist von der C12/12-Beimengung nicht beeinflusst. Allerdings weist das veränderte Intensitätsprofil als Funktion von ϕ auf einen anderen Acylkettentiltwinkel hin. Die mesogenreiche Phase enthält auch DPPC, wie mit DSC gezeigt werden konnte. Der Streubeitrag dieser Phase könnte also auf die Packung der Acylketten des DPPC ($q_0 = 1.342 \text{ \AA}^{-1}$ und 1.284 \AA^{-1}) oder auf ein Gitter, welches von gepackten C12/12-Molekülen ($q_0 = 1.716 \text{ \AA}^{-1}$) gebildet wird, zurückzuführen sein. Der letztere Fall setzt voraus, dass ein Teil der Mesogene ähnlich gepackt ist wie in der reinen bulk Phase und damit keinerlei Wechselwirkungen mit DPPC aufweist.

Die Beugungsbilder bei 48 °C, 58 °C und 71 °C (Abbildung 59B/C/D) weisen ähnliche Peakpositionen, allerdings mit deutlich geringerer Reflexintensität, auf. Nahezu alle bei 25 °C auftretenden WAXS-Reflexe bleiben auch bei höheren Temperaturen erhalten. Die Reflexpositionen sind mit steigender Temperatur leicht zu kleinen Streuvektoren verschoben (Abbildung 59F). Die Intensitätsverteilung der Reflexe über den Azimutwinkelbereich sinkt ebenfalls mit der Temperatur, und die Reflexe sind immer mehr an der Äquatorialebene des Detektors konzentriert. Damit weisen die Acylketten bei diesen Temperaturen keine bzw. kaum eine Neigung relativ zur Membrannormale auf. Bei 25 °C, 48 °C und 58 °C sitzen die scharfen Peaks auf einem waagerechten Untergrund (gerade Basislinie), während die scharfen Reflexe bei 71 °C von einem breiten Halo überlagert sind (siehe Anhang, S. 7, Abbildung 119). Die ATR-FTIR- (siehe S. 47) bzw. DSC-Daten (siehe S. 39) der Probe zeigen, dass die lipidreiche Phase bei dieser Temperatur bereits in den fluiden Zustand übergegangen ist, während die weiterhin auftretenden scharfen Reflexe wahrscheinlich auf einen Streubeitrag der mesogenreichen Phase zurückzuführen sind. Auch bei den Pulverdiffraktometrieuntersuchungen an Kapillarproben wurde gefunden, dass die WAXS-Reflexe der lipidreichen Phase oberhalb von T_m verschwinden und andere scharfe WAXS-Reflexe zu sehen sind. Da bei 71 °C weiterhin Reflexe mit Streuvektoren der reinen DPPC-Membranen auftreten, ist die Peakzuordnung zu den beiden Phasen nur bedingt möglich.

Bei 75 °C, oberhalb aller Umwandlungen im DSC, ist nur ein breiter Halo zu sehen. Offensichtlich ist die Hochtemperaturphase eine gemischte L_α -Phase, bestehend aus homogen in der fluiden DPPC Membran verteiltem C12/12. Die Haloamplitude verschwindet für $\phi > 33^\circ$. Der maximale Öffnungswinkel der fluiden Acylketten beträgt 33° .

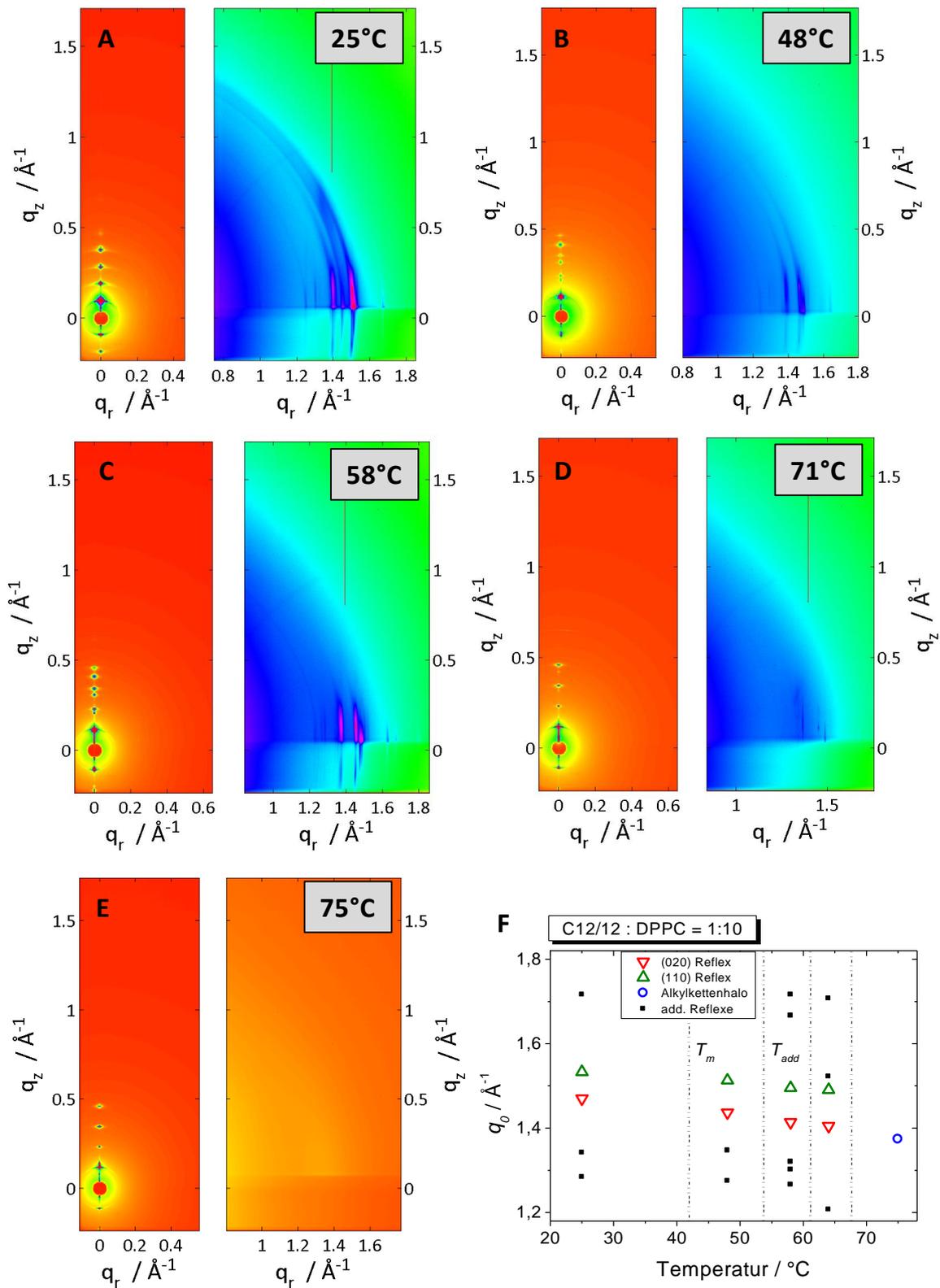


Abbildung 59. GIXD Aufnahmen (SAXS- und WAXS-Bereich unterschiedlich skaliert) orientierter Multischichten aus C12/12 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (A), 48 °C (B), 58 °C (C), 71 °C (D), 75 °C (E) und 99 % RH; F: Peaklagen q_0 im WAXS-Bereich als Funktion der Temperatur.

C12/12 : DPPC = 1:4 und C12/12 : DOPC = 1:10

Im Gemisch C12/12 : DPPC = 1:4 liegt ein anderes Streuverhalten vor als im 1:10-Gemisch. Die Streukurven zeigen bei allen Temperaturen, auch in der Hochtemperaturphase, bis zu acht scharfe

Reflexe, deren Streuvektoren auf Lagen der WAXS-Reflexe des reinen C12/12 liegen (siehe Anhang, S. 7, Abbildung 118). Offensichtlich liegen als Präparationsartefakt C12/12-Aggregate ähnlicher Struktur wie in der C12/12-Bulkphase in der Probe vor. Auch das Gemisch C12/12 : DOPC = 1:10 zeigt bei 20 °C und 50 °C bis zu fünf scharfe WAXS-Reflexe, die ebenfalls auf einen Streubeitrag von reinem C12/12 hindeuten (siehe Anhang, S. 9, Abbildung 120). Die GIXD-Aufnahmen beider Gemische weisen im SAXS-Bereich einen (C12/12 : DOPC = 1:10) bzw. zwei (C12/12 : DPPC = 1:4) Sätze äquidistanter Bragg-Peaks auf, die auf eine bzw. zwei lamellare Strukturen hindeuten. Die mit Reflektometrie gefundene Phasenseparation in zwei Lamellenspezies kann damit bestätigt werden.

C18/18 : DPPC = 1:10

Analog zu C12/12 : DPPC = 1:10 zeigen sich für C18/18 : DPPC = 1:10 bei 25 °C im WAXS-Bereich neben den DPPC-Acylkettenpeaks ($q_0(020) = 1.4320 \text{ \AA}^{-1}$, $q_0(110) = 1.5131 \text{ \AA}^{-1}$) bis zu fünf zusätzliche Reflexe (Abbildung 60 A/D/E). Aus LSFM-Aufnahmen ist bekannt, dass das System eine makroskopische Entmischung zeigt. Die Zusatzreflexe sind also verschiedenen Aggregaten zuzuordnen. Möglicherweise handelt es sich um Acylkettenreflexe des DPPC in verschiedenen Lamellenpackungen. Da die Streuintensität zwischen $0 < \phi < 30^\circ$ verteilt ist, wäre denkbar, dass die Neigung der DPPC-Acylketten in der lipidreichen Phase des Gemisches ähnlich ist, wie bei reinen DPPC-Membranen. Es kann keine Aussage über die genaue Zuordnung der Zusatzpeaks gemacht werden. Das Streumuster von reinem C18/18 liegt nicht vor und kann somit nicht mit dem Gemisch verglichen werden. Bei 46 °C existiert ein sehr scharfer Peak $q_{0max} = 1.477 \text{ \AA}^{-1}$ und drei deutlich schwächere Nebenmaxima (Abbildung 60B). Die Lage keiner der Reflexe stimmt mit typischen Streuvektoren von DPPC-Alkylkettenpeaks überein. Die Nebenmaxima zeigen für $\phi > 15^\circ$ nur eine sehr schwache WAXS-Intensität. Der Reflex bei q_{0max} ist als einziger über nahezu den gesamten ϕ -Winkelbereich ($5^\circ - 95^\circ$) sichtbar, wenn auch mit schwacher Intensität für $\phi > 15^\circ$. Die schärfe der Reflexe weist auf gut orientierte Molekületeile in der Probe hin. Im SAXS-Bereich sind für beide Temperaturen in q_z -Richtung ausschließlich Schichtreflexe der Bischichtstapel zu finden.

In der Hochtemperaturphase (62 °C) sind für $\phi < 20^\circ$ sechs scharfe Reflexe mit geringen Intensitäten zu verzeichnen (Abbildung 60C/E). Für $\phi > 20^\circ$ ist keine WAXS-Streuintensität messbar. Die Positionen der Peaks unterscheiden sich deutlich von denen bei tieferer Temperatur. Die beiden Hauptmaxima liegen bei $q_0 = 1.3375 \text{ \AA}^{-1}$ und 1.4590 \AA^{-1} und damit nicht auf Reflexlage von tieferen Temperaturen bzw. reinem DPPC. Die beiden starken WAXS-Reflexe sind nur in einem kleinen Azimutwinkelbereich zu detektieren (kein Präparationsartefakt). Möglicherweise existieren auch in der Hochtemperaturphase geordnete Bereiche in der Probe. Im SAXS-Bereich sind auf dem Meridian des Detektors (q_z -Vektor) in Analogie zu den Reflektivitätsmessungen zwei Sätze äquidistanter Bragg-Reflexe zu sehen, mit denen zwei unabhängig streuende 1D-Gitter indiziert werden können (siehe Reflektivitätsdaten). Zusätzlich treten in radialer Richtung, außerhalb der q_z -Achse, drei punktförmige sehr scharfe SAXS-Reflexe auf (Abbildung 60F). Gewöhnlich werden solche Reflexe durch nicht-lamellare 2D- oder 3D-Packungen interpretiert.¹²¹ Die Peaklagen verhalten sich nicht wie $1:\sqrt{2}:\sqrt{4}:\dots$, was darauf hindeutet, dass keine hexagonale Phase vorliegt. Da die Schichtreflexe der beiden Membranstapel bis zu hohen Beugungsordnungen (siehe auch Reflektivitätsdaten) auftreten, ist es unwahrscheinlich, dass es sich um Streubeiträge eines rhomboedrischen Gitters handelt. Bei Vorliegen eines homogenen 2D-Gitters sollten derart eindeutige Lamellenreflexe nicht auftreten. Offenbar ist die Hochtemperaturphase entmischt in zwei lamellare Strukturen. In einer könnte zusätzlich eine 3D Periodizität existieren (WAXS und SAXS).

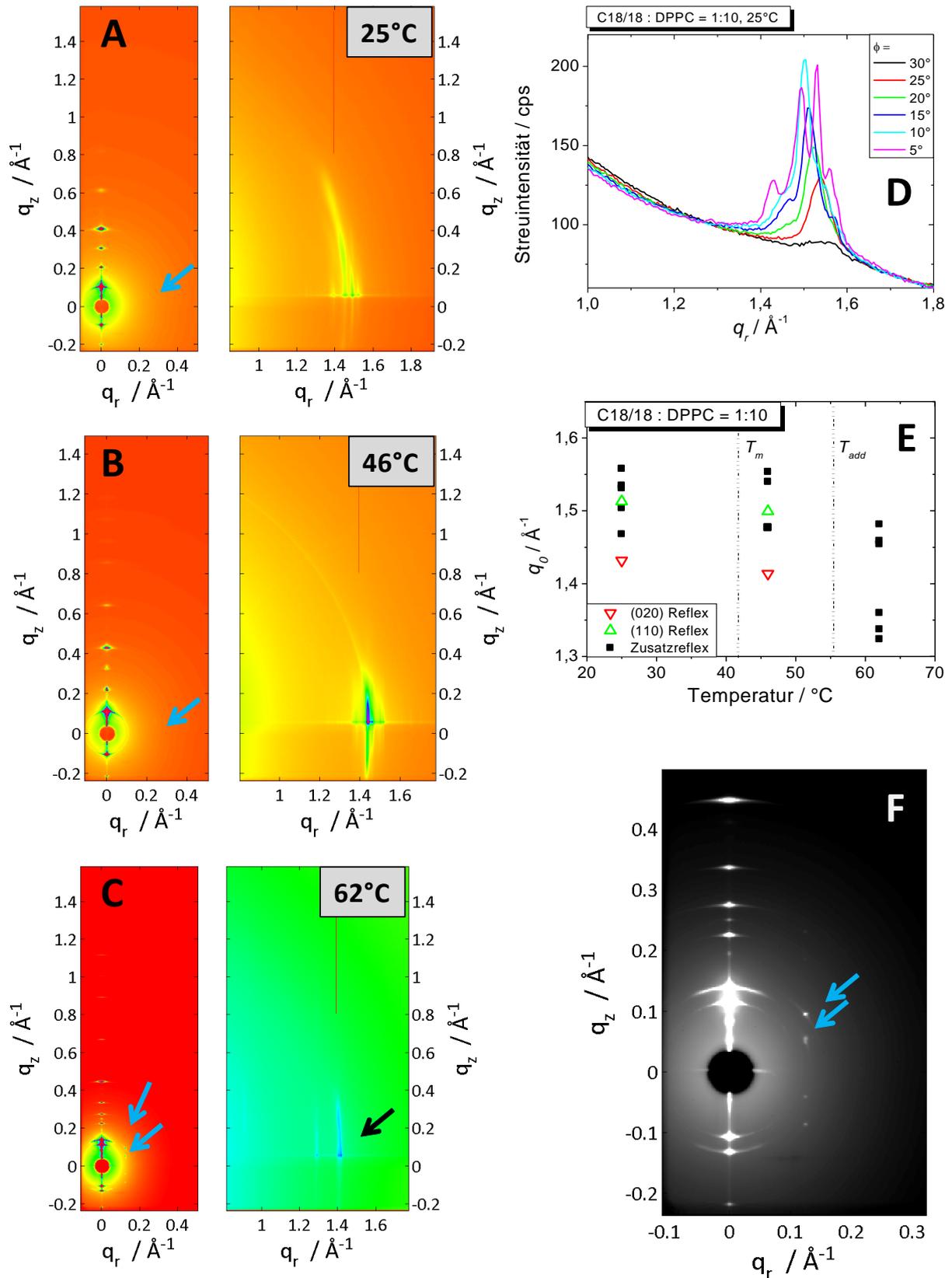


Abbildung 60. GIXD-Aufnahmen (SAXS- und WAXS-Bereich unterschiedlich skaliert) orientierter Multischichten von C18/18 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (A), 46 °C (B), 62 °C (C) und 99 % RH; D: 1D-Peakprofile bei 25 °C; E: WAXS-Peakpositionen als Funktion der Temperatur; F: vergrößerte SAXS-Aufnahme bei 62 °C (verändertes Farbschema zur besseren Sichtbarkeit der punktförmigen Peaks).

C6/6 : DPPC = 1:10

Die WAXS-Streumuster von C6/6 : DPPC = 1:10 bei 25 °C und 50 °C gleichen stark den Streumustern von reinem DPPC bei gleicher Temperatur. Bei 25 °C liegen die DPPC-Acyllkettenreflexe bei $q_0(110) = 1.4528 \text{ \AA}^{-1}$ und $q_0(020) = 1.5211 \text{ \AA}^{-1}$ und sind im Vergleich zu DPPC-Membranen um ca. 0.02 \AA^{-1} zu höheren q_0 -Werten verschoben. Auch der Azimutwinkelbereich der beiden Reflexe ist sehr ähnlich dem von DPPC und, damit sind die DPPC-Acyllketten des Gemisches ähnlich gepackt wie bei DPPC-Membranen in der L_β -Phase. Ein zusätzlicher Streubeitrag des Mesogens oder einer zweiten lamellaren Phase kann nicht beobachtet werden.

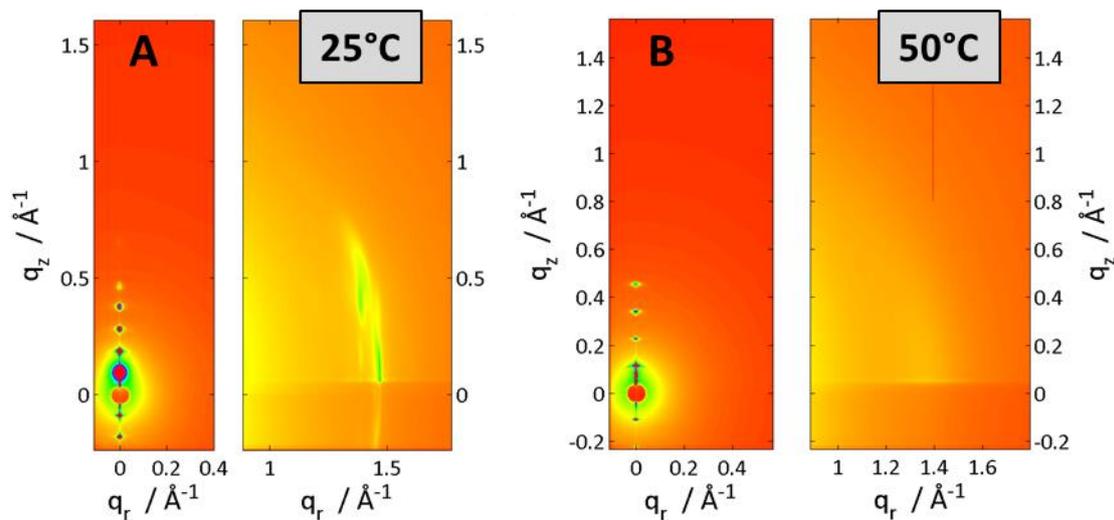


Abbildung 61. GIXD Aufnahmen (SAXS- und WAXS-Bereich unterschiedlich skaliert) orientierter Multischichten von C6/6 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (A), 50 °C (B) und 99 % RH.

In der L_α -Phase (50 °C) tritt lediglich ein Halo fluider Alkylketten bei $q_0 = 1.4101 \text{ \AA}^{-1}$ auf. Das zugemischte C6/6 hat auf die Hauptumwandlung und die Packung der CH_2 -Segmente der DPPC-Acyllketten in beiden Phasen keinen Einfluss. C6/6 ist mit DPPC-Membranen in beiden Phasen mischbar, und die Mesogenmoleküle sind wahrscheinlich homogen in der Membran verteilt.

3.2.6.4 Zusammenfassung Cm/n-PC-Gemische (Röntgenexperimente)

Die Gemische C12/12 : DPPC = 1:x (mit $x = 10; 4$) wurden als Kapillarprobe mittels Pulverdiffraktometrie untersucht. Zusätzlich wurden Cm/n-Gemische mit DPPC bzw. DOPC sowie reines C12/12 mittels Röntgenreflektivität bzw. GIXD unter Verwendung von Synchrotronstrahlung am DESY untersucht. Die Gemische wurden jeweils bei Temperaturen vor und nach jeder thermotropen Umwandlung (DSC) im Temperaturbereich zwischen 25 °C und 80 °C untersucht.

Die Pulverdiffraktometriemessungen der Gemische C12/12 : DPPC = 1:x (mit $x = 10; 4$) belegen, dass für $T > T_m$ geordnete lamellare Phasen mit leicht veränderter Alkylkettenstruktur existieren und erst in der Hochtemperaturphase die Bildung einer gemischten fluiden Phase einsetzt. Die DPPC-Acyllketten der Gemische scheinen ähnlich wie bei DPPC-Membranen in einer *pseudo herringbone*-Packung angeordnet zu sein.

Der Cm/n-Vertreter mit den kürzesten Ketten C6/6 zeigt keine gravierende Beeinflussung des bekannten DPPC-Membranverhaltens. Die gebildeten lamellaren Aggregate zeigen im SAXS- und WAXS-Bereich die gleichen Streumuster wie die reinen DPPC-Membranen. Auch die thermotrope Umwandlung bei 42 °C mit den damit verbundenen Änderungen der Membranfluidität ist zu

beobachten. Gemische der längerkettigen Mesogene C12/12 bzw. C18/18 mit DPPC bilden ebenfalls lamellare Schichten. Allerdings zeigen alle diese Gemische im SAXS-Bereich eine Entmischung und Bildung zweier verschiedener, unabhängig streuender Bishichtaggregate. Wie aus den Daten der zusätzlich eingesetzten Messtechniken (DSC, LSFM, ATR, Fluoreszenzdepolarisation) zu schließen ist, ist eine makroskopische Entmischung auf der großen Längenskala in zwei unterschiedlich dicke Bishichten wahrscheinlich. In Abhängigkeit von der Temperatur existieren also jeweils eine *dünnere* und eine *dickere* Membran. In der Hochtemperaturphase zeigen die Gemische C12/12 : DPPC = 1:x (mit $x = 10; 4$) nur einen Lamellentyp. C12/12 : DPPC = 1:10 bildet dabei eine homogen gemischte L_{α} -Phase. Bei der 1:4-Probe tritt eine präparationsbedingte Entmischung auf Grund der geringen Löslichkeit des C12/12 in CHCl_3/TFE auf. Diese Präparationsartefakte treten auch beim sonst fluiden Gemisch C12/12 : DOPC = 1:10 auf. C18/18 : DPPC = 1:10 bildet in der Hochtemperaturphase zwei Membranen unterschiedlicher Dicke, und auch im WAXS-Bereich sind scharfe Reflexe zu beobachten, die geordnete Strukturen anzeigen. Zusätzlich sind in den GIXD-Bildern punktförmige Reflexe im reziproken Raum, außerhalb des Meridians, zu sehen, die auf eine 2D-Überstruktur (SAXS) oder ein 3D-Gitter (SAXS und WAXS) hinweisen. Für $T < T_{add}$ weisen die Reflektivitätskurven nicht auf eine Phasenseparation hin, allerdings ist durch die übrigen Messmethoden eine Entmischung des Systems belegt. Die verschiedenen Domänen sind in z-Richtung nicht hinreichend korreliert, um bei Reflektivitätsmessungen zwei unterschiedliche Lamellentypen zu zeigen.

Die Länge der lateralen Alkylketten der Mesogene hat also erheblichen Einfluss auf das Mischungsverhalten der Mesogene mit DPPC. So bilden Mesogene mit kurzen lateralen Ketten (C6/6), bei denen offenbar der störende Einfluss der lateralen Ketten auf die Packung klein ist, eine homogene Mischung mit PC. Die für die DPPC- L_{β} -Phase übliche Acylkettenpackung und das thermotrope Verhalten bleiben erhalten. Längere laterale Ketten (C12/12 bzw. C18/18) verursachen eine Entmischung und ein verändertes thermotropes Umwandlungs- und Acylketten-Packungsverhalten. Je länger die Cm/n-Alkylketten sind und damit je sterisch anspruchsvoller der Einbau der Mesogene in eine Lipidmembran wird, desto stärker tritt die Phasenseparation zum Vorschein. Diese Aussage wird von allen bisher besprochenen, bildgebenden Methoden gestützt.

Die Peakpositionen der Reflektivitätskurven und damit die Elektronendichteprofile sind abhängig vom Hydratationsgrad der Membran und deren Präparationsmethode bzw. Probenform. So unterscheiden sich Daten von orientierten Multischichten und Kapillarproben merklich voneinander. Daher und wegen der präparationsbedingten Besonderheiten bei den Messungen an orientierten Proben, ist die Vergleichbarkeit der Pulverdiffraktometrie- und Synchrotronmessungen nur bedingt gegeben. Der Trend der Peakpositionsänderung in Abhängigkeit von Temperatur und Gehalt an Mesogen ist allerdings bei beiden Methoden ähnlich.

3.3 Zusammenfassung Cm/n und Em/n

Die X-förmigen Mesogene der Klasse Cm/n und Em/n sind in den organischen Lösungsmitteln CHCl_3 , TFE und Essigester löslich, wobei sich teilweise durch π - π -Wechselwirkungen Aggregate bilden und damit keine Lösung im eigentlichen Sinne vorliegt.⁷³ Mit Wasser bilden die Mesogene keine lyotropen Phasen und sind unlöslich.

Obwohl die Cm/n-Mesogene als Reinsubstanzen keine lyotropen Phasen in Wasser bilden, lassen sie sich in Phospholipidmembranen einbauen.

TEM-Aufnahmen zeigen, dass Gemische der langkettigen Verbindungen C12/12 bzw. C18/18 mit DPPC im Verhältnis 1:10 vesikuläre Strukturen ausbilden, während bei einem Mischungsverhältnis 1:4 die Bildung planarer Schichten favorisiert wird und runde Vesikelstrukturen destabilisiert werden.

LSFM-Untersuchungen stützen die Befunde der TEM-Aufnahmen und liefern die zusätzliche Information, dass die Vesikel der 1:10-Gemische aus C12/12 bzw. C18/18 mit DPPC makroskopisch phasensepariert sind. Im Zweifarboxperiment (Kanal 1: 0.5 Gew.-% Rh-DHPE, Kanal 2: Fluoreszenz von Cm/n) wird deutlich, dass die Areale der Fluoreszenz der Mesogene und die der Markerlipide räumlich gut getrennt sind. Dabei treten oft Domänen in der Form sechsstrahliger fraktal-verzweigter Sterne verschiedener Größe auf, in denen Cm/n angereichert ist. Bei höheren Mesogengehalten (C12/12 : DPPC = 1:4) sind planare bzw. gewellte Schichten zu sehen, die ebenfalls eine Phasenseparation zeigen. C6/6, mit den kürzesten Alkylketten, verhält sich grundlegend anders. Die Gemische von C6/6 mit DPPC im Verhältnis 1:10 und 1:4 bilden gemischte GUV mit colokalisierten Fluorophoren. Es ist eine starke Tendenz zum Bleichen des Rh-Farbstoffes zu verzeichnen, was auf die Nähe der beiden Fluoreszenzmarker in der Mischung zurückgeführt werden kann. Die genaue Ursache des Bleichens konnte aber nicht abschließend geklärt werden. Die Mischbarkeit der Mesogene Cm/n mit DPPC hängt stark von der Länge der lateralen Alkylketten ab. C6/6 mit kurzen Ketten zeigt eher eine Mischbarkeit, wohingegen bei C12/12 bzw. C18/18 mit DPPC eine makroskopische Phasenseparation auftritt. Die lateralen Cm/n-Alkylketten stören also den Einbau der Mesogene in die Lipidmembran, und dieser Trend scheint mit steigender Kettenlänge zu wachsen, da die Größe der mesogenreichen Domänen mit der Länge der Alkylketten wächst.

Auch das Gemisch E12/12 : DPPC = 1:10 zeigt trotz des verkürzten Molekülrückgrates des E12/12 eine deutliche Phasenseparation. Damit kann die Entmischungstendenz auf die Länge der flexiblen lateralen Ketten und nicht auf die Molekülrückgratgröße zurückgeführt werden. Die Moleküle Cm/n und E12/12 bilden in der Volumenphase eine thermotrope flüssigkristalline Mesophase vor dem Schmelzen. C12/12 und C18/18 zeigen col_{hex} -Phasen und E12/12 eine nematische Mesophase. Es scheint, als würde die Form der mesogenreichen Domänen in den GUV (Cm/n : DPPC = 1:10) mit dem Packungsmodus der Mesogene in ihrer flüssigkristallinen Phase zusammenhängen.

Bei Gemischen der Moleküle Cm/n mit DOPC, welche bei Raumtemperatur fluide Membranen bilden ($T_m = -20^\circ\text{C}$), zeigen sich ausschließlich runde gemischte GUV. Beide Farbstoffe sind colokalisiert, wobei sich mit dem polarisierten Anregungslicht für die Mesogenfluoreszenz eine periodische Fluoreszenzintensitätsvariation entlang der GUV-Meridiane ergibt. Dem Effekt liegt eine Orientierung der Cm/n-Moleküle in der Membran zugrunde. Es ergibt sich ein maximaler Tiltwinkel der Molekülrückgrate von ca. 45° relativ zur Membrannormale.

Die mit Fluoreszenztechniken beobachtete Entmischung konnte mittels DSC-Messungen untermauert werden. Die Thermogramme der Gemische von Cm/n bzw. E12/12 mit DPPC bzw. DMPC zeigten

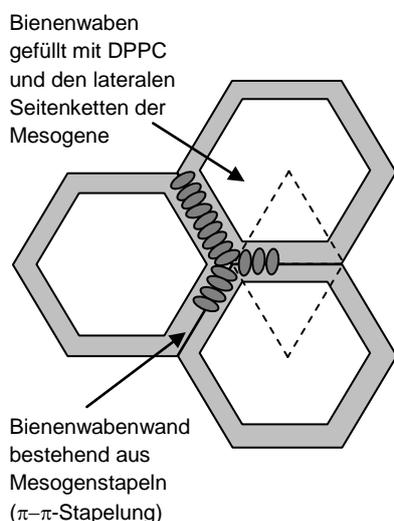
immer einen Hauptumwandlungspeak bei T_m der reinen Lipidmembran, deren Position bei steigendem Mesogengehalt nahezu unverändert blieb. Zusätzlich waren bis zu drei Umwandlungen bei höheren Temperaturen zu sehen. Offensichtlich gibt es eine Phasenseparation in eine lipidreiche (Umwandlung bei T_m) und mindestens eine mesogenreiche Phase (Zusatzumwandlungen). Die Umwandlungsenthalpie der Hauptumwandlung sinkt viel schneller als der Gehalt an Lipid im Gemisch, woraus geschlossen werden kann, dass ein nicht unerheblicher Teil des Lipides in den Mesogendomänen lokalisiert ist. Die Affinität der Mesogene zu den PCs ist von den Alkylkettenlängen beider Moleküle abhängig. Gemische des kurzkettigen C6/6 mit DPPC weisen keine intensive Zusatzumwandlung auf, die gleichen Gemische mit DMPC zeigen intensive Zusatzumwandlungspeaks. Bei C12/12 mit längeren Alkylketten ist eine Entmischung mit PCs mit längeren Acylketten deutlicher. Bei vielen Proben blieb die Vorumwandlung der lipidreichen Phase ($L_{\beta'}$ zu $P_{\beta'}$) auch bei höherem Mesogengehalt in der Probe erhalten, was darauf hinweist, dass die Struktur der lipidreichen Phase kaum verändert ist und diese nur sehr wenig Mesogen enthält.

Mit Hilfe der FT-IR-Spektroskopie konnten die im DSC beobachteten Übergänge teilweise zugeordnet werden. Die Lage der $\nu_{as/s}(CD_2)$ -Banden des Lipides (DPPC- d_{62}) ändert sich im Temperaturbereich von T_m bis zu den Zusatzumwandlungen (Übergänge von *all-trans*- zu *gauche*-Acylketten). Eine systematische Änderung der $\nu(CH_2)$ -Banden des Mesogens ist in keinem Fall zu verzeichnen, und damit sind die lateralen Mesogen-Alkylketten über den gesamten Temperaturbereich ungeordnet. Durch Verwendung von orientierten Multischichten auf einem ATR-Kristall und polarisiertem IR-Licht konnten Informationen über die Orientierung der Molekülrückgrate der Mesogene relativ zur Kristall- bzw. Membrannormale gewonnen werden (Auswertung der Ringschwingungsbanden bei 1518 cm^{-1} bzw. 1607 cm^{-1}). Für C12/12 : DPPC = 1:4 ergibt sich eine hohe Ordnung der Mesogene. Es kann allerdings wegen der Phasenseparation nur eine mittlere Orientierung der Mesogen-MDs von $\theta = 27^\circ$ bestimmt werden. Für die fluide Membran aus C12/12 : DOPC = 1:10 wurde der Tiltwinkel der C12/12-Rückgrate in guter Übereinstimmung mit den LSFM-Untersuchungen zu $\theta = 41^\circ$ bestimmt.

Durch temperaturabhängige Fluoreszenzdepolarisationsmessungen, bei denen die Mesogene als Fluorophor dienten, konnte für Cm/n : DPPC = 1:X (mit $m = n = 12; 18$ und $X = 10; 4; 1$) ein Abfall der Fluoreszenzanisotropie zusammen mit den thermotropen Zusatzumwandlungen (DSC) festgestellt werden. Somit sind die Zusatzumwandlungen im DSC korreliert mit der Mobilisierung der Mesogene innerhalb der Membran. In der Hochtemperaturphase, oberhalb aller thermotropen Umwandlungen, zeigen die Mesogene eine hohe Mobilität innerhalb der Membran. Es existiert offenbar eine gemischte L_α -Phase.

Eine wichtige Erkenntnis zum Phasenseparationsverhalten der Cm/n–DPPC–Systeme liefern Röntgenuntersuchungen. So konnte gezeigt werden, dass es für die Gemische Cm/n : DPPC = 1:10 (mit $m = n = 12; 18$) zu einer makroskopischen Entmischung in zwei verschiedene, unterschiedlich dicke Bishichtsysteme kommt. In der Hochtemperaturphase liegt für C12/12 : DPPC = 1:10 wieder eine einzige Membranspezies vor und die Acylketten sind ungeordnet (Halo im WAXS), während für C18/18 : DPPC = 1:10 weiter eine laterale Entmischung innerhalb der Membran besteht. Für letzteres Gemisch wurden im SAXS-Bereich zusätzliche punktuelle Reflexe gefunden, welche die Indizierung eines 2D- oder 3D-Gitters rechtfertigen. C6/6 : DPPC = 1:10 (C6/6 mit den kürzesten Alkylketten) hingegen zeigte ein ähnliches Streuverhalten wie reine DPPC-Membranen, und so existieren bei 25°C um ca. 30° geneigte DPPC-Acylketten in *all-trans*-Konformation bzw. oberhalb von 42°C nur ungeordnete, fluide Alkylketten.

Die X-förmigen Mesogene sind bolaamphiphilartig und als solche potentiell mit Phospholipiden mischbar. Doch je länger die laterale Alkylkette der Amphiphile wird, desto mehr ist die Bolaamphiphilarchitektur gestört und die Moleküle neigen zur Phasenseparation im Gemisch mit Phospholipiden. Die gebildete mesogenreiche Phase besteht aus dicht gepackten Mesogenmolekülen (π - π -Wechselwirkungen), deren Molekürückgrate im Mittel parallel zur Membrannormalen orientiert sind. Es sind mehrere Modelle zur Erklärung der Packung der Mesogene und der resultierenden dendritischen Domänenstruktur (LSFM) möglich. Die Mesogene könnten sich an den Defektlinien der DPPC-Mosaikdomänen (Gelphasen), die beim Abkühlen nach Präparation bei hohen Temperaturen (oberhalb T_m) gebildet werden, anreichern. Dies hätte aber ein zufälliges Netzwerk mesogengefüllter Risse zur Folge anstelle der regulären Sterndomänen mit hexagonaler Symmetrie. Diese hexagonale Symmetrie könnte durch die Ordnung der DPPC-Acyllketten hervorgerufen sein, welche in unmittelbarer Umgebung der Mesogene kristallisieren (*all-trans*-Konformation mit ca. 30° Neigung zur Membrannormalen, wurde eingeführt von De Almeida *et al.* als „Solid Docks“-Hypothese¹³⁸). Dafür müsste eine hexagonale Acylkettenpackung (Zeit- und Ortsmittel) statt der üblichen orthorhombischen Symmetrie vorliegen. Die lokale Kristallisation in der Nähe der Mesogene wird durch die Tatsache bestärkt, dass die Umwandlung der DPPC-Acyllketten (L_{β^-} zu L_{α} -Phase) in der mesogenreichen Phase bei T_{add} zu viel höheren Temperaturen als T_m verschoben ist. Da die Mesogenrückgrate über π - π -Wechselwirkungen miteinander in Interaktion stehen, ist es möglich, dass diese ausgedehnte Filamente bilden, die zusätzlich durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Mesogenkopfguppen stabilisiert werden. Benachbarte Filamente wären durch die Mesogenalkylketten, welche in Wechselwirkung mit DPPC-Acyllketten treten, voneinander getrennt. Die starren Filamente verbinden und stabilisieren größere DPPC-



Domänen (L_{β^-} -Phase) und sorgen für eine runde glatte Vesikelgestalt anstelle der für DPPC-Gelphasen üblichen facettierten Membran. Die sechszählige Symmetrie der Mesogendomänen könnte aus der Zusammenlagerung der Filamente zu einem regelmäßigen hexagonalen Netzwerk resultieren. Ein Modell, welches alle genannten Annahmen enthält, ist in Abbildung 62 dargestellt. Die resultierenden Bienenwaben enthalten die lateralen Alkylketten der Mesogene und immobilisierte DPPC-Moleküle. Die Bildung polygonaler Bienenwabenstrukturen ist eine bekannte Organisationsform der X-förmigen Mesogene (Reinsubstanz) in der thermotrop flüssigkristallinen Phase.^{68,139-141} Das Wechselwirkungsmodell ist wahrscheinlich, obgleich noch weitere Informationen zur mesoskaligen Struktur notwendig sind, um es zu stützen.

Abbildung 62. Packungsmodell für Cm/n-Mesogene bei Wechselwirkung mit PC-Membranen; makroskopische Entmischung; hexagonale Bienenwabenstruktur (Schnitt senkrecht zur Membrannormale).



4 Seitenkettenmodifizierte X-förmige Polyphile der Klasse Bm/n

Ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung des Einflusses der Affinität modifizierter lateraler Ketten der X-förmigen Mesogene auf deren lyotrope Eigenschaften sowie deren Mischungsverhalten gegenüber PC in Membranen. Analog zu den Cm/n-Amphiphilen bestehen die Bm/n-Mesogene aus einem Oligo-(Phenylen-Alkinylen)-Grundgerüst und zwei Glycerol-Kopfgruppen. Der zentrale Phenylring trägt eine Alkyl- und eine Semiperfluoralkylkette in para-Stellung. Die Bm/n-Mesogene weisen hydrophile (Kopfgruppen), lipophile (Rückgrat und laterale Alkylkette) und fluorophile (laterale Perfluoralkylkette) Molekülteile auf und gehören nach Tournilhac *et al.* zur Klasse der Polyphile (triphil, Abbildung 63).⁵⁴ Perfluoralkylketten weisen eine helikale Anordnung auf und sind dadurch im Vergleich zu Alkylketten starr und wenig beweglich.¹⁴² Um die nötige Flexibilität für den Einbau der Polyphile in Lipidmembranen zu gewährleisten, sind die Perfluoralkylketten mit einem C₄-Alkylspacer am zentralen Phenylring mittels Etherbindung verknüpft (Semiperfluoralkylkette).

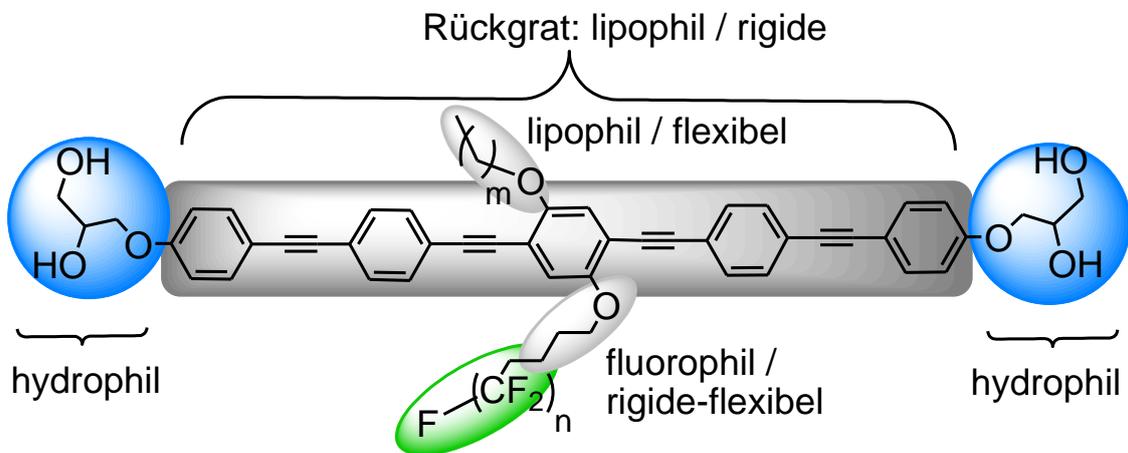


Abbildung 63. Allgemeine Struktur der X-förmigen Bolapolyphile der Klasse Bm/n; variable Länge der lateralen Alkylkette ($m = 18; 16$) bzw. der durch C₄-Spacer am Grundgerüst veretherten Perfluoralkylkette ($n = 6; 10$).

Analog zu den Bolaamphiphilen Cm/n bilden die Bolapolyphile Bm/n als Reinsubstanz vor dem Schmelzen col_{hex}-Mesophasen (Abbildung 6B). Eine Übersicht der verwendeten Bolapolyphile und deren thermotropes Mesophasenverhalten gibt Tabelle 3.

4.1 Spektroskopische Eigenschaften

Da die zentrale Struktur (Rückgrat und Kopfgruppen) der Bm/n-Mesogene der der Cm/n-Verbindungen entspricht, treten die aus der Struktur des Molekülrückgrates resultierenden Eigenschaften bei den Molekülen Bm/n ebenfalls auf. Da die Perfluoralkylkette durch den C₄-Alkylspacer hinreichend weit vom Grundgerüst entfernt ist, haben die Fluoratome dieser Kette nur einen vernachlässigbar kleinen Einfluss auf die elektronische Struktur des Molekülrückgrates. Die Bm/n-Verbindungen sind wie die Cm/n-Mesogene als Feststoff intensiv gelb gefärbt und löslich in CHCl₃, TFE und Essigester, wobei die Lösungen ebenfalls eine intensiv gelbe Farbe und bläuliche Opaleszenz aufweisen. Die Opaleszenz deutet darauf hin, dass Aggregate der Polyphile und keinen solvatisierten Einzelmoleküle im organischen Lösungsmittel vorliegen. Die Bm/n-Mesogene zeigen eine Fluoreszenz mit Anregungsmaxima bei $\lambda^{ex1} = 333$ nm und $\lambda^{ex2} = 380$ nm (UV/VIS-Absorption, Abbildung 64A) und einem breiten Emissionsbereich zwischen 400 nm und 525 nm. Die

Fluoreszenzmaxima liegen, unabhängig davon, ob mit λ^{ex1} oder λ^{ex2} angeregt wird, bei $\lambda^{em1} = 425$ nm und $\lambda^{em2} = 447$ nm (Abbildung 64A). Die Bm/n-Mesogene können somit in fluoreszenzspektroskopischen bzw. fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen als Fluorophor verwendet werden.

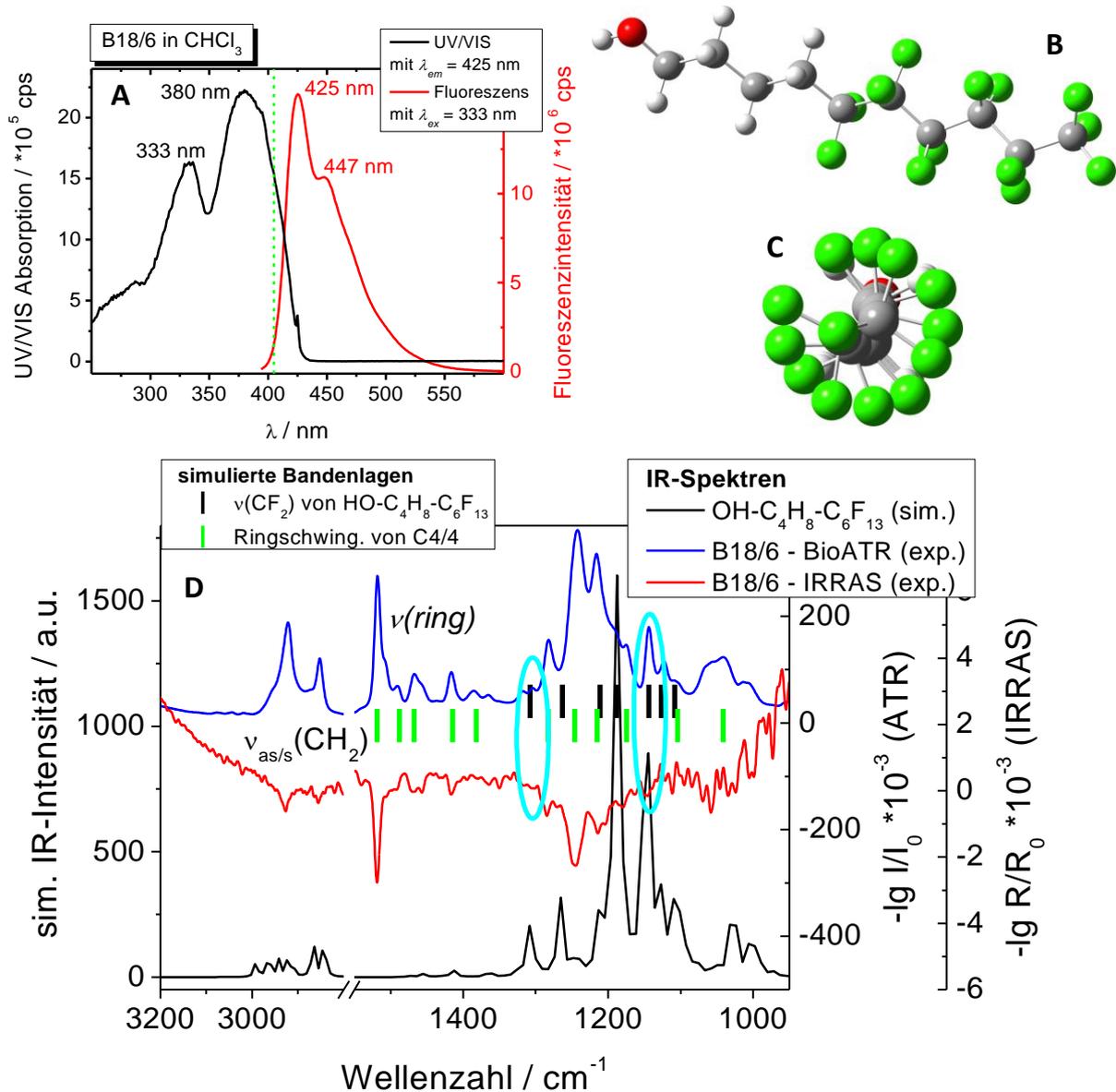


Abbildung 64. A: UV/VIS- (schwarz) und Fluoreszenzspektrum (rot) von B18/6 ($c = 10^{-8}$ M in CHCl_3); die grüne gestrichelte Linie markiert die Anregungswellenlänge für LSFM-Experimente; B/C: Ergebnisse der DFT-Rechnungen (Energiminimierung: B3LYP, 6-311G(2p,2d)) für das Molekülfragment $\text{HO-C}_4\text{H}_8\text{-C}_6\text{F}_{13}$: geometrieoptimierte Struktur mit Blick auf die Längsachse des Moleküls (B) bzw. entlang des C-Gerüsts (C); D: berechnetes IR-Spektrum von C4/4 (schwarze Linie, aus Abbildung 39), experimentelles IR-Spektrum von B18/6 (blaue Linie, trockener B18/6-Film auf Si-ATR-Kristall) und IRRAS-Spektrum eines B18/6-Filmes an der Luft/Wasser-Grenzfläche (rote Linie); markierte Besonderheiten: Bandenpositionen der B18/6-Ringschwingungen (grüne vertikale Striche, berechnet für C4/4); Bandenpositionen der CF_2 -Schwingungen des Molekülfragmentes $\text{HO-C}_4\text{H}_8\text{-C}_6\text{F}_{13}$ (schwarze vertikale Striche), Bereiche, an denen die Banden der CF_2 -Schwingungen isoliert von denen der Ringschwingungen auftreten (blaue Ellipsen); experimentelle Spektren bei 20 °C aufgenommen.

Für die B18/6-Polyphile sind wegen der gleichen Rückgratstruktur die gleichen Banden der IR-aktiven Ringschwingungen wie bei C12/12 vorhanden. Diese wurden mit Hilfe von DFT-Rechnungen am Modellmolekül C4/4 zugeordnet (siehe oben, S. 50, Abbildung 39). Die Intensität der CH_2 -Schwingungen variiert mit der Anzahl an CH_2 -Segmenten m der lateralen Alkylkette. Für trockene

B18/6-Filme (ATR) sind im ATR-FTIR-Spektrum CF_2 -Banden zu finden (Abbildung 64D, blaue Linie). Die Lage der CF_2 -Banden ($1120 \text{ cm}^{-1} - 1365 \text{ cm}^{-1}$)¹⁴³ für B18/6 wurde via DFT-Energieminimierung (B3LYP, 6-311G(2p,2d), GAUSSIAN03)⁸¹ der lateralen Semiperfluoralkylkette $\text{HO-C}_4\text{H}_8\text{-C}_6\text{F}_{13}$ von B18/6 (Struktur in Abbildung 64B/C und Bandenlagen: schwarze vertikale Striche in Abbildung 64D) aus den Kraftkonstanten der Bindungen bestimmt. Da weder das Molekülrückgrat, noch die Kopfgruppen, oder die andere laterale Alkylkette Einfluss auf die Lage der $\nu(\text{CF}_2)$ -Banden haben, wurde zu deren Bestimmung lediglich die Semiperfluoralkylkette geometrieoptimiert, um Rechenzeit zu sparen. Die Perfluoralkylkettenlänge n hat kaum Einfluss auf die Lage der $\nu(\text{CF}_2)$ -Banden. Die CF_2 -Schwingungsbanden sind teilweise im gleichen Spektralbereich wie die Ringschwingungen zu finden. Eine eindeutige Zuordnung der Banden im experimentellen ATR-FTIR-Spektrum von B18/6 in diesen Bereichen ist damit schwierig. Zwei CF_2 -Schwingungen sind spektral gut separiert (blaue Ellipsen in Abbildung 64D). Allerdings sind die Übergangsdipolmomente der C-F-Schwingungen gering,¹⁴⁴ und die Banden in IRRAS-Spektren von B18/6 (rote Linie in Abbildung 64D) oder ATR-FTIR-Spektren von wässrigen Gemischen aus Bm/n und PC nicht zu sehen.

Die geometrieoptimierte Semiperfluoralkylkette $\text{HO-C}_4\text{H}_8\text{-C}_6\text{F}_{13}$ weist für das C_4 -Alkylfragment eine *all-trans*-Konformation (Abbildung 64B) und für den perfluorierten Molekülteil eine helikale Struktur (Abbildung 64C) auf. Das C-Gerüst der Perfluoralkylkette nimmt keine *all-trans*-Anordnung ein, da auf Grund der Größe der F-Atome keine coplanare Anordnung der CF_2 -Segmente vorliegen kann. So existiert für die Perfluoralkylkette eine helikale Struktur, wobei übernächste CF_2 -Segmente um ca 30° gegenüber einer *all-trans*-Anordnung gedreht sind. Mit TD-DFT-Rechnungen⁷⁵ wurden die Rotationsbarrieren der C-C-Bindungen für die Semiperfluoralkylkette bestimmt. Die $\text{CX}_2\text{-CX}_2$ -Rotationsbarrieren für den $-\text{C}_6\text{F}_{13}$ -Rest sind deutlich größer als für den $-\text{C}_4\text{H}_8$ -Kettenteil.

4.2 Lyotropes Verhalten der X-förmigen Polyphile Bm/n

Alle untersuchten Vertreter der Klasse Bm/n sind nicht in Wasser löslich und bilden keine lyotropen Phasen. Sie sind jedoch grenzflächenaktiv und bilden Filme an der Luft/Wasser-Grenzfläche.

4.2.1 Langmuirfilme

Die Filme aller Bm/n-Mesogene an der Luft/Wasser-Grenzfläche verhalten sich im Prinzip relativ ähnlich. Das generelle Verhalten soll an der Substanz B18/6 ausführlich dargelegt werden und für die anderen Mesogene vergleichend diskutiert werden.

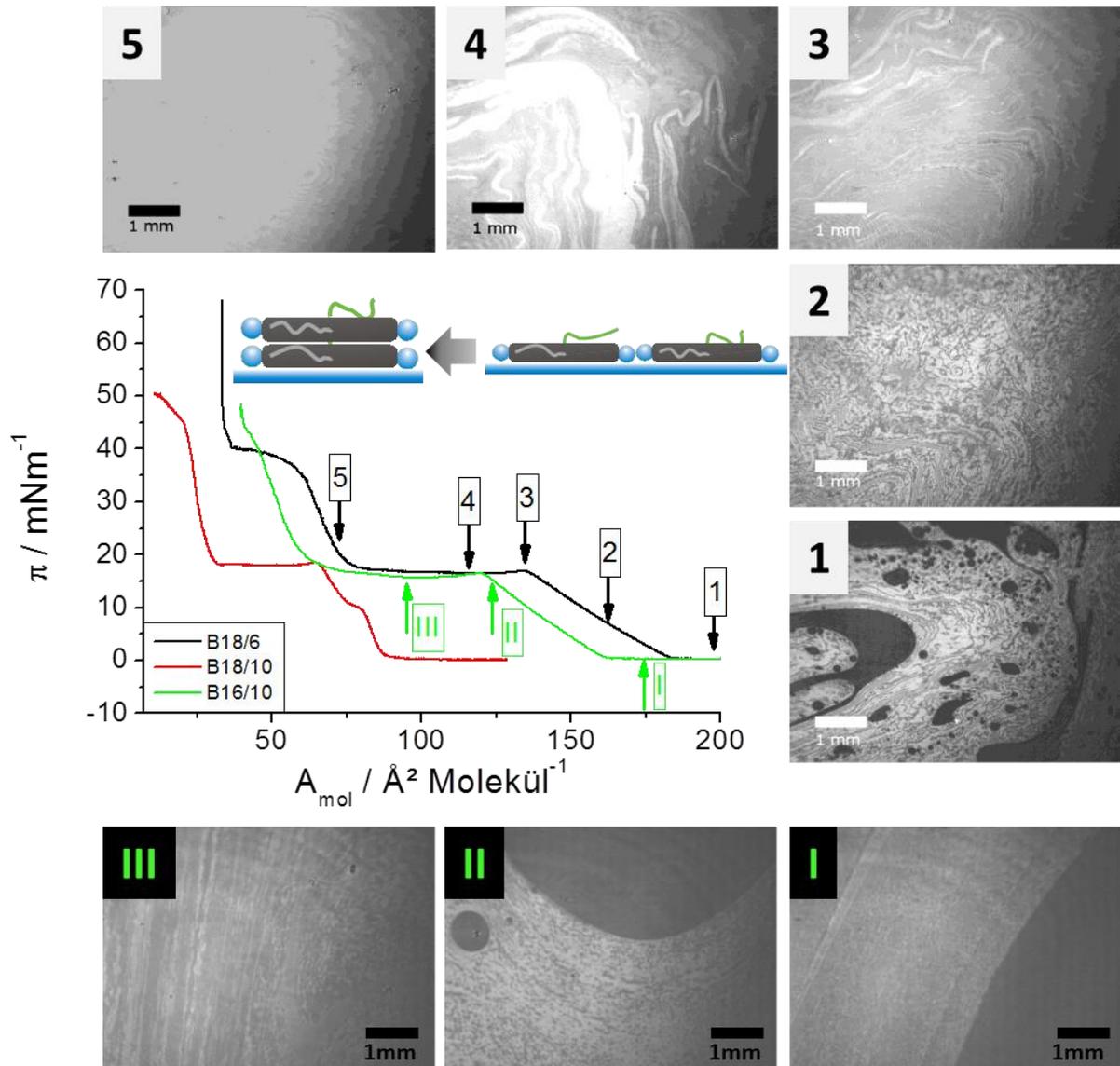


Abbildung 65. Mitte: Kompressionsisothermen der Filme von B18/6 (schwarz), B18/10 (rot) und B16/10 (grün), $v_{\text{kompr}} = 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$; Tafel 1 - 5: BAM-Aufnahmen des B18/6-Films (bei Tafel 5 wurde der Kontrast nachskaliert); Tafel I - III: BAM-Aufnahmen des B16/10-Films; jeweils bei den in der Isotherme gekennzeichneten A_{mol} .

B18/6-Filme

B18/6 bildet auf der Wasseroberfläche stabile Filme bis zu hohen Oberflächendrücken von $\pi = 68 \text{ mN m}^{-1}$. Der *Lift-off* erfolgt bei $184 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (Abbildung 65, schwarze Kurve), was

ungefähr der Fläche des Moleküllrückgrates entspricht. Die B18/6-Moleküle liegen bis zum *Lift-off* offenbar flach auf der Wasseroberfläche. Nach dem ersten Anstieg ist ein ausgedehntes Plateau zwischen $133 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (16.9 mN m^{-1}) und $78.5 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (17.6 mN m^{-1} , Tabelle 8) zu verzeichnen. Die molekulare Fläche halbiert sich bei der Kompression, was auf die Bildung einer molekularen Doppelschicht hindeutet (Schema in Abbildung 65A/B).^{145–149}

Bei Kompressionsgeschwindigkeiten von $v_{\text{kompr}} > 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$ kommt es zum Kollaps des fragilen Filmes nach dem zweiten Anstieg bei ca. $50 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (40 mN m^{-1}). Wird mit Geschwindigkeiten von $\leq 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$ komprimiert, kann ein zweites (Pseudo-)Plateau zwischen $53 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (38.1 mN m^{-1}) und $36.9 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (40.1 mN m^{-1}) beobachtet werden. Der Oberflächendruck steigt im 2. Plateaubereich gering an. A_{mol} wird im zweiten Plateau um 30 % reduziert. Möglicherweise wird im zweiten Plateau eine molekulare Vierfachsicht gebildet. Bei weiterer Kompression kommt es zum Kollaps bei 68.1 mN m^{-1} ($33.4 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$).

Simultan zur Kompression aufgezeichnete BAM-Aufnahmen (Abbildung 65, Tafeln 1 - 5) zeigen vor dem *Lift-off* ($200 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) einen noch nicht geschlossenen (monomolekularen) Film (Tafel 1). Die dunklen Areale im Bild repräsentieren die unbedeckte Wasseroberfläche. Helligkeitsunterschiede im Bereich des ersten Anstiegs bei $162 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (8.1 mN m^{-1} , Tafel 2), die von Brechungsindexdifferenzen verschieden orientierter Domänen oder die beginnende Bildung einer Doppelschicht verursacht sein können, weisen auf das Vorliegen eines heterogenen Filmes hin. Zu Beginn des ersten Plateaus ($134 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, 18 mN m^{-1} , Tafel 3) sind auf den BAM-Aufnahmen Areale mit zwei verschiedenen Helligkeitsgraden zu erkennen. Die dunkleren Bereiche bedecken fast die gesamte Fläche homogen und sind auf einen geschlossenen, flächendeckenden (monomolekularen) Film von B18/6 zurückzuführen. Die schmalen helleren Areale repräsentieren die sich bildende Doppelschicht. Mitten im Plateau bei $115 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (18 mN m^{-1} , Tafel 4) ist die Bildung der B18/6-Doppelschicht deutlich vorangeschritten. Sie nimmt große Teile der Gesamtfläche ein und bildet undefinierte Schlieren. Bei $71 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (23 mN m^{-1} , Tafel 5) ist die Probe homogen mit einer molekularen Doppelschicht bedeckt. Der Kontrast der Aufnahme in Tafel 5 (Abbildung 65) wurde herabgesetzt, so wirkt der Film dunkler, ist aber von gleicher Helligkeit (Brechungsindex und Filmdicke) wie die Doppelschichtareale in Tafel 4.

B16/10-Filme

Die π - A_{mol} -Isotherme von B16/10 ist sehr ähnlich der von B18/6. Der *Lift-off* ist bei etwas kleinerer A_{mol} als bei B18/6 zu verzeichnen ($164.2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$; Abbildung 65, grüne Kurve; Tabelle 8). Der Unterschied in der *Lift-off*-Fläche muss bei flach auf der Luft/Wasser-Grenzfläche liegenden Molekülen auf den unterschiedlichen Platzbedarf der lateralen Ketten zurückzuführen sein. Die Semiperfluoralkylkette von B16/10 ist um die Einheit $(\text{CF}_2)_4$ länger und die laterale Alkylkette um eine $(\text{CH}_2)_2$ -Einheit kürzer als bei B18/6. Damit erhöht sich die Gesamtzahl der C-Atome der lateralen Ketten um zwei. Perfluoralkylketten haben auf Grund der voluminöseren F-Atome zusätzlich einen höheren Volumenbedarf. Da die *Lift-off*-Fläche von B16/10 aber kleiner ist als bei B18/6, müssen die lateralen Ketten besser geordnet (*all-trans*-Konformation für die Alkylkette) oder in Richtung der Grenzflächennormale orientiert sein. Nach dem ersten Anstieg folgt ebenfalls ein Plateau zwischen $118.7 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (16.5 mN m^{-1}) und $67.1 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (17.9 mN m^{-1}), was im Vergleich zu B18/6 ebenfalls zu kleineren Flächen verschoben ist. Der B16/10-Film kollabiert bei vergleichbaren π/A_{mol} -Werten ($39.7 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, 46.5 mN m^{-1}) wie B18/6 bei $v_{\text{kompr}} = 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Filme von B16/10 sind im Bereich $118 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ bis $67 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ nicht stabil und π sinkt bei zu geringer Kompressionsgeschwindigkeit bzw. Kompressionsstopp schnell ab.

Die parallel zur Kompression aufgenommenen BAM-Bilder belegen, dass bei großen A_{mol} vor dem *Lift-off* ($174 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, Tafel I) ein nicht geschlossener Film auf der Wasseroberfläche existiert. Die dunklen Flächen sind auf unbedeckte Wasserareale zurückzuführen. Obwohl im ersten Anstieg bereits Wechselwirkungen zwischen den B16/10-Molekülen bestehen und die Aufnahme kurz vor dem Koexistenzbereich gemacht wurde ($123 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, 13.4 mN m^{-1} , Tafel II), sind noch ausgedehnte freie Wasserflächen zu sehen. Im Plateau bei $96 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (13.9 mN m^{-1} , Tafel III) existiert eine geschlossene Schicht auf der Wasseroberfläche, die von hellen Streifen durchsetzt ist, welche von einer entstehenden Doppelschicht gebildet werden.

B18/10-Filme

B18/10 welches die Alkylkettenlänge des B18/6 und die Semiperfluoralkylkettenlänge von B16/10 aufweist, zeigt eine andere Kompressionsisotherme. Der *Lift-off* erfolgt bei sehr kleinen $A_{mol} = 89.2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, obgleich für flach auf der Wasseroberfläche liegende B18/10-Moleküle in einem monomolekularen Film ein deutlich größerer Flächenbedarf erforderlich wäre (Abbildung 65, rote Kurve; Tabelle 8). Die *Lift-off*-Fläche von B18/10 ist ungefähr halb so groß wie die von B18/6-Filmen. Die B18/10-Moleküle scheinen bereits vor dem *Lift-off* anders angeordnet zu sein als die übrigen Vertreter der Klasse Bm/n. Möglicherweise stehen die Moleküle aufrecht auf einer Kopfgruppe. Der Film ist bis zu sehr kleinen A_{mol} stabil und kollabiert erst bei $10.9 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, wobei der Kollapsdruck ähnlich wie bei den anderen Bm/n-Filmen ist (50.7 mN m^{-1}). Die Isotherme zeigt zwei Plateaus, von denen das bei Kompression früher erreichte eher ein Pseudoplateau oder einen Knickpunkt mit kontinuierlich weiter steigendem π darstellt. Es erfolgt nur eine kleine Änderung der A_{mol} , weswegen wahrscheinlich ein Umordnungsprozess der Ketten die Ursache des Plateaus ist. Im zweiten Plateau halbiert sich A_{mol} von $64.2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (18.6 mN m^{-1}) auf $32.1 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (18.2 mN m^{-1}), was auf die Bildung einer molekularen Doppelschicht hinweist. Wie bei den B16/10-Filmen zeigt auch die Isotherme von B18/10 vor dem Mono- bzw. Doppelschicht-Koexistenzplateau ein kleines Maximum, was auf die Ausbildung eines metastabilen Zustandes hinweist, der dann in die thermodynamisch stabile Phase relaxiert.

Tabelle 8. Daten aus π - A_{mol} -Isothermen von B18/6, B18/10 und B16/10; *Erreichen des zweiten Plateaus und des Kollapspunktes sind abhängig von der Kompressionsgeschwindigkeit: bei $v_{kompr} > 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$ bildet der Film von B18/6 kein 2. Plateau und kollabiert bei den kursiv gedruckten Werten; bei $v_{kompr} \leq 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$ wird ein 2. Plateau beobachtet und der Kollapspunkt liegt bei den normal gedruckten Werten.

	B18/6		B18/10		B16/10	
	$A_{mol} / \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$	$\pi / \text{ mN m}^{-1}$	$A_{mol} / \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$	$\pi / \text{ mN m}^{-1}$	$A_{mol} / \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$	$\pi / \text{ mN m}^{-1}$
Lift-off	184.0	-	89.2	-	164.2	-
1. Plateau – Anf.	133.0	16.9	80.5	9.4	118.7	16.5
1. Plateau – Ende	78.5	17.6	75.4	10.9	67.1	17.9
2. Plateau – Anf.*	53.0	38.1	64.2	18.6		
2. Plateau – Ende*	36.9	40.1	32.1	18.2		
Kollaps	50.0/33.4*	40.0/68.1*	10.9	50.7	39.7	46.5

Obleich also die absoluten Werte der Umwandlungen durch die Variation der Alkyl- bzw. Semiperfluoralkylkettenlängen verschoben werden, ist das Verhalten der Bm/n-Filme bei Kompression an der Luft/Wasser-Grenzfläche ähnlich. Es existiert immer ein Plateau zwischen 17 mN m^{-1} und 19 mN m^{-1} , und es werden von allen Vertretern molekulare Doppelschichten ausgebildet.

4.2.2 IRRAS-Untersuchungen

Simultan zu den Filmwaagemessungen wurde der B18/6-Film mittels IRRAS untersucht. Während der Messung einer Kompressionsisotherme ($\pi = f(A_{mol})$) wurden kontinuierlich Spektren bei einem Einfallswinkel von 40° (p -polarisiertes IR-Licht) aufgenommen (Abbildung 66A). Neben den prominenten positiven Wasserbanden ($\nu(OH) \approx 3500 \text{ cm}^{-1}$, $\delta(OH) \approx 1650 \text{ cm}^{-1}$) sind die CH_2 -Schwingungen der lateralen Alkylketten (und des C_4H_8 -Kettenteils der Semiperfluoralkylketten) und die Ringschwingungen des Molekürückgrates ($\nu(\text{ring}) = 1518 \text{ cm}^{-1}$; 1607 cm^{-1}) zu beobachten. Die CF_2 -Schwingungen sind wegen der geringen Intensität nicht zu detektieren.

Die Lage der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Schwingungsbande ist ein Charakteristikum für den Ordnungsgrad und die Konformation der Alkylketten,¹⁰⁴ und eine Auftragung der Bandenposition als Funktion von A_{mol} während der Kompression macht deutlich, dass die Bandenlage mit sinkendem A_{mol} verringert wird (Abbildung 66B). Die Bande verschiebt sich von 2856 cm^{-1} ($177 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$), ein Indiz für Alkylketten mit vielen *gauche*-Konformeren,^{101,150} zu 2853 cm^{-1} ($66 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) kurz vor dem Kollaps. Die Verringerung der Wellenzahl deutet auf eine Reduktion des *gauche*-Konformeranteils hin. Nach dem Kollaps sinkt die Lage der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Bande weiter bis auf 2850 cm^{-1} ($47 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$), was auf eine *all-trans*-Konformation der Alkylketten hinweist.

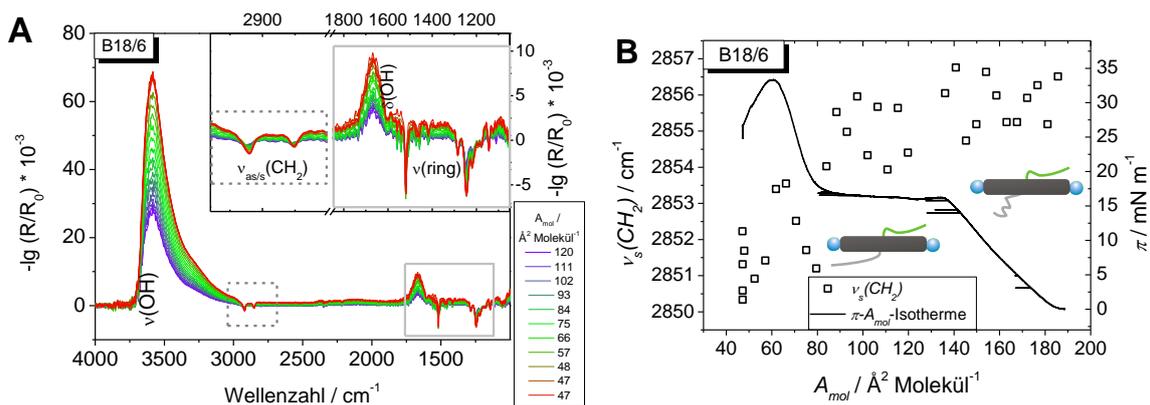


Abbildung 66. A: IRRAS-Spektren von B18/6-Filmen an der Luft/Wasser-Grenzfläche, aufgenommen während kontinuierlicher Kompression, Kasten: Vergrößerung des CH_2 - und Ringschwingungsbereiches; B: Kompressionsisotherme und Position der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Bande als Funktion von A_{mol} , Schemata der Alkylkettenanordnung; $\nu_{kompr} = 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

Die positiven $\nu(OH)$ - und $\delta(OH)$ -Banden des Wassers bei IRRAS-Spektren sind ein Indiz für die Menge an verdrängtem Wasser durch den Film und können zur Ermittlung der Schichtdicke eines Filmes verwendet werden.¹⁵¹ Bei vier ausgewählten Oberflächendrücken wurden winkelabhängige IRRAS-Messungen mit p - und s -polarisiertem Licht und Einfallswinkeln zwischen $26^\circ \leq \theta \leq 70^\circ$ durchgeführt. Folgende Punkte der Isotherme wurden gewählt: erster Anstieg ($140 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$), Plateau ($85 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$), zweiter Anstieg ($71 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) und kurz vor dem Kollaps ($61 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$). Zur Bestimmung der Schichtdicke des B18/6-Filmes wurde die „Wasserbande“ $\nu(OH)$ gefittet (Polarisatorgüte $\Gamma = 0.007$), und aus dem Fit der *in-plane*-Ringschwingungsbande bei $\nu_{ipp}(\text{ring}) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ wurde die Orientierung der B18/6-Molekürückgrate relativ zur Wasseroberfläche ermittelt ($\alpha = 13^\circ$). Zusätzlich konnten die Ringschwingungsbanden bei $\nu_{lat}(\text{CO}) = 1218 \text{ cm}^{-1}$ ($\alpha = 89^\circ$) und $\nu_{ter}(\text{CO}) = 1245 \text{ cm}^{-1}$ ($\alpha = 4.4^\circ$) detektiert werden.

Abbildung 67 zeigt Serien winkelabhängiger IRRASpektren eines B18/6-Films vor dem Kollaps ($A_{mol} = 60 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) aufgenommen mit s - und p -polarisiertem Licht bei unterschiedlichen Einfallswinkeln. Zur besseren Übersichtlichkeit ist nur der Spektralbereich $1800 \text{ cm}^{-1} - 1100 \text{ cm}^{-1}$ dargestellt (für vollständige Spektren im Bereich $4000 \text{ cm}^{-1} - 1000 \text{ cm}^{-1}$ siehe Anhang, S. 2, Abbildung 109). Die einfallswinkelabhängige Änderung der Form und Intensität der Banden, vor allem der Ringschwingungen, ist deutlich zu erkennen. Die Spektren mit p -polarisiertem Licht weisen einen Vorzeichenwechsel der Bandenintensität der drei Ringschwingungsbanden von negativ zu positiv in der Nähe des Brewsterwinkels auf. Die Bande $\nu_{ipp}(\text{ring}) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ wurde gefittet und der Tiltwinkel des B18/6-Molekülrückgrates bestimmt. In Abbildung 68 sind die Peakflächen (Integrale) der experimentellen (Symbole) und gefitteten (Linien) Spektren als Funktion des Einfallswinkels geplottet.

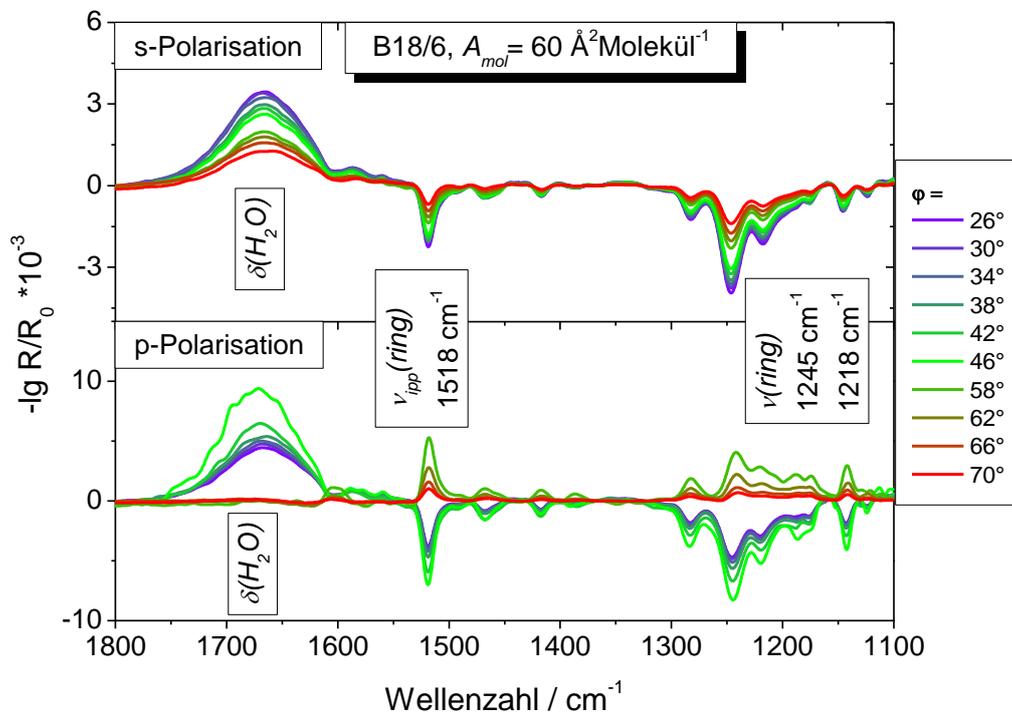


Abbildung 67. Serien winkelabhängiger IRRASpektren eines B18/6-Filmes an der Luft/Wasser-Grenzfläche bei $60 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ mit s - (oben) bzw. p -polarisiertem (unten) IR-Licht; Ausschnitt: $1800 \text{ cm}^{-1} - 1100 \text{ cm}^{-1}$; Einfallswinkelbereich: $\theta = 26^\circ - 70^\circ$; relevante Schwingungen für die Analyse sind ausgewiesen.

Durch Fit der Bande $\nu_{ipp}(\text{ring}) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ wurde für $A_{mol} = 140 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ die Orientierung der B18/6-Rückgrate mit einem Tiltwinkel von $\theta = 89^\circ$ relativ zur Grenzflächennormale bestimmt. Die Molekülrückgrate liegen also flach auf der Wasseroberfläche, wie bereits aus der Analyse der Isotherme vermutet. Aus der Simulation der Wasserbande $\nu(\text{OH})$ ergibt sich eine Schichtdicke von $d = 0.96 \text{ nm}$. Die bestimmte Schichtdicke ist erklärbar durch eine Phenylringmonolage ($0.4 \text{ nm} - 0.5 \text{ nm}$) und einen Beitrag der lateralen fluiden Alkylketten (ca. 0.5 nm bei $140 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$).⁴³ Die Schichtdicken wurden mit dem Brechungsindex $n = 1.67$ bestimmt. Dieser Wert wurde aus einem gemeinsamen Fit von n und d abgeschätzt. Ein solch hoher Brechungsindex ist plausibel, da es sich bei B18/6 um eine elektronenreiche Verbindung handelt.^{152,153} Allerdings werden ähnlich gute Spektrenanpassungen durch Fits mit leicht höheren Brechungsindices (bis $n = 1.8$) und leicht

niedrigeren Schichtdicken (bis $d = 0.8$ nm) erhalten. Im Folgenden werden alle Fits mit $n = 1.67$ durchgeführt.

Die IRRA-Spektren am Ende des Plateaus ($85 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) ergeben eine Schichtdicke von 1.53 nm. Das entspricht dem Dreifachen der theoretisch angenommenen Phenylringdicke. Nach dem Plateau ($71 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$), im zweiten Anstieg, ergibt sich eine Schichtdicke von 1.97 nm, die bis kurz vor dem Kollaps ($61 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$) nur unwesentlich auf 2.16 nm ansteigt, was bei beiden Oberflächendrücken das Vorhandensein einer Doppelschicht (Phenylringe und laterale Ketten) vermuten lässt. Wahrscheinlich handelt es sich also vor dem Plateau um eine molekulare Monoschicht und im Plateau wird eine Doppelschicht erzeugt. Da im Plateau beide Spezies koexistieren, entspricht die bestimmte Filmdicke dem Mittelwert aus Dicke der Mono- und der Doppelschicht.

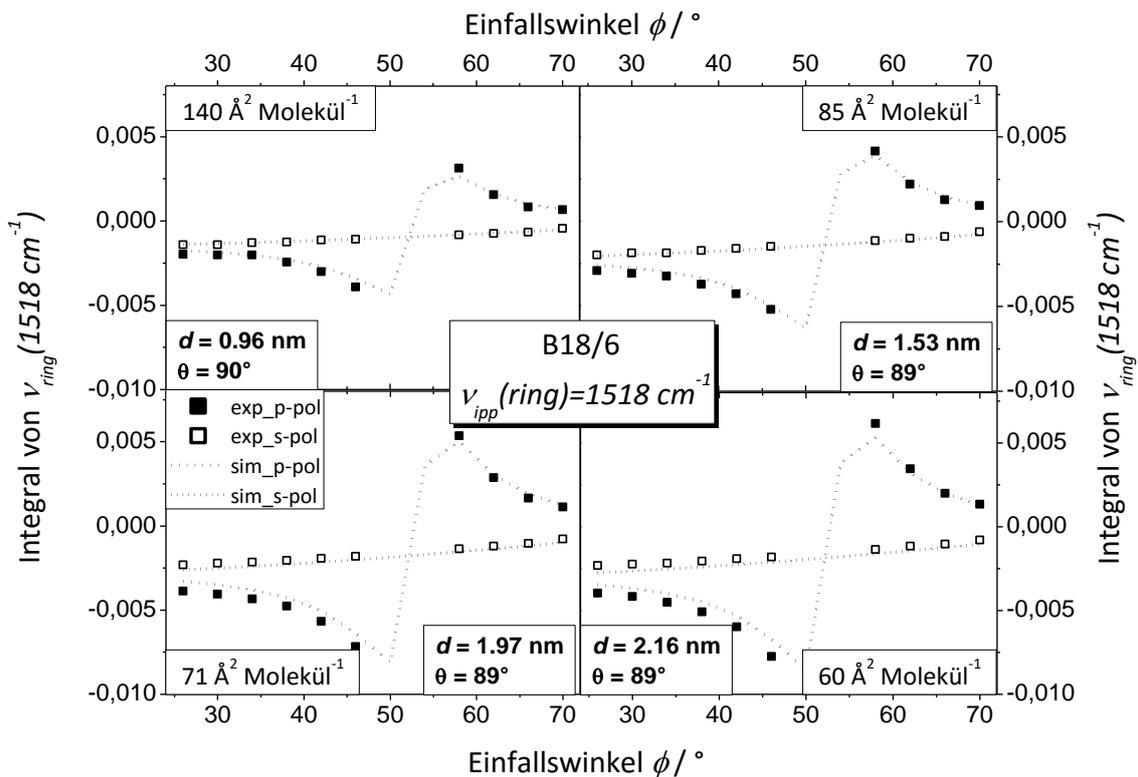


Abbildung 68. Daten aus der Simulationen der Bands $\nu_{pp}(\text{ring}) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ in winkelabhängigen IRRA-Spektren von B18/6-Filmen an der Luft/Wasser-Grenzfläche bei $A_{mol} = 120 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, $85 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, $71 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ und $61 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$; experimentell ermittelte integralen Intensitäten der Ringschwingungsbande bei $\nu_{pp}(\text{ring}) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ (Symbole) und simulierte Werte (unterbrochene Linien); für Spektren bei $A_{mol} = 60 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ siehe Abbildung 67.

Die Orientierung des Moleküldirektors relativ zur Grenzflächennormale wurde für alle mit winkelabhängigen Messungen untersuchten A_{mol} zu nahe 90° bestimmt. Die Moleküle liegen also während des gesamten Kompressionsprozesses parallel zur Wasseroberfläche (bzw. aufeinander) und es kommt nicht zur Aufrichtung der Molekülrückgrate bei hohen π .

4.2.3 Zusammenfassung Bm/n (Langmuirfilme)

Alle Bm/n-Mesogene bilden stabile Filme an der Luft/Wasser-Grenzfläche und zeigen ein ausgeprägtes Plateau, indem sich A_{mol} halbiert, was auf die Bildung einer Doppelschicht hinweist. Winkelabhängige IRRAS-Messungen an B18/6-Filmen zeigten, dass die Moleküle durchgehend parallel zur Wasseroberfläche angeordnet sind. Die durch IRRAS bestimmte Schichtdicke von B18/6-Filmen bei großen A_{mol} entspricht ebenfalls einer molekularen Monoschicht, die sich im Plateau zu einer Doppelschicht übereinander lagert.

4.3 Wechselwirkung X-förmiger Bm/n-Polyphile mit Phosphatidylcholinmembranen

4.3.1 LSFM-Untersuchungen

Abbildung 69 zeigt LSFM-Aufnahmen von GUV aller drei Gemische Bm/n : DPPC = 1:10. Alle Aufnahmen zeigen makroskopisch entmischte GUV, die in Bm/n-reiche (Bm/n-Fluoreszenz im grünen Kanal) und DPPC-reiche Domänen (Rh-Fluoreszenz des Rh-DHPE im roten Kanal) separiert sind. Für die Gemische mit B18/6 und B16/10 sind die Vesikel glatt und rund, während das analoge B18/10-Gemisch häufig facettierte GUV bildet. Wie auch bei den Cm/n-Mesogenen scheint die Wechselwirkung der Polyphile mit DPPC eine glatte, runde Vesikelgeometrie zu stabilisieren (reine DPPC-Vesikel wären bei Raumtemperatur stark facettiert, siehe Abbildung 16A/C). Das Polyphil mit den längsten Ketten (beider Affinitäten) begünstigt eher die Bildung facettierter GUV, wie dies auch schon bei den Cm/n-Mesogenen zu beobachten war. Das B18/6-DPPC-Gemisch zeigt die kleinsten GUVs (maximal $\varnothing \approx 40 \mu\text{m}$), während die GUVs der beiden anderen Gemische Durchmesser von bis zu $\varnothing \approx 80 \mu\text{m}$ aufweisen. Die beiden Farbstoffe sind räumlich voneinander getrennt (im Rahmen der Auflösung der Methode), und so ist in den Mesogendomänen kein Signal im roten Kanal zu verzeichnen und umgekehrt. Die mesogenreichen Domänen des B18/6 : DPPC-Gemisches sind ungeordnet elongiert, wohingegen die Polyphildomänen der GUV der beiden anderen Gemische (B16/10 : DPPC und B18/10 : DPPC) eine sternförmige Struktur mit hexagonaler Symmetrie aufweisen. Die oft sechstrahligen Sterndomänen des B16/10-DPPC-Gemisches sind eher klein im Verhältnis zur GUV-Größe ($\varnothing_{\text{Stern}} \approx 5 \mu\text{m} - 7 \mu\text{m}$). Die B18/10-Sternstrukturen umspannen große Teile der GUV (bis zu $\varnothing_{\text{Stern}} \approx 25 \mu\text{m}$).

Die 1:4-Gemische von B18/6 mit DPPC bzw. DOPC bilden ebenfalls Vesikel. B18/6 : DPPC = 1:4 weist facettierte GUV (\varnothing bis $50 \mu\text{m}$) auf (Abbildung 70A), die wie beim 1:10-Gemisch eine makroskopische Phasenseparation zeigen. Die Areale der Rh-Fluoreszenz zeigen kein Fluoreszenzsignal im grünen Kanal (B18/6). Die polyphilreichen Domänen machen einen großen Teil der GUV aus.

Das B18/6-DOPC-Gemisch bildet perfekt runde GUV mit homogen verteilten Fluorophoren (Rh und B18/6). Im polarisierten Licht des Anregungslasers ist eine positionsabhängige Fluoreszenzintensität des B18/6 zu verzeichnen, was auf einen Orientierungseffekt des elongierten Fluorophorrückgrates hindeutet. Durch Bestimmung der Fluoreszenzintensität entlang der Membran am Meridian der GUVs kann die mittlere Orientierung der Fluorophorrückgrate bestimmt werden. Wie auch bei den analogen Messungen von C12/12 : DOPC = 1:10 liegt der maximale Tiltwinkel des MDs zwischen 40° und 45° . Ungeordnete Fluorophore würden keine derart starke Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität von der Membranposition im Meridianschnitt aufweisen und es kann von einer starken Orientierung der B18/6-Molekülrückgrate relativ zur Membrannormale und einer Transmembran-anordnung der Polyphile ausgegangen werden. Die Rh-Fluoreszenzintensität im B18/6-DOPC-Gemisch verringert sich bei Anregung beider Fluorophore sehr schnell. Werden mehrere Aufnahmen des gleichen Areals hintereinander angefertigt, ist nach wenigen Bildern ausschließlich die B18/6-Fluoreszenz zu detektieren. Das Rhodamin wird also offensichtlich gebleicht oder auf einem anderen Weg deaktiviert. Ein ähnliches Verhalten zeigten z. B. C12/12 : DPPC = 1:4 und C6/6 : DPPC = 1:10 (siehe S. 30, S. 32 bzw. S. 34). Der genaue Grund des Bleichens ist auch bei den B18/6-Gemischen unklar.

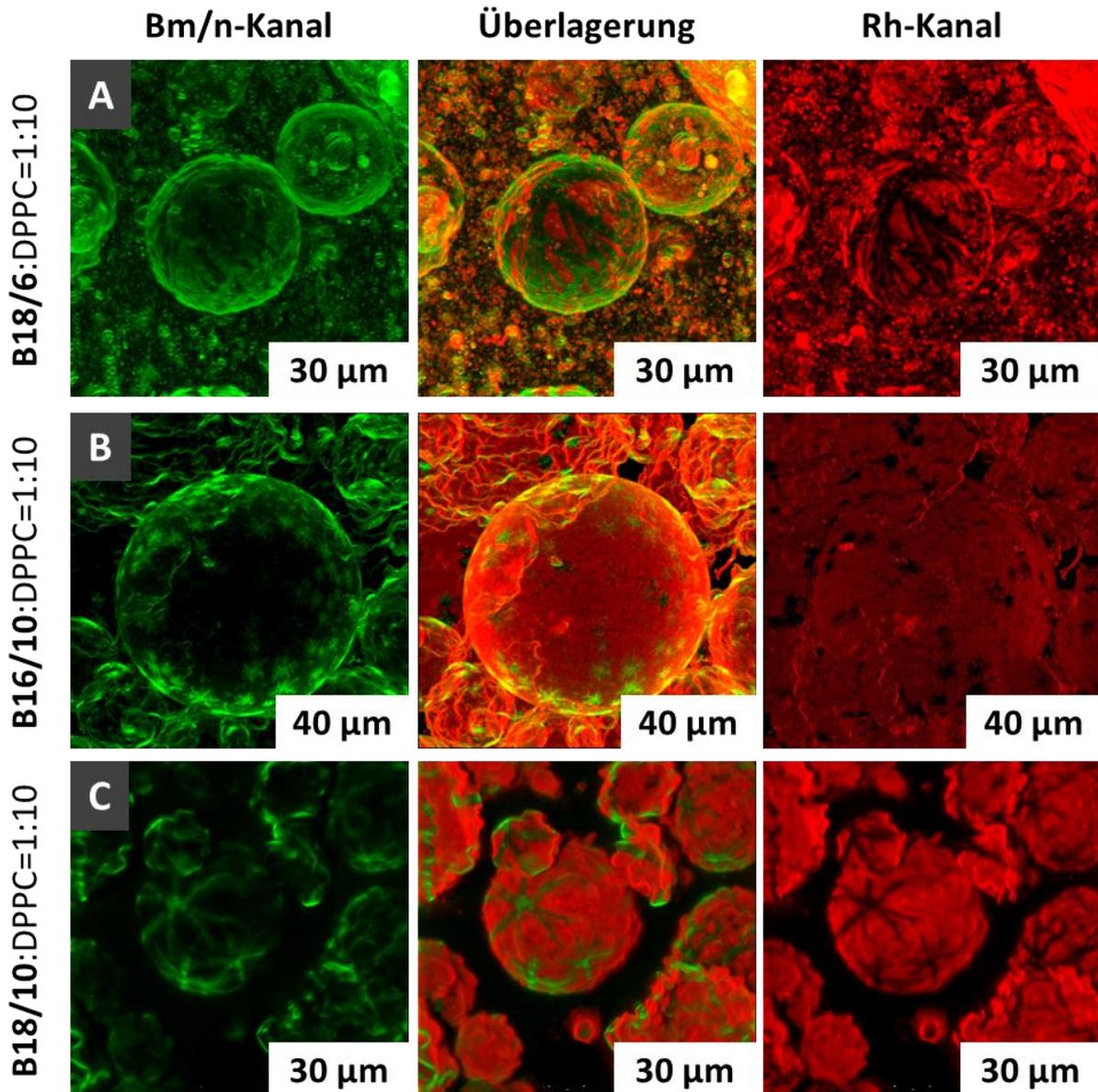


Abbildung 69. Volumenbilder dreier Serien LSM-Aufnahmen von GUV aus B18/6 : DPPC = 1:10 (A), B16/10 : DPPC = 1:10 (B) bzw. B18/10 : DPPC = 1:10 (C) mit 38 (A), 165 (B) bzw. 69 (C) Schnitten verschiedener Fokusebenen (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); links: grüner Kanal (Fluoreszenz des Bm/n), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; Skalen: xy-Ebene: 30 µm (A, C) bzw. 40 µm (B), z-Richtung: 17.18 µm (A), 76.16 µm (B), 31.58 µm (C).

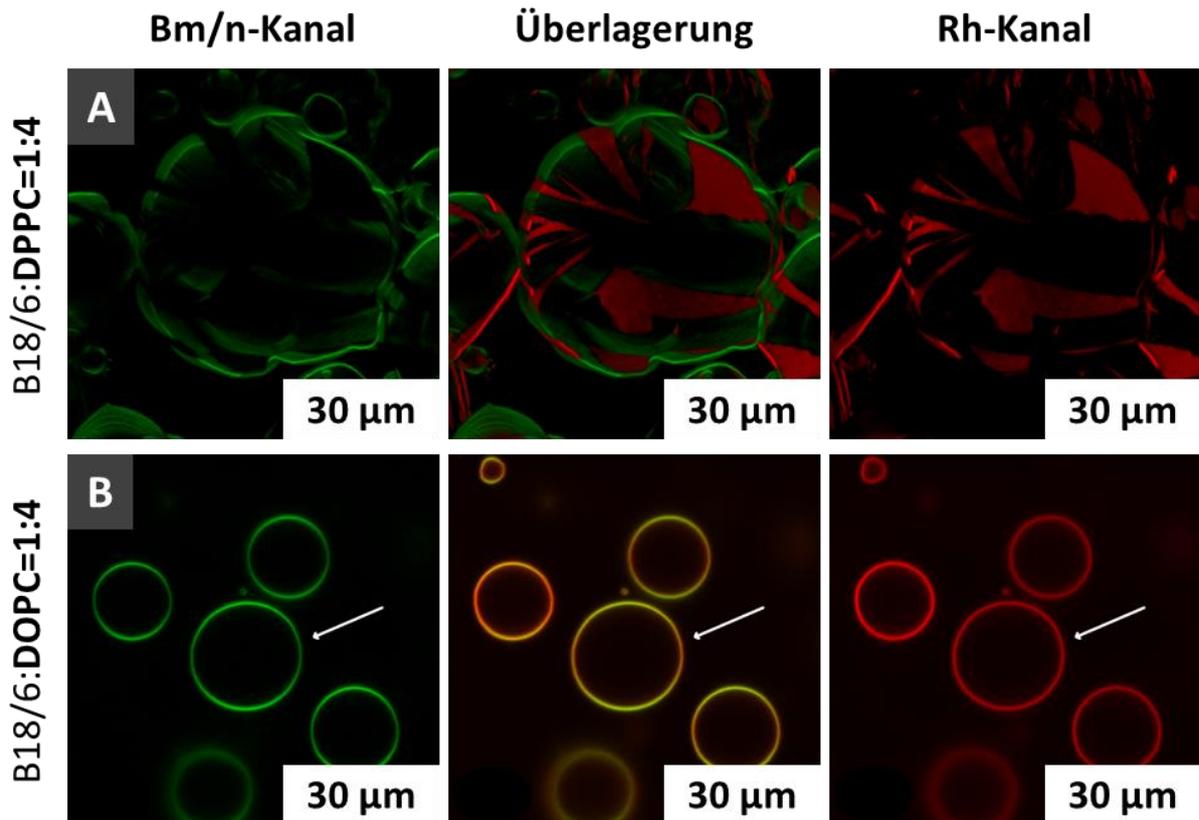


Abbildung 70. Zwei Serien LSM-Aufnahme von GUV aus B18/6 : DPPC = 1:4 (A) bzw. B18/6 : DOPC = 1:4 (B) mit jeweils 0.5 Gew.-% Rh-DHPE; links: grüner Kanal (Fluoreszenz des Bm/n), rechts: roter Kanal (Fluoreszenz des Rh), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; A: Volumenbild aus 67 Schnitten verschiedener Fokusebenen; markierte Besonderheiten: GUV mit periodisch variierender B18/6-Fluoreszenzintensität entlang der GUV-Membran (Pfeile in B); Skalen: xy-Ebene: jeweils 30 µm, z-Richtung: 38.69 µm (A).

4.3.2 DSC-Untersuchungen

Es wurden DSC-Thermogramme von Gemischen aus Bm/n mit DPPC bzw. DMPC aufgenommen. Für die Gemische mit B18/6 und B16/10 konnte dabei ein maximaler Mesogengehalt von $x_{Bm/n} = 0.1$ erreicht werden. Gemische mit höherem Bm/n-Anteil können nicht mehr als stabile Suspensionen hergestellt werden. Es bildete sich ein Bodensatz, und im DSC-Thermogramm konnte keine Umwandlung aufgezeichnet werden. Die Thermogramme der Bm/n-Lipid-Gemische haben für geringe Bm/n-Anteile ($x_{Bm/n} \leq 0.1$) eine sehr ähnliche Struktur. Eine detaillierte Auswertung der DSC-Daten soll daher am Beispiel der B18/6-Lipid-Gemische vorgestellt und die Resultate der anderen Polyphile vergleichend dargelegt werden.

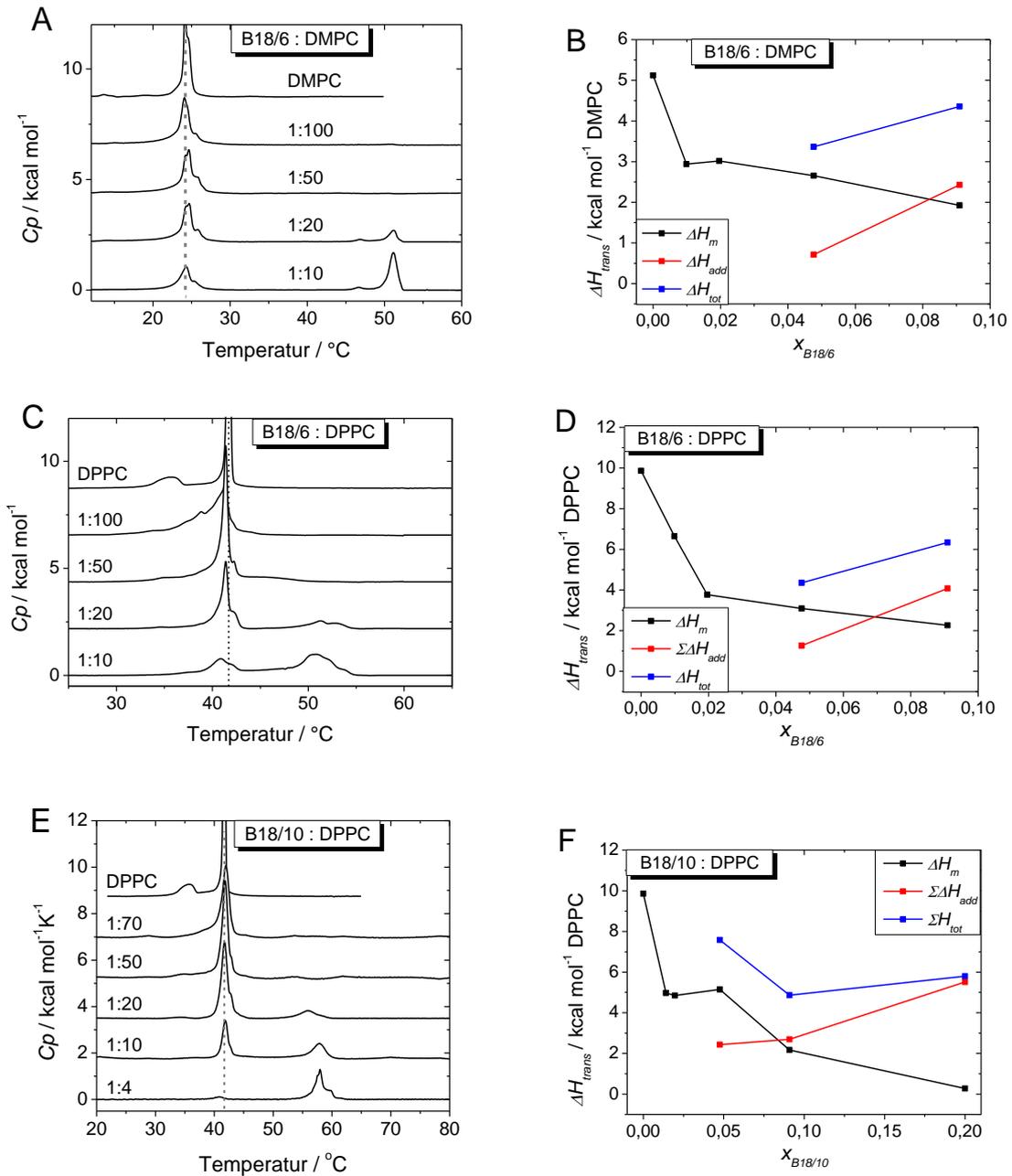


Abbildung 71. Links: DSC-Thermogramme wässriger Suspensionen der Gemische B18/6 : DMPC (A), B18/6 : DPPC (C) und B18/10 : DPPC (E); das Molverhältnis ist angegeben; rechts: Umwandlungsenthalpien als Funktion von $x_{Bm/n}$; Enthalpie der Hauptumwandlung (ΔH_m , schwarz), Summe der Enthalpien aller Zusatzumwandlungen ($\Sigma \Delta H_{add}$, rot) und Summe der Enthalpien aller Umwandlungen (ΔH_{tot} , blau); $c_{Lipid} = 2$ mM.

Bis zu einem Mischungsverhältnis von 1:10 weisen die DSC-Thermogramme der Gemische B18/6 : DPPC bzw. B18/6 : DMPC einen Umwandlungspeak bei T_m des reinen Lipides auf (Abbildung 71A/C). Die Höhe des Peaks sinkt mit steigender Polyphilkonzentration. Der Peak bei T_m weist rechtsseitig eine Schulter auf, die um 1.5 K verschoben ist. Für die Thermogramme aller Gemische B18/6 : PC ist die Position des Peaks bei T_m unabhängig von der Zusammensetzung der Probe. Bei B18/6 : PC = 1:20 und 1:10 tritt ein Zusatzpeak bei $T_{add} \approx 51.2$ °C auf, dessen Peakposition ebenfalls unabhängig vom Anteil an Polyphil und der Acylkettenlänge des verwendeten PCs ist. Bei den DPPC-Gemischen ist der Umwandlungspeak breit und die Umwandlung folglich wenig kooperativ. Trägt man die Hauptumwandlungsenthalpie ΔH_m des Peaks bei T_m (Integral über Peak und Schulter) gegen $x_{B18/6}$ auf, wird deutlich, dass $\Delta_m H$ stärker als der Gehalt an Lipid sinkt. Für B18/6 : DMPC = 1:100

beträgt ΔH_m noch 57 % der Hauptumwandlungsenthalpie des reinen DMPC ($\Delta H_m(B18/6:DPPC=1:100) = 0.67 \Delta H_m(DPPC)$). Es befinden also sich 43 % (DMPC-Gemisch) bzw. 33 % (DPPC-Gemisch) des Lipides nicht in der lipidreichen Phase. Bei B18/6 : PC = 1:10 sind nur noch 37 % (DMPC-Gemisch) bzw. 23 % (DPPC-Gemisch) des Lipides in der lipidreichen Phase enthalten. Für das Gemisch von B18/6 mit dem länger-kettigen DPPC ist der Effekt der Abnahme des PC-Gehaltes in der lipidreichen Phase größer. Die Systeme aus Polyphil und PC sind also phasensepariert in eine lipidreiche Phase, die kaum Polyphil enthält, da T_m unabhängig von $x_{B18/6}$ ist, und eine polyphilreiche Phase, welche nennenswerte Mengen PC enthält.

Die B18/10-DPPC-Gemische verhalten sich ähnlich den analogen B18/6-Gemischen, nur dass der Zusatzpeak bei $T > T_m$ sich mit steigendem Gehalt an Polyphil zu höheren Temperaturen verschiebt. Dieses Verhalten ist typisch für PC-Gemisch mit den Verbindungen der Klasse Cm/n (siehe dort, S. 39). Allerdings tritt nur ein Zusatzpeak auf und nicht bis zu drei wie bei den Cm/n-DPPC-Gemischen. $\Delta_m H$ fällt mit steigendem $x_{B18/10}$ sehr viel schneller als der Gehalt an DPPC. So beträgt $\Delta_m H(1:20)$ nur noch 52 % von $\Delta_m H(DPPC)$, und bei $x_{B18/10} = 0.2$ ist kaum noch eine Umwandlung bei T_m zu sehen. Die Länge der Perfluoralkylkette hat offensichtlich einen immensen Einfluss auf das Mischungsverhalten von Polyphil und Lipid.

Die Thermogramme der Gemische von B16/10 mit Lipid weisen abhängig von der Acylkettenlänge des Lipides eine unterschiedliche Struktur auf. Dieser Effekt ist wahrscheinlich auf Präparationsartefakte zurückzuführen und soll hier nicht besprochen werden (siehe Anhang, S. 2, Abbildung 108).

4.3.3 Röntgenstreuexperimente

4.3.3.1 Pulverdiffraktometrie mit Cu-K α -Strahlung

Die Gemische B18/6 : DPPC = 1:x (mit x = 100 bzw. 10, 50 Gew.-% H₂O) wurden temperaturabhängigen Röntgenstremessungen mit Cu-K α -Strahlung (-30 °C bis 60 °C, 2 K Schritte) unterzogen.

Das 1:100-Gemisch zeigt ein vergleichbares thermotropes Verhalten wie reine DPPC-Membranen. Im gesamten Temperaturbereich können im SAXS-Bereich bis zu fünf scharfe äquidistante Schichtreflexe beobachtet werden, die auf eine lamellare Struktur hindeuten (Abbildung 72A). Die Wiederholabstände des Gemisches sind gegenüber DPPC-Membranen geringfügig vergrößert ($d_{T=6\text{ °C}}(\text{B18/6 : DPPC} = 1:100) = 6.58\text{ nm}$, $d_{T=6\text{ °C}}(\text{DPPC}) = 6.41\text{ nm}$). Im WAXS sind die beiden für DPPC-Acylketten typischen Reflexe $s_{(110)} = 2.34\text{ nm}^{-1}$ und $s_{(020)} = 2.44\text{ nm}^{-1}$ (Tabelle 9) sichtbar und ermöglichen die Indizierung der Subzelle mit einer *Pbnm*-Symmetrie (Abbildung 72B) und *pseudo herringbone*-Packung. Beim Abkühlen driften die WAXS-Reflexe auseinander und bei $T < 0\text{ °C}$ treten scharfe Eisreflexe auf, die vom gefrorenen Überschusswasser aus dem Kopfgruppenbereich stammen.¹¹⁹ Der Wiederholabstand ist dann reduziert auf $d_{T=-30\text{ °C}}(\text{B18/6 : DPPC} = 1:100) = 5.88\text{ nm}$.

Beim Wiederaufheizen kommt es zur Vergrößerung des Lamellenabstandes, so dass der ursprüngliche Wiederholabstand wieder erreicht wird. Bei weiterem Erwärmen der Probe verkleinert sich der Abstand der beiden WAXS-Reflexe bis schließlich bei $T_m = 42\text{ °C}$ alle scharfen WAXS-Reflexe verschwinden und lediglich ein Halo ($s = 2.22\text{ nm}^{-1}$) zurückbleibt, was auf die Hauptumwandlung von L_{β^-} in L_{α} -Phase hindeutet. Der Membranwiederholabstand des Gemisches in der L_{α} -Phase ist nicht, wie bei reinen DPPC-Membranen, reduziert, sondern bleibt etwa gleich wie in der L_{β^-} -Phase ($d_{T=50\text{ °C}}(\text{B18/6 : DPPC} = 1:100) = 6.67\text{ nm}$), was durch die Einlagerung des B18/6 erklärt werden kann. Für die Hochtemperaturphase können nur wenige scharfe SAXS-Peaks beobachtet werden, was auf eine schlechtere Lamellenpackung hinweist.

Tabelle 9. Daten zu Pulverdiffraktometriemessungen an wässrigen Suspensionen aus B18/6 : DPPC = 1:X (X = 10; 100) mit 50 Gew.-% H₂O; Kapillarproben; Positionen der Weitwinkelreflexe $s_{(110)}$ und $s_{(020)}$ und Wiederholabstände d aus SAXS-Reflexen bei den angegebenen Temperaturen (Daten aus Abbildung 72).

B18/6 : DPPC =								
Nr.	1:100				1:10			
	T/ °C	$s_{(110)}/\text{nm}^{-1}$	$s_{(020)}/\text{nm}^{-1}$	d/nm	T/ °C	$s_{(110)}/\text{nm}^{-1}$	$s_{(020)}/\text{nm}^{-1}$	d/nm
I	6	2.34	2.44	6.58	10	2.42	2.34	6.67
II	-30	2.37	2.45	5.88	-31	2.33	2.49	5.95
III	16	2.35	2.42	6.67	16	2.44	2.36	6.67
IV	31	2.34	2.39	6.76	45	2.38	2.28	5.88
V	54	2.22	-	6.67	63	2.24	-	6.67

Das Gemisch B18/6 : DPPC = 1:10 bildet ebenfalls im gesamten vermessenen Temperaturbereich lamellare Phasen (Abbildung 72D). Bei 10 °C ergibt sich ein Wiederholabstand von $d_{T=10\text{ °C}}(\text{B18/6 : DPPC} = 1:10) = 6.67\text{ nm}$ (Tabelle 9, Abbildung 72C). Die temperaturabhängigen Änderungen der Streukurven für $T < T_m$ sind analog zu denen von DPPC-Membranen und dem 1:100-Gemisch.

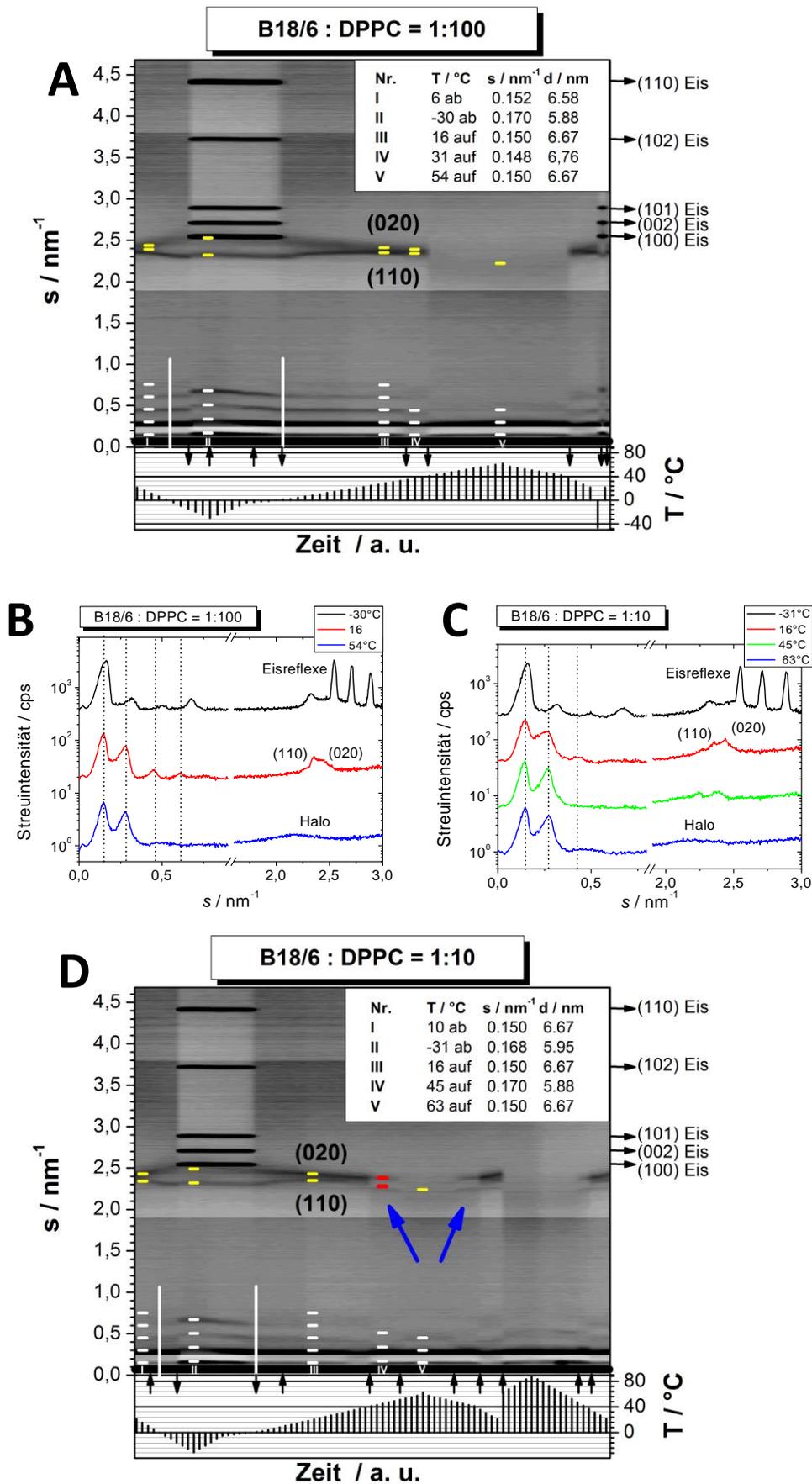


Abbildung 72. Röntgenpulverdiffraktometrie an wässrigen Suspensionen der Gemische B18/6 : DPPC = 1:100 (A, B) und 1:10 (C, D) mit 50 Gew.-% H₂O; Kapillarproben; A/D: Konturplots (für Erklärungen und Details siehe Abbildung 47); B/C: Streukurven bei ausgewählten Temperaturen; markierte Besonderheiten: zusätzliche WAXS-Streuung (blaue Pfeile in D).

Beim Erwärmen des Gemisches B18/6 : DPPC = 1:10 auf $T > T_m$ wird der Wiederholabstand reduziert ($d_{T=45\text{ °C}}(\text{B18/6:DPPC=1:10}) = 5.88 \text{ nm}$), und im WAXS-Bereich verschwinden die scharfen Weitwinkelreflexe. Allerdings sind weiterhin zwei WAXS-Reflexe (Tabelle 9) bei veränderten Positionen und mit verringerter Intensität zu beobachten. Wie bereits bei der DSC- bzw. LSFM-Auswertung diskutiert, ist das Gemisch B18/6 : DPPC = 1:10 makroskopisch phasensepariert in DPPC-reiche und B18/6-reiche Domänen. Die polyphilreiche Phase weist auch eine lamellare Struktur auf und enthält einen nicht unerheblichen Anteil an DPPC (63 % laut DSC-Ergebnissen). Diese beiden Phasen zeigen ihre Hauptumwandlung offensichtlich bei verschiedenen Temperaturen. Somit sind die Änderungen bei 42 °C auf die Umwandlung der lipidreichen Phase zurückzuführen, deren Eigenschaften von den Mesogenen kaum beeinflusst sind. Bei 55 °C verschwinden alle scharfen Weitwinkelreflexe und lediglich ein Halo bleibt zurück, und es kommt also zum kompletten Schmelzen der Alkylketten. In der Hochtemperaturphase liegt offensichtlich nur eine einzige homogene L_α -Phase vor, in der B18/6 in der DPPC-Membran homogen verteilt ist. Die Bildung der homogenen Hochtemperaturphase geht mit einer Vergrößerung des Wiederholabstandes einher ($d_{T=63\text{ °C}}(\text{B18/6 : DPPC} = 1:10) = 6.67 \text{ nm}$).

4.3.3.2 Röntgenreflektivität und GIXD

Aus Messzeitgründen wurden nur die Gemische B18/6 : DPPC = 1:10 und B18/10 : DPPC = 1:10 mittels Röntgenreflektivität und GIXD vermessen. Die beiden Polyphile wurden auf Grund der gleichen Alkylkettenlänge gewählt. Damit deutet ein Packungsunterschied direkt auf den Einfluss der Länge der Semiperfluoralkylkette hin.

4.3.3.2.1 Reflektivitätsmessungen

B18/6 : DPPC = 1:10

Das Gemisch B18/6 : DPPC = 1:10 zeigt bei allen untersuchten Temperaturen bis zu sieben äquidistante, scharfe Bragg-Peaks, die auf eine lamellare Struktur hindeuten (Abbildung 73A). Daraus wurden mit den bekannten Fourierkoeffizienten der einzelnen Reflexe, die für DPPC-Membranen durch Quellexperimente bestimmt wurden, die Elektronendichteprofile der B-schichten berechnet (Abbildung 73B). Die Wiederholabstände d und die transmembranen Kopfgruppen-Kopfgruppen-Distanzen d_{HH} sinken mit steigender Temperatur (z. B.: $d_{T=25\text{ °C}} = 6.30 \text{ nm}$, $d_{T=45\text{ °C}} = 5.56 \text{ nm}$, $d_{T=60\text{ °C}} = 4.74 \text{ nm}$, Abbildung 73B). Der Wiederholabstand bei 25 °C ist geringfügig kleiner als der via Pulverdiffraktometrie an Kapillarproben bestimmte, was wahrscheinlich auf eine geringere Hydratation bzw. eine andere Kopfgruppenkonformation zurückzuführen ist (siehe oben, S. 62). Bei 25 °C ist der Kopfgruppenabstand der Gemischmembran ($d_{HH}(25\text{ °C}) = 4.42 \text{ nm}$) im Vergleich zur reinen DPPC-Membran etwas vergrößert, was auf den Einbau des Mesogens hinweist. Bei 45 °C bzw. 60 °C sind die d_{HH} -Werte gleich ($d_{HH}(45\text{ °C}) = 3.82 \text{ nm}$) bzw. kleiner ($d_{HH}(60\text{ °C}) = 3.42 \text{ nm}$) als eine fluide DPPC-Membran bei 50 °C. Die im Vergleich zur DPPC-Membran schwache Intensität der Bragg-Peaks kann mit geringeren Domänengrößen in der Probe erklärt werden.

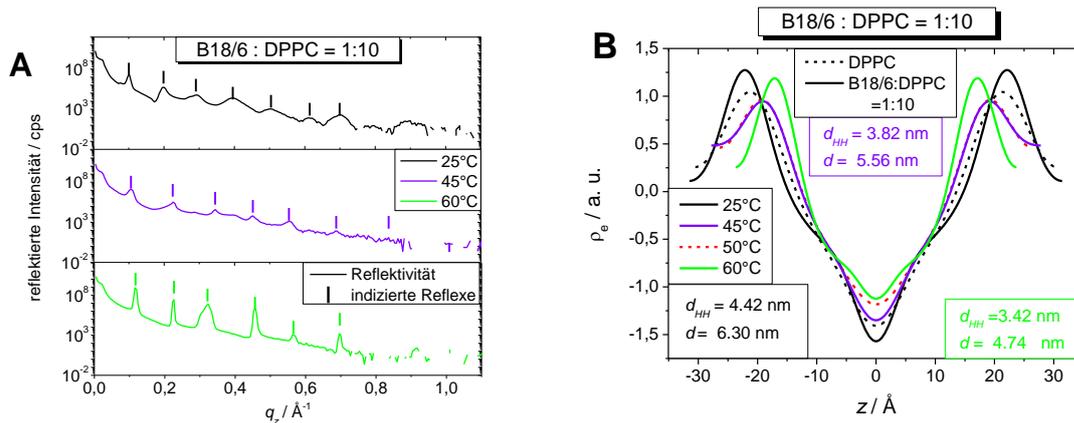


Abbildung 73. A: Röntgenreflektivitätskurven orientierter Multischichten von B18/6 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (schwarz), 45 °C (violett), 60 °C (grün) und 99 % RH; B: Elektronendichteprofile der Bischen; vertikale Striche markieren die indizierten Reflexe des 1D-Gitters; den Elektronendichteverteilungen des Gemisches sind jeweils die Elektronendichtekurven von DPPC in der L_{β} -Phase (25 °C, schwarze gestrichelte Linie) bzw. in der L_{α} -Phase (50 °C, rote gestrichelte Linie) gegenübergestellt.

B18/10 : DPPC = 1:10

Das Gemisch B18/10 : DPPC = 1:10 wurde bei 25 °C, 50 °C und 65 °C vermessen. Die Streukurven bei 25 °C und 50 °C zeigen eine Vielzahl an Peaks, die als Superposition zweier Serien jeweils äquidistanter Reflexe indiziert werden konnte (Abbildung 74A/C, siehe auch Gemische aus C12/12 bzw. C18/18 mit DPPC, S. 63). Offensichtlich liegen bei diesen Temperaturen jeweils zwei verschiedene, lamellare Aggregate vor, eine polyphilreiche und eine lipidreiche Lamellenform (analog C12/12 : DPPC = 1:10 in Abbildung 50).^{154,155} Die berechneten Elektronendichteprofile sind regelmäßig und liefern Wiederholabstände von $d_1(25\text{ °C}) = 6.20\text{ nm}$, $d_2(25\text{ °C}) = 5.53\text{ nm}$ bzw. $d_1(50\text{ °C}) = 6.38\text{ nm}$, $d_2(50\text{ °C}) = 5.41\text{ nm}$. Für 25 °C sind d - und d_{HH} -Werte beider Membranen des Gemischs jeweils kleiner als bei DPPC-Membranen (Abbildung 75). Dies weist auf eine durch die Mesogeninteraktion verursachte Erhöhung des DPPC-Acykkettentiltwinkels hin. Die Berechnung der Elektronendichte der beiden Membranen bei 50 °C war schwierig, da es nicht möglich war, den Datensatz der dickeren Membran (Abbildung 74C/D) zu fitten, weil lediglich drei scharfe Reflexe vorhanden waren. Die Peaks höherer Ordnung sind entweder sehr dicht an den Reflexen der zweiten Peakserie oder scheinen ausgelöscht mit einer sehr schwachen Intensität. Der mit diesen Werten durchgeführte Fit steht unter dem Vorbehalt dieser eingeschränkten Datenlage und muss mit Vorsicht interpretiert werden.

Für die Hochtemperaturphase (65 °C) zeigt die Reflektivitätskurve nur einen Satz regelmäßiger, äquidistanter und scharfer, lamellarer Bragg-Peaks. Der Wiederholabstand ist im Vergleich zu den Werten der anderen beiden Temperaturen weiter gesunken $d(65\text{ °C}) = 5.37\text{ nm}$ und erwartungsgemäß kleiner als der Wiederholabstand von DPPC-Membranen bei 50 °C, da mit steigender Temperatur die Lamellendicke sinkt.

Die Hochtemperaturphasen beider Proben B18/10 : DPPC = 1:10 und B18/6 : DPPC = 1:10 sind homogen gemischt und zeigen nur eine Lamellenperiodizität, die jeweils etwas kleiner Wiederholabstände liefert als für DPPC-Lamellen in der L_{α} -Phase (50 °C, Abbildung 75). Somit sind die Membranen in der Hochtemperaturphase der beiden Proben wahrscheinlich auch fluide, und die Lamellen sind wegen der scharfen und intensiven Reflexe gut geordnet.

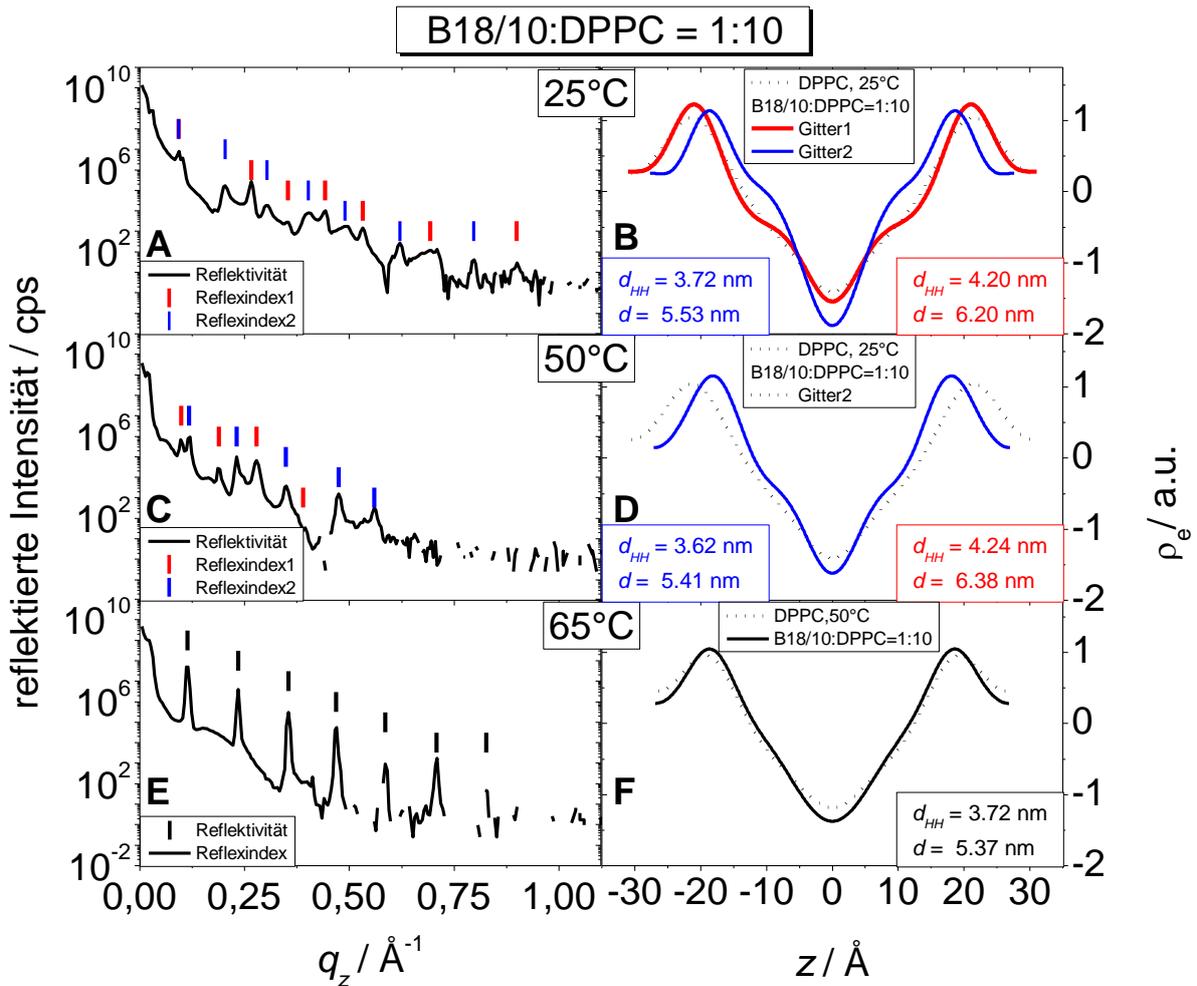


Abbildung 74. Links: Röntgenreflektivitätskurven orientierter Multischichten von B18/10 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (A), 50 °C (C), 65 °C (E) und 99 % RH; rechts daneben: Elektronendichteprofile der Bischichten; vertikale Striche markieren die indizierten Reflexe des 1D-Gitters; für 25 °C und 50 °C wurden zwei 1D-Gitter indiziert und gefittet (rote und blaue Striche), für 75 °C wurde eine Serie Reflexe indiziert und gefittet (schwarze Striche); den Elektronendichteverteilungen des Gemisches sind jeweils die Elektronendichtekurven von DPPC in der L_{β} -Phase (B, D: 25 °C, gestrichelte Linie) bzw. in der L_{α} -Phase (F: 50 °C, gestrichelte Linie) gegenübergestellt.

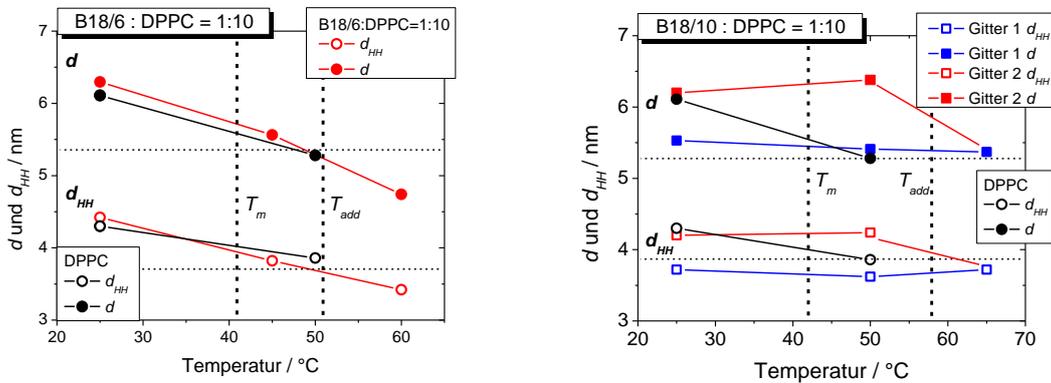


Abbildung 75. Wiederholabstand d und Kopfgruppenabstand d_{HH} von B18/6 : DPPC = 1:10 (A) bzw. B18/10 : DPPC = 1:10 (B) als Funktion der Temperatur; zum Vergleich sind die Daten einer DPPC-Membran geplottet; jeweils bei 99 % RH; vertikale Linien markieren thermotrope Umwandlungen des Gemisches (DSC); horizontale Linien charakterisieren die Strukturdaten der L_{α} -Phase der DPPC-Membran.

4.3.3.2.2 GIXD-Untersuchungen

B18/6 : DPPC = 1:10

Für 25 °C zeigen beide Proben im WAXS-Bereich zwei DPPC-Acyllkettenkorrelationspeaks (110 und 020) und zwei Zusatzreflexe. Für das Gemisch mit B18/6 liegen die Reflexe bei $q_{110} = 1.522 \text{ \AA}^{-1}$ und $q_{020} = 1.486 \text{ \AA}^{-1}$ auf analogen Positionen wie bei den Pulverdiffraktometrieuntersuchungen mittels Cu-K α -Strahlung und können als die Bragg-Reflexe q_{110} und q_{020} einer orthorhombischen CH₂-Packung indiziert werden (Abbildung 76 A/D). Die übrigen beiden WAXS-Reflexe werden als Kettenkorrelationspeaks einer zweiten lamellaren Packung interpretiert. Damit sind die vier WAXS-Reflexe eine Superposition je eines Reflexpaares von DPPC-Alkylkettenpeaks einer DPPC-reichen und einer B18/6-reichen Phase. Die Reflexe sind für $\phi < 35^\circ$ deutlich zu sehen (Abbildung 76 D) und weisen nicht die typische Lage der Reflexe von DPPC im Azimutwinkelbereich auf. Das deutet darauf hin, dass die DPPC-Alkylketten anders gepackt sind und/oder einen anderen Tiltwinkel relativ zur Membrannormalen einnehmen.

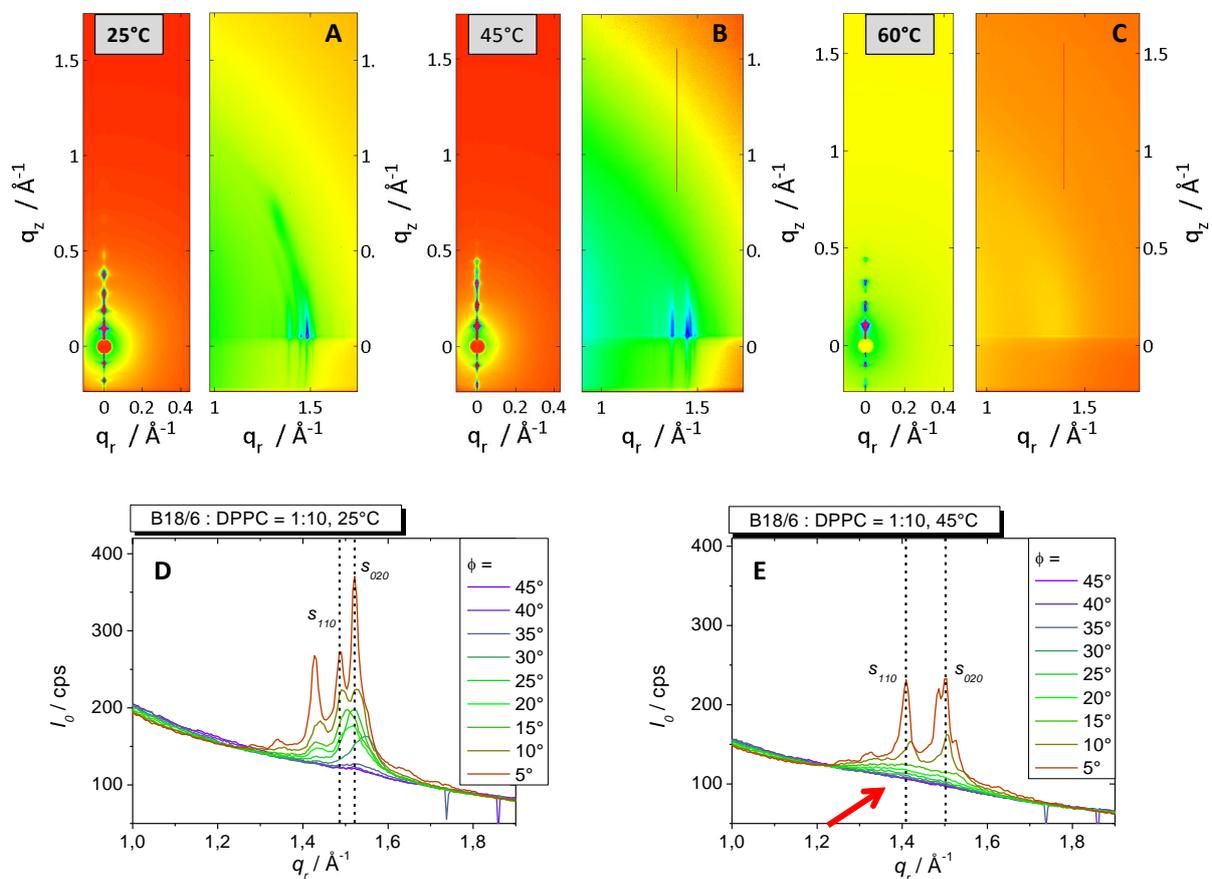


Abbildung 76. A - C: GIXD-Aufnahmen (SAXS- und WAXS-Bereich unterschiedlich skaliert) orientierter Multischichten von B18/6 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (A), 45 °C (B), 60 °C (C) und 99 % RH; D/E: 1D-Peakprofile bei 25 °C (D) und 45 °C (E); markierte Besonderheiten: Halo im WAXS-Bereich (roter Pfeil in E).

Oberhalb T_m , bei 45 °C, sind wie bei den Pulverdiffraktometriedaten bei gleicher Temperatur noch immer zwei scharfe Reflexe im WAXS-Bereich zu beobachten (Abbildung 76 B/E). Der Reflex bei $q = 1.495 \text{ \AA}^{-1}$ liegt im Bereich der Position des (020)-Reflexes aus den Pulverdiffraktometriedaten, wobei der zweite Peak bei $q = 1.409 \text{ \AA}^{-1}$ einen kleineren Streuvektor als der (110)-Reflex aus den Pulverdiffraktometrieaufnahmen ($q_{110}(\text{Pulverdiffr.})_{45^\circ\text{C}} = 1.432 \text{ \AA}^{-1}$) aufweist. Die scharfen Reflexe werden von einem Halo überlagert (roter Pfeil in Abbildung 76E), was darauf hinweist, dass bei dieser Temperatur bereits fluide Acylketten in einer der beiden oben genannten Phasen existieren und eine

diffuse Streuung verursachen. Analog zu den Pulverdiffraktometriedaten existiert oberhalb T_m eine Aggregatsorte bereits in der L_α -Phase, während die andere noch geordnete Acylketten aufweist. Die scharfen Reflexe treten nur bis $\phi < 20^\circ$ auf, was so gedeutet wird, dass die Acylketten keinen Tilt aufweisen oder der Kettentiltwinkel anders als bei DPPC-Membranen sind.

B18/10 : DPPC = 1:10

Die GIXD-Bilder des Gemisches B18/10 : DPPC = 1:10 zeigen für 25 °C vier sehr scharfe WAXS-Reflexe, die den gesamten Winkelbereich überstreichen (Abbildung 77A/G). Die Schärfe der Peaks lässt auf eine gute Packung der streuenden Molekülteile schließen. Es liegen keine Pulverdiffraktometriedaten zum Vergleich vor. In Analogie zu B18/6 : DPPC = 1:10 wird angenommen, dass bei dieser Probe ebenfalls zwei Lamellentypen vorliegen, denen jeweils ein Paar WAXS-Reflexe zugeordnet werden kann. Die Streuinformation hat aber nicht mehr eine für orientierte Proben charakteristische Punktlage, sondern ist wie in Pulveraufnahmen über den Debye-Scherrer-Kreis verteilt. Daraus kann geschlossen werden, dass die geordneten Partikel klein sind und unabhängig voneinander jede Orientierung innerhalb der Lamelle einnehmen können. Im SAXS-Bereich können neben den äquidistanten Schichtreflexen noch drei punktuelle Peaks neben der q_z -Achse beobachtet werden, die auf eine 2D-Packung hindeuten (nicht-lamellare Aggregate, Abbildung 77D/E).¹²¹ Die Peaklagen verhalten sich nicht wie $1:\sqrt{2}:\sqrt{4}:\dots$, was darauf hindeutet, dass keine hexagonale Phase vorliegt. Da die Schichtreflexe bis zu hohen Beugungsordnungen auftreten (Reflektivität und GIXD), wird angenommen, dass diese unabhängig von dem 2D-Gitter streuen. Es scheint eine Entmischung in zwei lamellare Phasen und eine 2D-Phase vorzuliegen (siehe C18/18 : DPPC = 1:10, Abbildung 60).

Oberhalb T_m , bei 50 °C, sind im WAXS-Bereich weiterhin vier scharfe Reflexe, die sich über den gesamten Azimutwinkelbereich erstrecken, zu beobachten (Abbildung 77B/H). Die orientierten, unvollständig hydratisierten planaren Proben verhalten sich bei dieser Temperatur deutlich anders als die Multischichtvesikel bei den Pulverdiffraktometrieexperimenten mit Kapillarproben. Auch bei 50 °C treten im Kleinwinkelbereich drei punktuelle Nebenreflexe im reziproken Raum auf, die auf ein 2D-Gitter hindeuten (Abbildung 77E). Bei den Reflektivitätskurven konnte ein Satz äquidistanter Reflexe eindeutig zu einem 1D-Gitter zugeordnet werden (blaue Symbole in Abbildung 74C/D). Der zweite Satz Schichtreflexe war weniger eindeutig zuzuordnen. Die Reflexe dieses Gitters waren nur für niedrige Beugungsordnungen zu beobachten und ein Fit der Peaks zur Bestimmung des Elektronendichteprofiles war ebenfalls nicht möglich (rote Symbole in Abbildung 74C/D). Es könnte sich also bei diesen q_z -Peaks um Reflexe eines hexagonalen bzw. rhomboedrischen 2D-Gitters handeln. Die Probe wäre also bei 50 °C in eine lamellare und eine hexagonale bzw. rhomboedrische Phase entmischt.

In der Hochtemperaturphase zeigen die GIXD-Bilder beider Proben im WAXS-Bereich nur einen Halo und keine scharfen Reflexe. Es liegt also eine homogen gemischte L_α -Phase vor. Die Halo positionen der beiden Proben ($q_0(\text{B18/6 : DPPC} = 1:10)_{60^\circ\text{C}} = 1.398 \text{ \AA}^{-1}$ in Abbildung 76C und $q_0(\text{B18/10 : DPPC} = 1:10)_{65^\circ\text{C}} = 1.384 \text{ \AA}^{-1}$ in Abbildung 77C) unterschieden sich und die Haloamplituden L_0 der Gemische sind größer als bei reinen DPPC-Membranen in der L_α -Phase (50 °C), was auf ein besseres Streuverhalten der Gemische zurückgeführt werden kann. Für die B18/6-DPPC-Probe fällt L_0 bis $\phi \approx 40^\circ$ auf null ab, während dies für die B18/10-DPPC-Probe erst bei $\phi \approx 55^\circ$ der Fall ist. Die maximalen Öffnungswinkel der fluiden Alkylketten der beiden Proben unterscheiden sich voneinander und sind jeweils größer als bei DPPC-Membranen in der L_α -Phase (50 °C). Die Fluidität der DPPC-Acylketten der Gemische in der Hochtemperaturphase ist damit höher als bei fluiden

DPPC-Membranen, wobei das Gemisch B18/10 : DPPC = 1:10 die höchste Fluidität aufweist.^{120,135} Da keinerlei scharfe Reflexe zu beobachten sind, sollten die B18/n-Alkylketten ebenfalls ungeordnet.

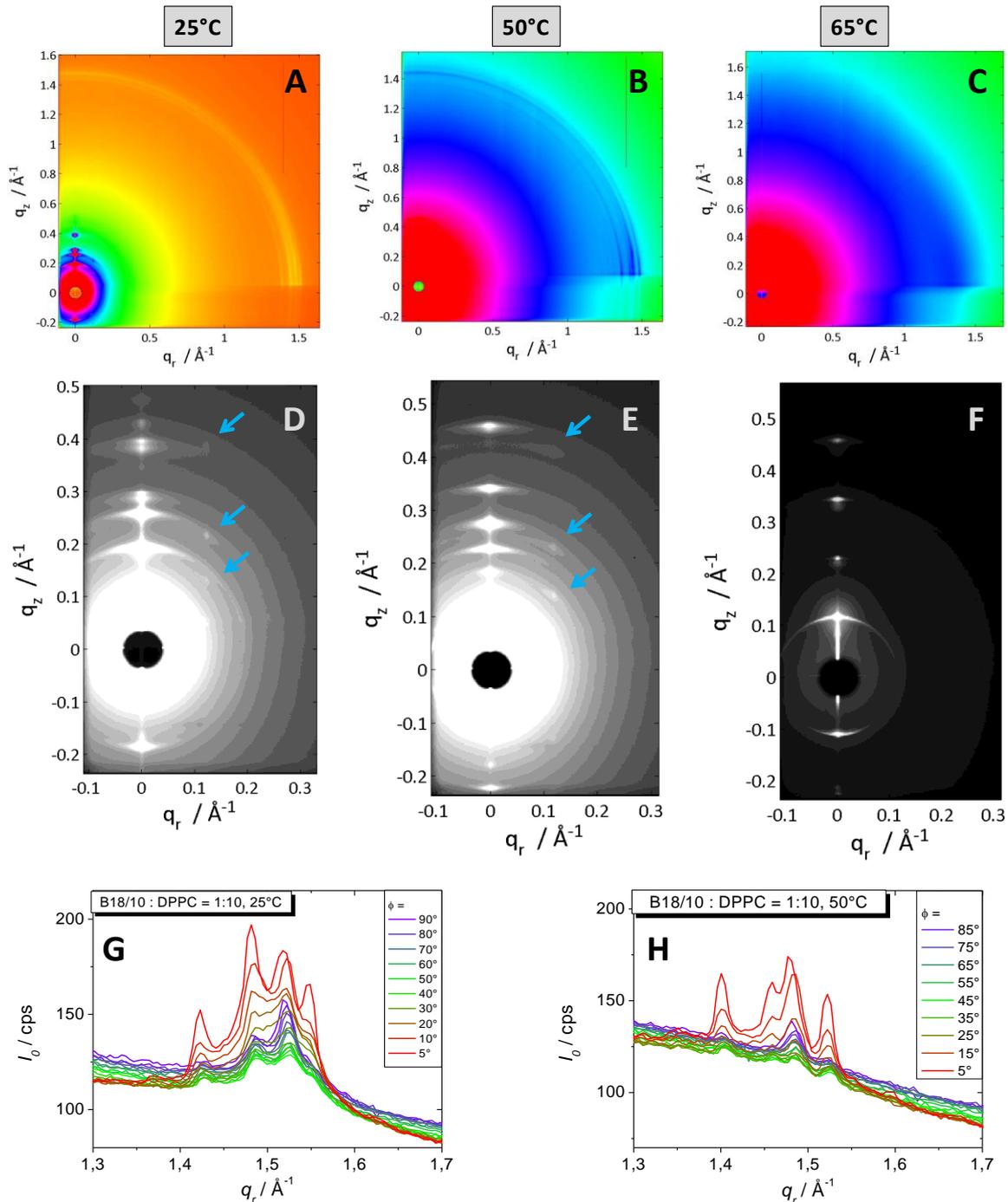


Abbildung 77. GIXD-Aufnahmen orientierter Multischichten von B18/10 : DPPC = 1:10 bei 25 °C (A/E), 50 °C (B/F), 65 °C (C/G) und 99 % RH; A – C: WAXS-Bereich; D – F: SAXS-Bereich (SAXS- und WAXS-Bereich unterschiedlich skaliert); G/H: 1D-Peakprofile bei 25 °C (G), 50 °C (H); markierte Besonderheiten: punktförmige Reflexe im SAXS-Bereich (blaue Pfeile in D/E).

4.3.4 Zusammenfassung Bm/n-Lipid-Gemische (Röntgenexperimente)

Die Bm/n-Mesogene bilden, analog zu den Cm/n-Mesogenen, in Gemischen mit DPPC gut geordnete lamellare Phasen aus. Es tritt bei $T \leq T_{add}$ eine Entmischung auf, die sich für B18/10 : DPPC = 1:10 in der Ausbildung zweier unabhängig streuender Lamellentypen äußert. Es können zwei

Elektronendichteprofile aus den Reflektivitätsdaten berechnet werden. Die Entmischung in lateraler Richtung innerhalb der Membran zeigt sich auch durch das Auftauchen von Zusatzreflexen im WAXS-Bereich. Das Gemisch B18/10 : DPPC = 1:10 ist wahrscheinlich in eine lamellare und eine Phase mit 2D-Gitter (hexagonal oder rhomboedrisch) entmischt.

Diese Befunde konnten sowohl mittels Röntgenpulverdiffraktometriexperimenten an Kapillarproben (50 Gew.-% H₂O) als auch mit Streuexperimenten unter Verwendung von Synchrotronstrahlung an orientierten, festkörpergetragerten Multischichten erzielt werden. Die mittels Pulverdiffraktometrie bestimmten Wiederholabstände sind geringfügig größer als die mittels Reflektivität ermittelten, da unterschiedliche Präparationsmethoden zu verschiedenen Hydratationsgraden führen können.^{115,121}

Bei $T > T_m$ existieren noch immer scharfe WAXS-Reflexe, da weiterhin eine lipidhaltige Phase (Bm/n-reich) mit geordneten Acylketten existiert. In der Hochtemperaturphase ($T > T_{add}$) existiert lediglich ein Halo und es liegt eine (homogen) gemischte L_α -Phase vor.

4.4 Zusammenfassung Bm/n

Die Bm/n-Mesogene sind nicht in Wasser löslich oder suspendierbar, zeigen aber die Bildung stabiler Schichten an der Luft/Wasser-Grenzfläche, die durch Filmwaagemessungen (π - A_{mol} -Isothermen), BAM und IRRAS examiniert wurde. Die Kompressionsisothermen aller drei untersuchten Bm/n-Mesogene (B18/6, B18/10 und B16/10) zeigen ein ausgeprägtes Plateau, innerhalb dessen sich A_{mol} halbiert. Im Plateau werden die Monoschichten also übereinander geschoben und eine Doppelschicht gebildet. Während der Kompression aufgenommene BAM-Bilder bestätigen diesen Prozess. Die IRRAS-Messungen an B18/6-Filmen zeigen ebenfalls, dass vor dem Plateau eine Monoschicht vorliegt, die sich im Plateau in eine Doppelschicht umwandelt. Mit IRRAS konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass die B18/6-Molekülrückgrate während der gesamten Kompression planar auf der Wasseroberfläche liegen.

Obleich die Bm/n-Mesogene keine lyotropen Aggregate in Wasser bilden, lassen sich die Bolopolyphile in Lipidmembranen einbauen.

Mittels LSFM-Aufnahmen wurde gefunden, dass wässrige Suspension von Bm/n : DPPC = 1:10 bzw. 1:4 stets vesikuläre Aggregate bilden. Die Vesikel sind makroskopisch phasensepariert und bestehen aus lipidreichen und mesogenreichen Domänen (Zweikanal-LSFM-Experimente). Die Bm/n-Domänen weisen, wie bei analogen Cm/n-DPPC-Gemischen, oft die Struktur sechsstrahliger Sterne auf. Auch bei höheren Polyphilgehalten (B18/6 : DPPC = 1:4) werden phasenseparierte Vesikel gebildet und keine planaren Schichten wie für das analoge Gemisch mit C12/12 gefunden wurde. Das Gemisch B18/6 : DOPC = 1:4 bildet gemischte fluide GUV mit homogen in der Membran verteilten Polyphil molekülen. Diese Proben zeigen die Tendenz zum Bleichen der Rh-Fluoreszenz, was auf die Nähe der beiden Fluorophore hinweist.

Mittels DSC-Untersuchungen wurden ebenfalls Hinweise auf eine Phasenseparation der Polyphil-DPPC-Systeme gefunden. Die Thermogramme zeigen, unabhängig von $x_{Bm/n}$, die Hauptumwandlung der lipidreichen Phase bei T_m (konstante Position). Eine Zusatzumwandlung bei $T_{add} > T_m$ deutet auf die Umwandlung einer polyphilreichen Phase hin. ΔH_m sinkt mit steigendem $x_{Bm/n}$ viel stärker als der Gehalt an Lipid im Gemisch. Die Bm/n-reiche Phase enthält damit bis zu 43 % des eingesetzten Lipids.

Mittels Röntgenstreuexperimenten konnten für die Gemische B18/6 : DPPC = 1:10 und B18/10 : DPPC = 1:10 wichtige Hinweise auf ein Phasenseparationsverhalten erhalten werden. Für das Gemisch mit B18/6 konnte gezeigt werden, dass für $T < T_{add}$ stets zwei Lamellentypen vorliegen, die eine unterschiedliche Acylkettenpackung und damit je zwei WAXS-Reflexe bei verschiedenen q_0 -Positionen aufweisen. Für $T_m < T < T_{add}$ verschwindet ein Paar WAXS-Reflexe, da die lipidreiche Phase bereits in der L_α -Phase vorliegt, während das Lipid in der B18/6-reichen Phase noch geordnete Acylketten aufweist. Für das Gemisch mit B18/10 ist im SAXS-Bereich bereits eine Entmischung in zwei unabhängig streuende Lamellentypen bzw. einen lamellare und eine Struktur mit 2D-Gitter (hexagonal bzw. rhomboedrisch) zu beobachten. Für $T < T_{add}$ treten ebenfalls vier WAXS-Reflexe auf, die auf zwei streuende Strukturen hindeuten. In der Hochtemperaturphase ($T < T_{add}$) liegen für beide Proben homogen gemischte L_α -Phasen mit ausschließlich ungeordneten DPPC-Acylketten (Halo im WAXS) vor.

5 Kopfgruppenmodifizierte X-förmige Amphiphile der Klassen C12r, F12/n und G12/n

Alle bisher beschriebenen Bolaamphiphile bzw. Bolapolyphile (Cm/n, Em/n bzw. Bm/n) trugen nur kleine hydrophile Glycerolkopfgruppen. Die hydrophoben Bereiche (Rückgrat und laterale Alkylketten) stellten den größten Teil des Moleküls dar. Diese Moleküle bildeten unter anderem deshalb keine Aggregate mit Wasser. Im Rahmen dieser Arbeit sollten aus diesem Grund auch Amphiphile mit deutlich größeren Kopfgruppen hinsichtlich ihres Aggregationsverhaltens in Wasser und ihres Wechselwirkungsverhaltens gegenüber Phospholipiden untersucht werden. Dazu wurde das Amphiphil C12/12 modifiziert, indem die Glycerolkopfgruppen durch Oligo-Ethylenoxid-Einheiten $(-EO)_k-R$ der Länge $k = 3; 4; 7$ ersetzt wurden. Die terminale Gruppe R der $(EO)_k$ -Ketten wurde ebenso variiert und kann Methyl (Fm/n) oder Glycerol (Gm/n) sein (Abbildung 78). Die EO-Gruppen können nicht als Wasserstoffbrückenbindungsdonoren fungieren und so kann durch Variation der terminalen Gruppe der Einfluss von möglichen Wasserstoffbrückenbindungen auf das Aggregationsverhalten der Mesogene in Wasser oder die Wechselwirkungen mit Lipiden in Membranen studiert werden. Zusätzlich wurde das Molekül C12r, welches lediglich sehr kleine OH-Kopfgruppen trägt, in Wechselwirkung mit PC in Membranen untersucht.

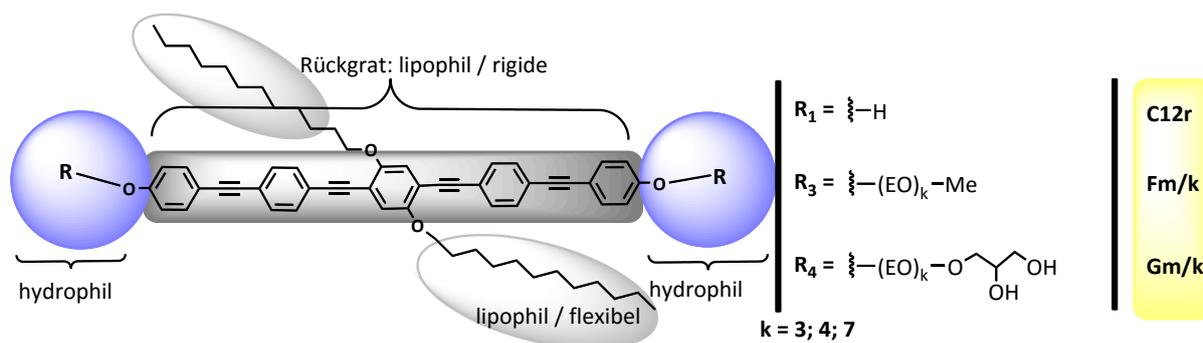


Abbildung 78. Allgemeine Struktur der kopfgruppenmodifizierten X-förmigen Bolaamphiphile; die Kopfgruppenstrukturen R mit Nomenklatur der Molekülklassen (gelber Kasten) sind rechts angegeben.

Die Moleküleigenschaften des C12/12, die auf die Struktur des Molekülrückgrats zurückzuführen sind und auf die die Kopfgruppen wenig Einfluss haben, treten auch bei den kopfgruppenmodifizierten Amphiphilen auf. So werden die gleichen Ringschwingungsbanden bei $\nu_{ipp}(ring) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ bzw. $\nu_{ipp}(ring) = 1609 \text{ cm}^{-1}$ im IR-Bereich und die gleichen elektronischen Übergänge des konjugierten Systems im UV/VIS-Bereich sowie gleiche Fluoreszenzeigenschaften gefunden. Die Moleküle sind als Feststoff intensiv gelb gefärbt und zeigen eine bläuliche Opaleszenz in CHCl_3 -Lösung. Letzteres weist auf das Vorliegen von Aggregaten hin.

5.1 Hydroxylkopfgruppen - C12r

Bei der Verbindung C12r machen die OH-Kopfgruppen einen noch kleineren Anteil des Gesamtmoleküls aus als bei C12/12. C12r ist in H₂O weder löslich noch suspendierbar und bildet keine lyotropen Phasen. Es soll hier nur das Wechselwirkungsverhalten von C12r mit PC in Membranen diskutiert werden.

5.1.1 TEM-Untersuchungen

Cryo-TEM-Aufnahmen des Gemisches C12r : DPPC = 1:10 zeigen facettierte, unilamellare und wenige multilamellare Vesikel (Abbildung 79A/B) mit Durchmesser zwischen 20 nm und 300 nm. Offensichtlich ist die Ausbildung von lamellaren Aggregaten trotz der sehr kleinen Kopfgruppen des C12r noch immer bevorzugt.

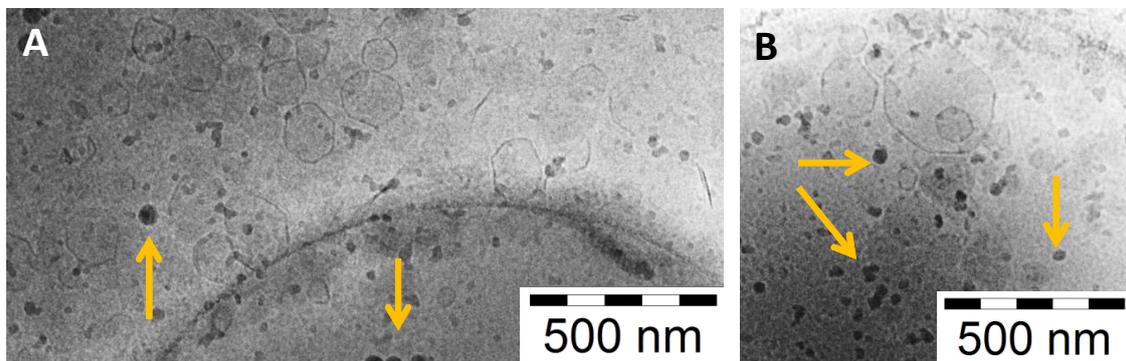


Abbildung 79. Cryo-TEM-Aufnahmen vitrifizierter wässriger Suspensionen von C12r : DPPC = 1:10, $T_{\text{prap}} = 20 \text{ }^\circ\text{C}$; markierte Besonderheiten: Eiskristalle (orange Pfeile); Skalen: je 500 nm.

5.1.2 LSFM-Untersuchungen

Es wurden Zweikanal-Fluoreszenzmikroskopiebilder von GUV der Gemische C12r : DPPC = 1:10 und C12r : DOPC = 1:10 aufgenommen. Dazu wurde der Probe 0.5 Gew.-% Rh-DHPE zugesetzt. Die Mesogene wurden bei $\lambda^{\text{ex}}(\text{C12r}) = 405 \text{ nm}$ angeregt und deren Fluoreszenz im Bereich $\lambda^{\text{em}}(\text{C12r}) = 443 \text{ nm} - 545 \text{ nm}$ detektiert.

C12r : DPPC = 1:10

Das Gemisch C12r : DPPC = 1:10 bildet durch Elektroformation uni- und multilamellare, entmischte, facettierte Vesikel ($\varnothing \approx 10 \text{ } \mu\text{m} - 100 \text{ } \mu\text{m}$, Abbildung 80A). Das C12r-Fluoreszenzsignal ist überall im Membranbereich zu finden, während die Rh-Fluoreszenzintensität in einigen Arealen deutlich reduziert ist. Die GUV sind makroskopisch entmischt wobei die C12r-reiche Phase wie beim analogen Gemisch mit C12/12 in der Form sechsstrahliger, fraktal-verzweigter Sterndomänen organisiert ist (Abbildung 80B). Die Sterndomänen sind größer als beim C12/12-Gemisch und umspannen oft eine ganze Vesikelhälfte, vergleichbar mit dem analogen C18/18-DPPC-Gemisch (Abbildung 19). Wie beim analogen Gemisch mit C6/6 kommt es bei Bestrahlen mit $\lambda^{\text{ex}}(\text{C12r}) = 405 \text{ nm}$ (gleichzeitiges Abbilden beider Fluoreszenzkanäle) zum irreversiblen Bleichen des Rhodamins, was auf die Nähe der beiden Fluorophoren hinweisen könnte (siehe oben, S. 30). Das Volumenbild in Abbildung 80B wurde daher nur unter Anregung der Rh-Fluoreszenz aufgenommen. Im Bereich des sechsstrahligen Sterns ist keine Rh-Fluoreszenz zu detektieren.

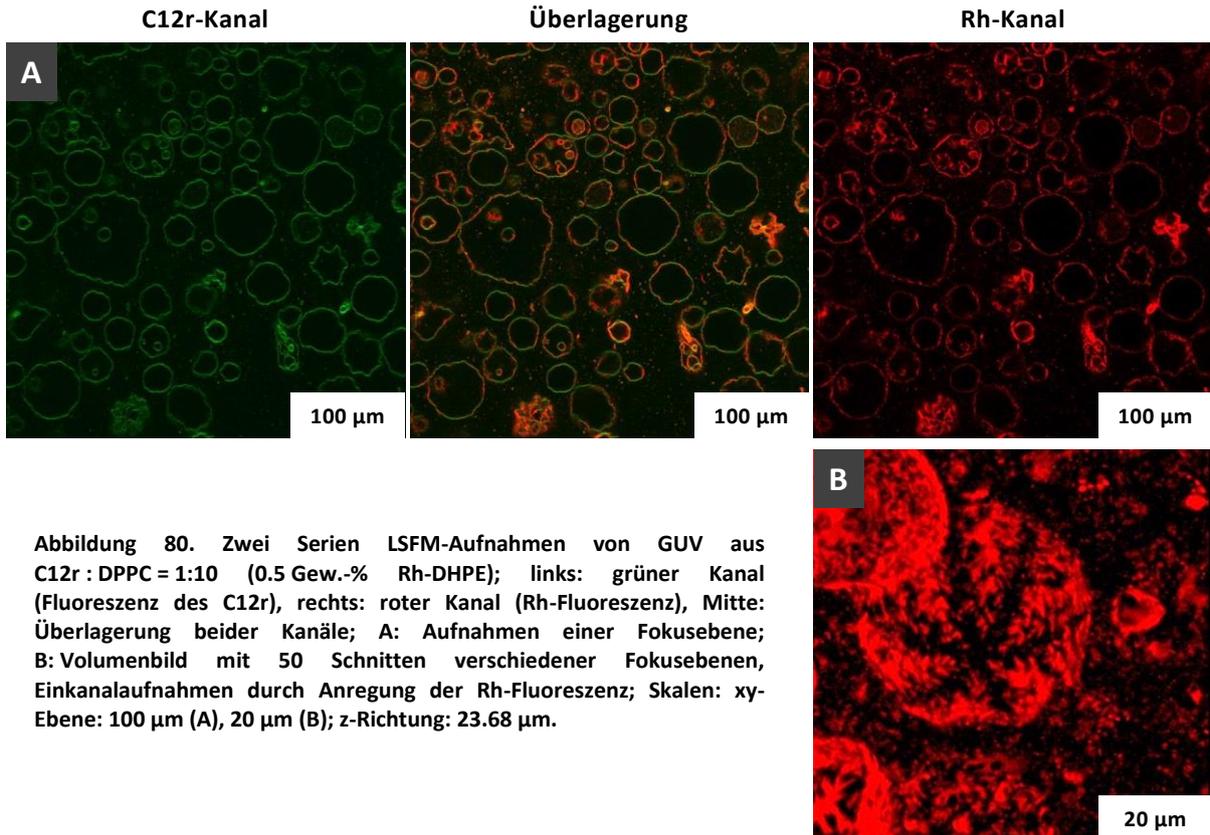


Abbildung 80. Zwei Serien LSFM-Aufnahmen von GUV aus C12r : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C12r), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; A: Aufnahmen einer Fokusebene; B: Volumenbild mit 50 Schnitten verschiedener Fokusebenen, Einkanalaufnahmen durch Anregung der Rh-Fluoreszenz; Skalen: xy-Ebene: 100 µm (A), 20 µm (B); z-Richtung: 23.68 µm.

C12r : DOPC = 1:10

Das Gemisch C12r : DOPC = 1:10 bildet ausschließlich runde GUV mit glatter Membran ($\varnothing \approx 1 \mu\text{m} - 30 \mu\text{m}$, Abbildung 81). Beide Fluorophore zeigen eine gleichmäßige Fluoreszenz in der Membran, und es gibt keinen Hinweis auf eine Phasenseparation. Die C12r-Moleküle scheinen homogen in der fluiden DOPC-Membran verteilt zu sein, analog zur Probe C12/12 : DOPC = 1:10 (siehe oben, S. 36). Bei Verwendung eines polarisierten Anregungslasers ändert sich die C12r-Fluoreszenzintensität periodisch entlang der Membran, was auf eine Vorzugsorientierung der C12r-Moleküle relativ zur Membrannormale hindeutet (siehe Diskussion bei C12/12 : DOPC = 1:10, S. 37). Wahrscheinlich nehmen die C12r-Moleküle eine Transmembrananordnung ein. Das Intensitätsprofil entlang der GUV-Meridiane wurde als Funktion des Kreiswinkels geplottet und gefittet. Der maximale Neigungswinkel der C12r-Moleküle α_{max} beträgt ca. 45° ($B = 0.37 \pm 0.05$ und $u_{min} = 0.52 \pm 0.03$). Der bestimmte Winkel α_{max} ist sehr ähnlich dem des analogen C12/12-Gemischs. In fluiden Membranen hat die verminderte Kopfgruppengröße des C12r offenbar keinen Einfluss auf die Ausrichtung der Mesogene in der Membran.

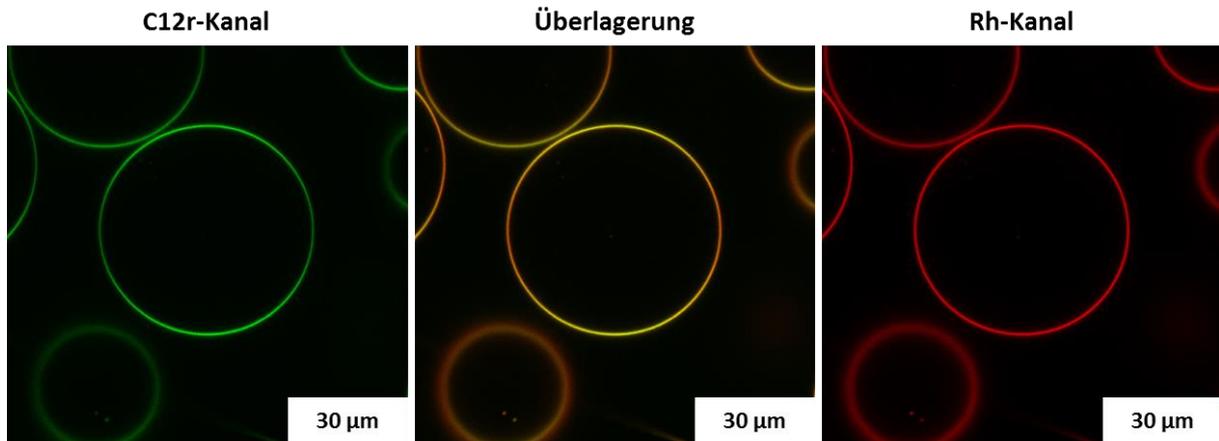


Abbildung 81. Eine Serie LSFM-Aufnahmen von GUV aus C12r : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); links: grüner Kanal (Fluoreszenz des C12r), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; Skala: 30 µm.

5.1.3 DSC-Untersuchungen

Die Thermogramme aller untersuchten Gemische C12r : DPPC weisen eine Hauptumwandlung bei $T_m = 42\text{ °C}$ auf (Abbildung 82A). Ab einem Mischungsverhältnis von 1:20 sind mehrere zusätzliche Umwandlungen bei T_{add} im Bereich $47\text{ °C} - 65\text{ °C}$ zu sehen. Das 1:20-Gemisch zeigt zwei gut getrennte Zusatzumwandlungen bei $T_{add1}(C12r:DPPC=1:20) = 52\text{ °C}$ und $T_{add2}(C12r:DPPC=1:20) = 56\text{ °C}$, während diese Zusatzpeaks für das 1:10-Gemisch deutlich breiter, weniger deutlich getrennt und zu niedrigeren Temperaturen verschoben sind ($T_{add1}(C12r:DPPC=1:10) = 50\text{ °C}$ und $T_{add2}(C12r:DPPC=1:10) = 52\text{ °C}$). Das Thermogramm des 1:4-Gemisches zeigt vier zu höheren Temperaturen verschobene Umwandlungspeaks. Die Zusatzumwandlungen sind mit einer Phasenseparation in eine DPPC-reiche Phase und mindestens eine C12r-reiche Phase zu erklären.

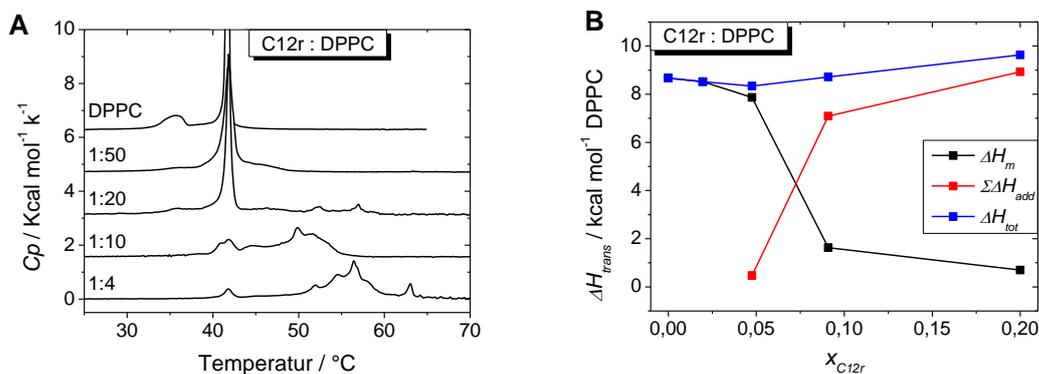


Abbildung 82. A: DSC-Thermogramme wässriger Suspension verschiedener Gemische von C12r : DPPC, das Molverhältnis ist angegeben; B: Umwandlungsenthalpien der Gemische als Funktion von x_{C12r} , Enthalpie der Hauptumwandlung (ΔH_m , schwarz), Summe der Enthalpien aller Zusatzumwandlungen ($\Sigma\Delta H_{add}$, rot) und Summe der Enthalpien aller Umwandlungen (ΔH_{tot} , blau); $c_{DPPC} = 2\text{ mM}$.

Die Peakintensität und die Integralfäche des Hauptumwandlungspeaks nehmen mit steigendem x_{C12r} stark ab. Für das 1:10-Gemisch beträgt ΔH_m (Abbildung 82B) nur noch 20 % der Umwandlungsenthalpie von DPPC-Membranen. Folglich sind 80 % des DPPC in der C12r-reichen Phase lokalisiert. Für das 1:4-Gemisch beträgt ΔH_m nur 8 % der Hauptumwandlungsenthalpie reiner DPPC-Membranen, und 92 % des Lipides sind in C12r-reichen Domänen lokalisiert. Der Anteil an Lipid in den DPPC-reichen Domänen ist viel geringer als bei analogen C12/12-Gemischen (Abbildung 29A).

Das deutet darauf hin, dass auf Grund der kleinen Kopfgruppen von C12r mehr Lipid zur Stabilisierung der lamellaren Struktur der mesogenreichen Phase nötig ist.

5.1.4 ATR-FTIR-Untersuchungen

Die thermotrope Umwandlung der Lipidacylketten beim Übergang der Membran von L_{β^-} zu L_{α} -Phase wurde für die Systeme C12r : DPPC- d_{62} = 1:10 und 1:4 schwingungsspektroskopisch verfolgt. Die Alkylschwingungsbanden von Mesogen und Lipid konnten durch Verwendung von perdeutertem DPPC- d_{62} spektral getrennt untersucht werden.

Für beide Mischungsverhältnisse bleibt für $T < 40$ °C die Position der symmetrische CD_2 -Valenzschwingung konstant (2088.6 cm^{-1} für C12r : DPPC- d_{62} = 1:10 und 2088.4 cm^{-1} für 1:4, Abbildung 83). Die $\nu_s(CD_2)$ -Werte sind typisch für die L_{β^-} -Phase. Bei höheren Temperaturen steigt die Position der Bande an und bleibt für $T > 55$ °C wieder konstant (2093.6 cm^{-1} für das 1:10-Gemisch und 2093.8 cm^{-1} für das 1:4-Gemisch) bei typischen Werten für eine L_{α} -Phase. Die Lipidacylkettenumwandlung erstreckt sich für das 1:10-Gemisch über alle thermotropen Umwandlungen (T_m und T_{add} , DSC) und ist für das 1:4-Gemisch korreliert mit der Umwandlung bei T_m nicht jedoch mit den Zusatzumwandlungen. Offensichtlich hat der Gehalt an Mesogen weder Einfluss auf den Temperaturbereich der Umwandlung noch auf die Lage der $\nu_s(CD_2)$ -Bande und damit dem Ordnungsgrad der Lipid-Acylokette.

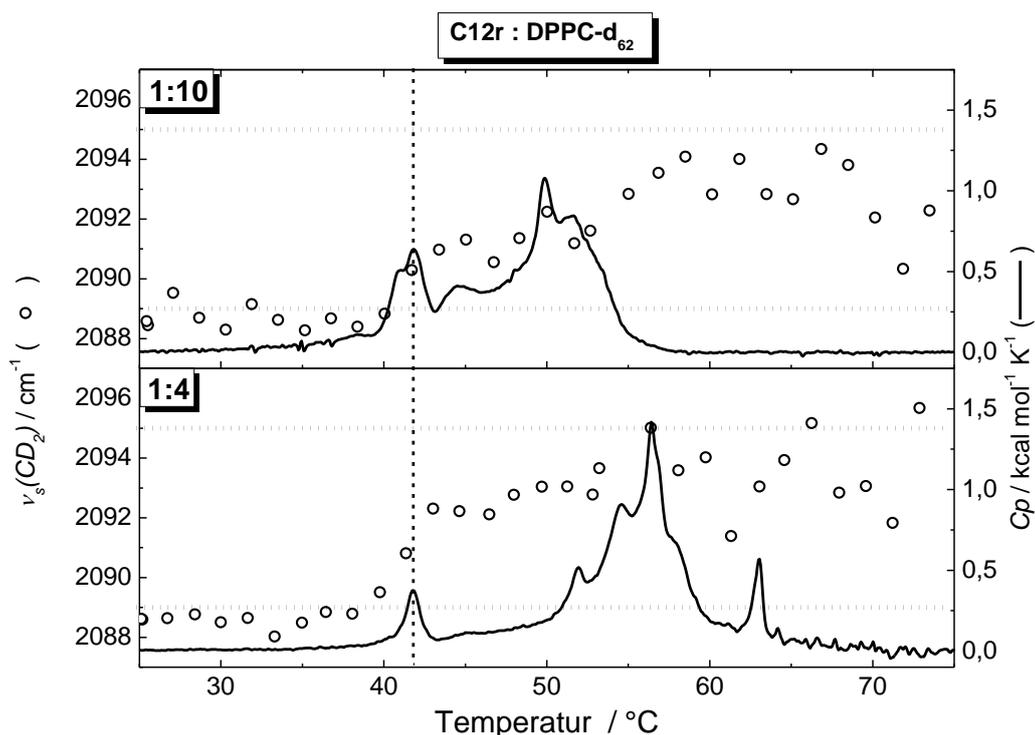


Abbildung 83. Wellenzahlagen der $\nu_s(CD_2)$ -Schwingungsbande (Symbole) der Gemische C12r : DPPC- d_{62} = 1:10 (oben) und 1:4 (unten) in D_2O als Funktion der Temperatur und DSC-Thermogramme (durchgezogene Linien) der Gemische C12r : DPPC = 1:10 (oben) und 1:4 (unten) in H_2O ; $c_{Lipid} = 2.0 \text{ mM}$; waagerechte, gepunktete Linien markieren die Literaturwerte der $\nu_s(CD_2)$ -Bande für DPPC- d_{62} in der L_{β^-} bzw. L_{α} -Phase; ⁹⁸⁻¹⁰⁰ vertikale gestrichelte Linie markiert T_m .

Die $\nu_s(CH_2)$ -Bande für die lateralen C12r-Alkylketten liegt bei 2850.5 cm^{-1} , was typisch für fluide Alkylketten ist. Im gesamten untersuchten Temperaturbereich kann keine signifikante Änderung der Bandenlage beobachtet werden.

5.1.5 Fluoreszenzdepolarisationsuntersuchungen

Für das 1:10-Gemisch wurde bei $T \leq 42^\circ\text{C}$ eine Fluoreszenzanisotropie von $r = 0.23$ bestimmt. Beim Erwärmen der Probe sinkt der r -Wert und bleibt bei $T \geq 58^\circ\text{C}$ wieder ungefähr konstant bei $r = 0.123$. Für das 1:4-Gemisch sinkt der r -Wert zwischen 50°C und 60°C von $r = 0.18$ auf $r = 0.08$. Für beide Gemische ist der Abfall von r nicht mit der Hauptumwandlung bei T_m korreliert, sondern wie bei den analogen Gemischen mit C12/12 (siehe oben, S. 55) mit den thermotropen Zusatzumwandlungen (DSC). Bei T_{add} werden die C12r-Moleküle innerhalb der DPPC-Membran mobil, und die phasenseparierten C12r-Domänen, die bei Raumtemperatur wahrscheinlich durch π - π -Wechselwirkungen der Phenylringe des Molekülrückgrates stabilisiert sind, brechen korreliert mit den Zusatzumwandlungen auf und ermöglichen eine (molekulare) Beweglichkeit der C12r-Moleküle (bzw. kleiner Aggregate).

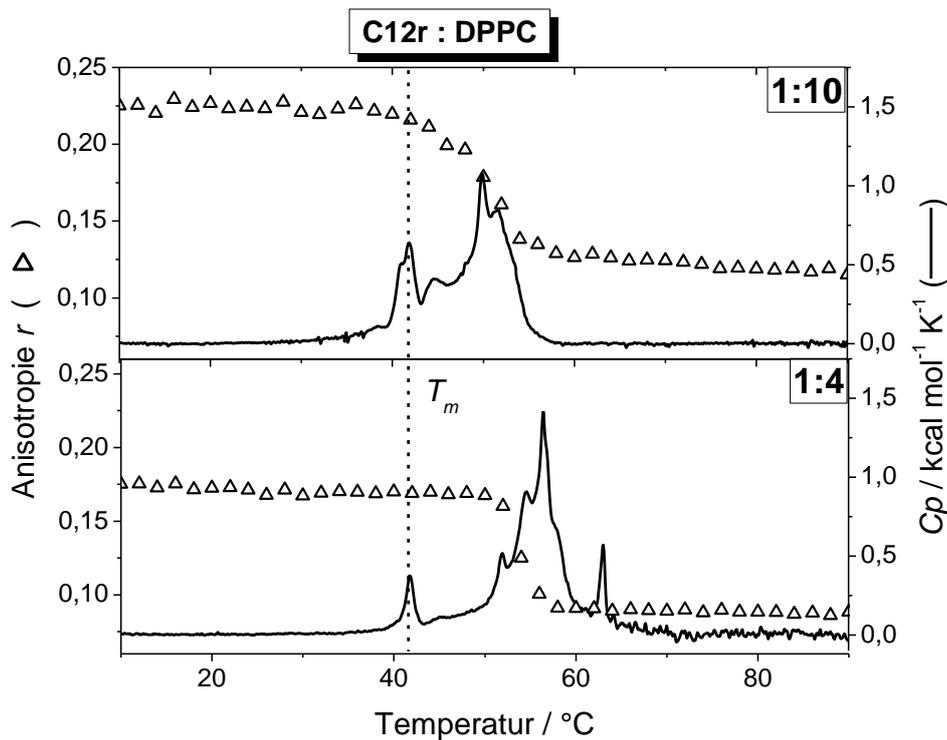


Abbildung 84. Fluoreszenzanisotropie (Symbole) von wässrigen Suspensionen der Gemische C12r : DPPC = 1:10 (oben) und 1:4 (unten) als Funktion der Temperatur ($\lambda^{ex} = 342 \text{ nm}$, $\lambda^{em} = 466 \text{ nm}$, $c_g = 0.5 \text{ mM}$) und DSC-Thermogramme (durchgezogene Linien, $c_{DPPC} = 2.0 \text{ mM}$); die gestrichelten Linien markieren T_m .

5.1.6 Zusammenfassung C12r

Obleich die hydrophilen Kopfgruppen von C12r sehr klein sind und das Mesogen wegen der großen lipophilen Bereiche kaum als Bolaamphiphil zu klassifizieren ist, zeigt C12r sehr ähnliche Wechselwirkungen mit PC in Membranen wie das im Grundgerüst identische Molekül C12/12, welches Glycerolkopfgruppen trägt.

In der L_{β} -Phase liegt das System C12r : DPPC entmischt vor und die C12r-reichen Domänen enthalten bis zu 92 % des enthaltenen DPPC. Der Anteil an Lipid ist deutlich höher als bei analogen C12/12-Gemischen und stabilisiert wahrscheinlich die lamellare Struktur. Für C12r : DPPC = 1:10 ist die C12r-reiche Phase wie bei analogen Gemischen mit C12/12 bzw. C18/18 in der Form sechsstrahliger sternförmiger Domänen organisiert, was darauf hindeutet, dass ein ähnliches Packungsmodell, wie für die Cm/n-DPPC-Gemische, zugrunde liegt (siehe auch S. 83). Die C12r-Filamente in diesen

Domänen werden möglicherweise ebenfalls durch π - π -Wechselwirkungen des aromatischen Moleküllrückgrates stabilisiert. Die Ausbildung intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen ist bei parallel angeordneten Moleküllrückgraten auf Grund der sehr kleinen OH-Kopfgruppe sterisch schwierig und damit unwahrscheinlich.

Die thermotrope Hauptumwandlung bei T_m ist für C12r : DPPC = 1:10 und 1:4 nicht korreliert mit einer Mobilitätserhöhung der C12r-Moleküle, sondern mit der Fluidisierung der Acylketten des Lipides. Es ist kaum Mesogen in der lipidreichen Phase lokalisiert. Während der Zusatzumwandlungen im DSC steigt die Mobilität der Mesogenmoleküle und die C12r-Domänen brechen auf. In der fluiden Hochtemperaturphase (C12r : DOPC = 1:10) sind Lipid und Mesogen homogen gemischt, wobei die C12r-Moleküle eine Vorzugsorientierung mit einem maximalen Tiltwinkel von ca. 45° aufweisen. Die Struktur der Hochtemperaturphase und der hohe Tiltwinkel sind bei analogen C12/12-Systemen ebenfalls zu finden.

5.2 Methyl-terminierte Oligo-Ethylenoxid-Kopfgruppen - F12/n

Die beiden Verbindungen F12/4 (Kopfgruppe: $-(EO_4)-Me$) und F12/7 (Kopfgruppe: $-(EO_7)-Me$) wurden auf ihre Suspendierbarkeit in Wasser und ihre Wechselwirkungen mit PC in Membranen untersucht.

5.2.1 Lyotropes Verhalten der F12/n-Mesogene

5.2.1.1 Langmuir-Filme

Bei Kompression eines F12/4-Filmes an der Luft/Wasser-Grenzfläche erfolgt der *Lift-off* der π - A_{mol} -Isothermen bei $A_{mol} \approx 130 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$. Die Isotherme zeigt bis zu einer molekularen Fläche von $62 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (2.23 mN m^{-1}) zunächst nur einen sehr kleinen Anstieg. Bei weiterer Kompression ist der Anstieg der Isothermen sehr steil, bis der Film bei $28 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (26.6 mN m^{-1}) kollabiert. Die F12/4-Filme sind sehr steif und teilweise als gelbe Schicht auf der Wasseroberfläche sichtbar. Die kleine *Lift-off*-Fläche und der Verlauf der Kompressionsisothermen sind ungewöhnlich für Filme derart großer Moleküle. Die F12/4-Moleküle können bei so kleinen *Lift-off*-Flächen nicht planar auf der Wasseroberfläche liegen (MD senkrecht zur Grenzflächennormale). Wahrscheinlich werden keine Monoschichten gebildet oder die Moleküle stehen aufrecht auf der Wasseroberfläche. Das Kompressionsverhalten ähnelt dem der C12/12-Filme (Abbildung 8B). Da die Kopfgruppen von F12/4 nur unwesentlich größer sind als bei C12/12 und das Grundgerüst identisch ist, könnte eine ähnliche Filmstruktur vorliegen.

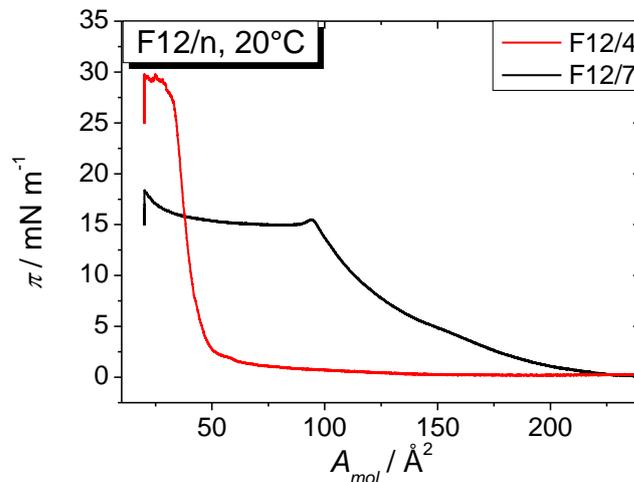


Abbildung 85. π - A_{mol} -Isotherme von Filmen aus F12/4 (rot) bzw. F12/7 (schwarz) an der Luft/Wasser-Grenzfläche, gespreitet aus $CHCl_3$ -Lösung, $c = 1 \text{ mM}$; $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{kompr} = 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

Der *Lift-off* der Kompressionsisotherme eines F12/7-Filmes liegt bei $230 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$, was der Fläche des flach auf der Wasseroberfläche liegenden Moleküls entsprechen würde. Der Oberflächendruck steigt steil an, bis ein ausgedehntes Plateau zwischen $93 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (15.5 mN m^{-1}) und $45 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ erreicht wird. Die molekulare Fläche wird im Plateau halbiert, was auf die Bildung einer Doppelschicht hinweist. Bei weiterer Kompression kommt es zu einem weiteren kurzen Oberflächendruckanstieg und schließlich zum Kollaps bei $20 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ (18.4 mN m^{-1}). F12/7 bildet offenbar eher flexible monomolekulare Filme bei großen molekularen Flächen. Der Verlauf der Isotherme ist ähnlich dem der Filme der Bm/n-Mesogene.

5.2.1.2 F12/n-Aggregation in Wasser - Untersuchungen mittels TEM, DSC und ATR-FTIR

Mittels Ultraschallbehandlung (30 min bei 60 °C) können stabile Suspensionen von F12/7 in Wasser präpariert werden. Die Suspensionen sind intensiv gelb und zeigen eine bläuliche Opaleszenz. Mittels cryo-TEM wurden ungewöhnliche, gewellte Strukturen gefunden, bei denen es sich möglicherweise um fluide, gewellte Schichtsysteme handelt (Dreieck 1, Abbildung 86A). Neben den lamellaren Strukturen treten auch runde bis elliptische Vesikel mit glatter Membran (Dreieck 2, Abbildung 86B/C) sowie planare Schichten (Dreieck 3, Abbildung 86A) auf. Die TEM-Aufnahme zeigen sehr viele Aggregate, die sich teilweise mehrfach überlagern, was den Gesamtkontrast reduziert.

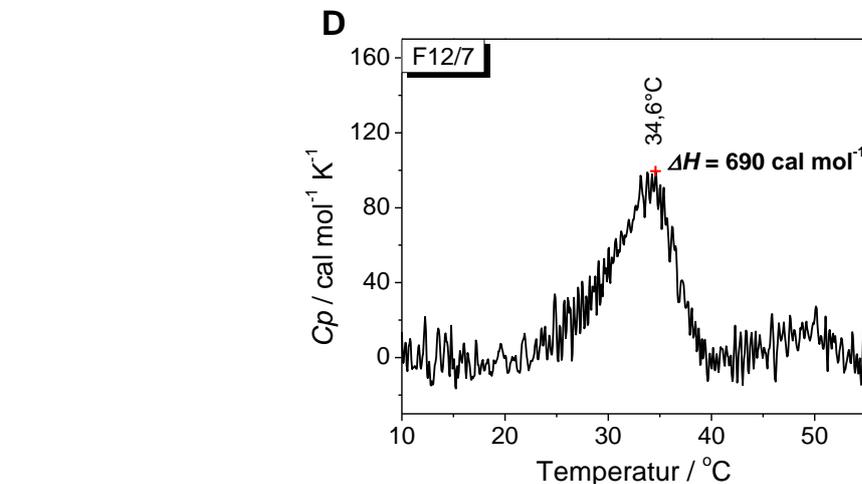
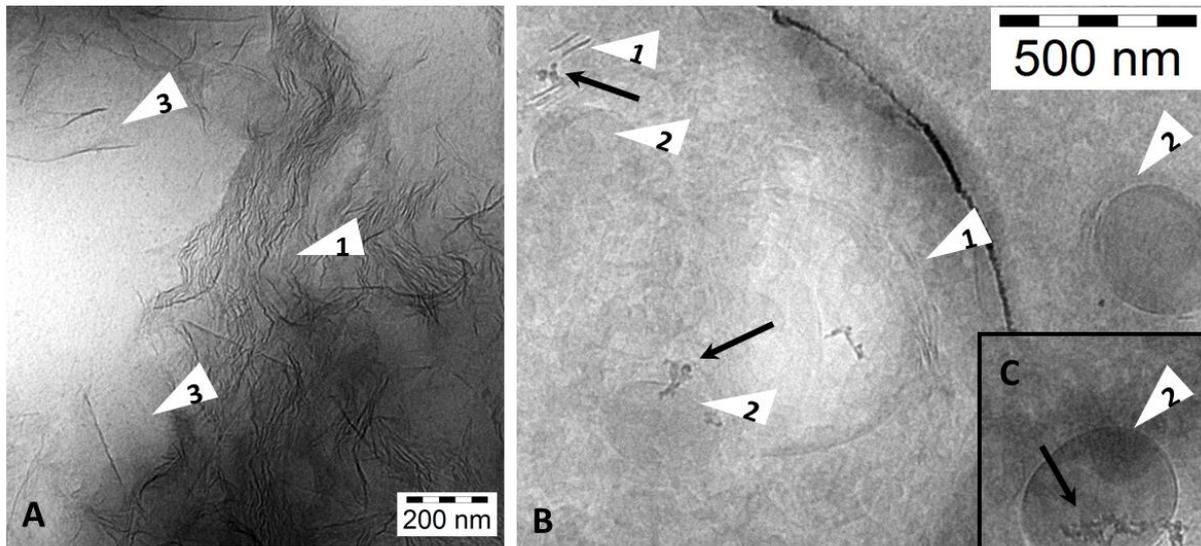


Abbildung 86. A-C: Cryo-TEM-Aufnahmen einer vitrifizierten wässrigen Suspension von F12/7, $T_{\text{präp}} = 20\text{ °C}$, Skalen: 200 nm (A), 500 nm (B,C); markierte Besonderheiten: lamellare Strukturen (Dreieck 1 in A/B), Vesikel (Dreieck 2 in B/C), Schichtstrukturen (Dreieck 3 in A), Ethankristalle (Pfeile in B/C); D: DSC-Thermogramm einer wässrigen Suspension von F12/7; jeweils $c = 1\text{ mM}$.

Das DSC-Thermogramm der Suspension zeigt einen schwachen Peak bei 34.6 °C (Abbildung 86B, $\Delta H_m(\text{F12/7})_{\text{aq}} = 0.69\text{ kcal mol}^{-1}$). Die Aggregate durchlaufen also eine thermotrope Umwandlung, deren Natur noch ungeklärt ist. Durch temperaturabhängige ATR-FTIR-Messungen (Si-Kristall) an der wässrigen F12/7-Suspension konnte gezeigt werden, dass die Konformation der lateralen Alkylketten sich zwischen 10 °C und 60 °C nicht ändert (siehe Anhang, S. 3, Abbildung 112). Die Ketten sind im gesamten Temperaturbereich fluide ($\nu_s(\text{CH}_2) = 2849\text{ cm}^{-1}$). Das weist darauf hin, dass die thermotrope Umwandlung (DSC) nicht der Fluidisierung der F12/7-Alkylketten entspricht.

5.2.2 Wechselwirkungen der F12/n-Mesogene mit Phosphatidylcholinen in Membranen

Im Fokus der Untersuchung der F12/n-Mesogene standen deren Wechselwirkungen mit DPPC in Membranen. Alle untersuchten Gemische F12/n : DPPC bilden zwischen 2 °C – 95 °C stabile intensiv gelbe Suspensionen mit bläulicher Opaleszenz. Auf Grund der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmenge an F12/4 wurden die meisten Untersuchungen zum Wechselwirkungsverhalten der F12/n-Mesogene mit PC in Membranen mit der Verbindung F12/7 durchgeführt.

5.2.2.1 LSFM-Untersuchungen

Die LSFM-Aufnahmen für F12/7 : DPPC = 1:10 zeigen neben wenigen facettierten Vesikeln vor allem runde GUV ($\varnothing \approx 20 \mu\text{m} - 80 \mu\text{m}$) mit glatter Membran (Abbildung 87A). Die beiden Fluorophore sind im Rahmen der Auflösung gleichmäßig über die Membran verteilt (Abbildung 87B). Es scheint also, als wären die F12/7-Moleküle homogen in der DPPC-Membran verteilt. Bei Verwendung von polarisiertem Anregungslicht, variiert die F12/7-Fluoreszenzintensität periodisch entlang der GUV-Meridiane, was ein Indiz für eine Vorzugsorientierung der Fluorophore ist. Ein ähnliches Verhalten wurde z. B. bei den DOPC-Gemischen von C12/12 oder C12r beobachtet (siehe S. 36 und S. 112). Wie für das Gemisch E12/12 : DPPC = 1:10 gezeigt (siehe S. 35), ist dieser Effekt nicht zwingend auf die homogene Verteilung des Mesogens in der Membran zurückzuführen. Die runden GUV weisen lokale Inhomogenitäten der Fluorophorenverteilung in der Membran auf (Abbildung 87B). Möglicherweise ist das System phasensepariert, wobei die F12/7-Domänengröße unterhalb der Auflösungsgrenze der LSFM liegt.

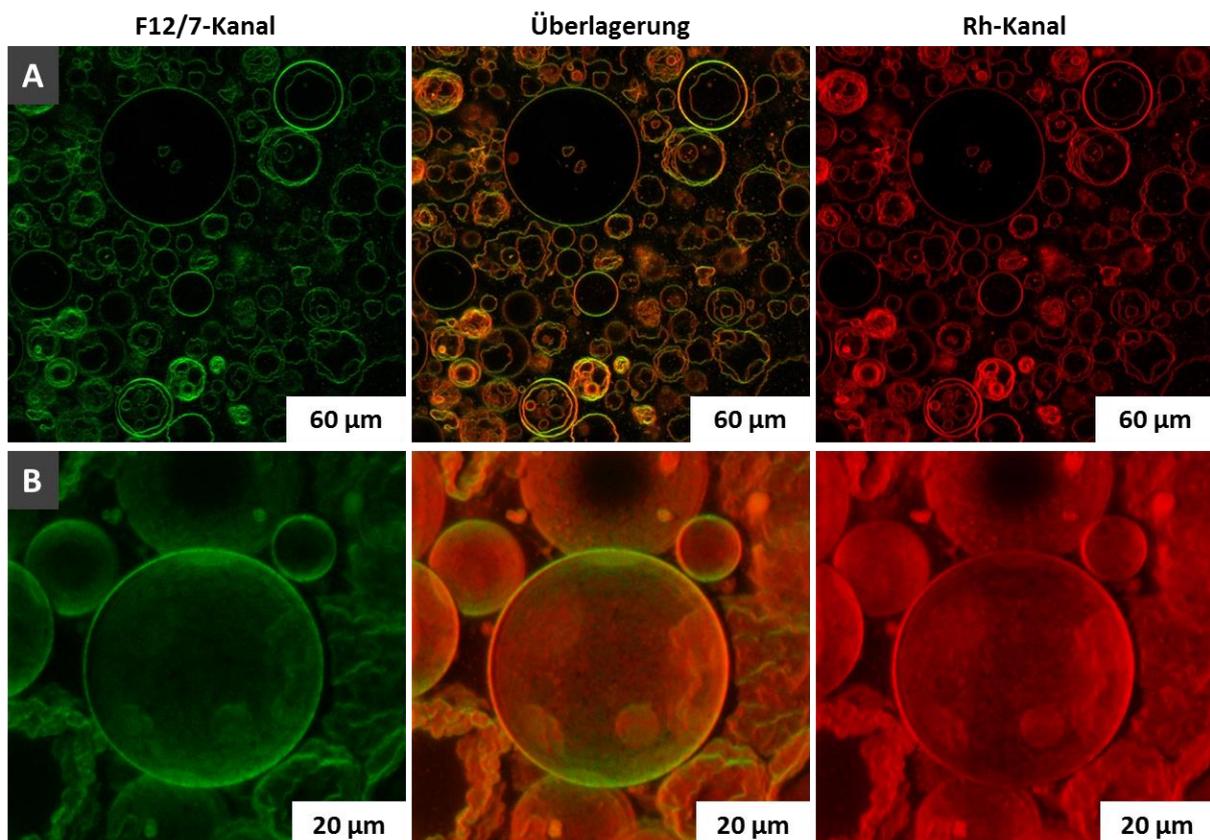


Abbildung 87. Zwei Serien LSFM-Aufnahmen von GUV aus F12/7 : DPPC = 1:10 (0.5 Gew.-% Rh-DHPE); jeweils links: grüner Kanal (Fluoreszenz des F12/7), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; A: Aufnahme einer Fokusebene; B: Volumenbild mit 45 Schnitten verschiedener Fokusebenen; Skalen: xy-Ebene: 60 μm (A), 20 μm (B), z-Richtung: 20.43 μm (B).

5.2.2.2 DSC-Untersuchungen

Die DSC-Thermogramme verschiedener Proben F12/4 : DPPC und F12/7 : DPPC weisen unabhängig von der Zusammensetzung einen scharfen Umwandlungspeak bei $T_m \approx 42^\circ\text{C}$ auf (Abbildung 88A/B), der auf die Membranzumwandlung von L_{β^-} in L_{α} -Phase hinweist. Der Hauptumwandlungspeak in den Thermogrammen der Gemische F12/4 : DPPC = 1:50 und 1:20 zeigen zwei Nebenmaxima. Für beide Mesogene nimmt die Intensität des Hauptumwandlungspeaks mit steigendem Mesogengehalt stärker ab, als durch das eingesetzte Molverhältnis zu erwarten ist (Abbildung 88C). Bereits bei einem Mesogengehalt von $x_{F12/n} = 0.02$ beträgt ΔH_m des Gemisches nur noch 57 % (F12/7 : DPPC) bzw. 65 % (F12/4 : DPPC) der Umwandlungsenthalpie reiner DPPC-Membranen. Damit durchlaufen bei diesen Gemischen 43 % (F12/7 : DPPC) bzw. 35 % (F12/4 : DPPC) des Lipids bei T_m keine Umwandlung. Das deutet auf eine Phasentrennung in eine DPPC-reiche (Umwandlung bei T_m) und eine mesogenreiche Phase (keine Umwandlung zwischen $2^\circ\text{C} - 95^\circ\text{C}$) hin. Nach der steilen Abnahme der Umwandlungsenthalpie bei Zumischung sehr kleiner Anteile Mesogen sinkt ΔH_m nur noch wenig bei weiter steigendem $x_{F12/n}$. So weisen die Gemische F12/n : DPPC = 1:20 noch 51 % (F12/7 : DPPC) bzw. 47 % (F12/7 : DPPC) der Umwandlungsenthalpie von reinen DPPC-Membranen auf. Dieser Trend ist für die F12/7-DPPC-Gemische deutlicher zu beobachten, und so bleibt der Gehalt an DPPC in der F12/7-reichen Phase nahezu konstant bei steigendem Gehalt an Mesogen.

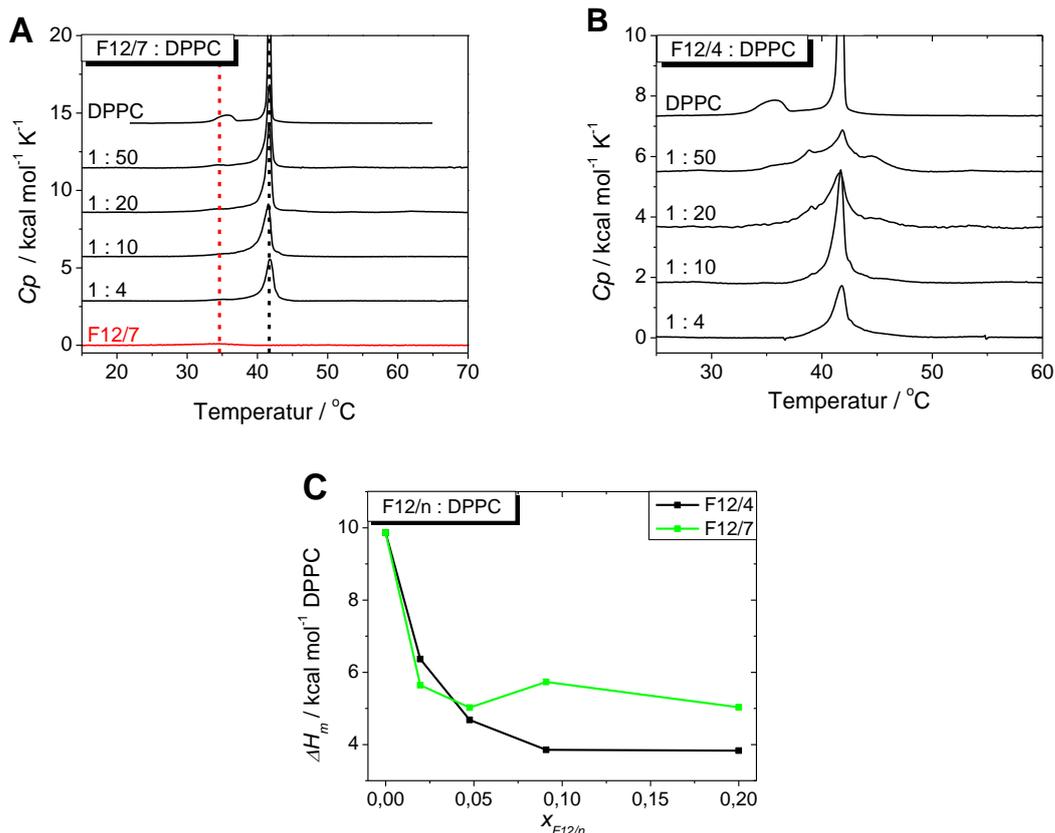


Abbildung 88. A/B: DSC-Thermogramme der wässrigen Suspensionen verschiedener Gemische von F12/7 mit DPPC (A) bzw. F12/4 mit DPPC (B); das Molverhältnis ist angegeben; C: Hauptumwandlungsenthalpien (ΔH_m) der Gemische als Funktion von $x_{F12/n}$; $c_{DPPC} = 2 \text{ mM}$.

Die Thermogramme der F12/7-DPPC-Proben weisen einen zweiten, sehr schwachen Umwandlungspeak im Bereich $34^\circ\text{C} - 36^\circ\text{C}$ auf (Abbildung 88A/D). Das deutet auf eine Umwandlung der F12/7-reichen Phase hin, die stark vom thermotropen Verhalten der F12/7-Komponente der Phase dominiert ist, da eine wässrige F12/7-Suspension eine thermotrope Umwandlung bei 34.6°C zeigt.

Die Vorumwandlung von DPPC-Membranen liegt ebenfalls in diesem Temperaturbereich. Wenn die lipidreiche Phase kaum F12/7 enthält und die Membranstruktur kaum gestört ist, wäre es denkbar, dass eine Vorumwandlung dieser Phase mit dem DSC detektierbar ist. Da die lipidreiche Phase nur einen Teil der Gesamtmenge an PC der Probe enthält, ist die Vorumwandlungsenthalpie der Gemische bezogen auf den Gesamtgehalt an Lipid sehr gering.

5.2.2.3 ATR-FTIR-Untersuchungen

Für F12/7 : DPPC = 1:10 wurden bei verschiedenen Temperaturen ATR-FTIR-Spektren aufgenommen. Da undeutertes DPPC verwendet wurde, sind die Alkylkettenschwingungen des Lipides und des Mesogens im gleichen Spektralbereich überlagert und können nicht unabhängig voneinander diskutiert werden.

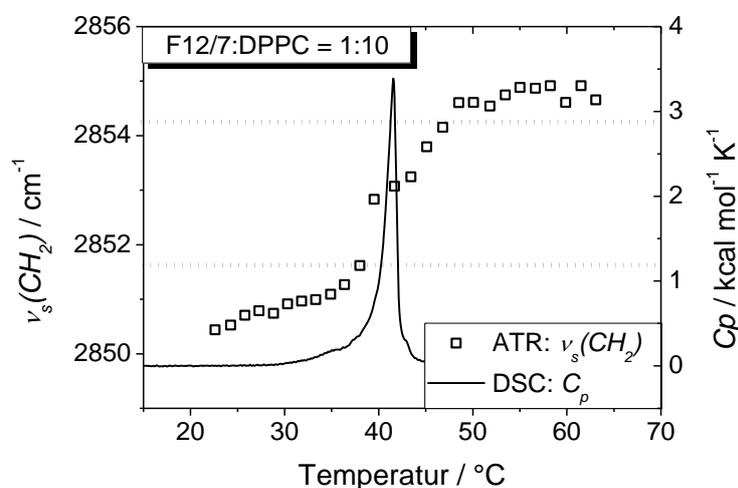


Abbildung 89. Wellenzahlagen der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Schwingungsbande (Symbole) einer wässrigen Suspension des Gemisches F12/7 : DPPC = 1:10 (D_2O) als Funktion der Temperatur und DSC-Thermogramm des Gemisches in H_2O ; waagerechte, gepunktete Linien markieren die Literaturwerte der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Bande für DPPC in der L_β - bzw. L_α -Phase; ⁹⁸⁻¹⁰⁰; $c_{\text{Lipid}} = 2 \text{ mM}$

Für $T < 38 \text{ }^\circ\text{C}$ ist die Lage der symmetrischen CH_2 -Streckschwingungsbande ungefähr konstant bei 2850.2 cm^{-1} , was ein typischer Wert für *all-trans*-Acylketten (DPPC-Gelphase) ist. Korreliert mit der thermotropen Umwandlung (DSC) ändert sich die Lage der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Bande sprunghaft und bleibt oberhalb von $45 \text{ }^\circ\text{C}$ wieder annähernd konstant bei 2854.8 cm^{-1} (Abbildung 89, für Spektren siehe Anhang, S. 4, Abbildung 113). Diese $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Bandenposition entspricht fluiden Acylketten (flüssigkristalline Phase der DPPC-Membran). Die thermotrope Hauptumwandlung im DSC weist also auf die Fluidisierung der DPPC-Acylketten hin.

5.2.3 Zusammenfassung F12/n

Die Wechselwirkungen der F12/n-Mesogene mit Wasser sind abhängig von der Länge der EO-Kette und damit der Kopfgruppengröße. F12/4 mit kleineren hydrophilen Kopfgruppen zeigt ein ähnliches Monoschichtverhalten wie C12/12, und die Mesogene scheinen aufrecht auf der Wasseroberfläche zu stehen oder Multischichten zu bilden. Die Kompressionsisotherme der F12/7-Filme dagegen gleicht eher der der Bm/n-Mesogene, wobei die F12/7-Moleküle wahrscheinlich flach auf der Wasseroberfläche liegen. F12/4 ist nicht in Wasser suspendierbar, wohingegen F12/7 stabile

Suspensionen in Wasser bildet. F12/7 aggregiert in Wasser zu lamellaren Strukturen (planare Schichten und Vesikel), die eine thermotrope Umorganisation bei 34.7 °C aufweisen.

Die F12/n-Mesogene bilden mit DPPC in Wasser Vesikel. Obgleich nur eine thermotrope Umwandlung zwischen 2 °C und 95 °C beobachtet wird, ist das System phasensepariert, da bei T_m nur ein Teil des Lipides umgewandelt wird. Für die F12/7-DPPC-Gemische existiert ein schwacher Zusatzpeak im Bereich der Umwandlung der wässrigen F12/7-Aggregate bzw. der Vorumwandlung der reinen Membran. Die Größen der Mesogendomänen des Gemisches F12/7 : DPPC = 1:10 liegen unterhalb der Auflösungsgrenze des LSM, die Vesikel erscheinen nahezu homogen gemischt und eine Phasenseparation ist kaum sichtbar. Von Festkörper-NMR-Untersuchungen ist bekannt, dass die F12/7-Moleküle in diesem Gemisch selbst in der L_α -Phase der Membran ($T > T_m$) nur geringe Mobilität besitzen. Eine Aggregation der F12/7-Moleküle (zusammen mit Lipid) in der Form phasenseparierter F12/7-reicher Domänen ist damit sehr wahrscheinlich.¹⁵⁶ Möglicherweise existiert eine thermotrope Umwandlung bei $T > 95$ °C, bei der die Acylketten des Lipidanteils der F12/7-reichen Phase fluide werden. Die Gemische F12/4 : DPPC zeigen ebenfalls eine Phasenseparation und es befinden sich bis zu 53 % des eingesetzten DPPC nicht in der lipidreichen Phase. Es kann im untersuchten Temperaturbereich ebenfalls keine Umwandlung der mesogenreichen Phase detektiert werden. Das deutet darauf hin, dass die Umwandlung in eine fluide gemischte Hochtemperaturphase ebenfalls bei > 95 °C liegt.

5.3 Glycerol-terminierte Oligo-Ethylenoxid-Kopfgruppen - G12/3

Das Molekül G12/3 besitzt das analoge Grundgerüst wie C12/12 (Molekülrückgrat und laterale Alkylketten) und Glycerolgruppen-terminierte EO₃-Kopfgruppen. Im Vergleich zu C12/12 ist damit die Kopfgruppengröße erhöht, wobei weiterhin die Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen gegeben ist. Die Kopfgruppengröße von G12/3 ist etwa vergleichbar mit der von F12/7.

G12/3 ist in Wasser nicht löslich oder suspendierbar. Das System G12/3 und DPPC ist jedoch leicht in Wasser dispergierbar und die gelbe Suspension zeigt eine bläuliche Opaleszenz.

5.3.1 TEM-Untersuchungen

TEM-Aufnahmen negativ-kontrastierter Proben von G12/3 : DPPC = 1:10 zeigen facettierte Vesikel ($\varnothing \approx 200 \text{ nm} - 350 \text{ nm}$), die wegen des Trocknungsprozesses bei der Probenpräparation kollabiert sind (Abbildung 90A). Weiterhin zeigen die TEM-Bilder planare, lamellare Aggregate, die möglicherweise durch das Kollabieren der Vesikel beim Trocknen gebildet wurden (Abbildung 90B/C). Die TEM-Aufnahmen von G12/3 : DPPC = 1:20 weisen nur einen schwachen Kontrast auf und zeigen parallele Rippen mit Längen von ca. 100 nm (Abbildung 90D/E), die auf lamellare Strukturen hindeuten. Möglicherweise handelt es sich um aufgefaltete, senkrecht zur Fokusebene stehende Lamellen, die durch Aufbrechen der Vesikelmembran entstanden sind.

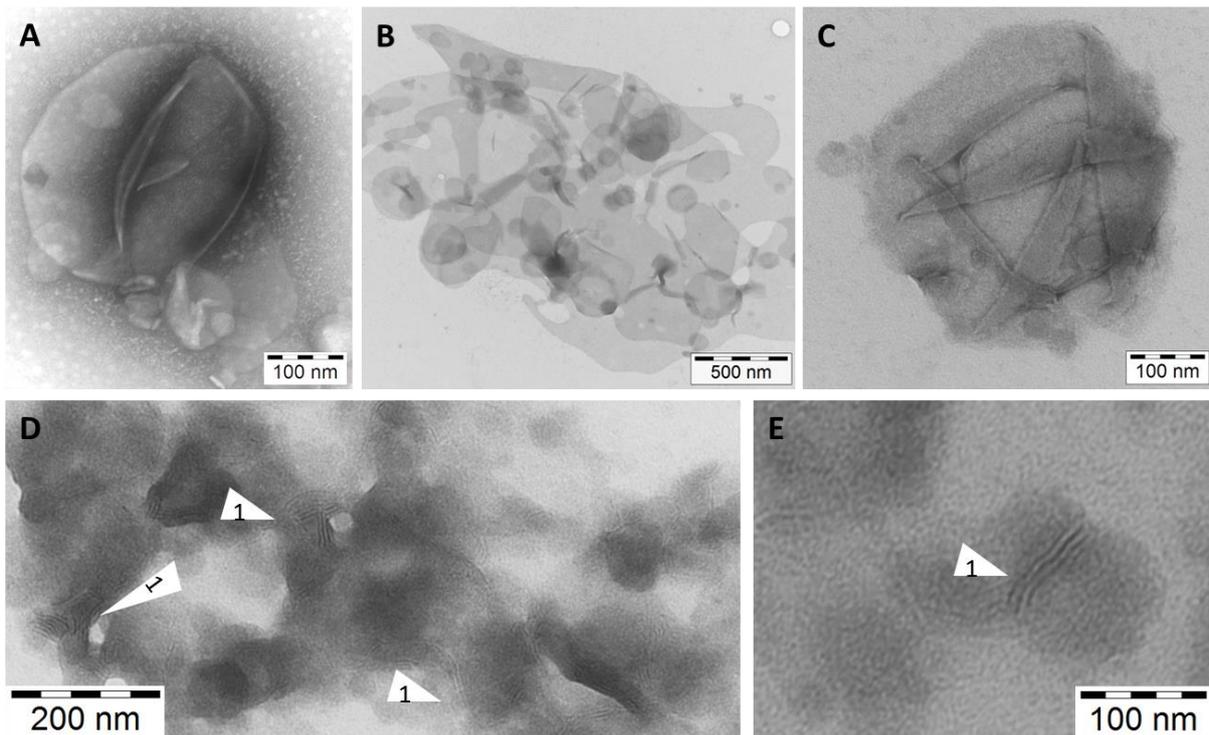


Abbildung 90. TEM-Aufnahmen negativ-kontrastierter (UO₂Ac₂), getrockneter Proben von G12/3 : DPPC = 1:10 (oben) bzw. 1:20 (unten); $T_{\text{präp}} = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, $c_{\text{DPPC}} = 2.0 \text{ mM}$; markierte Besonderheiten: parallele Rippenstruktur (Dreieck 1 in D/E); Skalen: 100 nm (A, C, E), 200 nm (D), 500 nm (B).

Cryo-TEM-Aufnahmen des Gemisches G12/3 : DPPC = 1:10 zeigen facettierte Vesikel (Abbildung 91). Dabei sind viele kleine Vesikel ($\varnothing \approx 40 \text{ nm} - 140 \text{ nm}$) mit Ecken und geraden Rändern (Dreieck 1 in Abbildung 91A) und wenige große Vesikel zu finden ($\varnothing \approx 240 \text{ nm} - 400 \text{ nm}$). Zusätzlich treten analog

zu den negativ-kontrastierten Proben planare Schichtstrukturen auf, die übereinander gefaltet bzw. verdreht sind und damit sehr flexibel sein müssen (Pfeile in Abbildung 91).

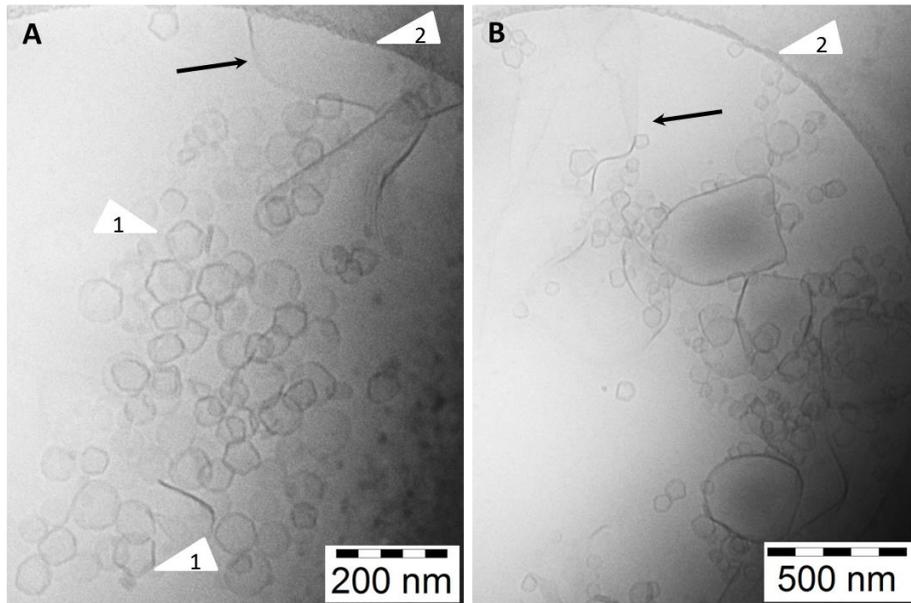


Abbildung 91. Cryo-TEM-Aufnahmen einer vitrifizierten, wässrigen Suspension von G12/3 : DPPC = 1:10; $T_{\text{prap}} = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $c_g = 0.1\text{ mM}$; markierte Besonderheiten: eckige Vesikel (Dreieck 1 in A), Rand der TEM-Gridmasche (Dreieck 2 in A/B), schichtartige Aggregate (schwarze Pfeile in A/B); Skalen: 200 nm (A), 500 nm (B).

5.3.2 LSFM-Untersuchungen

Die LSFM-Aufnahmen beider Gemische (G12/3 : DPPC = 1:10 und 1:4) zeigen makroskopisch entmischte, runde Vesikel mit glatten Membranen oder facettierte GUV (Abbildung 92, $\varnothing_{1:10} \approx 10\text{ nm} - 100\text{ nm}$, $\varnothing_{1:4} \approx 10\text{ nm} - 30\text{ nm}$). Die G12/3-Domänen sind zumeist streifenförmig und weisen keine besondere Symmetrie auf. An einigen Stellen kreuzen sich zwei der langgestreckten Domänen (Dreieck 2, Abbildung 92), aber eine regelmäßige Sternform wie bei analogen C12/12-Gemischen ist nicht zu erkennen (siehe Abbildung 17). Areale, in denen eines der Fluorophore emittiert, zeigen zumeist kein Fluoreszenzsignal des anderen Fluorophors. Auf den LSFM-Bildern sind die G12/3-Domänenflächen im Verhältnis zur restlichen GUV-Membranfläche sehr klein, und das eingesetzte Molverhältnis wird, vor allem für das 1:4-Gemisch, nicht korrekt wiedergegeben. In der 1:4-Probe scheint insgesamt sogar weniger G12/3 enthalten zu sein als in der 1:10-Probe. Der Effekt ist könnte ein Präparationsartefakt und auf die unterschiedliche Löslichkeit von G12/3 und DPPC in CHCl_3 zurückzuführen sein.

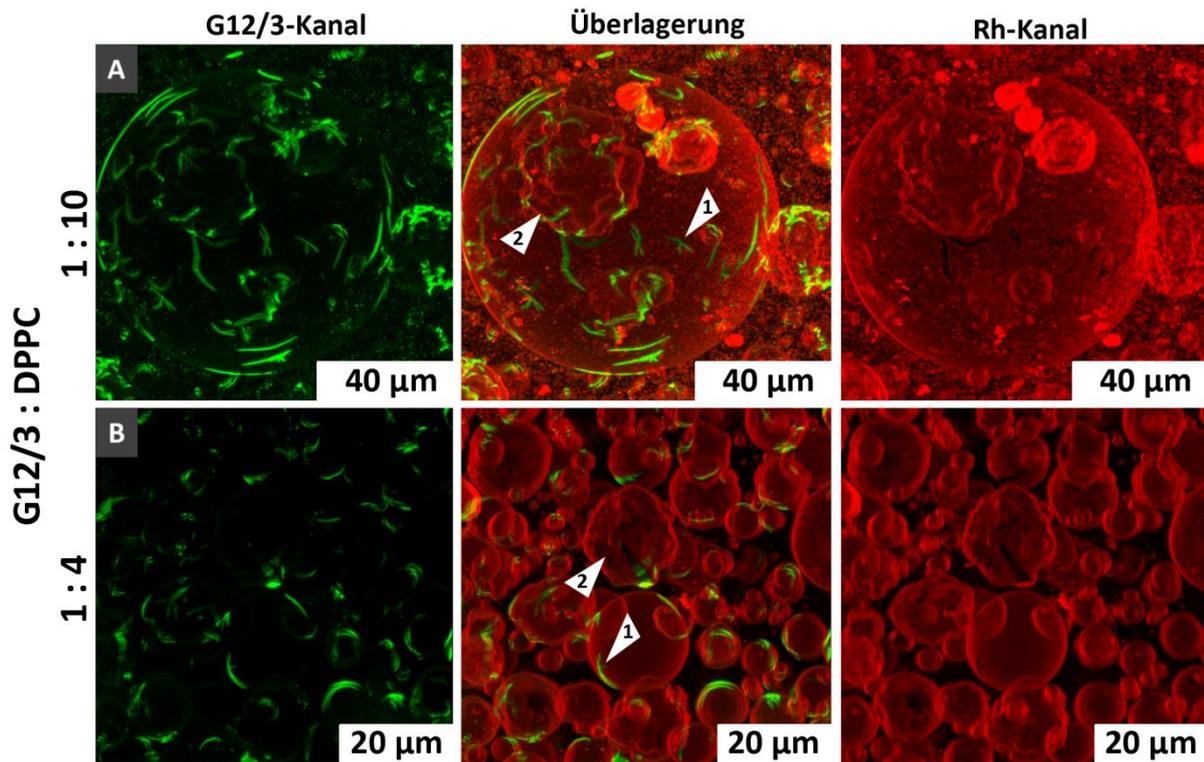


Abbildung 92. Zwei Serien LSFM-Aufnahmen von GUV aus G12/3 : DPPC = 1:10 (A) bzw. 1:4 (B, jeweils 0.5 Gew.-% Rh-DHPE); jeweils links: grüner Kanal (Fluoreszenz des G12/3), rechts: roter Kanal (Rh-Fluoreszenz), Mitte: Überlagerung beider Kanäle; Volumenbilder mit 110 (A) bzw. 40 (B) Schnitten verschiedener Fokusebenen; markierte Besonderheiten: sternförmige Verzweigung der Mesogendomäne (Dreieck 1 in A/B), facettierte Vesikel (Dreieck 2 in A/B); Skalen: xy-Ebene: 40 µm (A), 20 µm (B), z-Richtung: 47.39 µm (A), 22.78 µm (B).

5.3.3 DSC-Untersuchungen

Die DSC-Thermogramme der Gemische G12/3 : DPPC zeigen einen Peak bei $T_m = 42\text{ °C}$, dessen Position unabhängig vom G12/3-Gehalt an gleicher Stelle bleibt und dessen Peakintensität mit wachsendem $x_{G12/3}$ sinkt (Abbildung 93A). Ab einem Mischungsverhältnis von G12/3 : DPPC = 1:20 treten zwei zusätzliche Umwandlungen bei 56 °C und 68 °C auf, was auf eine Phasenseparation in eine DPPC-reiche Phase mit Umwandlung bei T_m und mindestens eine G12/3-reiche Phase mit Umwandlungen bei T_{add} hindeutet. Die Positionen und relativen Intensitäten der beiden Zusatzpeaks verschieben sich mit steigendem G12/3-Gehalt. Beim 1:50- und 1:20-Gemisch sind noch Umwandlungen bei $T < T_m$ im Bereich der Vorumwandlung (L_{β^-} zu P_{β^-} -Phase) von DPPC-Membranen (36.0 °C für 1:50 bzw. 35.0 °C für 1:20) zu beobachten. Da oft keine P_{β^-} -Phase gebildet wird, wenn die DPPC-Membran andere Moleküle enthält, existieren für diese Gemische offensichtlich kaum Wechselwirkungen zwischen G12/3 und DPPC in der lipidreichen Phase, sodass die Vorumwandlung und Bildung einer P_{β^-} -Phase dennoch zu beobachten ist.

Die Hauptumwandlungsenthalpie sinkt mit steigendem G12/3-Gehalt, während die $\Sigma\Delta H_{add}$ stetig zunimmt (Abbildung 93B). ΔH_m sinkt nahezu linear mit x_{DPPC} . Der Abfall von ΔH_m mit steigendem $x_{G12/3}$ ist viel geringer als für analoge Systeme mit C12/12 oder F12/6. Nahezu das gesamte eingesetzte Lipid erfährt also bei T_m die Umwandlung von L_{β^-} bzw. P_{β^-} in die L_{α} -Phase, und damit enthält die mesogenreiche Phase kein oder kaum DPPC.

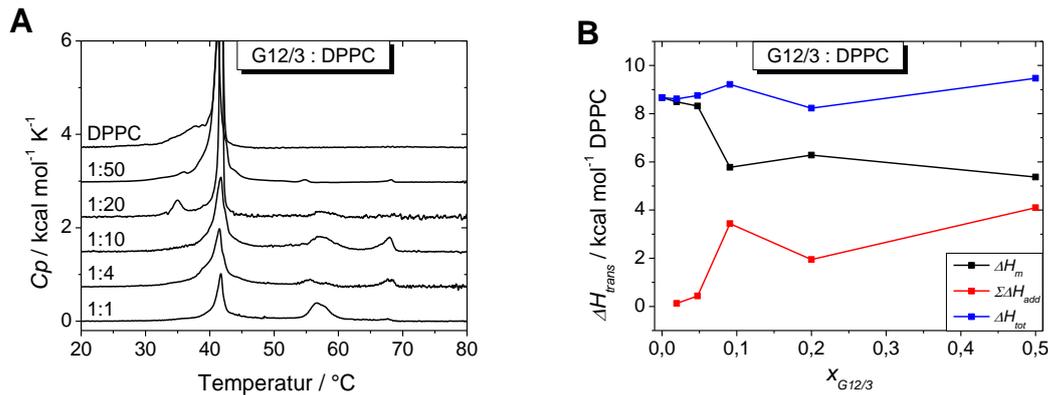


Abbildung 93. A: DSC-Thermogramme der wässrigen Suspensionen verschiedener Gemische von G12/3 mit DPPC; das Molverhältnis ist angegeben; B: Umwandlungsenthalpien als Funktion von $x_{\text{G12/3}}$; Enthalpie der Hauptumwandlung (ΔH_m , schwarz), Summe der Enthalpien aller Zusatzumwandlungen ($\Sigma \Delta H_{\text{add}}$, rot) und Summe der Enthalpien aller Umwandlungen (ΔH_{tot} , blau); jeweils $c_{\text{DPPC}} = 2 \text{ mM}$.

5.3.4 ATR-FTIR-Untersuchungen

5.3.4.1 FT-IR-Messung an Proben, hergestellt durch Vesikelspreitung

Für die beiden Proben G12/3 : DPPC- $d_{62} = 1:10$ und $1:4$ wurden die Positionen der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Bande des Lipides als Funktion der Temperatur geplottet (Abbildung 94).

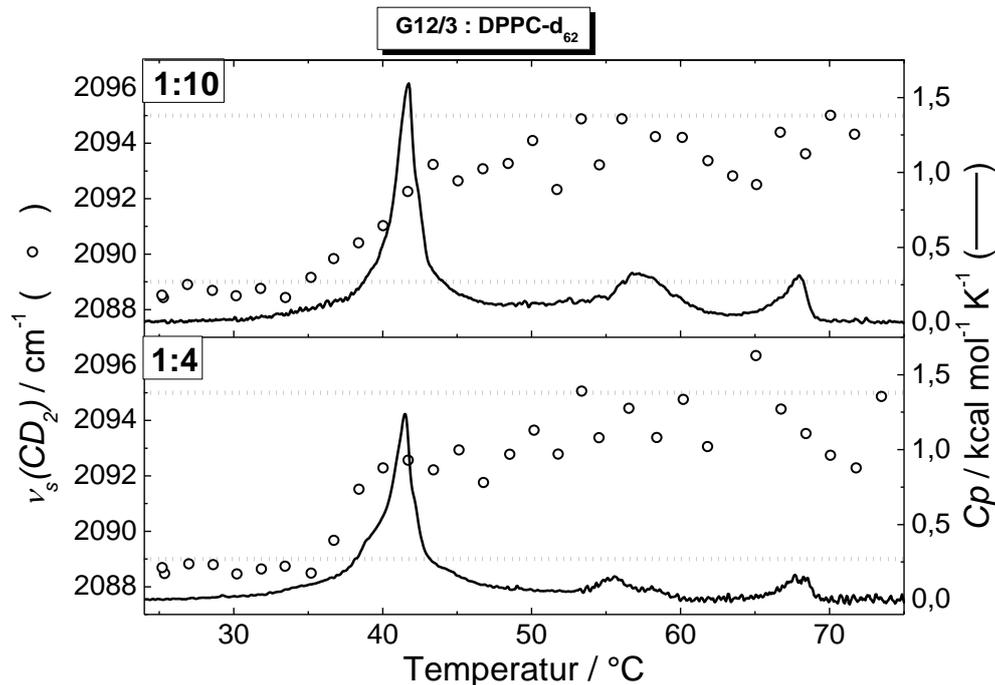


Abbildung 94. Wellenzahlagen der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Schwingungsbande (Symbologie) der Gemische G12/3 : DPPC- $d_{62} = 1:10$ (oben) bzw. $1:4$ (unten) in D_2O als Funktion der Temperatur und DSC Thermogramme der Gemische G12/3 : DPPC = $1:10$ (oben) bzw. $1:4$ (unten) in H_2O ; waagerechte, gepunktete Linien markieren die Literaturwerte der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Bande für DPPC- d_{62} in der L_{β^-} - bzw. L_{α} -Phase; ⁹⁸⁻¹⁰⁰; $c_{\text{Lipid}} = 2 \text{ mM}$.

Für beide Gemische ist die Position der $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Bande für $T < 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ungefähr konstant (2088.5 cm^{-1}), was auf eine *all-trans*-Konformation (L_{β^-} -Phase) der DPPC- d_{62} -Acylketten hindeutet. Bei höheren Temperaturen steigt die Bandenposition bis auf 2094.0 cm^{-1} bei $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$, was ein Hinweis auf Acylketten mit *gauche*-Konformeren (L_{α} -Phase) ist, und bleibt bei weiterem Erwärmen wieder konstant. Für $T > 45 \text{ }^{\circ}\text{C}$ streuen die Werte der Bandenpositionen stärker und machen eine genaue Bestimmung des

Endpunktes der Hauptumwandlung schwierig. Die konformationelle Umwandlung der DPPC-d₆₂-Acylketten der lipidreichen Phase ist korreliert mit der thermotropen Hauptumwandlung bei T_m .

Die Bandenposition der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Schwingungsbande der G12/3-Alkylketten bleibt im gesamten Temperaturbereich konstant bei 2851.5 cm^{-1} , was typisch für fluide, ungeordnete Alkylketten ist. Auf Grund der geringen Bandenintensität streuen die Werte stark.

5.3.4.2 FT-IR-Messung an orientierten Proben

Für die Messungen an orientierten Multischichten wurde die Probe G12/3 : DPPC-d₆₂ = 1:4 mit deutlich höherer Konzentration als bei Experimenten mit Proben, die durch Vesikelspreitung präpariert wurden, untersucht. Folglich wurden Spektren mit intensiveren Banden erhalten (Abbildung 95). Durch die Verwendung polarisierten IR-Lichtes ist die Bestimmung der Orientierung der an den entsprechenden Molekülschwingungen beteiligten Gruppen möglich.

Die beiden *in-plane* Ringschwingungen bei $\nu_{\text{ring}1} = 1518 \text{ cm}^{-1}$ ($\alpha = 13^\circ$) und $\nu_{\text{ring}2} = 1607 \text{ cm}^{-1}$ ($\alpha = 6^\circ$) sind deutlich zu sehen (Abbildung 95, Zuordnung der Banden zu den Schwingungen siehe C12/12, S. 50). Für beide Schwingungen sind die Bandenintensitäten bei Anregung mit *p*-polarisiertem Licht deutlich größer als bei Verwendung von *s*-polarisiertem Licht, analog zu C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:4 (siehe oben, S. 52). Bei 32°C ergibt das Integralverhältnis für beide Banden $R^{\text{ATR}} > 10$, was auf eine Vorzugsorientierung der Molekürückgrate hindeutet. Damit kann ein Ordnungsparameter von $S_\theta > 0.78$ und ein mittlerer Tiltwinkel der Molekürückgrate von $\theta < 23^\circ$ errechnet werden. Da die beiden Ringschwingungsbanden mit *s*-polarisiertem Licht sehr schwache Bandenintensität liefern, ist die Bestimmung der Integrale eher ungenau, und es soll hier nur eine Tendenz bzw. Bereich für R^{ATR} , S_θ und θ angegeben werden.

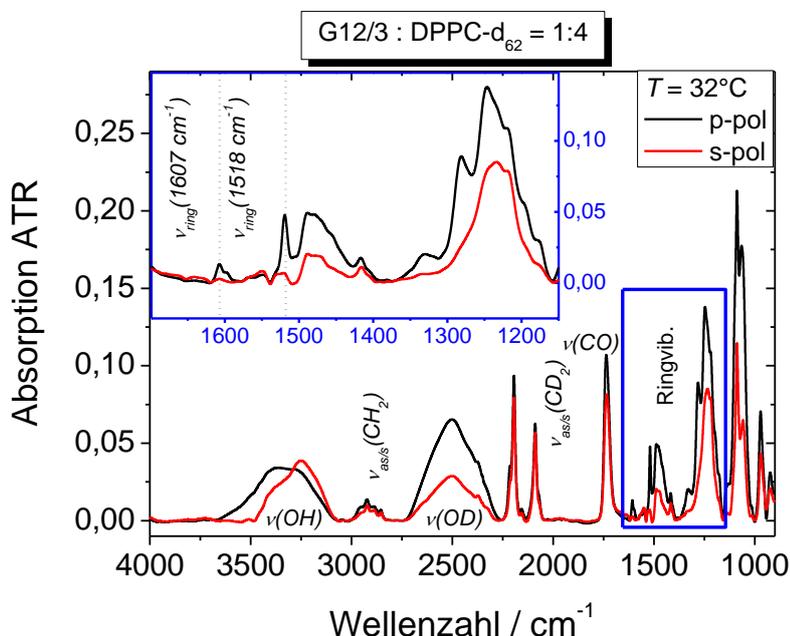


Abbildung 95. IR-Spektren von orientierten Proben aus G12/3 : DPPC-d₆₂ = 1:4 in D₂O mit *p*-(schwarz) und *s*-polarisiertem (rot) Licht bei 32°C ; im einbeschriebenen Kasten ist die Region der G12/3-Ringschwingungen vergrößert und die Bandenlagen zweier Ringschwingungen sind markiert; $c_g = 4.4 \text{ mM}$.

Für die $\nu_s(\text{CD}_2)$ -Banden des Lipides kann in der L_β -Phase bei 32°C ein dichroitisches Verhältnis $R^{\text{ATR}} = 1.18$, damit ein Ordnungsparameter $S_\theta = 0.63$ ($\alpha = 90^\circ$) und folglich ein mittlerer Tiltwinkel der *all-trans*-Acylketten von $\theta = 30^\circ$ relativ zur Membrannormale ermittelt werden. Die ermittelte

Neigung der Lipidacylketten ist typisch für DPPC-d₆₂-Membranen in der L_{β} -Phase^{104,115} und signifikant höher als beim analogen Gemisch C12/12 : DPPC-d₆₂ = 1:4 ($\theta_{13^\circ\text{C}} = 21^\circ$). Da die G12/3-Moleküle offensichtlich weniger Wechselwirkungen mit der Lipid-Membran aufweisen, als dies für das C12/12-System der Fall ist, nehmen die Lipid-Acyllketten die für die reine Lipidmembran typische Neigung von ca. 30° ein.

5.3.5 Fluoreszenzdepolarisation/-anisotropie

Die temperaturabhängige Mobilität der G12/3-Moleküle in der DPPC-Membran wurde für die Gemische G12/3 : DPPC = 1:10 bzw. 1:4 durch Messung der Fluoreszenzdepolarisation bestimmt. Dabei wurde die Fluoreszenz des G12/3 ($\lambda^{ex} = 342 \text{ nm}$; $\lambda^{em} = 466 \text{ nm}$) als Signal verwendet, um die Fluoreszenzanisotropie des G12/3 zu ermitteln (Abbildung 96).

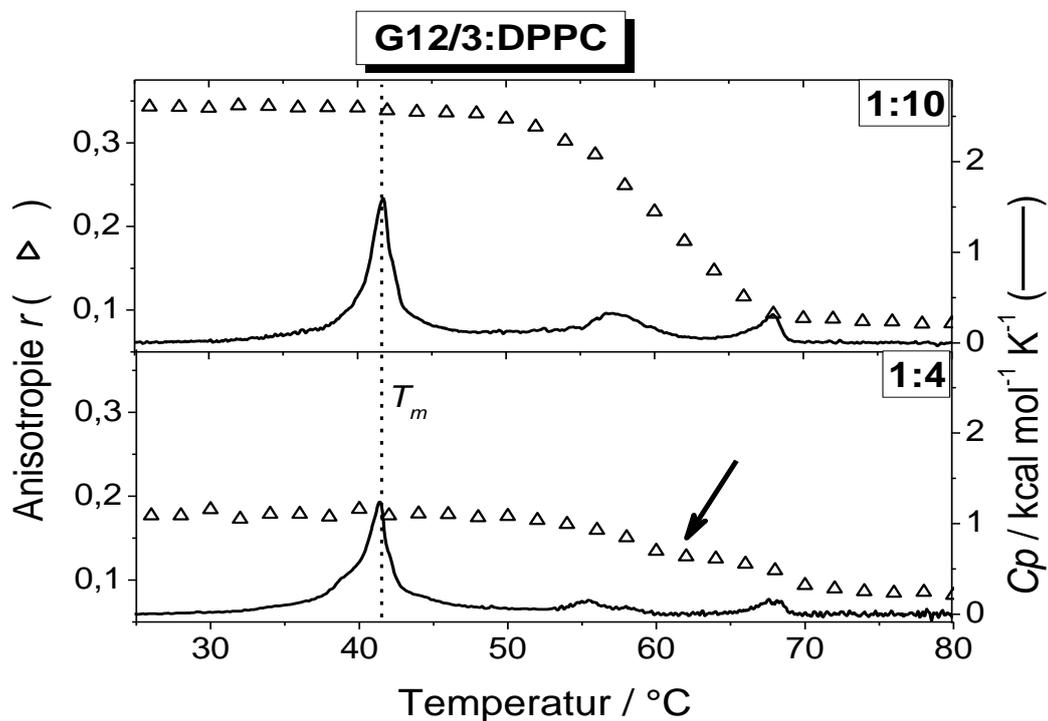


Abbildung 96. Fluoreszenzanisotropie r (Symbole, $c_g(r) = 0.5 \text{ mM}$, $\lambda^{ex} = 342 \text{ nm}$, $\lambda^{em} = 466 \text{ nm}$) der wässrigen Suspensionen aus G12/3 : DPPC = 1:10 (oben) und 1:4 (unten) als Funktion der Temperatur und DSC-Thermogramme (durchgezogene Linien, $c_{DPPC}(DSC) = 2.0 \text{ mM}$); markierte Besonderheiten: Schulter (Zweistrittprozess; Pfeil), vertikale Linie markiert T_m .

Für $T < 50^\circ\text{C}$ zeigen beide Gemische eine relativ hohe, konstante Anisotropie (20°C : $r_{G12/3}(1:10) = 0.34$ und $r_{G12/3}(1:4) = 0.18$), was auf eine geringe Mobilität der Mesogenmoleküle innerhalb der G12/3-Domänen in der L_{β} -Phase der Membran zurückzuführen ist. Dabei ist der bestimmte r -Wert für das 1:4-Gemisch deutlich geringer als bei dem 1:10-Gemisch, was auf Streueffekte in der Probe zurückzuführen ist (siehe Diskussion bei C12/12 : DPPC, S. 55). Bei weiterer Temperaturerhöhung sinkt die Anisotropie korreliert mit den thermotropen Zusatzumwandlungen (DSC) in einem großen Temperaturintervall stark ab und bleibt oberhalb von 70°C wieder ungefähr konstant. Für das 1:10-Gemisch findet die Umwandlung zwischen 50°C und 70°C statt (Schwerpunkt der Sigmoiden bei 61°C) und für das 1:4-Gemisch im Temperaturbereich von $50^\circ\text{C} - 75^\circ\text{C}$, wobei ein Knickpunkt bei ca. 61°C existiert. Möglicherweise handelt es sich um einen zweistufigen Umwandlungsprozess (Pfeil in Abbildung 96). In der Hochtemperaturphase ist für beide Gemische

eine sehr niedrige Anisotropie zu beobachten (80 °C : $r_{G12/3}(1:10) = 0.09$, $r_{G12/3}(1:4) = 0.08$), was auf eine hohe Mobilität der Mesogene (oder kleiner Aggregate) hindeutet.

5.3.6 Zusammenfassung G12/3

G12/3 zeigt trotz der im Verhältnis zum lipophilen Grundgerüst großen hydrophilen Kopfgruppen (Kopfgruppengröße vergleichbar mit F12/7) keine Bildung lyotroper Aggregate in H_2O .

Die Gemische aus G12/3 und DPPC bilden phasenseparierte Vesikel. Die G12/3-Domänen sind streifenförmig und enthalten kein oder nur sehr wenig Lipid. Die Möglichkeit zur Bildung von Wasserstoffbrücken im Bereich der großen hydrophilen Kopfgruppen, zusammen mit der Tendenz zur Ausbildung von π - π -Wechselwirkungen im Bereich des aromatischen Rückgrates, führt offenbar zur verstärkten Selbstaggregation der G12/3-Moleküle innerhalb der Lipidmembran. Die DPPC-Acyllketten weisen dabei den für reine DPPC-Membranen bekannten Tiltwinkel von ca. 30° auf. Die G12/3-Moleküle haben eine starke Vorzugsorientierung und ihre Molekülrückgrate sind um ca. 23° zur Membrannormale geneigt. G12/3 ist wegen der Kopfgruppengröße und -struktur (Fähigkeit zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen) offenbar in der Lage, in den Mesogendomänen in einer Transmembranordnung zu aggregieren und eine lamellare Domänenstruktur zu realisieren (Abbildung 97). Die G12/3-Domänen enthalten also kein oder kaum DPPC, was der Grund für die geringe Ausdehnung der Areale mit G12/3-Fluoreszenz auf den LSM-Bildern sein könnte.

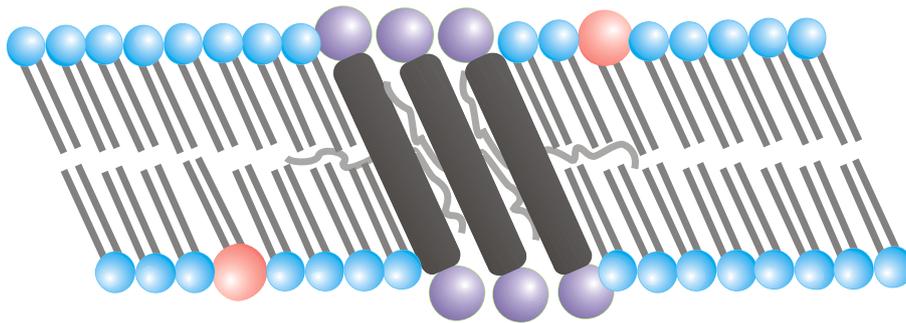


Abbildung 97. Modell der phasenseparierten Membran aus G12/3 : DPPC = 1:10 im wässrigen Medium; Acylketten in der DPPC-Domänen weisen *all-trans*-Konformation auf (L_β -Membranphase); Lipide mit roter Kopfgruppe repräsentieren Rh-DHPE (nicht stöchiometrisch), die Anordnung der Mesogenalkylketten ist willkürlich gewählt.

Bei der thermotropen Hauptumwandlung der Gemische bei T_m kommt es zur Umwandlung der Membran von L_β - zu L_α -Phase in den lipidreichen Domänen. Die thermotropen Zusatzumwandlungen bei T_{add} gehen mit einer Mobilitätssteigerung der Mesogene einher. Die Hochtemperaturphase scheint homogen gemischt, da dann die Mesogene frei beweglich sind.

5.4 Zusammenfassung - kopfgruppenmodifizierte X-förmige Mesogene

Die Mesogene C12r, F12/4 und G12/3 sind nicht in Wasser löslich oder suspendierbar. Die Verbindung F12/7 mit großen Kopfgruppen, die nicht als Donoren für Wasserstoffbrücken fungieren können, hingegen bildet stabile lamellare Aggregate in Wasser, die eine thermotrope Umwandlung bei 34.6 °C zeigen. Obgleich die Kopfgruppengröße von G12/3 ähnlich wie bei F12/7 ist, kann für das Mesogen nicht die Bildung lyotroper Phasen beobachtet werden. Offensichtlich kommt es durch die Möglichkeit zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen im hydrophilen Kopfgruppenbereich, zusammen mit der Tendenz zur Bildung von π - π -Wechselwirkungen im Bereich des aromatischen Moleküllrückgrates, eher zu einer Selbstaggregation der G12/3-Moleküle als zu Wechselwirkungen mit Wasser.

Alle Gemische von Mesogen mit DPPC bilden entmischte, vesikuläre Strukturen. Die LSM-Aufnahmen der Gemische C12r : DPPC = 1:10 bzw. G12/3 : DPPC = 1:10 zeigen phasenseparierte GUV mit ausgedehnten mesogenreichen Domänen. Während die G12/3-Domänen streifenförmig sind, bildet das C12r-Gemisch sechsstrahlige Sterndomänen aus. Beim Gemisch F12/7 : DPPC = 1:10 ist die Aggregatgröße der F12/7-Domänen unterhalb der Auflösungsgrenze der LSM, und so erscheint das System gemischt.

Die DSC-Thermogramme der Mesogen-Lipid-Gemische zeigen für C12r und G12/3 neben der Hauptumwandlung bei T_m zumeist zwei bis drei zusätzlichen Umwandlungen bei $T_{add} > T_m$. Es konnte gezeigt werden, dass für alle untersuchten Mesogene eine Phasenseparation in lipidreiche und mesogenreiche Phase vorliegt, und für die Gemische von DPPC mit C12r, F12/4 und F12/7 ein Teil des enthaltenen DPPC in der mesogenreichen Phase lokalisiert ist. Die G12/3-Domänen in den Aggregaten des G12/3-DPPC-Gemisches enthalten keine oder kaum DPPC. Die G12/3-Moleküle sind wegen ihrer großen hydrophilen Kopfgruppen offenbar in der Lage, die lamellare Struktur der Mesogendomänen innerhalb der Vesikel ohne die Einlagerung von DPPC in die mesogenreichen Domänen zu realisieren. Dabei sind die Moleküllrückgrate nahezu parallel zur Membrannormale mit einem Tiltwinkel von ca. 23°. Die gebildeten G12/3-Domänen besitzen wahrscheinlich eine ähnliche Dicke und Steifigkeit wie DPPC-Membranen in der L_{β} -Phase.

Für C12r-, F12/7- bzw. G12/3-DPPC-Gemische kommt es während der thermotropen Hauptumwandlung bei T_m zur Änderung der Acylkettenkonformation des Lipides und damit zur Umwandlung der Membran von L_{β} - zu L_{α} -Phase, was mit ATR-FTIR-Untersuchungen gezeigt werden konnte. Mittels Fluoreszenzdepolarisationsmessungen konnte für die 1:10- und 1:4-Gemische von C12r bzw. G12/3 mit DPPC gezeigt werden, dass die Mesogene bei $T < T_{add}$ sehr immobil sind und beim Erwärmen, korreliert mit den thermotropen Zusatzumwandlungen, mobilisiert werden. In der Hochtemperaturphase sind die Mesogenmoleküle (oder kleine Aggregate) frei beweglich in der Membran und die Proben möglicherweise homogen gemischt.

Die veränderten Wechselwirkungseigenschaften der kopfgruppenmodifizierten Mesogene gegenüber Wasser und wässrigen DPPC-Membranen sind lediglich auf die Unterschiede in der Kopfgruppenstruktur zurückzuführen, da die Struktur des Moleküllrückgrates und der lateralen Alkylketten immer gleich sind (analog zu C12/12).



6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden X-förmige Bolaamphiphile bzw. Bolapolyphile auf ihre Wechselwirkung mit Phosphatidylcholin in Modellmembranen untersucht.

Die Bola-Moleküle bilden in der Volumenphase eine flüssigkristalline Mesophase vor dem Schmelzen. Für die Untersuchungen wurden strukturell verschiedene Mesogene verwendet. Allen gemeinsam ist ein starres, lipophiles Oligo-(Phenylen-Alkinylen)-Grundgerüst, was von zwei hydrophilen Kopfgruppen terminiert ist und am zentralen Phenylring zwei aliphatische, flexible Ketten trägt. Durch Variation der Länge der lateralen Alkylketten wurde das Verhältnis von hydrophilen und lipophilen Molekülteilen verändert. Ebenso wurde ein Molekül mit verkürzter, starrer Rückgratstruktur verwendet um den Einfluss der Balance zwischen Flexibilität und Rigidität zu untersuchen. Einige Mesogene trugen eine Perfluoralkylkette, wodurch eine zusätzliche Affinität (Fluorophilie) ins Molekül eingeführt wurde (Bolapolyphile). Außerdem wurden Mesogene mit unterschiedlichen Kopfgruppengrößen eingesetzt. Durch Variation der Kopfgruppengröße kann ebenfalls das Verhältnis von hydrophilen zu lipophilen Molekülteilen verändert werden. Zusätzlich wurde der Einfluss der Fähigkeit zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen im Bereich der Mesogen-Kopfgruppen untersucht.

Die Mesogene zeigten intensive Fluoreszenz, wodurch es möglich war, die Moleküle als Sonden für Fluoreszenzspektroskopie- bzw. Fluoreszenzdepolarisationsexperimente zu verwenden. Mit fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen gelang es, die Mesogene innerhalb der gebildeten Aggregate zu lokalisieren. Das Oligo-(Phenylen-Alkinylen)-Grundgerüst der Mesogene weist zwei charakteristische, IR-aktive Schwingungen auf. Die entsprechenden Schwingungsbanden, welche durch quantenmechanische Rechnungen im experimentellen IR-Spektrum zugeordnet werden konnten, waren hinreichend isoliert von anderen Schwingungsbanden der Mesogene, der Lipide bzw. des Wassers und konnten zur Bestimmung der Orientierung der Mesogenmoleküle in orientierten Mesogen-Lipid-Filmen verwendet werden.

Die Mesogene selbst neigen zur Aggregation durch π - π -Wechselwirkungen der Phenylringe des Mesogenrückgrates⁷³ und durch intermolekulare Wasserstoffbrücken im Kopfgruppenbereich. Selbst in organischen Lösungsmitteln existieren stets kleine Aggregate (möglicherweise Dimere) und diese Suspensionen zeigten eine bläuliche Opaleszenz.

6.1 Lyotropes Verhalten der Mesogene

Zunächst wurden die lyotropen Eigenschaften ausgewählter Mesogene untersucht. Die einzige Verbindung, die in Wasser lyotrope Aggregate bildete, wies die Kopfgruppenstruktur $-(EO)_7$ -Me auf (F12/7). Die Kopfgruppen sind groß und hydrophil, können aber nicht als Donor für Wasserstoffbrücken fungieren. Die Aggregate treten in Form gewellter, fluider Schichten, planarer Lamellen oder runder bis elliptischer Vesikel mit glatter Membran auf. Diese Aggregate zeigten eine thermotrope Umwandlung bei 34.6 °C.

Die übrigen Mesogene waren in Wasser nicht suspendierbar und bilden keine lyotropen Phasen. Diese Moleküle besitzen Kopfgruppen, die als Donor für Wasserstoffbrückenbindungen fungieren können. Die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Mesogenen scheinen in diesem Fall so stark zu sein, dass keine Aggregate mit Wasser gebildet wurden. Es wurde das Kompressions-

verhalten von Langmuirfilmen dieser Moleküle untersucht. Die Mesogene mit großen Kopfgruppen (F12/7) bzw. Glycerolkopfgruppen und einer Perfluoralkylkette (Bm/n) bildeten bei großen molekularen Flächen Monoschichten mit flach auf der Wasseroberfläche liegenden Mesogenmolekülen. Die π - A_{mol} -Isothermen wiesen jeweils ein ausgedehntes Plateau auf, in dem die molekulare Fläche halbiert und eine Doppelschicht gebildet wurde. Moleküle mit kleinen Kopfgruppen und ausschließlich Alkylketten (Cm/n, F12/4) stehen aufrecht auf der Wasseroberfläche bzw. bilden sehr rigide Multischichten. Die π - A_{mol} -Isothermen zeigten für diese Moleküle extrem kleine *Lift-off*-Flächen und gaben keinen Hinweis auf eine Umorganisation während der Kompression.

6.2 Wechselwirkung mit PC in Membranen

Es konnte gezeigt werden, dass sich die Mesogene in PC-Membranen einbauen lassen. Die resultierenden lamellaren Aggregate wiesen je nach verwendetem Mesogen und der Fluidität der verwendeten Membran eine unterschiedliche Struktur auf. Es konnten vier Strukturtypen klassifiziert (Abbildung 98) und die entsprechenden Wechselwirkungen zwischen Mesogen und Lipid aufgeklärt werden. Ebenso wurde das thermotrope Phasenverhalten der Gemischmembranen charakterisiert.

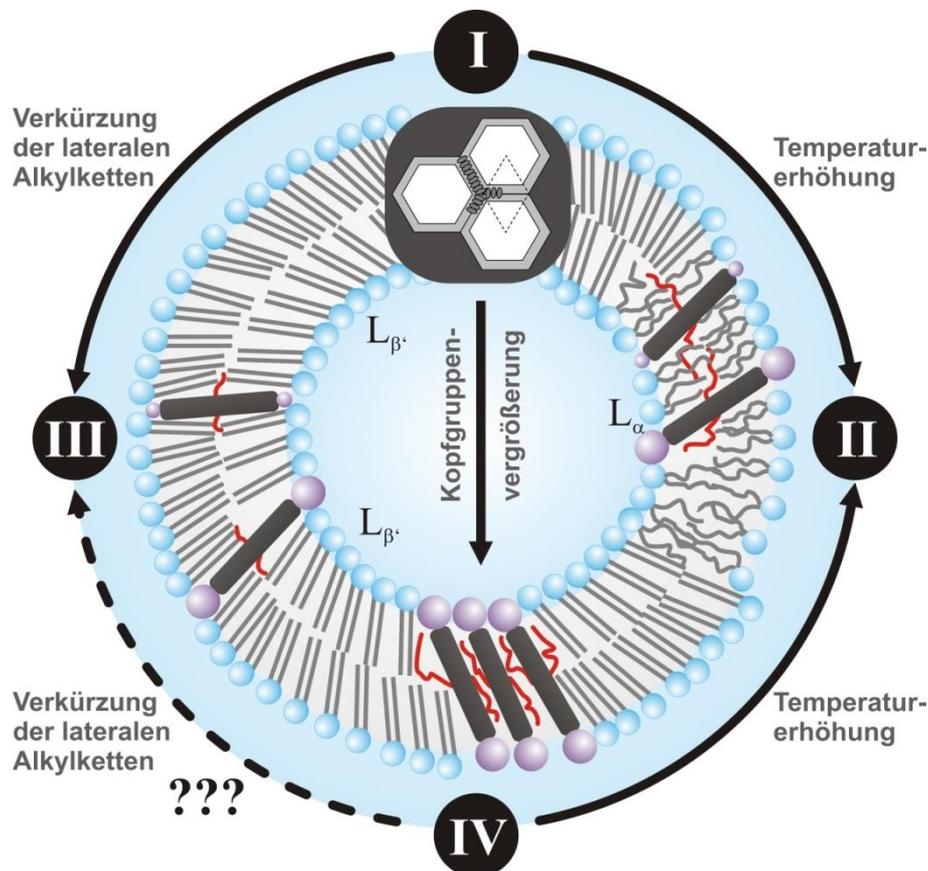


Abbildung 98. Mögliche Szenarien für die Wechselwirkung von X-förmigen Mesogenen (laterale Ketten sind zur besseren Sichtbarkeit rot dargestellt) mit PC in Membranen; I: makroskopische Entmischung (Lipidmembran in L_{β} -Phase), bei Gemischen von DPPC mit Cm/n mit langen Alkylketten ($m = n = 12; 18$), Bm/n (alle Kettenlängen), F12/n, C12r und E12/12 unterhalb der Hochtemperaturphase; II: homogene Verteilung der Mesogenmoleküle in der fluiden Membran (Gemische aller Mesogene mit DOPC bzw. mit DPPC in der Hochtemperaturphase), III: homogene Verteilung der Mesogenmoleküle in der Gelphasenmembran (Cm/n mit kurzen Ketten (C6/6) im Gemisch mit DPPC), IV: makroskopische Entmischung, Gemische von G12/3 mit DPPC, unterhalb der Hochtemperaturphase.

- I. **Makroskopische Entmischung in eine mesogenreiche, lamellare Phase und eine lipidreiche L_{β} -Phase:** Der Einbau der langkettigen Bolaamphiphile mit Glycerolkopfgruppen (C12/12, C18/18), der Verbindung mit ausschließlich OH-Kopfgruppen (C12r) bzw. der Bolapolyphile (B18/6, B16/10, B18/10) in DPPC-Membranen in der Gelphase bewirkte eine makroskopische Entmischung in mesogenreiche und lipidreiche Phase. Die beiden entmischten Phasen sind lamellar, unterscheiden sich allerdings in ihrer Dicke und Struktur (Elektronendichteprofil). Die lipidreiche Phase enthält nahezu kein Mesogen und weist die gleiche Struktur wie reine DPPC-Membranen auf (L_{β}). Die mesogenreichen Domänen hingegen enthalten bis zu 92 % Lipid, welches die lamellare Struktur stabilisiert. Die Mesogendomänen zeigen für die meisten Gemische die Form fraktal-verzweigter sechsstrahliger Sterne. Die Mesogenmoleküle bilden dabei ausgedehnte Cluster (Filamente), die durch π - π -Wechselwirkungen der Phenylringe im Molekülrückgrat und Wasserstoffbrückenbindungen im Kopfgruppenbereich stabilisiert sind. Die Mesogenfilamente besetzen die durch Abkühlen von hohen Temperaturen bei der Präparation gebildeten Domänengrenzen der DPPC-Membran. Aus der Neigung der *all-trans*-Acylketten des DPPC in der L_{β} -Phase resultiert die hexagonale Symmetrie (Bienenwabenform, siehe auch Abbildung 62). In Bereichen, die den Domänengrenzen benachbart sind, interagieren Lipidmoleküle mit den lateralen Alkylketten der Mesogene und bilden so zusammen die mesogenreiche Phase. Da die Entmischung bei Einbau der Bolaamphiphile und Bolapolyphile gleichermaßen auftritt, kann gefolgert werden, dass die Affinität der Mesogenseitenketten (lipophil bzw. fluorophil) eine untergeordnete Rolle spielt und die Länge der lateralen Ketten die Entmischung bewirkt. Es konnte beobachtet werden, dass mit steigender Länge der lateralen Ketten die Größe der Mesogendomänen steigt. Die 1:10 Gemische (Mesogen : DPPC) bilden vesikuläre Aggregate, während bei höheren Mesogenanteilen hauptsächlich planare oder undulierte Schichten auftreten.
- Die Aggregate zeigen ein komplexes, thermotropes Phasenverhalten und so weisen die DSC-Thermogramme neben der Hauptumwandlung bei T_m bis zu drei Zusatzumwandlungen (T_{add}) bei höheren Temperaturen auf. Durch temperaturabhängige ATR-FTIR-Messungen wurde gefunden, dass die DPPC-Acylketten der lipidreichen Phase bei T_m eine Konformationsänderung von *all-trans* zu *gauche* durchlaufen. Oberhalb T_m ist die lipidreiche Phase fluide und während der Zusatzumwandlungen kommt es zur Mobilisierung der Mesogene in der Membran (Fluoreszenzdepolarisation). Die Cluster zerfallen in kleine Aggregate oder einzelne Moleküle, die sich frei innerhalb der Membran bewegen können. Die Hochtemperaturphase ist also eine gemischte L_{α} -Phase mit frei beweglichen Mesogenmolekülen (bzw. kleinen Aggregaten).
- Gemische der Verbindungen mit Me-EO_n-Kopfgruppen, die nicht als Wasserstoffbrückendonoren fungieren können, zeigen mit DPPC-Membranen in der Gelphase ebenfalls eine Entmischung. Die gebildeten mesogenreichen, lamellaren Domänen enthalten ebenfalls bis zu 50 % Lipid. Allerdings sind die Domänen viel kleiner als bei den zuvor genannten DPPC-Gemischen und weisen keine hexagonale Symmetrie auf. Im DSC-Thermogramm treten bis 95 °C keine Zusatzumwandlungen oberhalb von T_m auf. Da bei 95 °C nicht alles Lipid die Phasenumwandlung durchlaufen hat, ist anzunehmen, dass eine weitere Zusatzumwandlung bei Temperaturen oberhalb von 95 °C existiert.
- Die Aggregate der DPPC-Gemische mit dem Mesogen, welches ein verkürztes Rückgrat trägt (E12/12), weisen ebenfalls eine makroskopische Entmischung in der Gelphase der

Membranen auf. Die mesogenreichen Domänen enthalten ebenfalls Lipid, weisen aber keine spezifische Struktur auf. Das deutet darauf hin, dass nicht die Länge des lipophilen, rigiden Moleküllrückgrates die Ursache für eine Entmischung darstellt, sondern die Länge der flexiblen, lateralen Alkylketten der Mesogene.

- II. **Homogene Verteilung der Mesogene innerhalb einer fluiden PC-Membran (L_α):** Alle Mesogene lassen sich in fluide PC-Membranen einbauen. Die lamellaren Aggregate treten ausschließlich in Form runder Vesikel mit glatter Membran auf. Befinden sich die Aggregate in der Hochtemperaturphase, sind die Mesogenmoleküle (bzw. kleine Cluster) homogen über die gesamte fluide Membran verteilt und zeigen eine hohe Beweglichkeit. Die Mesogenmoleküle nehmen eine Transmembrananordnung mit einer Vorzugsorientierung der Rückgrate von ca. 40° relativ zur Membrannormale ein (siehe auch Abbildung 28). Die thermotrope Zusatzumwandlung mit der höchsten Umwandlungstemperatur, bei der die Hochtemperaturphase gebildet wird, liegt zumeist ca. 25 K – 45 K oberhalb T_m . Die Hauptphasenumwandlungstemperatur von DPPC-Membranen liegt bei 42°C und fluide, gemischte Membransysteme aus Mesogen und Lipid bilden sich erst bei sehr hohen Temperaturen. Auf Grund der sehr niedrigen Hauptumwandlungstemperatur von DOPC-Membranen ($T_m(\text{DOPC}) = -20^\circ\text{C}$), befinden sich die Aggregate der Mesogen-DOPC-Gemische bei Raumtemperatur bereits in der Hochtemperaturphase. Die Fluidität der Phosphatidylcholinmembran hat also einen immensen Einfluss auf das Mischungsverhalten und die molekulare Organisation von Mesogen und Lipid in den gebildeten lamellaren Aggregaten.
- III. **Homogene Verteilung der Mesogene innerhalb einer rigiden PC-Membran (L_β):** Das Bolaamphiphil mit den kürzesten lateralen Alkylketten (C_6) und Glycerolkopfgruppen (C6/6) kann in PC-Membranen in der fluiden und in der Gelphase eingebaut werden. In der L_β -Phase nehmen die Acylketten des Lipides (DPPC) eine *all-trans*-Konformation ein und sind geneigt. Dennoch sind die Mesogenmoleküle (oder kleine Aggregate) homogen in der Membran verteilt. Auch bei hohen Mesogengehalten im Gemisch existiert kein Hinweis auf eine Entmischung. Die strukturellen Eigenschaften der gemischten Membran und die Packung der Moleküle sind denen einer reinen DPPC-Membran sehr ähnlich. Es existiert nur eine thermotrope Umwandlung bei T_m , bei der sich die Acylkettenkonformation aller Lipidmoleküle ändert (*all-trans*- zu *gauche*-Konformation). Offenbar sind die C_6 -Alkylketten kurz bzw. klein genug, um in den lipophilen Bereich der DPPC-Membran eingebaut zu werden. Die Länge der lateralen Mesogenalkylketten hat bei Gemischen aus Bolaamphiphil und PC ebenfalls erheblichen Einfluss auf die Organisation der Moleküle in gemischten lamellaren Strukturen. Mesogene mit kurzen Alkylketten scheinen auch homogen in PC-Membranen in der L_β -Phase eingebaut zu werden, während der hohe sterische Anspruch langer, lateraler Alkylketten an den Mesogenen zu einem Packungsproblem führt und eine makroskopische Entmischung der Aggregate induziert.
- IV. **Makroskopische Entmischung in je eine lamellare Mesogen- und Lipidphase:** Das Gemisch aus dem kopfgruppenmodifizierten Bolaamphiphil mit gly- EO_3 -Kopfgruppen (G12/3) und DPPC zeigt in der Gelphase ebenfalls eine makroskopische Entmischung. Allerdings enthält die Mesogenphase kein bzw. kaum Lipid und besteht fast ausschließlich aus dem

Bolaamphiphil. Die großen Kopfgruppen können als Wasserstoffbrückendonoren fungieren, was zusammen mit π - π -Wechselwirkungen im Bereich der Moleküllrückgrate die Aggregation der Mesogenmoleküle begünstigt. Die G12/3-Kopfgruppen sind ähnlich groß wie die Phosphocholinkopfgruppen der Lipide und hinreichend hydrophil, so dass ein Aggregat aus parallel angeordneten G12/3-Molekülen in der Lage ist, ohne Lipid eine lamellare Domäne zu bilden (siehe auch Abbildung 97). Auf Grund der langen, lateralen C₁₂-Alkylketten, kommt es dennoch zur Entmischung. Die hypothetische Verbindung G6/3 mit C₆-Alkylketten wäre möglicherweise homogen in einer Gelphasen-DPPC-Membran ($L_{\beta'}$) verteilt (gestrichelter Pfeil von Szenario IV zu Szenario III in Abbildung 98).

Das thermotrope Verhalten der Gemische G12/3 : DPPC ist ähnlich komplex wie für die übrigen makroskopisch entmischten Systeme (Szenario I in Abbildung 98). Bei T_m kommt es zur Umwandlung der lipidreichen Phase von $L_{\beta'}$ zur L_{α} -Phase (ATR-FTIR). Während der beiden Zusatzumwandlungen bei höheren Temperaturen steigt die Mesogenbeweglichkeit (Fluoreszenzdepolarisation) und in der Hochtemperaturphase liegt eine gemischte, fluide Membran vor.

Einige der in dieser Arbeit besprochenen Mesogen-PC-Gemische (C12/12 : DPPC = 1:10 und 1:4, C12/12 : DOPC = 1:10, F12/7 : DPPC = 1:10 und 1:4) wurden ebenfalls mittels Festkörper-NMR-Experimenten charakterisiert.^{156,157} Die hier gefundenen und diskutierten Resultate konnten dadurch bestätigt und teilweise ergänzt werden.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass X-förmige Bolaamphiphile bzw. Bolapolyphile eine große Affinität gegenüber Phosphocholinen zeigen und sich in PC-Membranen einbauen lassen. Das Einbringen der Mesogene in die Membranen erzeugt oft eine makroskopische Entmischung, führt dadurch aber auch zu interessanten Strukturen, für die teilweise bereits Modelle entwickelt werden konnten. Es scheint durch die Wahl des Mesogens und des Lipides möglich, die Mischung oder Entmischung zu steuern und gezielte Membranstrukturen zu erzeugen.



7 Literatur

- (1) Blume, A. "Dynamic properties" in *Phospholipids Handbook*, Vol. 1, Ed.: Cevc, G., Marcel Decker Inc., New York, **1993**.
- (2) Voet, D., Voet, J. G., Pratt, C. W. „*Lehrbuch der Biochemie*“, Vol. 2, Eds.: Beck-Sickinger, A. G., Hahn, U., Wiley-VCH, Weinheim, **2010**.
- (3) Cox, M. M., Nelson, D. L. „*Lehninger Biochemie*“, Vol. 4, Springer Lehrbuch, Berlin, Heidelberg, New York, **2009**.
- (4) Winter, R., Noll, F. „*Methoden der biophysikalischen Chemie*“, Vol. 1, Teubner Studienbücher Chemie, Stuttgart, 1998.
- (5) Singer, S. J., Nicolson, G. L. "The fluid mosaic model of the structure of cell membranes." *Science* **1972**, *175*, 720–731.
- (6) Pabst, G., Kucerka, N., Nieh, M.-P., Katsaras, J. "*Liposomes, lipid bilayers and model membranes - from basic research to application*", Vol. 1, Eds.: Taylor & Francis Group, CRC Press, Boca Raton, **2014**.
- (7) Winter, R. „Struktur und Dynamik von Modell-Biomembranen.“ *Chem. unserer Zeit* **1990**, *24*, 71–81.
- (8) Mouritsen, O. G., Bloom, M. "Models of lipid-protein interactions in membranes." *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1993**, *22*, 145–171.
- (9) Gonen, T., Cheng, Y., Sliz, P., Hiroaki, Y., Fujiyoshi, Y., Harrison, S. C., Walz, T. "Lipid-protein interactions in double-layered two-dimensional AQP0 crystals." *Nature* **2005**, *438*, 633–638.
- (10) Morrisett, J. D., Jackson, R. L., Gotto, A. M. "Lipid-protein interactions in the plasma lipoproteins." *Biochim. Biophys. Acta.* **1977**, *472*, 93–133.
- (11) Douliez, J.-P., Michon, T., Elmorjani, K., Marion, D. "Mini review: Structure, biological and technological functions of lipid transfer proteins and indolines, the major lipid binding proteins from cereal kernels." *J. Cereal Sci.* **2000**, *32*, 1–20.
- (12) Marsh, D. "Lipid-protein interactions in membranes." *FEBS Lett.* **1990**, *268*, 371–375.
- (13) Khandelia, H., Ipsen, J. H., Mouritsen, O. G. "The impact of peptides on lipid membranes." *Biochim. Biophys. Acta* **2008**, *1778*, 1528–1536.
- (14) Brogden, K. "Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?" *Nat. Rev. Microbiol.* **2005**, *3*, 238–250.
- (15) De Planque, M. R. R., Killian, J. A. "Protein-lipid interactions studied with designed transmembrane peptides: Role of hydrophobic matching and interfacial anchoring." *Mol. Membr. Biol.* **2003**, *20*, 271–284.
- (16) Seelig, J. "Thermodynamics of lipid-peptide interactions." *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1666*, 40–50.
- (17) Bechinger, B., Lohner, K. "Detergent-like actions of linear amphipathic cationic antimicrobial peptides." *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, *1758*, 1529–1539.
- (18) Tribet, C., Vial, F. "Flexible macromolecules attached to lipid bilayers: Impact on fluidity, curvature, permeability and stability of the membranes." *Soft Matter* **2008**, *4*, 68.
- (19) Schulz, M., Olubummo, A., Binder, W. H. "Beyond the lipid-bilayer: Interaction of polymers and nanoparticles with membranes." *Soft Matter* **2012**, *8*, 4849.
- (20) Schulz, M., Glatte, D., Meister, A., Scholtysek, P., Kerth, A., Blume, A., Bacia, K., Binder, W. H. "Hybrid lipid/polymer giant unilamellar vesicles: effects of incorporated biocompatible PIB-PEO block copolymers on vesicle properties." *Soft Matter* **2011**, *7*, 8100.
- (21) Olubummo, A., Schulz, M., Lechner, B., Scholtysek, P., Bacia, K., Blume, A., Binder, W. H., Kressler, J. "Controlling the localization of polymer-functionalized nanoparticles in mixed lipid/polymer membranes." *ACS Nano* **2012**, *6*, 8713–8727.
- (22) Müller, P., Nikolaus, J., Schiller, S., Herrmann, A., Möllnitz, K., Czaplá, S., Wessig, P. „Molekulare Stäbe mit Oligospiroketal-Rückgrat als Anker in Biomembranen.“ *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4497–4500.

- (23) Grimm, C., Meyer, T., Czaplá, S., Nikolaus, J., Scheidt, H. a, Vogel, A., Herrmann, A., Wessig, P., Huster, D., Müller, P. "Structure and dynamics of molecular rods in membranes: Application of a spin-labeled rod." *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 2703–2710.
- (24) Wessig, P., Möllnitz, K. "Building blocks for oligospiroketal (OSK) rods and evaluation of their influence on rod rigidity." *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3907–3920.
- (25) Fuhrhop, J. H., Helfrich, W. "Fluid and solid fibers made of lipid molecular bilayers." *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1565–1582.
- (26) Müller, P., Nikolaus, J., Schiller, S., Herrmann, A., Möllnitz, K., Czaplá, S., Wessig, P. "Molecular rods with oligospiroketal backbones as anchors in biological membranes." *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4433–4435.
- (27) Nikolaus, J., Czaplá, S., Möllnitz, K., Höfer, C. T., Herrmann, A., Wessig, P., Müller, P. "New molecular rods-characterization of their interaction with membranes." *Biochim. Biophys. Acta* **2011**, *1808*, 2781–2788.
- (28) Muraoka, T., Shima, T., Hamada, T., Morita, M., Takagi, M., Kinbara, K. "Mimicking multipass transmembrane proteins: Synthesis, assembly and folding of alternating amphiphilic multiblock molecules in liposomal membranes." *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 194–196.
- (29) Fyles, T. M. "Synthetic ion channels in bilayer membranes." *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 335–347.
- (30) Wang, W., Li, R., Gokel, G. W. "'Aplosspan': A bilayer-length, ion-selective ionophore that functions in phospholipid bilayers." *Chem. Commun.* **2009**, *1*, 911–913.
- (31) Wang, W., Li, R., Gokel, G. W. "Membrane-length amphiphiles exhibiting structural simplicity and ion channel activity." *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10543–10553.
- (32) Sakai, N., Brennan, K. C., Weiss, L. A., Matile, S. "Toward biomimetic ion channels formed by rigid-rod molecules: Length-dependent ion-transport activity of substituted oligo(p-phenylene)s." *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8726–8727.
- (33) Weiss, L. A., Sakai, N., Ghebremariam, B., Ni, C., Matile, S. "Rigid rod-shaped polyols, functional nonpeptide models for transmembrane proton channels." *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12142–12149.
- (34) Robert, F., Winum, J. Y., Sakai, N., Gerard, D., Matile, S. "Synthesis of multiply substituted, ion channel forming octi(p-phenylene)s: Theme and variations." *Org. Lett.* **2000**, *2*, 37–39.
- (35) Rajca, A., Safronov, A., Rajca, S., Shoemaker, R. "Double helical octaphenylene." *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 488–491.
- (36) Rinke, M., Guesten, H., Ache, H. J. "Photophysical properties and laser performance of photostable UV laser dyes. Part 1: Substituted p-quaterphenyls." *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 2661–2665.
- (37) Sakai, N., Mareda, J., Matile, S. "Rigid-rod molecules in biomembrane models: From hydrogen-bonded chains to synthetic multifunctional pores." *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 79–87.
- (38) Sakai, N., Mareda, J., Matile, S. "Artificial beta-barrels." *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1354–1365.
- (39) Moszynski, J. M., Fyles, T. M. "Synthesis, transport activity, membrane localization, and dynamics of oligoester ion channels containing diphenylacetylene units." *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 5139–5149.
- (40) Tanford, C. "The hydrophobic effect: Formation of micelles and biological membranes" Vol. 2, Ed.: Krimm, S., Wiley Interscience, New York, **1980**.
- (41) Israelachvili, J. N., Marcelja, S., Horn, R. G. "Physical principles of membrane organization." *Q. Rev. Biophys.* **1980**, *13*, 121–200.
- (42) Israelachvili, J. N., Mitchell, D. J., Ninham, B. W. "Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers." *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2* **1976**, *72*, 1525.
- (43) Israelachvili, J. N. "Intermolecular and surface forces", Vol. 2, Academic Press, London, **1991**.
- (44) Israelachvili, J. N., Marčelja, S., Horn, R. G. "Physical principles of membrane organization." *Q. Rev. Biophys.* **2009**, *13*, 121.
- (45) Möhwald, H., Dietrich, a, Böhm, C., Brezesinski, G., Thoma, M. "Domain formation in monolayers." *Mol. Membr. Biol.* **1995**, *12*, 29–38.

- (46) Casal, H. L., Mantsch, H. H. "Polymorphic phase behaviour of phospholipid membranes studies by infrared spectroscopy." *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, 779, 381–401.
- (47) Kodama, M., Kuwabara, M., Seki, S. Successive "Phase-transition phenomena and phase diagram of the phosphatidylcholine-water system as revealed by differential scanning calorimetry." *Biochim. Biophys. Acta* **1982**, 689, 567–570.
- (48) Seddon, J. M., Templer, R. H. "Handbook of biological physics - polymorphism of lipid-water systems", Vol. 1, Ed.: Lipowsky, R., Sackmann, E., Elsevier Science B.V., London, **1995**.
- (49) Tristram-Nagle, S., Nagle, J. F. "Lipid bilayers: Thermodynamics, structure, fluctuations, and interactions." *Chem. Phys. Lipids* **2004**, 127, 3–14.
- (50) Nagle, J. F., Zhang, R., Tristram-Nagle, S., Sun, W., Petrache, H. I., Suter, R. M. "X-Ray structure determination of fully hydrated L alpha Phase dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers." *Biophys. J.* **1996**, 70, 1419–1431.
- (51) Tristram-Nagle, S., Petrache, H. I., Nagle, J. F. "Structure and interactions of fully hydrated dioleoylphosphatidylcholine bilayers." *Biophys. J.* **1998**, 75, 917–925.
- (52) Mabrey, S., Sturtevant, J. M. "Investigation of phase transitions of lipids and lipid mixtures by high sensitivity differential scanning calorimetry." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1976**, 73, 3862–3866.
- (53) Brauner, J. W., Mendelsohn, R. A. "Comparison of differential scanning calorimetric and fourier transform infrared spectroscopic determination of mixing behavior in binary phospholipid systems." *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, 861, 16–24.
- (54) Tournilhac, F., Bosio, L., Nicoud, J. F., Simon, J. "Polyphilic molecules: Synthesis and mesomorphic properties of a four-block molecule." *Chem. Phys. Lett.* **1988**, 145, 452–454.
- (55) Tournilhac, F. G., Bosio, L., Bourgoïn, J. P., Vandevyver, M. "Langmuir-Blodgett film of a new fluorinated polyphilic compound." *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 4870–4877.
- (56) Ebert, H. „Neue X-förmige Bolapolyphile: Synthese und Charakterisierung“, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2014.
- (57) Glettner, B. „Neue ternäre und quaternäre Blockmesogene“, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2008.
- (58) Vorländer, D. „Über durchsichtig klare, krystallinische Flüssigkeiten.“ *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1908**, 41, 2033–2052.
- (59) Vorländer, D. „Über krystallinisch-flüssige Substanzen.“ *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1906**, 39, 803–810.
- (60) Vorländer, D. „Substanzen mit mehreren festen und mehreren flüssigen Phasen.“ *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1907**, 40, 1415–1432.
- (61) Vorländer, D. „Über die Polymorphie der krystallinen Flüssigkeiten.“ *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1937**, 70, 1202–1212.
- (62) Tschierske, C. „Liquid crystal engineering: New complex mesophase structures and their relations to polymer morphologies, nanoscale patterning and crystal engineering.“ *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 1930–1970.
- (63) Tschierske, C. "Micro-segregation, molecular shape and molecular topology – partners for the design of liquid crystalline materials with complex mesophase morphologies." *J. Mater. Chem.* **2001**, 11, 2647–2671.
- (64) Chen, B., Baumeister, U., Pelzl, G., Das, M. K., Zeng, X., Ungar, G., Tschierske, C. "Carbohydrate rod conjugates: Ternary rod-coil molecules forming complex liquid crystal structures." *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 16578–16591.
- (65) Tschierske, C. "Liquid crystalline materials with complex mesophase morphologies." *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2002**, 7, 69–80.
- (66) Cheng, X. H., Das, M. K., Diele, S., Tschierske, C. "Novel liquid-crystalline phases with layerlike organization." *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 4031–4035.
- (67) Cheng, X., Prehm, M., Das, M. K., Kain, J., Baumeister, U., Diele, S., Leine, D., Blume, A., Tschierske, C. "Calamitic bolaamphiphiles with (semi)perfluorinated lateral chains: Polyphilic

- block molecules with new liquid crystalline phase structures." *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10977–10996.
- (68) Zeng, X., Kieffer, R., Glettner, B., Nürnberger, C., Liu, F., Pelz, K., Prehm, M., Baumeister, U., Hahn, H., Lang, H., et al. „Complex multicolor tilings and critical phenomena in tetraphilic liquid crystals." *Science* **2011**, *331*, 1302–1306.
- (69) Stezowski, J. J., Jogun, K. H., Eckle, E., Bartels, K. "Dimeric beta-cyclodextrin complexes may mimic membrane diffusion transport." *Nature* **1978**, *274*, 617–619.
- (70) Uekama, K., Hirayama, F., Irie, T. "Cyclodextrin drug carrier systems." *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2045–2076.
- (71) Yancey, P. G. "Cellular cholesterol efflux mediated by cyclodextrins." *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 17250–17256.
- (72) Terao, J., Tanaka, Y., Tsuda, S., Kambe, N., Taniguchi, M., Kawai, T., Saeki, A., Seki, S. "Insulated molecular wire with highly conductive pi-conjugated polymer core." *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 18046–18047.
- (73) Hill, E. H., Sanchez, D., Evans, D. G., Whitten, D. G. "Structural basis for aggregation mode of oligo-p-phenylene ethynyls with ionic surfactants." *Langmuir* **2013**, *29*, 15732–15737.
- (74) Liu, L., Kim, J.-K., Lee, M. "Mesoscale surface patterning of a laterally-grafted rod amphiphile: Rings and fibers." *Chemphyschem* **2010**, *11*, 706–712.
- (75) Jacquemin, D., Perpète, E. a., Ciofini, I., Adamo, C. "On the TD-DFT UV/vis spectra accuracy: The azoalkanes." *Theor. Chem. Acc.* **2008**, *120*, 405–410.
- (76) Dimroth, K., Reichardt, C., Siepmann, T., Bohlmann, F. „Über Pyridinium-N-Phenol-Betaine und ihre verwendung zur Charakterisierung der Polarität von Lösungsmitteln." *Liebigs Ann. Chem.* **1963**, *661*, 1–37.
- (77) Dimroth, K., Reichardt, C. „Die colorimetrische Analyse binärer organischer Lösungsmittelgemische mit Hilfe der Solvatochromie von Pyridinium-N-Phenolbetainen." *Fresenius' Zeitschrift für Anal. Chemie* **1965**, *215*, 344–350.
- (78) Staab, H. A. „Einführung in die theoretische organische Chemie", Vol. 4, Eds.: Lortz, H., Krebs, A., Verlag Chemie, Weinheim, **1966**.
- (79) Peng, C., Ayala, P. Y., Schlegel, H. B., Frisch, M. J. "Using redundant internal coordinates to optimize equilibrium geometries and transition states." *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 49–56.
- (80) Vueba, M. L., Pina, M. E., Batista de Carvalho, L. A. E. "Conformational stability of Ibuprofen: Assessed by DFT calculations and optical vibrational spectroscopy." *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97*, 845–859.
- (81) Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Montgomery, J. A., Vreven, T., Kudin, K. N., Burant, J. C., et al. "Gaussian 03, Revision C.02.", Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
- (82) Angelova, M. I., Dimitrov, D. S. "Liposome electroformation." *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1986**, *81*, 303.
- (83) Schulz, M., Glatte, D., Meister, A., Scholtysek, P., Kerth, A., Blume, A., Bacia, K., Binder, W. H. "Hybrid lipid/polymer giant unilamellar vesicles: Effects of incorporated biocompatible PIB-PEO Block copolymers on vesicle properties." *Soft Matter* **2011**, *7*, 8100.
- (84) Bagatolli, L. a, Gratton, E. "Two-photon fluorescence microscopy observation of shape changes at the phase transition in phospholipid giant unilamellar vesicles." *Biophys. J.* **1999**, *77*, 2090–2101.
- (85) Ulrich, a S., Sami, M., Watts, A. "Hydration of DOPC bilayers by differential scanning calorimetry." *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, *1191*, 225–230.
- (86) Kahya, N., Scherfeld, D., Bacia, K., Schwille, P. "Lipid domain formation and dynamics in giant unilamellar vesicles explored by fluorescence correlation spectroscopy." *J. Struct. Biol.* **2004**, *147*, 77–89.
- (87) Scherfeld, D., Kahya, N., Schwille, P. "Lipid dynamics and domain formation in model membranes composed of ternary mixtures of unsaturated and saturated phosphatidylcholines and cholesterol." *Biophys. J.* **2003**, *85*, 3758–3768.

- (88) Klösgen, B., Helfrich, W. "Special features of phosphatidylcholine vesicles as seen in cryo-transmission electron microscopy." *Eur. Biophys. J.* **1993**, *22*, 329–340.
- (89) Klösgen, B., Helfrich, W. "Cryo-transmission electron microscopy of a superstructure of fluid dioleoylphosphatidylcholine (DOPC) membranes." *Biophys. J.* **1997**, *73*, 3016–3029.
- (90) Becker, H. G. O., Böttcher, H., Dietz, F., Rehorek, D., Roewer, G., Schiller, K., Timpe, H.-J. „Einführung in die Photochemie“, Vol. 3, Ed.: Becker, H. G. O., Deutscher Verlag der Wissenschaft, Berlin, **1991**.
- (91) Förster, T. „Elektrolytische Dissoziation angeregter Moleküle.“ *Z. Elektrochem. Angew. P.* **1950**, *54*, 42–46.
- (92) Best, Q. a, Xu, R., McCarroll, M. E., Wang, L., Dyer, D. J. "Design and investigation of a series of rhodamine-based fluorescent probes for optical measurements of pH." *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3219–3221.
- (93) Arbeloa, I. L., Ojeda, P. R. "Molecular forms of Rhodamine B." *Chem. Phys. Lett.* **1981**, *79*, 347–350.
- (94) Corry, B., Jayatilaka, D., Martinac, B., Rigby, P. "Determination of the orientational distribution and orientation factor for transfer between membrane-bound fluorophores using a confocal microscope." *Biophys. J.* **2006**, *91*, 1032–1045.
- (95) Davis, P. J., Fleming, B. D., Coolbear, K. P., Keough, K. M. W. "Gel to liquid-crystalline transition temperatures of water dispersions of two pairs of positional isomers of unsaturated mixed-acid phosphatidylcholines." *Biochemistry* **1981**, *20*, 3633–3636.
- (96) Leonenko, Z. V, Carnini, a, Cramb, D. T. "Supported planar bilayer formation by vesicle fusion: The interaction of phospholipid vesicles with surfaces and the effect of gramicidin on bilayer properties using atomic force microscopy." *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1509*, 131–147.
- (97) Attwood, S. J., Choi, Y., Leonenko, Z. "Preparation of DOPC and DPPC supported planar lipid bilayers for atomic force microscopy and atomic force spectroscopy." *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 3514–3539.
- (98) Naumann, C., Brumm, T., Bayerl, T. M. "Phase transition behavior of single phosphatidylcholine bilayers on a solid spherical support studied by DSC, NMR and FT-IR." *Biophys. J.* **1992**, *63*, 1314–1319.
- (99) Jaworsky, M., Mendelsohn, R. "Fourier-transform infrared studies of CaATPase partitioning in phospholipid mixtures of 1,2-dipalmitoylphosphatidylcholine-d62 with 1-palmitoyl-2-oleoylphosphatidylcholine." *Biochemistry* **1985**, *24*, 3422–3428.
- (100) Mantsch, H. H., McElhaney, R. N. "Phospholipid phase transitions in model and biological membranes as studied by infrared spectroscopy." *Chem. Phys. Lipids* **1991**, *57*, 213–226.
- (101) Brumm, T., Jørgensen, K., Mouritsen, O. G., Bayerl, T. M. "The effect of increasing membrane curvature on the phase transition and mixing behavior of a dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine/ distearoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine lipid mixture as studied by fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry." *Biophys. J.* **1996**, *70*, 1373–1379.
- (102) Mellier, A. "Infrared study of phospholipid hydration: New thermodynamic data about the main phase transition of saturated phosphatidylcholine water multidispersions." *Chem. Phys. Lipids* **1989**, *51*, 23–29.
- (103) Xu, X., Goddard, W. A. "From the cover: The X3LYP extended density functional for accurate descriptions of nonbond interactions, spin states, and thermochemical properties." *P. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 2673–2677.
- (104) Tamm, L. K., Tatulian, S. A. "Infrared spectroscopy of proteins and peptides in lipid bilayers." *Q. Rev. Biophys.* **1997**, *30*, 365–429.
- (105) Müller, E., Giehl, A., Schwarzmann, G., Sandhoff, K., Blume, A. "Oriented 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine/ganglioside membranes: A fourier transform infrared attenuated total reflection spectroscopic study: Band assignments, orientational, hydrational, and phase behavior, and effects of Ca²⁺ binding." *Biophys. J.* **1996**, *71*, 1400–1421.

- (106) Bhattacharya, S., Haldar, S. "Interactions between cholesterol and lipids in bilayer membranes: Role of lipid headgroup and hydrocarbon chain-backbone linkage." *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, 1467, 39–53.
- (107) Jähnig, F. "Structural order of lipids and proteins in membranes: Evaluation of fluorescence anisotropy data." *P. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, 76, 6361–6365.
- (108) Joseph R. Lackowicz. "*Principles of Fluorescence Spectroscopy*", Vol. 3, Springer, New York, **2006**.
- (109) Muller, J. M., Vanfaassen, E. E., Vanginkel, G. "The interpretation of the time-resolved fluorescence anisotropy of diphenylhexatriene-phosphatidylcholine using the compound motion model." *Biochem. Biophys. Res. Co.* **1994**, 201, 709–715.
- (110) Van Blitterswijk, W. J., Van Hoeven, R. P., Van Der Meer, B. W. "Lipid structural order parameters (reciprocal of fluidity) in biomembranes derived from steady-state fluorescence polarization measurements." *Biochim. Biophys. Acta* **1981**, 644, 323–332.
- (111) Bohn, P. "Aspects of structure and energy transport in artificial molecular assemblies." *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1993**, 44, 37–60.
- (112) Chen, Z., Stepanenko, V., Dehm, V., Prins, P., Siebbeles, L. D. a, Seibt, J., Marquetand, P., Engel, V., Würthner, F. "Photoluminescence and conductivity of self-assembled pi-pi stacks of perylene bisimide dyes." *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 436–449.
- (113) Hunter, C. a, Sanders, J. K. M. "The nature of pi-pi interactions." *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 5525–5534.
- (114) Wu, J., Fechtenkötter, A., Gauss, J., Watson, M. D., Kastler, M., Fechtenkötter, C., Wagner, M., Müllen, K. "Controlled self-assembly of hexa-peri-hexabenzocoronenes in solution." *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 11311–11321.
- (115) Tristram-Nagle, S., Zhang, R., Suter, R. M., Worthington, C. R., Sun, W. J., Nagle, J. F. "Measurement of chain tilt angle in fully hydrated bilayers of gel phase lecithins." *Biophys. J.* **1993**, 64, 1097–1109.
- (116) Tardieu, a, Luzzati, V., Reman, F. C. "Structure and polymorphism of the hydrocarbon chains of lipids: A study of lecithin-water phases." *J. Mol. Biol.* **1973**, 75, 711–733.
- (117) Förster, G., Meister, A., Blume, A. "Chain packing modes in crystalline surfactant and lipid bilayers." *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, 6, 294–302.
- (118) Förster, G., Meister, A., Blume, A. "Van-der-Waals energy contour map describing the orthorhombic hydrocarbon chain packing of symmetry Pbnm." *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, 2, 4503–4508.
- (119) Brill, R., Tippe, A. „Gitterparameter von Eis I bei tiefen Temperaturen.“ *Acta Crystallogr.* **1967**, 23, 343–345.
- (120) Weinhausen, B. „Strukturanalyse von Phospholipidmembranen in Abhängigkeit von der Hydratisierung und dem Cholesteringehalt, Elektronendichteprofile und Ordnung der Acylketten“, Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen, 2010.
- (121) Aeffner, S. "Stalk structures in lipid bilayer fusion studied by X-ray diffraction", Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, 2011.
- (122) Brüning, B., Rheinstädter, M. C., Hiess, A., Weinhausen, B., Reusch, T., Aeffner, S., Salditt, T. "Influence of cholesterol on the collective dynamics of the phospholipid acyl chains in model membranes." *Eur. Phys. J. E* **2010**, 31, 419–428.
- (123) Salditt, T., Li, C., Spaar, A., Mennicke, U. "X-Ray reflectivity of solid-supported, multilamellar membranes." *Eur. Phys. J. E* **2002**, 7, 105–116.
- (124) Tristram-Nagle, S., Liu, Y., Legleiter, J., Nagle, J. F. "Structure of gel phase DMPC determined by X-ray diffraction." *Biophys. J.* **2002**, 83, 3324–3335.
- (125) Nagle, J. F., Tristram-Nagle, S. "Structure of lipid bilayers." *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, 1469, 159–195.
- (126) Wiener, M. C., Suter, R. M., Nagle, J. F. "Structure of the fully hydrated gel phase of dipalmitoylphosphatidylcholine." *Biophys. J.* **1989**, 55, 315–325.

- (127) Katsaras, J., Stinson, R. H. "High-resolution electron density profiles reveal influence of fatty acids on bilayer structure." *Biophys. J.* **1990**, *57*, 649–655.
- (128) Lis, L. J., McAlister, M., Fuller, N., Rand, R. P., Parsegian, V. A. "Interactions between neutral phospholipid bilayer membranes." *Biophys. J.* **1982**, *37*, 657–665.
- (129) Smith, G. S., Safinya, C. R., Roux, D., Clark, N. A. "X-Ray study of freely suspended films of a multilamellar lipid system." *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1987**, *144*, 235–255.
- (130) Torbet, J., Wilkins, M. H. "X-Ray diffraction studies of lecithin bilayers." *J. Theor. Biol.* **1976**, *62*, 447–458.
- (131) Wiener, M. C., White, S. H. "Structure of a fluid dioleoylphosphatidylcholine bilayer determined by joint refinement of X-ray and neutron diffraction data. III. complete structure." *Biophys. J.* **1992**, *61*, 434–447.
- (132) Hristova, K., White, S. H. "Determination of the hydrocarbon core structure of fluid dioleoylphosphocholine (DOPC) bilayers by X-ray diffraction using specific bromination of the double-bonds: Effect of hydration." *Biophys. J.* **1998**, *74*, 2419–2433.
- (133) Spaar, A. "The structure of lipid membranes and the conformation of peptides in membranes studied by surface X-ray scattering", Dissertation, Universität des Saarlandes, 2003.
- (134) Mills, T., Huang, J., Feigenson, G., Nagle, J. "Effects of cholesterol and unsaturated DOPC lipid on chain packing of saturated gel-phase DPPC bilayers." *Gen. Physiol. Biophys.* **2009**, *28*, 126–139.
- (135) Spaar, A., Salditt, T. "Short range order of hydrocarbon chains in fluid phospholipid bilayers studied by X-ray diffraction from highly oriented membranes." *Biophys. J.* **2003**, *85*, 1576–1584.
- (136) Förster, G. **2014**. Persönliche Mitteilung: langjähriger Mittelwert aus Pulverdiffraktometrie-messungen und Simulationen.
- (137) Vaknin, D., Kjaer, K., Als-Nielsen, J., Lösche, M. "Structural properties of phosphatidylcholine in a monolayer at the air/water interface." *Biophys. J.* **1991**, *59*, 1325–1332.
- (138) De Almeida, R. F. M., Joly, E. "Crystallization around solid-like nanosized docks can explain the specificity, diversity, and stability of membrane microdomains." *Front. Plant Sci.* **2014**, *5*, 72.
- (139) Kieffer, R., Prehm, M., Glettner, B., Pelz, K., Baumeister, U., Liu, F., Zeng, X., Ungar, G., Tschierske, C. "X-Shaped polyphilics: Liquid crystal honeycombs with single-molecule walls." *Chem. Commun.* **2008**, *7345*, 3861–3863.
- (140) Tschierske, C. "Development of structural complexity by liquid-crystal self-assembly." *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 8828–8878.
- (141) Chen, B., Zeng, X., Baumeister, U., Ungar, G., Tschierske, C. "Liquid crystalline networks composed of pentagonal, square, and triangular cylinders." *Science* **2005**, *307*, 96–99.
- (142) Monde, K., Miura, N., Hashimoto, M., Taniguchi, T., Inabe, T. "Conformational analysis of chiral helical perfluoroalkyl chains by VCD." *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6000–6001.
- (143) Hesse, M., Meier, H., Zeh, B. „Spektroskopische Methoden der organischen Chemie“, Vol. 7, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2005**.
- (144) Newton, J. H., Person, W. B. "Dipole moment derivatives and infrared intensities. IV. Prediction of absolute infrared intensities of the fundamental vibrations of CF₂ and CF₃ radicals." *J. Chem. Phys.* **1978**, *68*, 2799.
- (145) Nitoń, P., Żywociński, A., Paczesny, J., Fiałkowski, M., Hołyst, R., Glettner, B., Kieffer, R., Tschierske, C., Pocięcha, D., Górecka, E., et al. "Aggregation and layering transitions in thin films of X-, T-, and anchor-shaped bolaamphiphiles at the air-water interface." *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 5861–5873.
- (146) Xue, J., Jung, C., Kim, M. "Phase transitions of liquid-crystal films on an air-water interface." *Phys. Rev. Lett.* **1992**, *69*, 474–477.
- (147) Friedenber, M. C., Fuller, G. G., Frank, C. W., Robertson, C. R. "Formation of bilayer disks and two-dimensional foams on a collapsing/expanding liquid-crystal monolayer." *Langmuir* **1994**, *10*, 1251–1256.

- (148) Godovsky, Y. K., Brezesinski, G., Ruiz-Garcia, J., Möhwald, H., Jensen, T. R., Kjaer, K., Makarova, N. N. "Stepwise collapse of cycloliner polysiloxane Langmuir monolayers studied by brewster angle microscopy and grazing incidence X-ray diffraction." *Macromolecules* **2004**, *37*, 4872–4881.
- (149) Kraack, H., Ocko, B. M., Pershan, P. S., Sloutskin, E., Deutsch, M. "Langmuir films of normal-alkanes on the surface of liquid mercury." *J. Chem. Phys.* **2003**, *119*, 10339.
- (150) Mitchell, M. L., Dluhy, R. A. "In situ FT-IR investigation of phospholipid monolayer phase transitions at the air water interface." *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 712–718.
- (151) Kerth, A. M. „Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie an Lipid-, Peptid- und Flüssigkristall-Filmen an der Luft/Wasser-Grenzfläche“, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2003.
- (152) Li, J., Wu, S. T., Brugioni, S., Meucci, R., Faetti, S. "Infrared refractive indices of liquid crystals." *J. Appl. Phys.* **2005**, *97*.
- (153) Irie, M. "Diarylethenes for memories and switches", *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1685-1716.
- (154) Nováková, E., Mitrea, G., Peth, C., Thieme, J., Mann, K., Salditt, T. "Solid supported multicomponent lipid membranes studied by X-ray spectromicroscopy." *Biointerphases* **2008**, *3*, FB44.
- (155) Nováková, E., Giewekemeyer, K., Salditt, T. "Structure of two-component lipid membranes on solid support: An X-ray reflectivity study." *Phys. Rev. E* **2006**, *74*, 051911.
- (156) Achilles, A. „Charakterisierung der Wechselwirkung amphiphiler und polyphiler Moleküle mit Modellmembranen mittels Festkörper-NMR“, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2015.
- (157) Werner, S., Ebert, H., Lechner, B.-D., Lange, F., Achilles, A., Bärenwald, R., Poppe, S., Blume, A., Saalwächter, K., Tschierske, C., et al. „Dendritic domains with hexagonal symmetry formed by X-shaped bolapolyphiles in lipid membranes." *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 8840-8850.
- (158) Lechner, B.-D., Ebert, H., Prehm, M., Werner, S., Meister, A., Hause, G., Beerlink, A., Saalwächter, K., Bacia, K., Tschierske, C., et al. „Temperature-dependent in-plane structure formation of an X-shaped bolapolyphile within lipid bilayers." *Langmuir* **2015**, *31*, 2839-2850.
- (159) Hoenig, D., Möbius, D. Direct "Visualization of monolayers at the air-water interface by brewster angle microscopy." *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 4590–4592.
- (160) Kaercher, T., Hönig, D., Möbius, D. "Brewster angle microscopy: A new method of visualizing the spreading of meibomian lipids." *Int. Ophthalmol.* **1993**, *17*, 341–348.
- (161) Hénon, S., Meunier, J. "Microscope at the brewster angle: Direct observation of first-order phase transitions in monolayers." *Rev. Sci. Instrum.* **1991**, *62*, 936.
- (162) Avanti Polar Lipids. www.avantilipids.com (accessed Jun 1, 2015).
- (163) Plotnikov, V. V., Brandts, J. M., Lin, L. N., Brandts, J. F. "A new ultrasensitive scanning calorimeter." *Anal. Biochem.* **1997**, *250*, 237–244.
- (164) Binnig, G., Quate, C. F. "Atomic force microscope." *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56*, 930–933.
- (165) Roberts, G. "Langmuir-Blodgett films", Vol. 1, Plenum Press, New York, **1990**.
- (166) Almgren, M., Edwards, K., Gustafsson, J. "Cryotransmission electron microscopy of thin vitrified samples." *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1996**, *1*, 270–278.
- (167) Mendelsohn, R., Moore, D. J. "Vibrational spectroscopic studies of lipid domains in biomembranes and model systems." *Chem. Phys. Lipids* **1998**, *96*, 141–157.
- (168) Weaver, A. J., Kemple, M. D., Brauner, J. W., Mendelsohn, R., Prendergast, F. G. "Fluorescence, CD, attenuated total reflectance (ATR) FTIR, and ¹³C NMR characterization of the structure and dynamics of synthetic melittin and melittin analogues in lipid environments." *Biochemistry* **1992**, *31*, 1301–1313.
- (169) Goormaghtigh, E., Raussens, V., Ruysschaert, J. "Attenuated total reflection infrared spectroscopy of proteins and lipids in biological membranes." *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, *1422*, 105–185.

- (170) Seeck, O. H., Deiter, C., Pflaum, K., Bertam, F., Beerlink, a, Franz, H., Horbach, J., Schulte-Schrepping, H., Murphy, B. M., Greve, M., et al. "The high-resolution diffraction beamline P08 at PETRA III." *J. Synchrotron Radiat.* **2012**, *19*, 30–38.
- (171) Salditt, T., Pfeiffer, F., Perzl, H., Vix, A., Mennicke, U., Jarre, A., Mazuelas, A., Metzger, T. H. "X-ray waveguides and thin macromolecular films." *Phys. Condens. Matter* **2003**, *336*, 181–192.
- (172) Becke, A. D. "Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange." *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.
- (173) Watanabe, H., Hayazawa, N., Inouye, Y., Kawata, S. "DFT vibrational calculations of rhodamine 6G adsorbed on silver, analysis of tip-enhanced raman spectroscopy." *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 5012–5020.
- (174) Becke, A. D. "A new mixing of hartree–fock and local density-functional theories." *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 1372.
- (175) Blume, A., Winter, R. „Biomolekulare Grenzflächen." *Bunsenmagazin* **2004**, *6. Jahrgang*, 27–35.
- (176) Rauhut, G., Pulay, P. "Transferable scaling factors for density functional derived vibrational force fields." *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 3093–3100.
- (177) Becke, A. D. "Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior." *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098–3100.
- (178) Crawford, B., Overend, J. "Redundant vibrational coordinates: Part I. The harmonic potential function." *J. Mol. Spectrosc.* **1964**, *12*, 307–318.



Ein Wort des Dankes

Diese Arbeit hätte ohne die Hilfe so vieler Menschen nie entstehen können und dafür möchte ich DANKE sagen. Zuvörderst gilt mein Dank meinem Betreuer *Alfred Blume*, dafür dass er mir ein freies, eigenständiges Arbeiten bei ständiger Bereitschaft zur Diskussion ermöglicht hat. Vielen Dank für die Möglichkeit, meine Ergebnisse auf zahlreichen Tagungen und Kongressen vorstellen zu können. Gern erinnere ich mich an so manches musikalische Stelldichein.

Auch den übrigen Projektleitern der Forschergruppe (FOR 1145), besonders aber *Carsten Tschierske* und *Kay Saalwächter*, danke ich für die ständige Diskussionsbereitschaft und Hilfe bei wissenschaftlichen Problemen.

Ein großer Dank gebührt den Synthetikern *Benjamin Glettner* und besonders *Helgard Ebert* für die oft langwierigen Synthesen der Mesogene. Danke für das stets freundliche Miteinander, trotz meiner vielen Extrawünsche und ständigen Fragen nach Substanznachschub.

Danke an *Robert Naumann*, *Florian Oehler*, *Jan Ebenhan*, *Philip Biehl*, *Stefan Werner*, *Michael Wagner*, *André Hädicke* sowie *Peggy Scholtysek*, deren Abschluss- bzw. Praktikumsarbeiten ich betreuen durfte. Obgleich eine Betreuung immer Zeit kostet, habe ich viel daraus gelernt und mich mit vielen neuen Fragen beschäftigt.

Ich danke allen Personen, die mich mit den verschiedensten Geräten vertraut gemacht haben: *Sebastian Finger* sei gedankt, der mich in das Messen und Auswerten von ATR-FTIR-Spektren und DSC-Thermogrammen eingewiesen hat. Danke für das angenehme Miteinander. Danke *Bettina Fölting* für die Unterstützung bei DSC-Messungen. *Martin Schieweck* möchte ich, wahrscheinlich im Namen der gesamten AG-Blume, für die Programmierung seines Temperatursteuerprogrammes zur automatisierten Aufnahme von temperaturabhängigen IR-Spektren danken. Danke *Stefan Werner* und *Regina Schöps* für das Einweisen in die LFSM-Technik. *Anja Huster* lehrte mich den Umgang mit der Filmwaage und Monoschichten, wofür ich herzlich danke. Besonders bedanken möchte ich mich bei *Christian Schwieger* für die Programmierung der umfangreichen IRRAS-Mess- und Auswertesoftware. Danke auch für so manche nächtliche Auswertesession, die stets kompetenten Ratschläge und so manche Hilfestellung bei Matlab-Problemen. *Rudolf Friedemann*, *Sebastian Schwieger*, *Guntram Schmidt*, *Dirk Fehse*, *Arne Scherrer*, *Felix Hoffmann* und *Daniel Sebastiani* danke ich für die Hilfe bei der Durchführung und Interpretation quantenmechanischen Rechnungen (DFT). Ein besonderer Dank gebührt *Günther Förster*, *André Beerlink* und *Sebastian Aeffner* für die Einführung in die Röntgenstrukturanalyse und in Packungsprobleme von Lipiden. Vielen Dank *Anton Hauser*, *Katrin Weise*, *Ingo May*, *Eike-Christian Spitzner* und *Martin Dehnert* für die geduldige Einführung in die verschiedenen AFM-Messtechnik und so manche länger Messzeit. Vielen Dank an *Andreas Janshoff*, *Claudia Steinem*, *Roland Winter* und *Robert Magerle* für die Möglichkeit in Ihren Arbeitskreisen AFM zu nutzen und zu lernen.

Einen besonderen Dank möchte ich *Andreas Lonitz* und *Dieter Reese* ausbringen. Ohne den technischen Support, die vielen neu gebauten Gerätschaften und der Hilfe bei Rechnerproblemen wäre meine Promotionszeit weit weniger angenehm gewesen. Danke auch *Andreas Lonitz* für so manchen Tipp zum grünen Daumen.

Vielen Dank an *Annette Meister* für zahlreiche (Cryo-) TEM-Aufnahmen und so manches aufmunternde Wort. Das gemeinsame Musizieren war oft ein angenehmer Gegenpol zur Arbeit. Danke an *Anja Achilles*, *Frank Lange* und *Ruth Bärenwald* für die NMR-Messungen mit teilweise unaussprechlichen Pulssequenzen und die gute Zusammenarbeit. Auch allen anderen

Mitdoktoranden der Forschergruppe möchte ich für die reibungsfreie interdisziplinäre Zusammenarbeit danken.

Danke an *Andreas Kerth* für viele fachliche und außerfachliche Gespräche und so manchen guten Tipp. Vielen Dank an *Stefan Schymura*, der diese Arbeit sehr gründlich korrekturgelesen hat.

Einen ganz herzlichen Dank den restlichen Mitgliedern der AG Blume für das ausgezeichnete Miteinander in wissenschaftlichen Belangen und bei Freizeitaktivitäten, wie den jährlichen AG-Ausflügen, Weihnachtsfeiern, „Anpizzen“, Wandern mit dem Babyfuchs, Paddeln, Radfahren, so mancher Kaffeerunde und Musizieren.

Nicht vergessen sein soll meine liebe Mutter. Ich danke für ihre ständige liebevolle Unterstützung in jeder Situation. Meinen Freunden und den Mitbewohnern meiner WG, die meine Launen und Stimmungen während der Anfertigung dieser Arbeit ertragen mussten möchte ich ebenfalls herzlich danken.

A1Anhang I - Materialien und Methoden

A1.1 Chemikalien

Alle eingesetzten Lösungsmittel, Lipide und Chemikalien wurden ohne zusätzliche vorherige Reinigung verwendet. Lösungsmittel wie Chloroform (CHCl_3), Methanol (CH_3OH), Ethanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$) und Trifluorethanol (TFE) wurden in HPLC-Reinheit von Carl Roth GmbH und Co. KG (Karlsruhe, Deutschland) bezogen. Uranylacetat ($\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$) als Kontrastmittel für die elektronenmikroskopischen Proben wurde von Sigma-Aldrich Inc. (St. Louis, USA) erworben. Es wurde ausschließlich mit Reinstwasser aus einer Millipore-A10-Aufbereitungsanlage mit einer Restleitfähigkeit von $\leq 0.055 \mu\text{Si cm}^{-1}$ und einem Restgehalt an organischem Kohlenstoff (TOC, total organic carbon) von $\text{TOC} \leq 5 \text{ ppm}$ gearbeitet (Millipore GmbH, Schwalbach, Deutschland). Der pH-Wert von schwerem Wasser (D_2O , Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) wurde vor Benutzen mittels DCl und NaOD (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) zu $\text{pD} = 6.77$ eingestellt.

A1.1.1 Lipide

Die verwendeten Lipide DPPC, DOPC, DMPC und POPC wurden von Genzyme Pharmaceuticals (Liestal, Schweiz) bezogen. Das mit Rhodamin markierte Lipid Rh-DHPE wurde von Avanti Polar Lipids (Alabaster, USA) erworben. Alle Lipide wurden ohne zusätzliche Reinigung verwendet.

A1.1.2 Mesogene

Die eingesetzten X-förmigen Bolapolyphile der Klasse Bm/n und Bolaamphiphile der Klassen Cm/n ,^{157,158} $\text{F12}/n$, $\text{G12}/n$ sowie das Molekül C12r wurden von Dr. Helgard Ebert in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Carsten Tschierske (Organische Chemie, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg) synthetisiert und charakterisiert.⁵⁶ Das Amphiphil $\text{E12}/12$ wurde von Dr. Benjamin Glettner aus der gleichen Arbeitsgruppe hergestellt und charakterisiert.^{57,145}

Vor den Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit wurden von den Substanzen Dünnschichtchromatogramme ($R_f = 0.89$) mit fluoreszenzmarkierten Silicagelplatten (F254-Fluorophor, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und Essigester als Laufmittel (Essigsäureethylester, Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) angefertigt, um deren Reinheit zu überprüfen. Zur Visualisierung wurde eine UV-Lampe bei 254 nm bzw. 366 nm verwendet. Eine Anregung mit 366 nm liefert eine intensive Fluoreszenz des Substanzspots. Der Reinheitsgrad beeinflusst das Aggregationsverhalten der Mesogene auf der Filmwaage und mit Lipidmembranen. Zudem kann eine lichtinduzierte (Tages- bzw. UV-Licht) Zersetzung der Mesogene auftreten, die die Aggregationseigenschaften ändert. Der Lichtzutritt wurde soweit möglich verhindert oder zumindest stark reduziert. Die Proben wurden also im Kühlschrank, dicht in Alufolie oder Polyethylenfolie gewickelt, aufbewahrt. Bei der Präparation wurden ausschließlich braune Gläschen verwendet und auf eine nur kurze Lichtexposition geachtet.

A1.2 Langmuir-Filme, Grenzflächenaktivität und BAM

Es wurden (monomolekulare) Filme auf der Wasseroberfläche erzeugt. Die Differenz der Oberflächenspannung der reinen Wasser-Subphase σ_0 zur Oberflächenspannungen des Filmes σ_f ist

als Oberflächendruck π definiert. Der Oberflächendruck wurde als Funktion der mittleren molekularen Fläche der Moleküle A_{mol} mit einer Wilhelmy-Platte (Waage) gemessen.

$$\pi = \sigma_0 - \sigma_F \quad (\text{Gl. 2})$$

Mit den beweglichen PTFE-Barrieren kann die Oberfläche variiert werden. Am Kollapsunkt ist der monomolekulare Film nicht mehr stabil, und es kommt bei weiterer Kompression zur Bildung von Multischichten oder anderen 3D-Strukturen.

Die monomolekularen Filme konnten mittels Brewsterwinkelmikroskopie (BAM) charakterisiert werden.^{159,160} P-polarisiertes Licht wird auf die Grenzfläche gestrahlt, wobei unter dem Brewsterwinkel kein Licht reflektiert (Fresnelgleichungen) wird, da die Reflektivität R_p als Funktion vom Einfallswinkel θ am Brewsterwinkel θ_B ein Minimum aufweist. Die reine Wasseroberfläche erscheint bei Einstrahlung unter θ_B dunkel. Ein organischer Film (Brechungsindex n_F) bildet in BAM-Aufnahmen einen Kontrast zur unbedeckten Wasseroberfläche (Brechungsindex n_w). Da die Reflektivität R_p von beiden Brechungsindizes abhängt, muss $n_F \neq n_w$ gelten.

$$R_p(\theta_B) = iR_s(\theta_B)\rho_B \quad (\text{Gl. 3})$$

mit

$$\tan \theta_B = \frac{n_w}{n_F} \quad (\text{Gl. 4})$$

ρ_B ist die Elliptizität am θ_B , R_s und R_p die Reflektivität von s- bzw. p-polarisiertem Licht, und i ist die Phasendifferenz von $\pi/2$ zwischen s- und p-polarisiertem Licht.¹⁶¹ Um eine Rückreflexion des Lichtes vom Boden der Filmwaage zu verhindern, wird am Auftreffort des Lichtpunktes eine schwarze, abgeschrägte Glasplatte platziert, die durch die Grenzfläche transmittiertes (gebeugtes) Licht absorbiert bzw. in eine andere Richtung reflektiert.

Die monomolekularen Filme wurden durch Spreiten von Lösungen der Mesogene in CHCl_3 bzw. einem Gemisch aus $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 2:1$ ($c_{ges} = 1 \text{ mM}$) mit Hilfe einer Mikroliterspritze (Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz) auf die Wasseroberfläche erzeugt. Nach Verdampfen des Lösungsmittels verbleibt ein (monomolekularer) Film der Substanzen auf der Wasseroberfläche. Die Kompressionsisothermen wurden an einer Filmwaage mit einem rechteckigen PTFE-Trog (maximale Fläche: 535.6 cm^2 , Kompressionsverhältnis: 11.8) und zwei beweglichen PTFE-Barrieren (symmetrische Bewegung) gemessen. Vor der Messung wurde die Filmwaage intensiv mit Wasser gespült und der π -Wert zu einen bei eingestellter Füllhöhe und zum anderen ohne Wasser kalibriert. Die Kompression wurde bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (Thermostat: Haake F3, Thermo electron corporation, Karlsruhe, Deutschland) und einer Kompressionsgeschwindigkeit von $v_{kompr} = 2 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$ durchgeführt.

A1.3 Präparation der Lipidsuspensionen

Es wurden Vorratslösungen der verwendeten Lipide ($c = 10 \text{ mM}$) und Mesogene ($c = 2 \text{ mM}$) in einer Mischung aus $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH} = 2:1$ hergestellt. Soweit nicht anders beschrieben, wurden zur Herstellung homogener wässriger Suspensionen die Vorratslösungen aller beteiligten Komponenten im entsprechenden Verhältnis zusammengegeben. Das organische Lösungsmittel wurde zuerst im N_2 -Strom und anschließend im Vakuumtrockenschrank ($> 3 \text{ h}$, $60 \text{ }^\circ\text{C}$, ca. 1 mbar) vollständig entfernt. Der trockene Film wurde mit H_2O oder D_2O hydratisiert und die Proben geschüttelt. Durch eine Ultraschallbehandlung bei $60 \text{ }^\circ\text{C}$ wurden kleine unilamellare Vesikel (SUV) erzeugt (Abbildung 99).

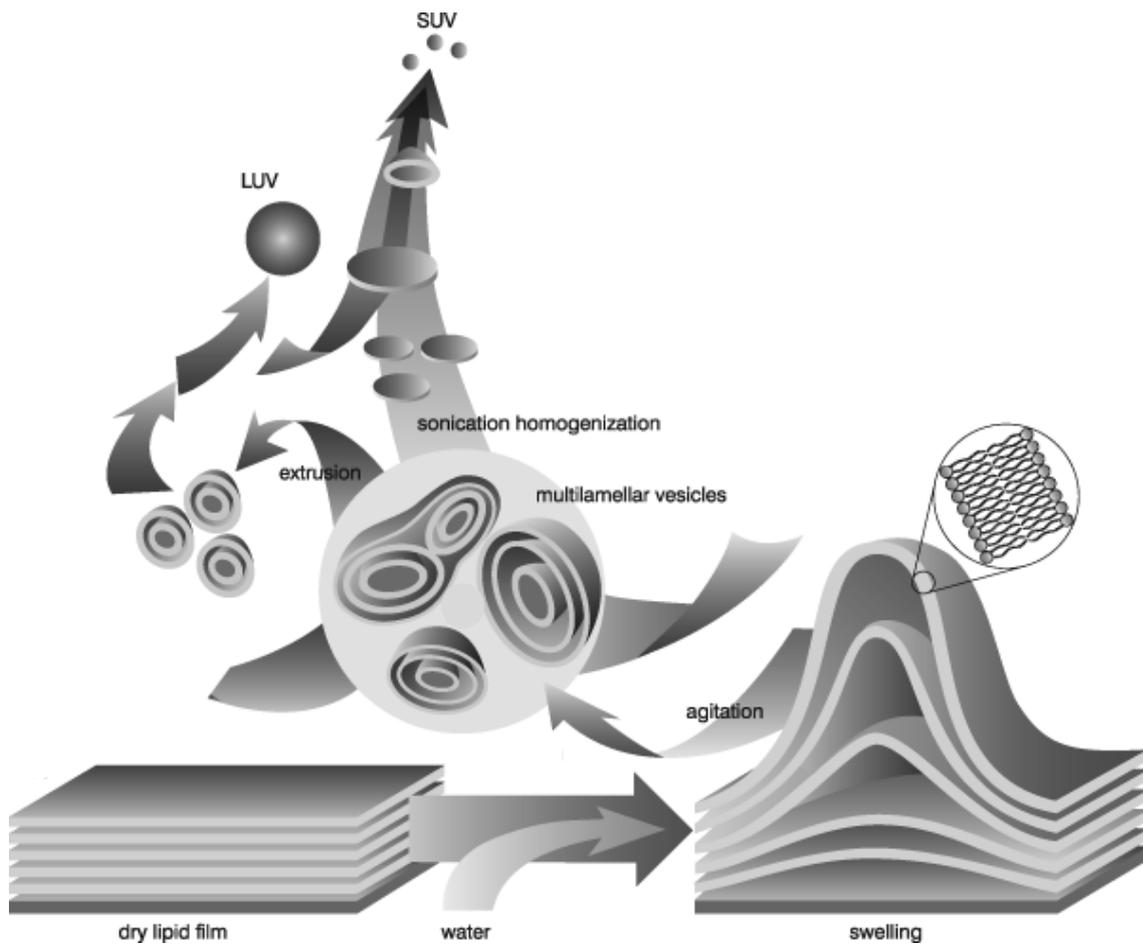


Abbildung 99. Allgemeines Schema zur Präparation von Vesikeln mittels Hydratation und Quellung trockener multischichtiger Lipidfilme.¹⁶²

A1.4 DSC

Zur Erfassung thermotroper Phasenumwandlungen der Lipid- oder Lipid-Mesogen-Membranen wurde ein VP-DSC (MicroCal Inc. Northampton, USA) verwendet. Das Kalorimeter besteht aus zwei Zellen, in denen sich die zu vermessende Probe und als Referenz das reine Lösungsmittel Wasser befanden. In beiden Zellen wurde gleichmäßig die Temperatur variiert. Um auch bei thermotropen Umwandlungen der Probe in beiden Zellen eine gleiche Temperatur zu erzeugen, wurde die Heizleistung einer der Probenzellen gegebenenfalls moduliert (Heizleistungskompensationsprinzip).¹⁶³ Durch Integration der Wärmekapazität c_p nach der Temperatur im Bereich der Umwandlungen zwischen T_A und T_E erhält man die Enthalpie ΔH der Phasenumwandlung.

$$\Delta H = \int_{T_A}^{T_E} c_p dT \quad (\text{Gl. 5})$$

Die DSC-Thermogramme von wässrigen Lipid-(Mesogen-) Suspensionen wurden im Temperaturbereich von 2 °C – 95 °C mit einer Heiz- bzw. Kühlrate von 60 K/h aufgezeichnet. Dabei wurde nach jeder Temperaturrampe eine Equilibrierungsphase von 10 min eingehalten. Um die Reproduzierbarkeit der Umwandlungen zu zeigen, wurden mindestens drei Aufheiz-Abkühlzyklen gefahren. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mittels Origin 7.0 (DSC-Tool, OriginLab, Northampton, USA).

A1.5 Bildgebende Analyseverfahren

A1.5.1 AFM

Zur Aufzeichnung der Proben topographie und damit zur Visualisierung der Mesogen/Lipid-Aggregate wurden AFM-Untersuchungen mit Hilfe eines Multimode V (Nanoscope VII Controller, Bruker AXS, Mannheim, Deutschland) an Proben, die auf einem festen Substrat (Si oder Glimmer) immobilisiert sind, durchgeführt. Die Proben wurden mit Hilfe einer Messsonde (tip, Spitze), die an einem Federbalken (Cantilever) hängt, zeilenweise abgetastet. Auf der Rückseite des Cantilevers wurde ein Laserstrahl (HeNe-Laser, $\lambda = 633 \text{ nm}$) reflektiert und in eine positionsempfindliche Vier-Quadranten-Photodiode gelenkt und dort orts aufgelöst detektiert (Lichtzeigerprinzip).¹⁶⁴ Die Auslenkung des Cantilevers um einen Wert d_z beim Scannen ist proportional zur auf den Cantilever wirkenden Kraft F_z (Hook'sches Gesetz):

$$d_z = k_{eff} F_z \quad (\text{Gl. 6})$$

k_{eff} ist die effektive Federkonstante des Cantilevers, die sich aus dem Produkt der tatsächlichen Federkonstante k_0 und einem Qualitätsfaktor Q zusammensetzt ($k_{eff} = Qk_0$).

Die AFM-Aufnahmen wurden im intermittierenden Kontaktmodus (intermittant contact mode oder Tapping Mode™) angefertigt, bei dem der Cantilever nahe seiner Eigenfrequenz schwingt. Damit betragen die Proben-Spitzen-Kontaktzeiten nur etwa $0.01 \mu\text{s} - 1 \mu\text{s}$. Während jedes Oszillationszyklus wurde der attraktive und repulsive Bereich der Wechselwirkungen zwischen Probe und Spitze durchlaufen. Die gedämpfte Amplitude (A) während der Messung wurde nahe der freien Schwingungsamplitude (A_0) gehalten, was einen Setpoint (A/A_0) von ca. 1 für die Messungen zur Folge hatte.

Zur Probenpräparation wurden Filme von der Luft/Wasser-Grenzfläche (Übertrag von der Filmwaage) mit der Langmuir-Blodgett-Technik (LB-Transfer)¹⁶⁵ auf runde Si-Scheiben (Si₁₀₀, einseitig poliert, $\varnothing = 15 \text{ mm}$, CrysTec GmbH, Berlin, Germany) übertragen. Vor dem Übertrag wurden die Si-Substrate nacheinander jeweils 10 min in wässriger Hellmanex®III-Lösung (1 Gew.-%, Hellma GmbH, Mühlheim, Deutschland), CHCl₃, Ethanol und Wasser im Ultraschallbad behandelt. Zwischen den Behandlungsschritten wurde jeweils intensiv mit Wasser gespült und im N₂-Strom getrocknet. Nach der Prozedur wurden die Substratscheiben im Plasmacleaner (Harrick Plasma, Ithaca, USA, mittlere Stufe) 5 min hydrophilisiert. Glimmerplättchen (Muskovit, {KAl₂[AlSi₃O₁₂(OH)₂]}), $\varnothing = 15 \text{ mm}$ oder 9.9 mm , PLANO GmbH, Wetzlar, Deutschland) wurden vor der Benutzung frisch gespalten. Es wurde mit Übertragungsgeschwindigkeiten zwischen 1 cm min^{-1} und 40 cm min^{-1} gearbeitet und die Filme bei Transferoberflächendrücken zwischen $\pi_{tr} = 2 \text{ mN m}^{-1}$ und 25 mN m^{-1} übertragen. Während des Übertrages wurden die Barrierenpositionen variiert, um einen konstanten π_{tr} -Wert zu garantieren. Vor dem Abbilden wurden die Proben über Nacht getrocknet.

Zur Messung wurden rechteckige, rückseitig Al-beschichtete Si-Cantilever (TESPA, nominelle Länge: $l_{nom} = 110 \mu\text{m}$, Resonanzfrequenz: $f_{res} \approx 230 \text{ kHz}$, Nanoworld, Neuchâtel, Schweiz) mit pyramidalen Spitzen und nominellen Federkonstanten $k_{nom} \approx 42 \text{ N m}^{-1}$ verwendet. Es wurde mit Rastergeschwindigkeiten von 1 Hz gearbeitet. Die Spitzenradien dieser Cantilever sind $< 10 \text{ nm}$. Die Datenverarbeitung erfolgte mittels der Software Nanoscope 7.20R1sr1 (Bruker AXS, Mannheim, Deutschland) und Gwyddion 2.30 (Open Source, <http://gwyddion.net>).

A1.5.2 TEM

Für die Präparation von TEM-Proben kamen zwei verschiedene Präparationstechniken zum Einsatz. Die wässrigen Suspensionen wurden getrocknet und mit Uranylacetat $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$ kontrastiert. Uranylacetat interagiert bevorzugt mit den PC-Kopfgruppen der Lipide. Obgleich die Färbung mit Uranylacetat eine Positivkontrastierung darstellt, wird konventionell von Negativkontrastierung gesprochen. Für Cryo-TEM-Aufnahmen wurden wässrige Suspensionen in flüssigem Ethan vitrifiziert. Auf Grund der hohen Abkühlgeschwindigkeit beim Vitrifizieren bildeten sich keine Eiskristalle und das Wasser erstarrte zu amorphem Eis. Bei dieser Präparationsmethode konnten die Strukturen der Probe nicht reorganisieren und somit im nativen Zustand abgebildet werden.¹⁶⁶

Zur Präparation der negativ-kontrastierten Proben wurden 5 μl einer wässrigen Suspension ($c_{\text{ges}} = 0.1 \text{ mg ml}^{-1}$) auf einem mit Polyvinylformal (Formvar®) bespanntes Cu-Grid aufgebracht. Nach einer Minute Wartezeit wurde die überschüssige Lösung mit einem Filterpapier abgesaugt (blotten) und 20 μl einer 1 %-igen wässrigen Uranylacetatlösung aufgegeben. Nach einer einminütigen Einwirkzeit wurde erneut geblottet. Vor Anfertigen der Aufnahmen wurden die Grids bei der Präparationstemperatur getrocknet. Um die Probenpräparation bei $T > 25 \text{ }^\circ\text{C}$ durchzuführen, wurden alle Lösungen und Instrumente in einem Trockenschrank vortemperiert. Die gesamte Präparation wurde zügig im Trockenschrank durchgeführt. Eine Präparation bei $T > 50 \text{ }^\circ\text{C}$ war nicht erfolgreich, da die Polymerfilme der Grids bei diesen Temperaturen nicht stabil waren und die Gridmaschen rissen. Die Aufnahmen wurden an einem Zeiss EM900-Mikroskop bei 120 kV durchgeführt.

Die Cryo-TEM-Proben wurden in einer Kammer definierter Luftfeuchte und Temperatur präpariert. Dazu wurde ein Tropfen der wässrigen Probensuspension ($c_{\text{ges}} = 1 \text{ mg ml}^{-1}$) auf ein TEM-Grid, bestehend aus einem löchrigen Kohlenstofffilm (C-flatTM, Protochips Inc., Raleigh, NC) oder einem kohlenstoffbeschichteten Polymerfilm (Quantifoil, PLANO, Wetzlar, Deutschland), aufgebracht. Überschüssige Suspension wurde mit einem Filterpapier entfernt, sodass ein dünner, wässriger Film zurückblieb. Durch Eintauchen des Grids in flüssiges Ethan ($T < 108 \text{ K}$) wird die Probe vitrifiziert und bis zur Messung in flüssigem N_2 gelagert. Die Aufnahmen wurden an einem Zeiss LIBRA120-Mikroskop mit 120 kV durchgeführt.

A1.5.3 LFSM

Auf Grund der Fluoreszenz der Mesogene konnten diese als Fluorophore verwendet werden, um fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von Mesogen-PC-Aggregaten anzufertigen. Dazu wurden GUV (giant unilamellar vesicles) mit Durchmessern von bis zu mehreren Hundert Mikrometern durch Elektroformation⁸² erzeugt und abgebildet. Die X-förmigen Mesogene wurden mit einer Laserdiode bei $\lambda^{\text{ex}} = 405 \text{ nm}$ angeregt und ihre Fluoreszenz im Bereich $\lambda^{\text{em}} = 443 \text{ nm}$ bis 545 nm detektiert (grüner Kanal). Durch Zugabe von 0.5 Gew.-% Rh-DHPE (16:0-PC, Avanti Polar Lipids Inc., New York, USA, Abbildung 100, Tabelle 1), welches ein Rhodamin als Fluorophor trägt, und sich homogen in PC-Membranen verteilt, konnten Zweifarbexperimente durchgeführt werden. Rhodamin wurde bei $\lambda^{\text{ex}}(\text{Rh}) = 561 \text{ nm}$ angeregt und dessen Fluoreszenzsignal im Bereich $\lambda^{\text{em}}(\text{Rh}) = 566 \text{ nm} - 681 \text{ nm}$ (roter Kanal) detektiert. So konnten simultan die Mesogen- und Rh-Fluoreszenz angeregt und die entsprechend fluoreszierenden Areale visualisiert werden, um die Fluorophorenlokalisierung und deren Verteilung zu bestimmen.

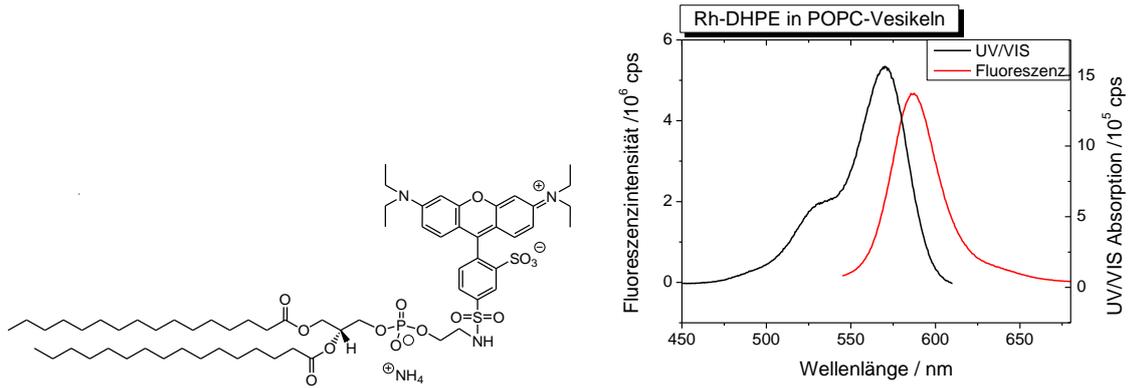


Abbildung 100. Links: Struktur von Rh-DHPE (Ammoniumsalz); rechts: Absorptions- (schwarz) und Emmissionspektrum (rot) von RhDHPE in POPC-Vesikeln, $\varnothing(\text{Vesikel}) = 100 \text{ nm}$, 0.5 % Rh-DHPE, $c_{\text{POPC}} = 0.503 \text{ mM}$.

Ist ein Farbstoff in der GUV-Membran homogen verteilt und zeigt eine Vorzugsorientierung, kann dessen mittlere Orientierung nach Corry *et al.*⁹⁴ bestimmt werden. Ausgehend von der Annahme, dass der Moleküldirektor MD in einem Winkel α relativ zur Membrannormale N steht (Kegelmodell in Abbildung 101A), kann der Ordnungsparameter S berechnet werden:

$$S = \frac{1}{2}(3 \cos^2 \alpha - 1) \quad (\text{Gl. 7})$$

Eine Funktion B kann definiert werden, die von der Größe u ($0 \leq u \leq 1$) - einem Maß für den Orientierungsfreiheitsgrad des Fluorophors - abhängt:

$$B = 2S \left(u - \frac{1}{3} \right) = (3 \cos^2 \alpha - 1) \left(u - \frac{1}{3} \right) \quad (\text{Gl. 8})$$

$$u = \frac{\int_0^{\pi/2} d\psi \cos^2 \psi \sin \psi g(\psi)}{\int_0^{\pi/2} d\psi \sin \psi g(\psi)} \quad (\text{Gl. 9})$$

Wobei ψ der Winkel zwischen dem Vektor der mittleren Orientierung der Mesogenrückgrate und dem Übergangsdipolmoment der Absorption ist, und $g(\psi)$ die Verteilungsfunktion, die angibt mit welcher Wahrscheinlichkeit der Winkel ψ eingenommen wird. Für $\psi = 0^\circ$ ergibt sich $u = 1$. Die Fluoreszenzintensität ist gegeben durch

$$\langle I \rangle = \frac{I_0}{4} \left[3B \cos^2 \gamma - B + \frac{4}{3} \right] \quad (\text{Gl. 10})$$

Wird die Fluoreszenzintensität $I(\gamma)$ entlang der GUV-Membran als Funktion des Kreiswinkels γ aufgetragen, ergibt sich eine sinoidale Kurve (Abbildung 101B). Die normierte Intensität R wird erhalten, indem jeder Wert $I(\gamma)$ durch $I(\gamma + 90^\circ)$ dividiert wird. Das experimentelle Intensitätsprofil wird gefittet, um den Parameter B zu bestimmen, gemäß

$$R = \frac{\langle I \rangle_\gamma}{\langle I \rangle_{\gamma + 90^\circ}} = \frac{3B \cos^2 \gamma - B + \frac{4}{3}}{3B \cos^2 (\gamma + 90^\circ) - B + \frac{4}{3}} \quad (\text{Gl. 11})$$

Die Funktion B ist abhängig von u und α (Gl. 8), und es kann bestenfalls eine Beziehung zwischen u und α errechnet werden. In Abbildung 101D ist ein Kontourplot von B in der u - α -Ebene nach (Gl. 8)

geplottet, der vier Bereiche aufweist. Durch Analyse des Konturplots und des Plots von $\langle I \rangle$ als Funktion von α für verschiedene u -Werte und jeweils für $\gamma = 0^\circ$ bzw. $\gamma = 90^\circ$ können Einschränkungen für den Wertebereich von u und α gemacht werden, und es ist möglich einen maximalen (α_{max}) bzw. minimalen (α_{min}) Tiltwinkel und einen minimalen (u_{min}) bzw. maximalen (u_{max}) u -Wert aus den gemessenen B -Werten zu berechnen.

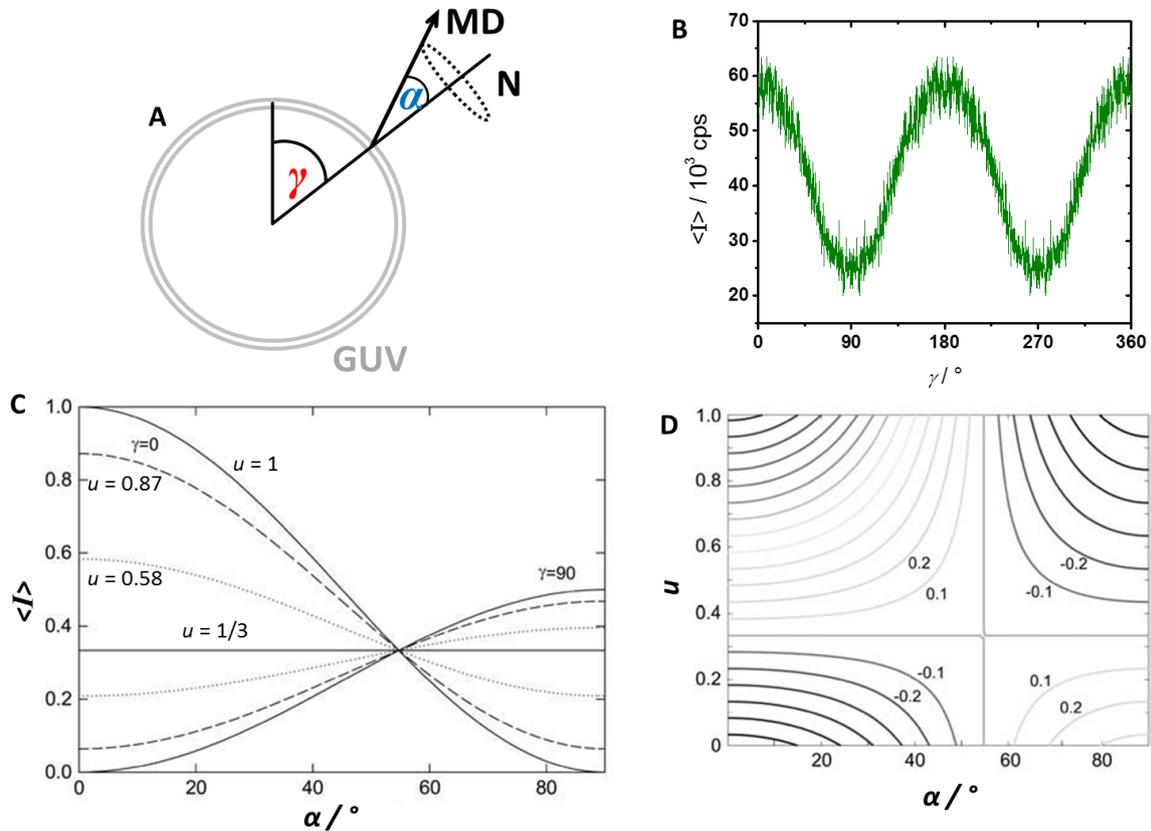


Abbildung 101. A: Kegelmodell der Vorzugsorientierung des Moleküldirektors MD eines homogen in einer Lipidmembran verteilten Fluorophors relativ zur Membrannormale N mit Kreiswinkel γ und Tiltwinkel α , B: Fluoreszenzintensität entlang der GUV-Membran als Funktion von Kreiswinkel γ , C: Fluoreszenzintensität als Funktion des Tiltwinkels α für verschiedene u -Werte ($u = 1$ – durchgezogene Linie, $u = 0.87$ – gestrichelte Linie, $u = 0.58$ – gepunktete Linie und $u = 1/3$ – horizontale Linie) und jeweils für $\gamma = 0^\circ$ (Kurven mit Maximum bei $\alpha = 0^\circ$) und $\gamma = 90^\circ$ (Kurven mit Minimum bei $\alpha = 0^\circ$); D: Kontourplot von B als Funktion von u und α ; Tafeln C und D modifiziert nach Corry *et al.*⁹⁴

GUV wurden durch ein Elektroformationsprotokoll hergestellt.⁸² 15 μl einer CHCl_3 -Lösung der Probe ($c_{ges} = 16 \text{ g l}^{-1} - 19 \text{ g l}^{-1}$) wurden bei 60°C auf eine ITO-beschichtete Glasscheibe (InSnO, Indium-Zinn-Oxid, indium tin oxid, Nanion Technologies GmbH, München, Deutschland bzw. Delta Technologies, Stillwater, USA) aufgetragen, die Teil der Messzelle war. Nach Verdampfen des Chloroforms wurde die Messzelle (zwei Glasscheiben und Spacer) zusammengebaut, mit Silikonfett (Glisseal Grease, Ladd Research, Willistont, USA) abgedichtet und mit H_2O gefüllt. Bei 65°C (Temperiereinheit: Stuart Digital Hotplate SD 160, Bibby Scientific Limited, Staffordshire, UK) erfolgte die Elektroformation bei 1.33 V Wechselstrom (10 Hz) für ca. 3 h. Die LSM-Aufnahmen wurden mit einem Confocor 3 (Zeiss LSM 710, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) mit Wasserimmersionsobjektiv (Zeiss Aplanachromat 40XW1.2 = NA, farbkorrigiert von UV- bis IR-Bereich) bei 20°C aufgezeichnet. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels ZenLabs 2009 (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena, Deutschland).

A1.6 Spektroskopische Analyseverfahren

A1.6.1 Infrarotspektroskopie

Zur Bestimmung der schwingungsspektroskopischen Eigenschaften der Moleküle (charakteristischen Schwingungsmoden) wurden die Infrarotspektroskopietechniken ATR-FTIR und IRRAS angewendet. Die Schwingungsmoden geben Aufschluss über die chemische Natur der Moleküle und deren Umgebung in der Probe, über inter- bzw. intramolekulare Wechselwirkungen, die Packung bzw. Orientierung der Moleküle sowie die Konformation von Molekülteilen. Durch temperaturabhängige Messungen können Änderungen, z. B. der Alkylkettenkonformation der Lipide^{53,100,104,167,168} und Mesogene (DFT-Rechnungen) oder des Hydratationsgrades der Lipidkopfguppen als Funktion der Temperatur und damit das thermotrope und lyotrope Phasenverhalten der Membran, beobachtet werden.

A1.6.1.1 ATR-FTIR

Die Proben wurden als Filme auf einen Si- oder Ge-Kristall aufgebracht. Es wurden Proben durch Vesikelspreitung in wässrigem Medium und geordnete Multischichtproben durch Abscheidung eines Substanzgemisches aus CHCl_3 -Lösung und Hydratation via Gasphase präpariert. Zwischen den Schichten der Membranstapel befand sich im Kopfguppenbereich der Lipide genug Wasser (Hydratwasser + Überschusswasser), um eine ausreichende Hydratisierung und die bekannten Membranphaseneigenschaften gewährleisten zu können. Die evaneszente IR-Welle besitzt eine Eindringtiefe d_p von 500 nm bis 1.2 μm in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ und erfasst hauptsächlich Material nahe am Kristall. In unmittelbarer Nähe des Kristalls befindet sich eine dünne, höher geordnete Wasserschicht, die nicht isotrop ist wie das übrige Wasser.¹⁶⁹

$$d_p = \frac{\lambda / n_1}{2\pi \sqrt{[\sin^2 \gamma - (n_2 / n_1)^2]}} \quad (\text{Gl. 12})$$

Die Eindringtiefe ist auch abhängig von den Brechungsindizes des Kristalls n_1 und des Films n_2 sowie des Einfallwinkels γ der IR-Strahlung. Auswertungen der Spektren erfolgten mit Opus 5.5 und 6.5 und Origin 7 und 8.

BioATR II (Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Deutschland)

Für die Messung mit der BioATR II-Einheit (Abbildung 102) wurden 25 μl einer wässrigen Suspension ($c_{\text{Lipid}} = 2 \text{ mM}$) auf den ZnSe-geträgerten Si-Einkristall ($\varnothing = 4 \text{ mm}$, $n_{\text{Si}} = 3.42$, $\gamma = 45^\circ$, $\approx 9 - 12$ Reflexionen) der Messzelle gegeben und nach Verschließen der Zelle (Vitondichtungen) bei ca. 66°C inkubiert. Dabei kommt es durch Vesikelspreitung zur Bildung planarer Multischichten.^{96,97} Mit einem TENSOR27-Spektrometer mit KBr-Strahlteiler und flüssigstickstoffgekühltem MCT-Detektor (Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Deutschland) wurden kontinuierlich IR-Spektren aufgezeichnet und der Adsorptionsprozess als abgeschlossen angesehen, wenn die Lipid- $\nu(\text{CD}_2)$ - und $\nu(\text{CO})$ -Bandenintensität konstant blieben (ca. 2 h). Temperaturabhängige Messungen wurden im Bereich $10^\circ\text{C} - 76^\circ\text{C}$ (Schrittweite: $2 \text{ K} \pm 0.1 \text{ K}$) mit Hilfe eines selbstgeschriebenen, Delphi-basierten Temperaturkontrollprogrammes (Martin Schieweck, 2008) und eines Thermostaten (Haake Phoenix II, C25P, Thermo electron corporation, Karlsruhe, Deutschland) durchgeführt ($4000 \text{ cm}^{-1} - 900 \text{ cm}^{-1}$, Apertur 3.0 mm, Anzahl der Scans 256, Auflösung 4 cm^{-1}). Die gemessenen

Einkanalspektren der Probe werden nach dem Lambert-Beer-Gesetz mit den Referenz-Einkanalspektren von reinem Wasser (H_2O oder D_2O) zum IR-Spektrum verrechnet.

Temperierbare ATR-Einheit mit trapezförmigem Kristall

Zur Erzeugung orientierter Multischichten wurde 1 ml der in CHCl_3 gelösten Probe ($c_g = 4.0 \text{ mM} - 4.4 \text{ mM}$) tropfenweise auf einen vortemperierten ($60 \text{ }^\circ\text{C} - 70 \text{ }^\circ\text{C}$), trapezoiden Ge-Kristall (Abmessungen: $5.88 \text{ cm} \times 1.00 \text{ cm} \times 0.39 \text{ cm}$, 5 interne Reflexionen, $n_{\text{Ge}} = n_1 = 4$, $\gamma = 45^\circ$, Korth Kristalle GmbH, Kiel, Deutschland, Abbildung 102) aufgebracht. Nach dem vollständigen Verdampfen des CHCl_3 wurden $5 \mu\text{l}$ H_2O oder D_2O neben den Kristall innerhalb der Messzelle gegeben und die Messzellen verschlossen (Vitondichtungen). Bei ca. $66 \text{ }^\circ\text{C}$ wurde die Probe inkubiert und via Gasphase bis zur Sättigung des Lipides hydratisiert, wodurch sich planare Membranzmultischichten bildeten. Während dieses Vorganges wurden mit einem Bruker IFS66-Spektrometer mit KBr-Strahlteiler, einem mit Flüssigstickstoff gekühltem MCT-Detektor und Polarisationsseinheit kontinuierlich IR-Spektren aufgezeichnet und das Fortschreiten der Hydratisierung anhand der Intensität der $\nu(\text{OH})$ - bzw. $\nu(\text{OD})$ -Schwingungsbande verfolgt. Es wurden temperaturabhängige Messungen im Temperaturbereich $10 \text{ }^\circ\text{C} - 70 \text{ }^\circ\text{C}$ (Schrittweite: $2 \text{ K} \pm 0.1 \text{ K}$) und dem Wellenzahlbereich $4000 \text{ cm}^{-1} - 900 \text{ cm}^{-1}$ (Apertur 2.5 mm , Anzahl der Scans 128, Wellenzahlauflösung 4 cm^{-1}) mit jeweils p - und s -polarisiertem IR-Licht durchgeführt. Die Temperatursteuerung erfolgte wie für die BioATR-III-Messungen. Die IR-Spektren werden nach dem Lambert-Beer-Gesetz aus den Einkanalspektren der Probe und den Referenzeinkanalspektren des reinen Kristalles bei entsprechender Polarisation und Temperatur berechnet.

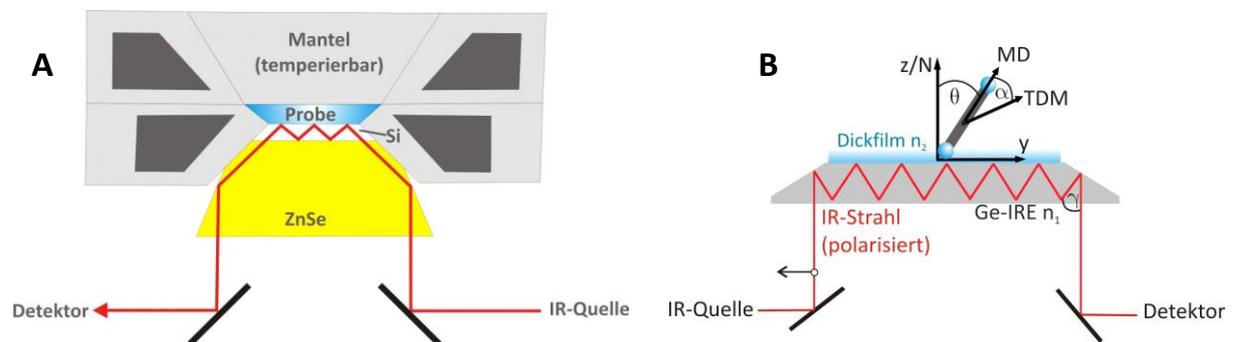


Abbildung 102. Schematischer Aufbau und Strahlenverlauf der verwendeten ATR-Einheiten: A: BioATR II mit ZnSe geträgertem Si-Kristall und temperierbarem Mantel; B: temperierbare ATR mit trapezförmigem Ge-Kristall (n_1) und p - bzw. s -polarisiertem IR-Licht, im Bereich des wässrigen Lipid-Dickfilmes (n_2) ist ein Mesogenmolekül schematisch dargestellt (ohne laterale Alkylketten) und exemplarisch die Lage eines TDMs und des Mesogen-MDs sowie des eingeschlossenen Winkels α markiert; das Laborkoordinatensystem (y, z ; die z -Achse entspricht Membrannormale N) ist eingezeichnet, der Tiltwinkel θ liegt zwischen MD und N , γ ist der Einfallswinkel der IR-Strahlung.

Orientierungsbestimmung von Molekülen bzw. Molekülteilen

Zur Bestimmung der Orientierung von Molekülen oder Molekülteilen wurde bei bekannter Lage des TDM der Schwingung relativ zum MD des Moleküls (und damit dem eingeschlossener Winkel α , siehe DFT-Rechnungen) folgendes Modell verwendet: Die Längsachse des Kristalls liegt entlang der y -Achse und die Kristallnormale/Membrannormale N entlang der z -Achse (Abbildung 103A) des Laborkoordinatensystems ($x; y; z$). Die Molekülrückgrate der Mesogene (MD) liegen entlang der c -Achse im Molekülkoordinatensystem ($a; b; c$) und damit um den Winkel θ zu N getiltet. Das TDM liegt dabei entlang der Kante eines Kegels. Die Winkel φ und ψ die vom projizierten MD im Labor- bzw.

Molekülkoordinatensystem und der y - bzw. b -Achse aufgespannt werden können jeden Wert annehmen, da das *TDM* um den *MD* frei rotieren kann.

Die elektrischen Feldamplituden E_x , E_y , E_z der evaneszenten Welle des IR-Lichtes ergeben sich gemäß

$$\begin{aligned} E_x &= \frac{2 \cos \gamma \sqrt{(\sin^2 \gamma - n_{21}^2)}}{\sqrt{(1 - n_{21}^2)} \sqrt{[(1 + n_{21}^2) \sin^2 \gamma - n_{21}^2]}} \\ E_y &= \frac{2 \cos \gamma}{\sqrt{(1 - n_{21}^2)}} \\ E_z &= \frac{2 \cos \gamma \sin \gamma}{\sqrt{(1 - n_{21}^2)} \sqrt{[(1 + n_{21}^2) \sin^2 \gamma - n_{21}^2]}} \end{aligned} \quad (\text{Gl. 13})$$

Dabei ist n_{21} das Brechungsindexverhältnis aus n_2 (Film) und n_1 (Kristall) und γ der Einfallswinkel des IR-Lichtes. k_x , k_y , k_z sind die Komponenten des integralen Absorptionskoeffizienten und abhängig von S_θ und α .

$$\begin{aligned} k_x &= k_y = K[(S_\theta \sin^2 \alpha) / 2 + (1 - S_\theta) / 3] \\ k_z &= K[(S_\theta \sin^2 \alpha) + (1 - S_\theta) / 3] \end{aligned} \quad (\text{Gl. 14})$$

Damit ergibt sich das dichroitische Verhältnis R^{ATR} als Quotient der Integrale der entsprechenden Schwingungsbanden der Spektren mit p - bzw. s -polarisiertem Licht.

$$R^{ATR} = \frac{A_{\parallel}}{A_{\perp}} = \frac{\int A_{\parallel}(\nu) d\nu}{\int A_{\perp}(\nu) d\nu} = \frac{E_x^2 k_x + E_z^2 k_z}{E_y^2 k_y} \quad (\text{Gl. 15})$$

Schließlich kann der Ordnungsparameter S_θ gemäß

$$S_\theta = \frac{2(E_x^2 - R^{ATR} E_y^2 + E_z^2)}{(3 \cos^2 \alpha - 1)(E_x^2 - R^{ATR} E_y^2 - 2E_z^2)} \quad (\text{Gl. 16})$$

berechnet werden und der Tiltwinkel θ der *MD* relativ zu *N* ist zugänglich durch

$$S_\theta = \frac{1}{2} (3 \langle \cos^2 \theta \rangle - 1) \quad (\text{Gl. 17})$$

Ein Plot von S_θ als Funktion von R^{ATR} für verschiedene α zeigt, dass S_θ für $\alpha < 54^\circ$ und $R^{ATR} > 0.7$ definiert ist (Abbildung 103B). Für $\alpha > 54^\circ$ ist S_θ für $0.5 < R^{ATR} < 3$ definiert. Für die Simulation (Abbildung 103B) und für die Bestimmung der molekularen Orientierung mittels gemessener ATR-FTIR-Spektren wurde der Brechungsindex des Ge-Kristalls mit $n_1 = 4.0$ und Brechungsindex des gemischten Filmes mit $n_2 = 1.43$ sowie der Einfallswinkel des IR-Lichtes von $\gamma = 45^\circ$ verwendet. Filme aus PC-Membranen weisen typischerweise Brechungsindizes um 1.43 auf. Da die vermessenen Proben hauptsächlich aus PC bestanden (minimaler Lipidanteil $x_{PC} = 0.75$), wurde der nämliche Wert für n_2 als Brechungsindex des gemischten Films angenommen.

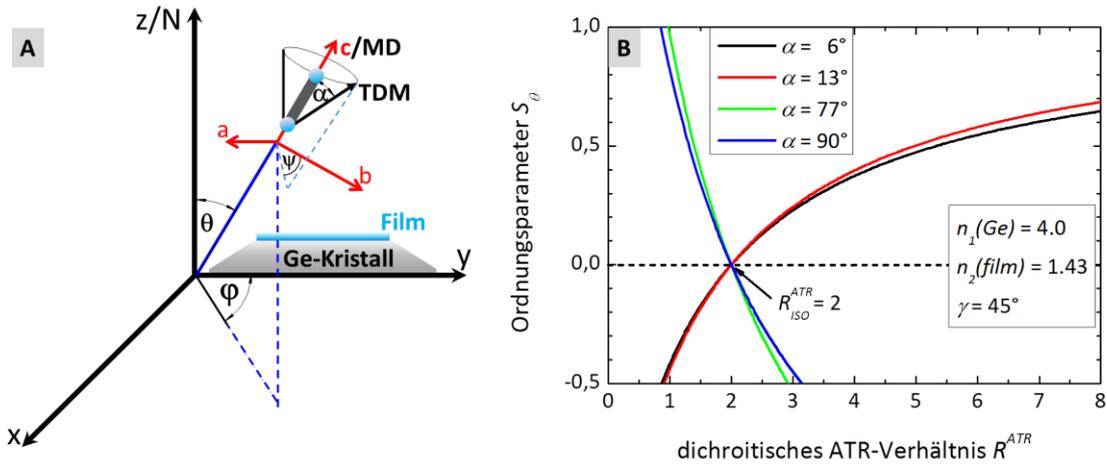


Abbildung 103. A: Modell eines Doppelkoordinatensystems mit Laborkoordinatensystem (x , y , z) und Molekülkoordinatensystem (a , b , c), ein Mesogenerückgrat (ohne laterale Ketten; MD parallel zur c -Achse), die Lage eines TDMs und des eingeschlossenen Winkels α sind schematisch dargestellt, MD ist um den Winkel θ zur z -Achse getiltet; B: Ordnungsparameter S_θ als Funktion des dichroitischen Verhältnisses R^{ATR} für dicke Filme und ausgewählte α .

A1.6.1.2 IRRAS

Für IRRAS-Messungen (Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie) wurde der IR-Strahl an der Luft/Wasser-Grenzfläche einer Filmwaage (für Präparation der Filme siehe Abschnitt Langmuir-Filme) reflektiert, und so konnten schwingungsspektroskopische Daten der Moleküle auf der Wasseroberfläche simultan zur π - A_{mol} -Isotherme erfasst werden. Zwei verschiedene IRRAS-Experimente kamen zum Einsatz. Es wurden bei kontinuierlicher Kompression des Filmes fortlaufend IRRAS-Spektren bei einem Einfallswinkel des p -polarisierten IR-Lichtes von 40° (4000 Scans) gemessen. Damit konnten die Veränderung der Filme während der Kompression detektiert werden. Für winkelabhängige Messungen wurde der Film bis zu einem definierten π oder A_{mol} komprimiert und der Oberflächendruck während der IRRAS-Messungen konstant gehalten. Der Einfallswinkel wurde im Bereich 26° bis 70° (Schrittweite: 4°) variiert, wobei bei jedem Winkel jeweils ein Spektrum mit p - bzw. s -polarisiertem Licht gemessen wurde (4000 Scans). Als Referenzeinkanalpektrum diente jeweils das Spektrum einer reinen Wasseroberfläche des Referenztröges gleicher Füllhöhe. Mittels eines Motors war es möglich, einen der beiden Tröge in den Fokus des IR-Strahles zu bringen. Um die Füllhöhe des rechteckigen Probenzuges und des runden Referenztröges zu bestimmen, wurde ein HeNe-Laser auf der Wasseroberfläche reflektiert und auf eine Zweiquadranten-Photodiode geleitet. Mit Peristaltikpumpen konnte dann der gewünschte Wasserspiegel eingestellt werden. Die IRRAS-Messungen wurden an einem Bruker VERTEX 70 mit flüssigstickstoffgekühltem LN-MCT-Narrowband-Detektor und Bruker IRRAS-Einheit durchgeführt.

Aus den gemessenen, einfallswinkelabhängigen Spektren bei konstanten π oder A_{mol} kann die Orientierung des TDM einer Schwingung bzw. der schwingenden Molekülteile (Tiltwinkel) relativ zur Grenzflächennormale nach bekannten Auswerterroutinen berechnet werden. Eine ausführliche Beschreibung ist in der Dissertation von Dr. Andreas Kerth zu finden.¹⁵¹

A1.6.2 UV/VIS-Spektroskopie

Die in Chloroform gelösten Mesogene wurden in einer Quarzglasküvette (Durchstrahlänge $l_d = 10$ mm) bei Konzentrationen von $c = 1 \mu\text{M}$ bis 1 mM im UV/VIS-Spektrometer HP8453 (Hewlett-Packard GmbH, Waldbronn, Deutschland) im Spektralbereich $200 \text{ nm} - 900 \text{ nm}$ und einer Wellenlängen-Auflösung von 1 nm untersucht. Die Proben wurden vor der Messung (Küvette mit PTFE-Stopfen verschlossenen) 20 min bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ temperiert (Peltier-Thermostatisierung). Als Referenzprobe diente eine mit Chloroform gefüllte Quarzglasküvette. Vom Absorptionsspektrum der Probe wurde das Referenzspektrum subtrahiert. Die Daten wurden mit Hilfe von Origin 7 (OriginLab Corporation, Northampton, USA) prozessiert.

A1.6.3 Fluoreszenzspektroskopie

Zur Bestimmung der Fluoreszenzspektren der Mesogene wurden diese in CHCl_3 gelöst ($c = 0.1 \text{ mM} - 0.01 \mu\text{M}$) und in einer Quarzglasküvette (Dicke $l_d = 10$ mm) bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (ca. 20 min temperiert, Haake F6, Thermo electron corporation, Karlsruhe, Deutschland) mit einem FluoroMax2 (Horiba Jobin Yvon GmbH, Unterhaching, Deutschland) bei dem mittels UV/VIS-Spektroskopie gefundenen Absorptionsmaximum λ^{ex} angeregt. Die Emission wurde im Bereich $\lambda^{\text{ex}} + 15 \text{ nm} - 600 \text{ nm}$ aufgezeichnet. Mit den gleichen spektralen Parametern wurden ebenso Fluoreszenzspektren von wässrigen Suspensionen aus Mesogen und PC bei verschiedenen Temperaturen bestimmt.

Ein Maß für die Mobilität von Fluoreszenzsonden (Mesogene) in wässrigen Lipidmembransuspensionen ist die Fluoreszenzanisotropie r . Diese konnte durch Verwendung veränderlicher Polarisatoren (jeweils auf der Einstrahlseite und vor dem Detektor, Polarisationsrichtungen: v – vertikal; h – horizontal) bestimmt werden.¹⁰⁸ Dabei ist r zugänglich aus den gemessenen Intensitäten bei verschiedenen Polarisatorkombinationen (Beispiel: I_{vh} - Intensität mit Polarisatoreinstellungen horizontal auf der Einstrahlseite und vertikal auf Detektorseite) gemäß

$$r = \frac{I_{vv} - I_{vh}}{I_{vv} + 2I_{vh}} \quad (\text{Gl. 18})$$

Für Fluoreszenzdepolarisationsexperimente wurden wässrige Suspensionen aus Mesogen und PC ($c_g = 0.1 \text{ mM}$) in einer Quarzküvette bei λ^{ex} angeregt und die Fluoreszenzintensität bei drei Wellenlängen um λ^{em} gemessen. Dazu wurden die Polarisatorstellungen variiert um die entsprechenden Kombinationen zu erhalten (Gl. 18). Die Fluoreszenzdepolarisationsmessungen wurden temperaturabhängig im Bereich $4 \text{ }^\circ\text{C} - 90 \text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt um thermisch induzierte Änderung der Beweglichkeit der Mesogene in der Membran zu verfolgen.

A1.7 Röntgenstreuung

A1.7.1 Röntgenpulverdiffraktometrie mit Cu-K α -Strahlung

Um Informationen über die periodische Packung der Mesogen-PC-Aggregate zu erhalten, wurden temperaturabhängig Pulverdiffraktogramme aufgezeichnet. Dafür wurden die wässrigen Suspensionen ($c_{\text{PC}} = 2 \text{ mM}$) der Proben gefrieretrocknet (Lyophilisator, Heto Powerdry LL3000, Fisher scientific AG, Reinach, Schweiz) und wieder bis zu einem Wassergehalt von $50 \text{ Gew.}\%$ hydratisiert. Die pastösen Proben wurden in Glaskapillaren eingebracht ($\varnothing = 1.5 \text{ mm}$, Wandstärke 0.01 mm , Hilgenberg, Malsfeld, Deutschland). Der Luftraum über der Probe in der Kapillare wurde durch Einführen einer zweiten Kapillare mit geringfügig kleinerem Durchmesser reduziert und beide

interpenetrierenden Kapillaren wurden abgeschmolzen (Lötstar 141, Mig-O-Mat Mikrofügetechnik, Burbach, Deutschland, optische Prüfung auf Dichtigkeit am Mikroskop). Die Proben wurden unter stetiger Rotation am Röntgenpulverdiffraktometer XRD 3000 (Seifert, Freiberg, Deutschland) im Temperaturbereich von -30 °C bis 130 °C (Diffraktometerofen 0.65.1, Stoe & Cie, Darmstadt, Kühlung durch verdampfenden flüssigen N₂, Heizrate 1 K/min) vermessen. Dazu wurden die Proben bei jeder Temperatur (Temperierzeit: 5 min) 10 min mit Cu-K_α-Strahlung ($\lambda = 0.154051$ nm) belichtet, und die Streustrahlung in 2θ im Bereich 0° - 40° ($s = 0 \text{ nm}^{-1} - 4.7 \text{ nm}^{-1}$) mittels stationärem, positions-sensitivem Detektor (Software WinXPOW, Stoe & Cie, Darmstadt, Darmstadt) aufgezeichnet. Die Kalibrierung der Reflexpositionen wurde mit pulverförmigem Korrund (Al₂O₃) und pBBA (para-Brombenzoesäure, C₇H₅O₂Br) durchgeführt.

Die Auswertung erfolgte mittels Origin 7. Die Diffraktogramme einer Temperaturserie wurden als Konturplot dargestellt, indem die Reflexintensitäten in Abhängigkeit von der reziproken Länge s (linker Rand) in Graustufen dargestellt wurden. Das Temperaturprofil ist am unteren Rand des Konturplots aufgetragen. So konnten thermisch induzierte Änderungen der Peaklagen im Kleinwinkelbereich (SAXS, small angle X-ray scattering) und Weitwinkelbereich (WAXS, wide angle X-ray scattering) und damit Änderungen der Packung der Moleküle oder Molekülteile leicht verfolgt werden.

A1.7.2 Röntgenreflektivität und GIXD an orientierten Proben

Hochaufgelöste Röntgenstreuendaten wurden durch Experimente mit Synchrotronstrahlung (erzeugt mittels eines Undulators, Leistung: 25.06 keV, $\lambda = 0,49509$ Å, Photonenstrom: 10¹⁰ Photonen pro Sekunde) an der highresolution diffraction beamline P08¹⁷⁰ des PETRAIII im Hamburger Synchrotron-Labor (HASYLab) des Deutschen Elektronen-Synchrotron (DESY) aufgenommen.

Die im Winkel α_i relativ zur Probe einfallende Röntgenstrahlung kann durch den Wellenvektor k_i beschrieben werden. Die an der Probe gestreute Strahlung wird durch den Wellenvektor k_f und die durch die Probe spekulär reflektierte Strahlung, die innerhalb der $k_i k_r$ -Ebene im Winkel α_r austritt, mit dem Wellenvektor k_r (bei Reflexion $\alpha_i = \alpha_r$, Abbildung 105) beschrieben.¹²⁰ Der Impulsübertrag der Strahlung q hat je nach Streumethode Anteile in jede Raumrichtung (q_x, q_y, q_z). Die Intensität $I(q)$ der gestreuten Strahlung ist dabei gleich dem Betragsquadrat der Fouriertransformierten der Elektronendichteverteilung $\rho(r)$

$$I(q) = \left| \int \rho(r) e^{-iqr} dr \right|^2 \quad (\text{Gl. 19})$$

Für die Messungen wurden orientierte Multischichtproben verwendet, die durch die „Rock-n-Roll-Methode“¹¹⁵ präpariert wurden. Für Gemische aus Mesogen : PC wurden 80 µl einer Lösungen in CHCl₃ : TFE = 1:1 mit $c_g(1:10) = 13.75$ mM, $c_g(1:4) = 15.63$ mM, $c_g(1:1) = 12.50$ mM, $c_g(1:0) = c_g(0:1) = 10.00$ mM) auf einen Si(111)-Waver (3.0 cm × 1.5 cm) aufgebracht und das Lösungsmittelgemisch verdampft. Die Si-Scheibe wurde in die PTFE-Messzelle (Abbildung 105A), die mit zwei Kaptonfenstern ausgestattet ist, eingebracht, und 80 µl H₂O wurden unterhalb des Si-Wavers in die Messzelle gegeben. Die Zelle wurde mit PTFE-Schrauben verschlossen, und ein PT100-Temperatursensor wurde durch die Bohrung einer der Schrauben geführt um die Temperatur direkt neben der Probe messen zu können. Die verschlossene Messzelle wurde für 1 h bei ca. 65 °C (oberhalb T_m für DPPC und DOPC)¹¹⁵ inkubiert und die Probe dabei über die Gasphase hydratisiert (99 % RH). Die Zelle wurde anschließend mit einer Widerstandsheizung (Lakeshore 340, Cryophysics

GmbH, Darmstadt, Deutschland) ummantelt (Aussparungen bei den Kaptonfenstern) und in das 6-Kreis-Diffraktometer (Kohzu NZD-3, closed Eulerian Cradle, Kohzu Precisions Co., Ltd./Alio GmbH, Weßling, Deutschland, Abbildung 105 B) eingebaut.

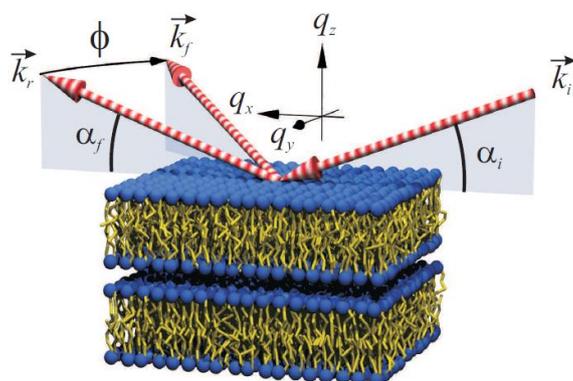


Abbildung 104. Schematische Darstellung der Strahlengeometrie bei Röntgenreflektometrie (Messung von k_r) bzw. GIXD (Messung von k_r und k_i) an Lipidmembranstapeln; die Wellenvektoren der einfallenden, reflektierten und gestreuten Welle sind k_i , k_f und k_r .¹²⁰

Es wurden zwei verschiedene Techniken verwendet, um die Gemische aus Mesogen und PC bzw. die entsprechenden Einzelkomponenten zu charakterisieren: Röntgenreflektivität, um den SAXS-Bereich zu untersuchen und GIXD (Röntgenstreuung unter streifendem Einfall, grating incidence X-ray diffraction), um sowohl den SAXS- als auch den WAXS-Bereich zu charakterisieren und Informationen über die laterale Packung der Membranbestandteile zu gewinnen. Für jede Probe wurden Streudaten mit beiden Methoden aufgenommen. Um Strahlenschäden auf der Probe zu vermeiden, wurde nach jeder Messung die Belichtungsstelle variiert.

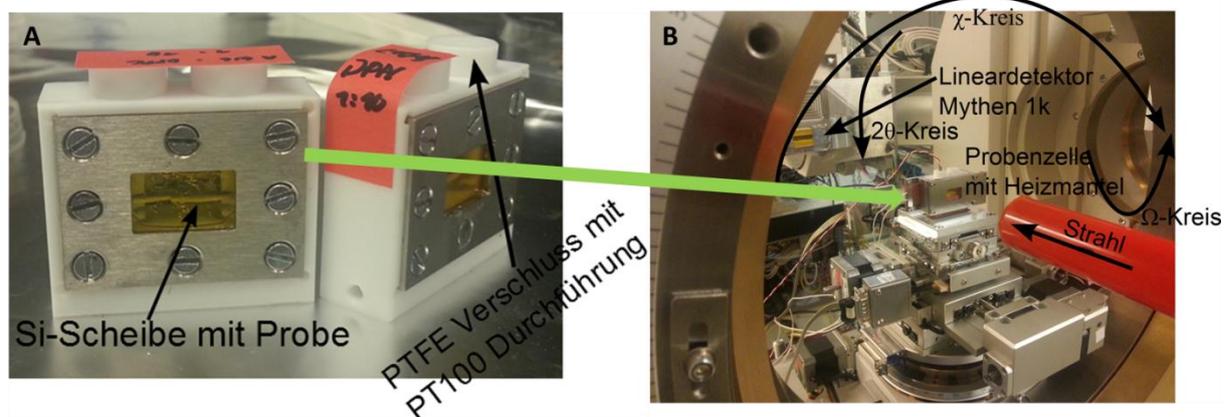


Abbildung 105. Fotografien der verwendeten Messapparaturen für Röntgenreflektometrie- und GIXD-Experimente: A: PTFE Messzelle mit gelben Kapton-Fenstern und wassergesättigter Atmosphäre (99 % RH), Si(111)-Scheibe mit Probe liegt auf dem obersten Einschub; die PTFE-Schrauben zum Verschluss der Zelle besitzen eine Bohrung für einen PT100-Stift zur Temperaturmessung in der Zelle; B: 6-Kreis-Diffraktometer mit Probenzelle (grüner Pfeil), umgeben von der Heizmanschette, Lineardetektor (Mythen 1k) und einfallender Röntgenstrahl aus rotem Kapton-Finger, Diffraktometerkreise sind gekennzeichnet.

A1.7.2.1 Röntgenreflektivität

Bei Röntgenreflektivitätsmessungen wurde ausschließlich spekulär reflektierte ($k_i k_r$ -Ebene) Streuintensität ($\alpha_i = \alpha_r$, Abbildung 104) mit dem Wellenvektor k_r gemessen. Wird der Röntgenstrahl an den parallelen Netzebenen reflektiert und ist der Gangunterschied ein Vielfaches n der Wellenlänge λ , erhält man ein Intensitätsmaximum in z-Richtung. Damit sind die Bragg-Bedingung

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (\text{Gl. 20})$$

und die Laue-Bedingung

$$q_z = n \frac{2\pi}{D} \quad (\text{Gl. 21})$$

erfüllt. Dabei ist D der Netzebenenabstand. Und q_z der Streuvektor in z-Richtung.

$$q = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ \frac{4\pi}{\lambda} \sin \alpha_i \end{pmatrix} = q_z = \frac{2\pi}{d} = 2\pi s \quad (\text{Gl. 22})$$

Mit Hilfe der Fresnel-Reflektivitätsgleichungen können eine „Masterformel der Reflektivität“

$$R(q_z) = R_F(q_z) \left| \frac{1}{\rho_e(\infty)} \int \frac{\partial q_z}{\partial z} e^{-iq_z z} dz \right|^2 \quad (\text{Gl. 23})$$

und aus der gegebenen Elektronendichteverteilung aller Atome der Probe mittels einer kinematischen Näherung sowohl der Strukturfaktor

$$S(q_z) = \left| \sum_{m=0}^{N-1} e^{-iq_z mD} \right|^2 \quad (\text{Gl. 24})$$

als auch der Formfaktor

$$F(q_z) = \int \rho_0(z) e^{-iq_z z} dz \quad (\text{Gl. 25})$$

jeweils für die Streuung in q_z -Richtung abgeleitet werden. In dieser spiegelnden Messanordnung wird also nur Streuintensität in Richtung q_z detektiert und keine Information über die laterale Ordnung in der Membran (xy-Ebene) erhalten.¹⁷¹ Die Streuintensität ist das Betragsquadrat der fouriertransformierten Elektronendichteverteilung, und so kann, falls die Phase der Reflexe bekannt ist, die Elektronendichteverteilung in q_z -Richtung berechnet werden. Da die nullte Beugungsordnung zumeist vom Primärstrahl überlagert wird, ist es oft nur möglich, einen Elektronendichtekontrast $\Delta\rho(z)$ zu bestimmen und keine absoluten Werte. Jedoch sind somit die relativen Änderungen der Elektronendichtemaxima und deren Position erfassbar.

$$\Delta\rho(z) = \frac{1}{V_{u.c.}} \sum_{l \neq 0} v_l \sqrt{I(Q_l)} \cos(Q_l z) \quad (\text{Gl. 26})$$

Für den Spezialfall, dass nur in q_z -Richtung eine Streuung zu verzeichnen ist und die Miller'schen Indizes in den anderen Raumrichtungen des reziproken Raumes gleich null sind ($h = k = 0$), ist Q_l der Gittervektor in l/q_z -Richtung (reziproker/realer Raum) und v_l ist der Phasenfaktor des jeweiligen Bragg-Peaks. Das Phasenproblem der Röntgenbeugung wurde für den speziellen Fall orientierter Lipidmembranstapel durch die *Swelling-Methode* gelöst. Dabei wurden Membrandickeänderungen durch Variation des Wassergehaltes im Kopfgruppenbereich mittels Kontrolle der relativen Luftfeuchte erzeugt. Durch das Anschwellen ändern sich die Dicke der Wasserschicht zwischen den Lipidschichten und damit der Wiederholabstand d und der Formfaktor $F(q_z)$. Die Phasenfaktoren v_l können auf Grund der Zentrosymmetrie der Elektronendichte nur $v_l = \pm 1$ sein. Es wurden nun die

Intensitäten der Bragg-Peaks für verschiedene Wassergehalte und damit die D -Abstände sowie $F(q_z)$ bestimmt. Es wird angenommen, dass sich beim Anschwellen der kontinuierliche Formfaktor $F^{(-)}(q_z)$

$$F^{(-)}(q_z) = \int_{-D/2}^{D/2} \rho^{(-)}(z) \cos(q_z z) \quad (\text{Gl. 27})$$

nicht ändert. Der Formfaktor wurde für verschiedene q_z abgetastet und es wurde probiert, welche Phase die besten Ergebnisse liefert. Die Phasenfaktoren für DPPC-Membranen wurden von Sebastian Aeffner¹²¹ und für DOPC-Membranen von Brita Weinhausen^{120,122} bestimmt (Tabelle 10). Da in Gemischen Mesogen : PC das Lipid immer den größten Teil der Probe darstellt, wurden diese Phasenfaktoren der reinen PC-Membranen auch zur Auswertung der Reflektivitätsdaten der Mesogen-PC-Gemische verwendet. Aus den berechneten Elektronendichteprofilen können der Wiederholabstand der B-Schicht d (maximale Ausdehnung des Elektronendichteprofiles in z -Richtung) und der Kopfgruppen-Kopfgruppen-Abstand d_{HH} (Differenz der Elektronendichtemaxima) bestimmt werden.

Tabelle 10. Phasenfaktoren zur Berechnung des Elektronendichteprofiles von DPPC und DOPC mittels Röntgenreflektivität in q_z -Richtung bei 99 % RH; die angegebenen Phasenfaktoren wurden durch die Swelling-Methode bestimmt.¹²⁰⁻¹²²

Substanz	Phasenkombination
DPPC	- - + - - + -
DOPC	- - + - - - +

Für die Reflektivitätsmessungen wurde die Probe unter einem Winkel α_i bestrahlt und die Streustrahlung unter dem Winkel $\alpha_f = 2\alpha_i$ mit dem Lineardetektor Mythen 1k (DECTRIS Inc., Baden, Schweiz) und automatisch nachregelndem Attenuator gemessen. Beim Scannen wurde α_i (Laborkoordinatensystem Ω) in 250 Schritten von 0° bis 2.5° variiert (entsprechend auch α_f bzw. im Laborkoordinatensystem 2θ). Vor der Messung wurde das Maximum der gestreuten Strahlung bestimmt, indem die Höhe der Probe im Strahl und die Winkel Ω und χ justiert wurden (Abbildung 106B). Die gemessene Intensität ist ausleuchtungskorrigiert, da es zu verfälschten Intensitäten kommen kann, wenn die Probe die Strahlbreite nicht vollständig ausfüllt (Abbildung 106A) oder nur teilweise im Strahlengang ist (Abbildung 106C).

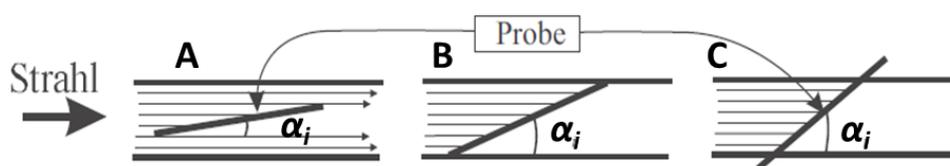


Abbildung 106. Schematische Darstellung verschiedener Belichtungsszenarien für die Fälle, dass der Strahl breiter ist, als die im Strahl befindliche Probenlänge (A), die optimale Ausleuchtungsgeometrie (B) und eine nur teilweise beleuchtete Probe (C); mit einer Ausleuchtungskorrektur wurde versucht Szenario B zu erzeugen.

Die Untergrund- und Ausleuchtungskorrekturen der Reflektivitätskurven wurden mit dem von DESY-Mitarbeitern geschriebenen MatLab (Mathworks Inc., Ismaning, Germany) Skript „refl_offset_mythen_extract_illcorr_qz.m“ durchgeführt. Zur Bestimmung des d - bzw. d_{HH} -Wertes und zur Berechnung des Elektronendichteprofiles aus Reflektometriedaten wurde das Script „lamellar.m“ verwendet.

A1.7.2.2 GIXD

Mittels GIXD können im WAXS-Bereich Streubeiträge der Lipidacylketten detektiert werden, die Rückschlüsse auf die laterale Packung der CH₂-Segmente der Acylketten erlauben. Für Acylketten in *all-trans*-Konformation können Informationen über den Kettentilt und für fluide Acylketten der maximale Öffnungswinkel und damit indirekt die Fluidität der Acylketten ermittelt werden. Im SAXS-Bereich können mit GIXD unter Verwendung eines Flächendetektors Streubeiträge in radialer Richtung, außerhalb der q_z -Achse, von nicht-lamellaren 2D-Gittern (hexagonal, kubische, ...) detektiert werden.^{120,133,135}

Für die Auswertung der Flächendetektorbilder (2D-Streubild) werden im SAXS- oder WAXS-Bereich radiale Schnitte im Schnittwinkel ϕ gemacht und 1D-Streukurven der Form $I_\phi = f(q_r)$ extrahiert. Die Peaks der so erhaltenen Kurven werden für jeden Schnittwinkel ϕ mit einer Lorentzfunktion

$$f(q) = I_0 \frac{\omega^2}{(q - q_0)^2 + \omega^2} + mq + b \quad (\text{Gl. 28})$$

gefittet, um die Peakposition q_0 (Reflexzentrum bei maximaler Intensität L_0), die Hälfte der Halbwertsbreite ω , den Anstieg m der Kurve und den Achsenabschnitt b der Funktion zu ermitteln.

Die Probe wurde bei den GIXD-Experimenten mit $\Omega = 0.2^\circ$ gemessen. Es wurde der Flächendetektor Flat Panel (PerkinElmer Inc., Rodgau, Deutschland) mit 2048×2048 Pixel² und 1.2 m Abstand zur Probe verwendet. Zur Aufnahme der Daten wurde der Detektor 120 mal für 5 s bei schwacher Attenuatoreinstellung (5) belichtet und die Intensität aufsummiert. Ein Hintergrundbild wurde bei maximaler Abdunkelung durch den Attenuator aufgenommen und von den Bildern der Probe abgezogen. Zur Kalibrierung der absoluten Reflexlagen wurde eine CeO₂-Probe vermessen. Der Kettentilt bzw. Kettenpackungstyp wurde mit dem MatLabskript „cc_peak.m“ ausgewertet. Die Visualisierung der Flächendetektorbilder wurde mit ImageJ (Wayne Rasband) realisiert.

A1.8 Numerische Simulation auf DFT-Niveau

Für die Ermittlung theoretischer Parameter (IR-Spektren und der Zuordnung der Banden zu den entsprechenden Schwingungen, Rotationsbarrieren, UV/VIS-Spektren, TDM) wurden DFT-Rechnungen mit GAUSSIAN 03⁸¹ durchgeführt. Es wurde die Gleichgewichtsgeometrie der Moleküle (in der Gasphase) bestimmt und das theoretische IR-Spektrum aus den Kraftkonstanten der Normalschwingungen sowie die Lage der induzierten Übergangsdipolmomente TDM berechnet. DFT nutzt als Grundlage der Berechnung der Gesamtenergie des Moleküls die Berechnung der Elektronendichte und nicht wie bei konventionellen, wellenfunktionsbasierten Methoden wie Hartree-Fock die Berechnung der Wellenfunktion.¹⁷²⁻¹⁷⁶

Ausgehend von einer gewählten Ausgangsgeometrie wird eine iterative Geometrieoptimierung des Moleküls vorgenommen, wobei nach jedem Iterationsschritt die Gesamtenergie und ein neuer Satz Orbitalkoeffizienten berechnet und die ermittelte Energie mit der des vorhergehenden Schrittes verglichen wird. Dies wird wiederholt, bis die Energien und Orbitalkoeffizienten dem Abbruchkriterium genügen, also das System konvergiert ist (SCF-Methode, self-consistent-Field). Es wurde durchweg das Hybridfunktional B3LYP verwendet (Becke, drei Parameter, Lee-Yang-Parr), welches sich aus einem Hartree-Fock-Austauschfunktional, einem Hybrid-Austausch-Korrelationsfunktional, einem Term zur lokalen Spindichtenäherung und einem Term für eine normierte Gradienten Approximation zusammensetzt. Dabei wurden die Basissätze 3-21g bzw. 6-

311g(2d,p) benutzt.^{103,172,174,177} Die Verwendung dieser Basissätze liefert genauere Ergebnisse als die Standard *Hartree-Fock-Methode*, die, auf Grund der nicht berücksichtigten wahren Elektron-Elektron-Wechselwirkungen (es wird nur ein standardmäßiger Repulsionsterm verwendet, jedoch keine Elektronen-Elektronen-Korrelation) stets zu hohe Energien liefert.

Um Rechenzeit zu sparen, werden die Moleküle so vereinfacht, dass dies einen vernachlässigbaren Einfluss auf die gewünschten Parameter (Schwingungsbandenlagen im theoretischen IR-Spektrum, Rotationsbarrieren, angeregte Zustände und UV-Spektrum) hat. So wird für die Bestimmung der Ringschwingungen der Mesogenmoleküle das Modellmolekül C4/4, mit je zwei C₄-Alkylketten, zugrunde gelegt. Da jedes Molekül Bm/n und Cm/n ohnehin mindestens eine C₄-Alkylkette an jeder Seite des zentralen Phenylringes trägt, ist diese Vereinfachung der Molekülgestalt legitim und wirkt sich lediglich auf die Intensität der Alkylkettenschwingungen, nicht jedoch auf die Lage der Ringschwingungen des starren Molekülrückgrates aus. Um den Einfluss der Semiperfluoralkylkette der Bm/n-Molekülfamilie zu überprüfen, wurde dem geometrieoptimierten Molekül C4/4 an einer der Alkylketten ein C₄-Perfluoralkylrest angehängt und das resultierende Molekül B4/4 erneut geometrieoptimiert. Die Lage der Ringschwingungen wurde dadurch nicht verändert, deshalb wird davon ausgegangen, dass C4/4 auch für die Moleküle der Bm/n-Familie ein repräsentatives, simuliertes IR-Spektrum im Bereich der Ringschwingung liefert.

Alle Modellmoleküle wurden ohne Symmetriestriktionen vollständig optimiert. Als Beweis dafür, dass es sich bei der resultierenden, optimierten Geometrie um eine Gleichgewichtsstruktur handelt, dienen die residualen Kräfte auf Atome. Vor der Zuordnung der Banden werden die Wellenzahlagen der Banden des simulierten IR-Spektrums mit einem Korrekturfaktor 0.96 multipliziert, da bei den DFT-Rechnungen anharmonische Effekte außer Acht gelassen werden. Ein solcher Korrekturfaktor ist für die verwendeten Funktionale und Basissätze typisch.¹⁷⁶ Zwei Ringschwingungen sollen in der Arbeit besonders besprochen werden: die Schwingung bei $\nu_{pp}(ring) = 1518 \text{ cm}^{-1}$ und die Schwingung $\nu_{pp}(ring) = 1609 \text{ cm}^{-1}$. Beide sind in-plane Ringschwingungen, deren TDM nahezu parallel zum MD verläuft. Dabei wurde der Winkel α zwischen dem berechneten TDM und dem definierten MD bestimmt: $\alpha(1518 \text{ cm}^{-1}) = 13^\circ$ und $\alpha(1609 \text{ cm}^{-1}) = 6^\circ$. Der Vektor MD wurde zwischen den beiden zur Kopfgruppe des Mesogens ethergebundenen, terminalen C-Atomen der äußeren Phenylringe gewählt.

Rotationsbarrieren wurden mittels redundant coordinate und Rotation um einen Diederwinkel zwischen zwei benachbarten Phenylringen bestimmt.^{79,80,178} Der Winkel wurde um ein Inkrement gedreht und die Gesamtenergie des Moleküls berechnet. Für die Ermittlung von UV/VIS-Spektren wurden angeregte Zustände der Moleküle mittels TD-DFT ermittelt.⁷⁵ So sind auch die elektronischen Übergangsdipolmomentvektoren zugänglich.

A2Anhang II

A2.1 Epifluoreszenzmikroskopie

Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen von C12/12-Filmen an der Luft/Wasser-Grenzfläche zeigen auch bei hoch-komprimierten Filmen und hohen Oberflächendrücken π keine spezifischen Strukturen. Für die Aufnahmen wurde die Eigenfluoreszenz des Molekülrückgrates und die breite Absorptionsbande (siehe Einleitung zu den X-förmigen Amphiphilen, S. 23) genutzt und mit dem Filtersatz FS09 zwischen 450 nm und 490 nm die Fluoreszenz angeregt. Die Absorptionsmaxima von C12/12 liegen bei 333 nm und 378 nm, doch selbst bei so hohen Wellenlängen (450 nm - 490 nm) lässt sich eine Fluoreszenz noch gut anregen.

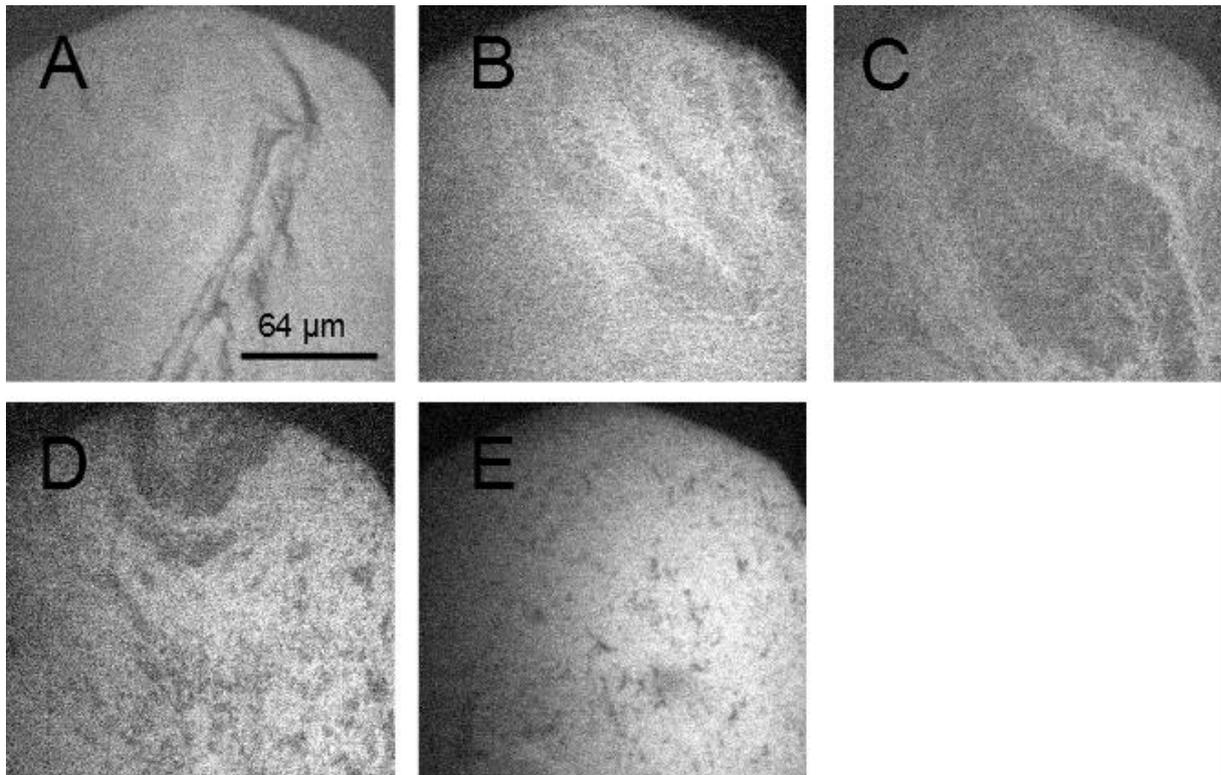


Abbildung 107. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen eines C12/12-Filmes an der Luft/Wasser-Grenzfläche bei 0.3 mN m^{-1} (A), 0.4 mN m^{-1} (B), 8.1 mN m^{-1} (C), 10.5 mN m^{-1} (D) und 36.6 mN m^{-1} (E); Filtersatz FS09: Anregung bei 450 nm – 490 nm und Emission bei $\lambda^{em} \geq 515 \text{ nm}$: Auch bei hochkomprimierten Filmen und hohen Oberflächendrücken π sind keine spezifischen Strukturen sichtbar; Skalen: $64 \mu\text{m}$, gilt für die Tafeln A-E.

A2.2 DSC

Die B16/10-DPPC-Gemische zeigen eine Umwandlung bei $T_m = 42.1 \text{ °C}$ deren Intensität mit steigendem $x_{B16/10}$ sinkt (Abbildung 108A). Bei B16/10-DMPC-Gemischen tritt ab dem Mischungsverhältnis 1:50 neben der Hauptumwandlung bei $T_m = 24.6 \text{ °C}$ ein Zusatzpeak bei $T_{add} = 56.0 \text{ °C}$ auf (Abbildung 108B). Beide Peaks treten unabhängig vom B16/10-Gehalt stets bei der gleichen Temperatur auf. Die Hauptumwandlungsenthalpie $\Delta_m H$ sinkt zuerst mit steigendem B16/10-Gehalt und steigt ab dem Mischungsverhältnis 1:20 wieder an. Das ist durch ein Artefakt von der Präparation zu erklären.

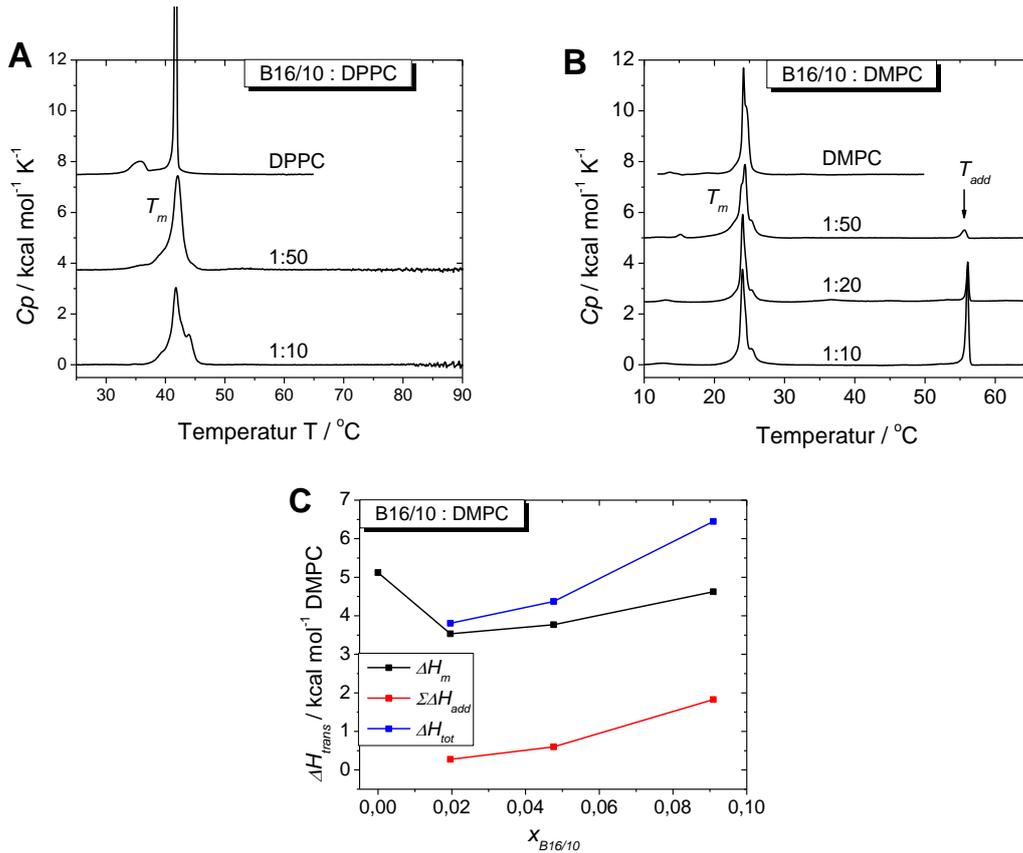


Abbildung 108. DSC-Thermogramme der wässrigen Suspensionen von B16/10 : DPPC (A) und B16/10 : DMPC (B); das Molverhältnis ist angegeben; C: Umwandlungsenthalpien der Gemische in B als Funktion von $x_{B16/10}$; Enthalpie der Hauptumwandlung (ΔH_m , schwarz), Summe der Enthalpien aller Zusatzumwandlungen ($\Sigma \Delta H_{add}$, rot) und Summe der Enthalpien aller Umwandlungen (ΔH_{tot} , blau); $c_{DPPC} = 2 \text{ mM}$.

A2.3 IRRAS

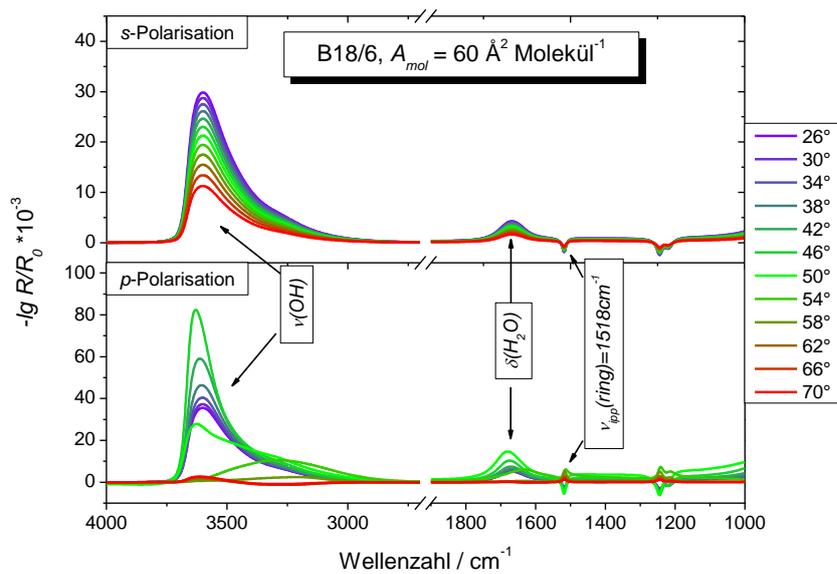


Abbildung 109. Serien winkelahängiger IRRAS-Spektren eines B18/6-Filmes an der Luft/Wasser-Grenzfläche bei $60 \text{ \AA}^2 \text{ Molekül}^{-1}$ mit *s*- (oben) bzw. *p*-polarisiertem (unten) Licht; $\theta = 26^\circ - 70^\circ$; die relevanten Schwingungen für die Analyse sind ausgewiesen; $c_{\text{spreit}} = 1 \text{ mM}$; konstanter π während der Messung.

A2.4 ATR-FTIR

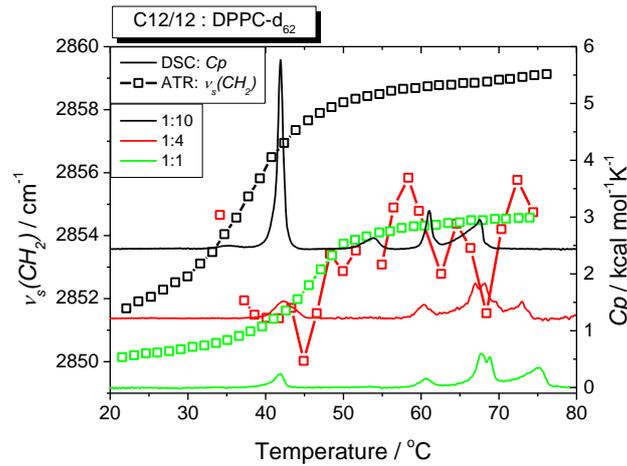


Abbildung 110. Wellenzahlagen der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Schwingungsbande (Symbole) der wässrigen (D_2O) Suspensionen aus C12/12 : DPPC- d_{62} = 1:10 (schwarz), 1:4 (rot) und 1:1 (grün) als Funktion der Temperatur und DSC-Thermogramme (durchgezogene Linien) der Gemische C12/12 : DPPC mit den gleichen Mischungsverhältnissen; $c_{\text{Lipid}} = 2 \text{ mM}$.

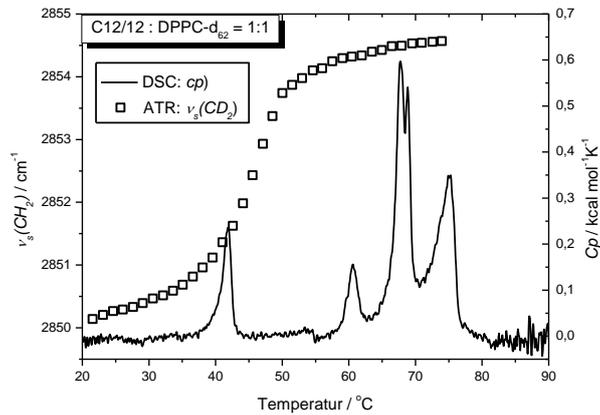


Abbildung 111. Wellenzahlagen der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Schwingungsbande einer wässrigen Suspension des Gemisches C12/12 : DPPC- d_{62} = 1:1 in D_2O als Funktion der Temperatur und DSC Thermogramm eines Gemisches C12/12 : DPPC = 1:1 in H_2O ; $c_{\text{Lipid}} = 2 \text{ mM}$.

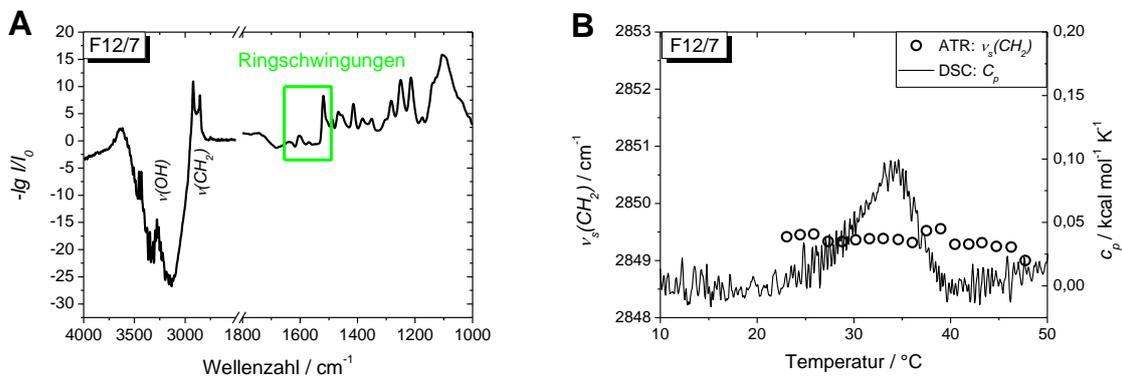


Abbildung 112. A: ATR-FTIR-Spektrum einer wässrigen Suspension von F12/7 bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$; B: Wellenzahlagen der $\nu_s(\text{CH}_2)$ -Schwingungsbande (Symbole) und DSC Thermogramm (Linie); $c_{\text{F12/7}} = 1 \text{ mM}$; markierte Besonderheiten: Region der Ringschwingungen (grünes Viereck in A).

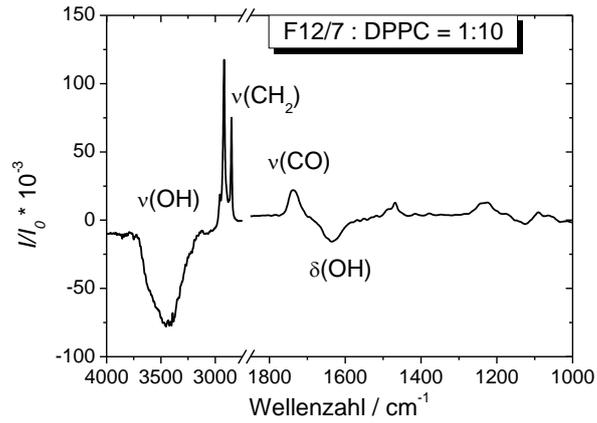


Abbildung 113. ATR-FTIR-Spektrum einer wässrigen Suspension von F12/7 : DPPC = 1:10 bei 20 °C.

A2.5 Röntgenreflektivität

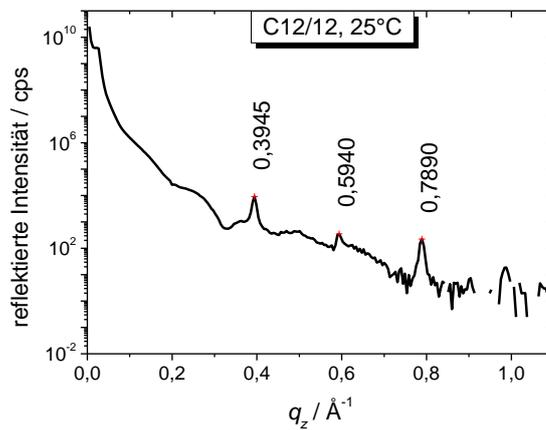


Abbildung 114. Röntgenreflektivitätskurve einer orientierten, Si-getragerten C12/12-Probe bei 25 °C und 99 % RH.

A2.6 GIXD

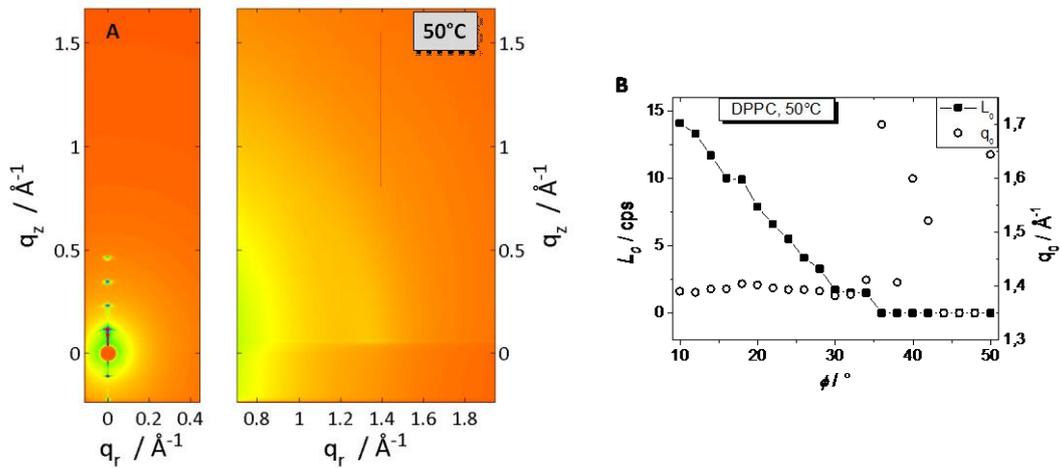


Abbildung 115. A: 2D GIXD-Aufnahmen orientierter DPPC-Multischichten bei 50 °C (L_α -Phase) und 99 % RH (SAXS- und WAXS-Bereich unterschiedlich skaliert); B: Peakamplituden L_0 und Haloposition q_0 als Funktion des Azimutwinkels ϕ .

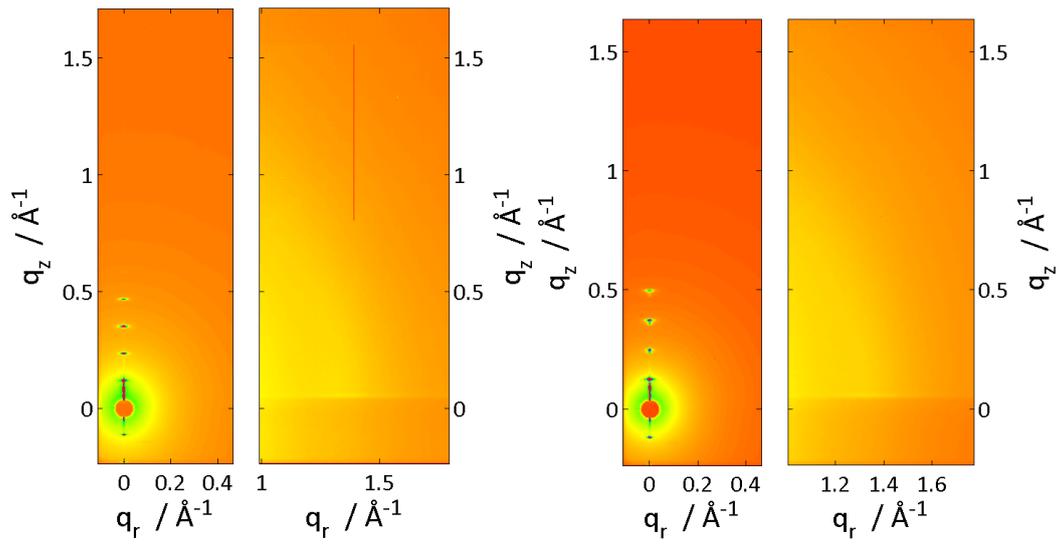


Abbildung 116. 2D-Streubilder orientierter DOPC-Multischichten bei 25 °C (links) bzw. 50 °C (rechts) und 99 % RH; (SAXS- und WAXS-Bereich unterschiedlich skaliert).

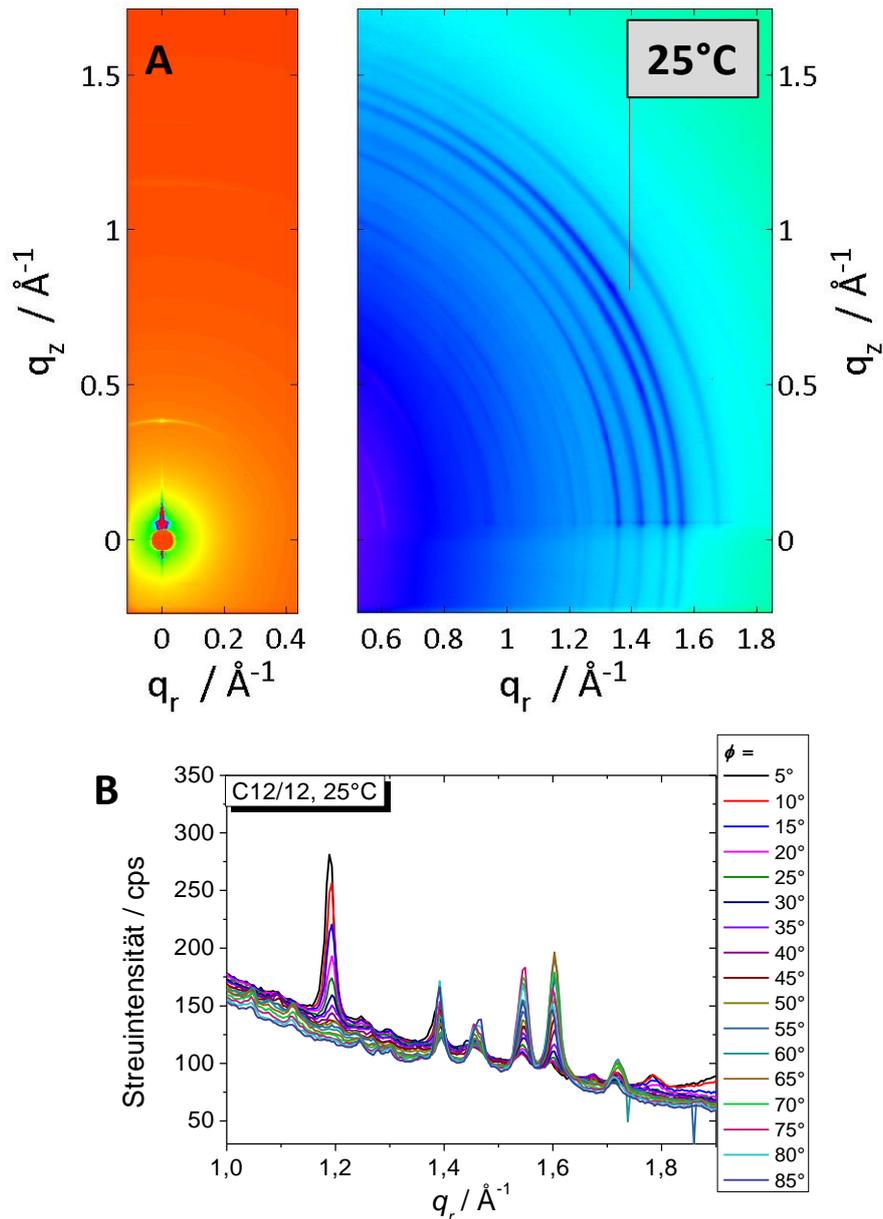


Abbildung 117. A: 2D-GIXD-Streubild einer orientierten C12/12-Probe bei 25 °C und 99 % RH (SAXS- und WAXS-Bereich unterschiedlich skaliert); B: 1D-GIXD-Streukurven bei verschiedenen Azimutwinkeln ϕ ; die Reflexe wurden nicht indiziert; die Reflexlagen dienen zur Interpretation der GIXD-Daten der Gemische aus C12/12 : PC.

Bei allen gemessenen Temperaturen treten für das Gemisch C12/12 : DPPC = 1:4 sieben bis neun scharfe Reflexe im WAXS-Bereich auf (Abbildung 118). Mehrere dieser WAXS-Reflexe liegen auf Reflexpositionen des C12/12 (Abbildung 117). Wie für C12/12 gefunden erstrecken sich einige der Peaks über den ganzen Azimutwinkelbereich, während andere auf einen kleinen Winkelbereich begrenzt sind. Die Reflexpositionen bleiben bei Variation der Temperatur relativ konstant (während sich die relativen Peakintensitäten ändern) und auch in der Hochtemperaturphase (78 °C) sind noch scharfe WAXS-Reflexe zu beobachten. Das weist darauf hin, dass die Probe kristallines C12/12 enthält, was auf die Präparation zurückzuführen ist. Die Proben werden aus einer Lösung in CHCl_3/TFE auf das Si-Substrat aufgebracht und das Lösungsmittelgemisch wird verdampft. Da C12/12 deutlich schlechter im Lösungsmittelgemisch löslich ist als DPPC, scheidet sich beim Verdampfen von CHCl_3/TFE bevorzugt das schwerer lösliche C12/12 ab.

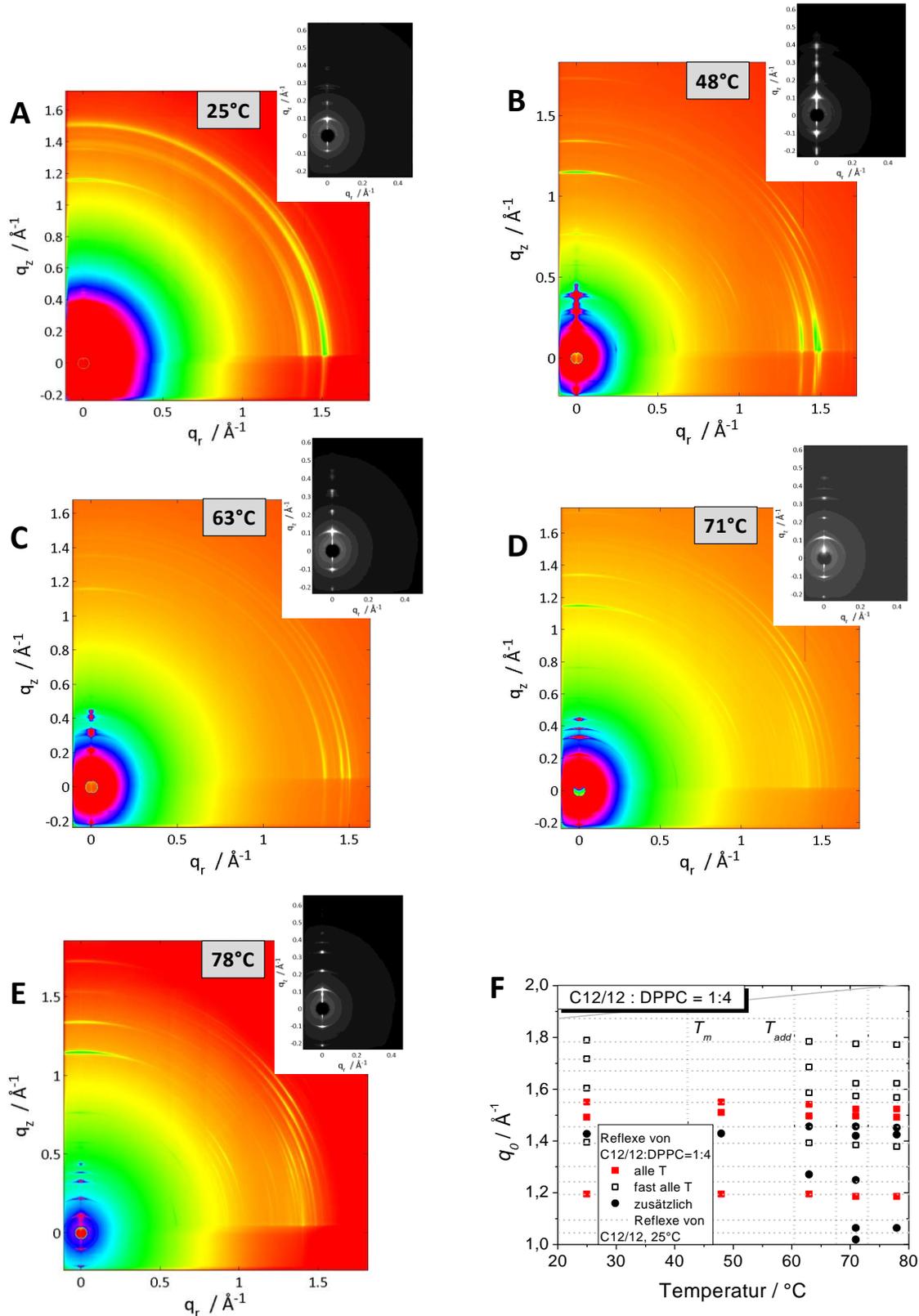


Abbildung 118. 2D-GIXD-Aufnahmen orientierter Multischichten des Gemisches C12/12 : DPPC = 1:4 bei 25 °C (A), 48 °C (B), 63 °C (C), 71 °C (D), 78 °C (E) und 99 % RH; die überlagerten Kästen in A - E zeigen den SAXS-Bereich der jeweiligen Aufnahme mit veränderter Skalierung; F: WAXS-Peakpositionen des Gemisches (Symbole) als Funktion der Temperatur und Reflexpositionen von C12/12 bei 25 °C (waagerechte graue gepunktete Linien, Daten aus Abbildung 117); vertikale gestrichelte Linien markieren die Temperaturen der thermotropen Umwandlungen (DSC).

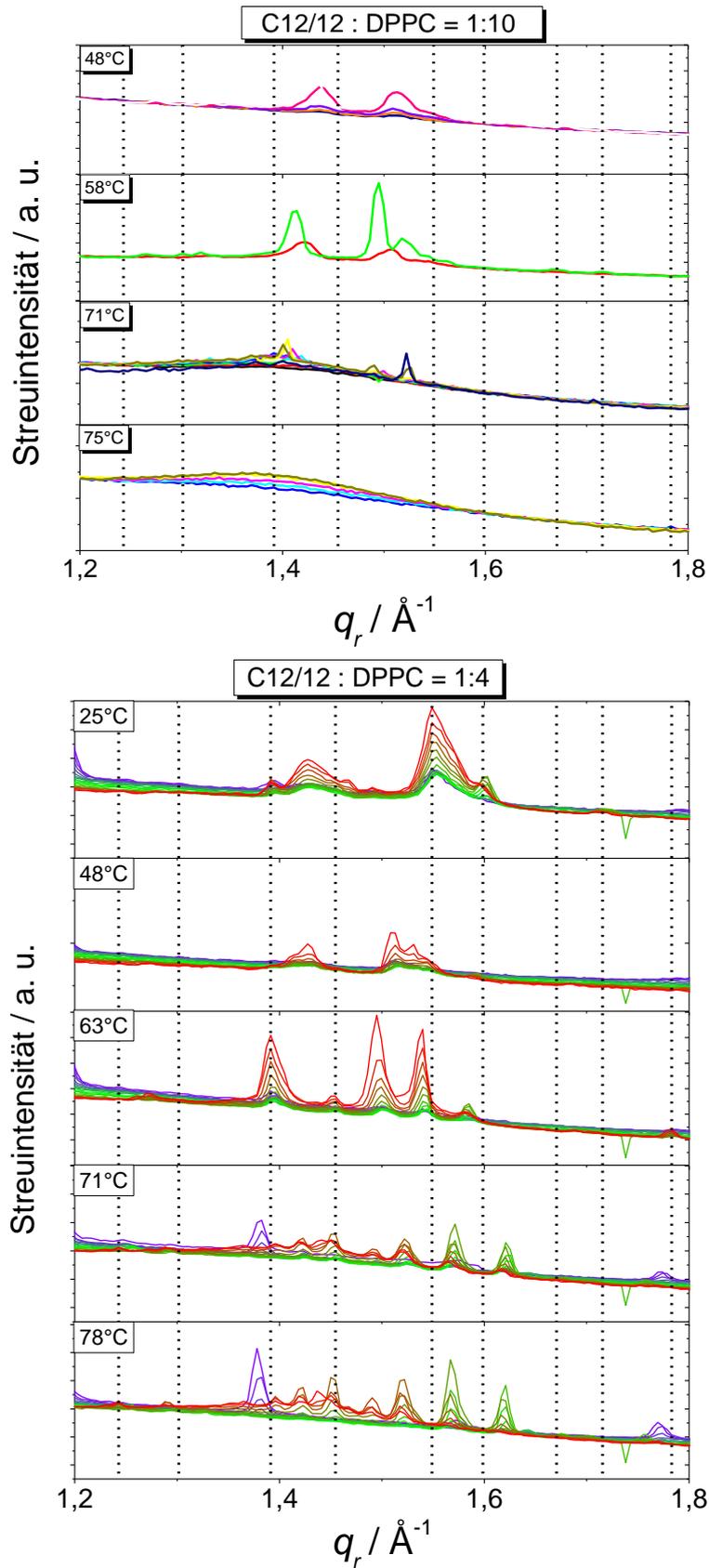


Abbildung 119. 1D-Streukurven im WAXS-Bereich für orientierte Multischichten der Gemische C12/12 : DPPC = 1:10 (oben) und 1:4 (unten) bei verschiedenen Temperaturen und 99 % RH; für original GIXD-Daten siehe Abbildung 59 bzw. Abbildung 118; vertikale gestrichelte Linien markieren die Reflexpositionen von C12/12 bei 25 °C (Daten aus Abbildung 117).

Das eigentlich fluide Gemisch C12/12 : DOPC = 1:10 zeigt im WAXS-Bereich sieben scharfe Reflexe auf den Lagen der Reflexe für die reine C12/12-Probe (Abbildung 117). Das ist ein Indiz dafür, dass die Probe präparationsbedingt kristallines C12/12 enthält.

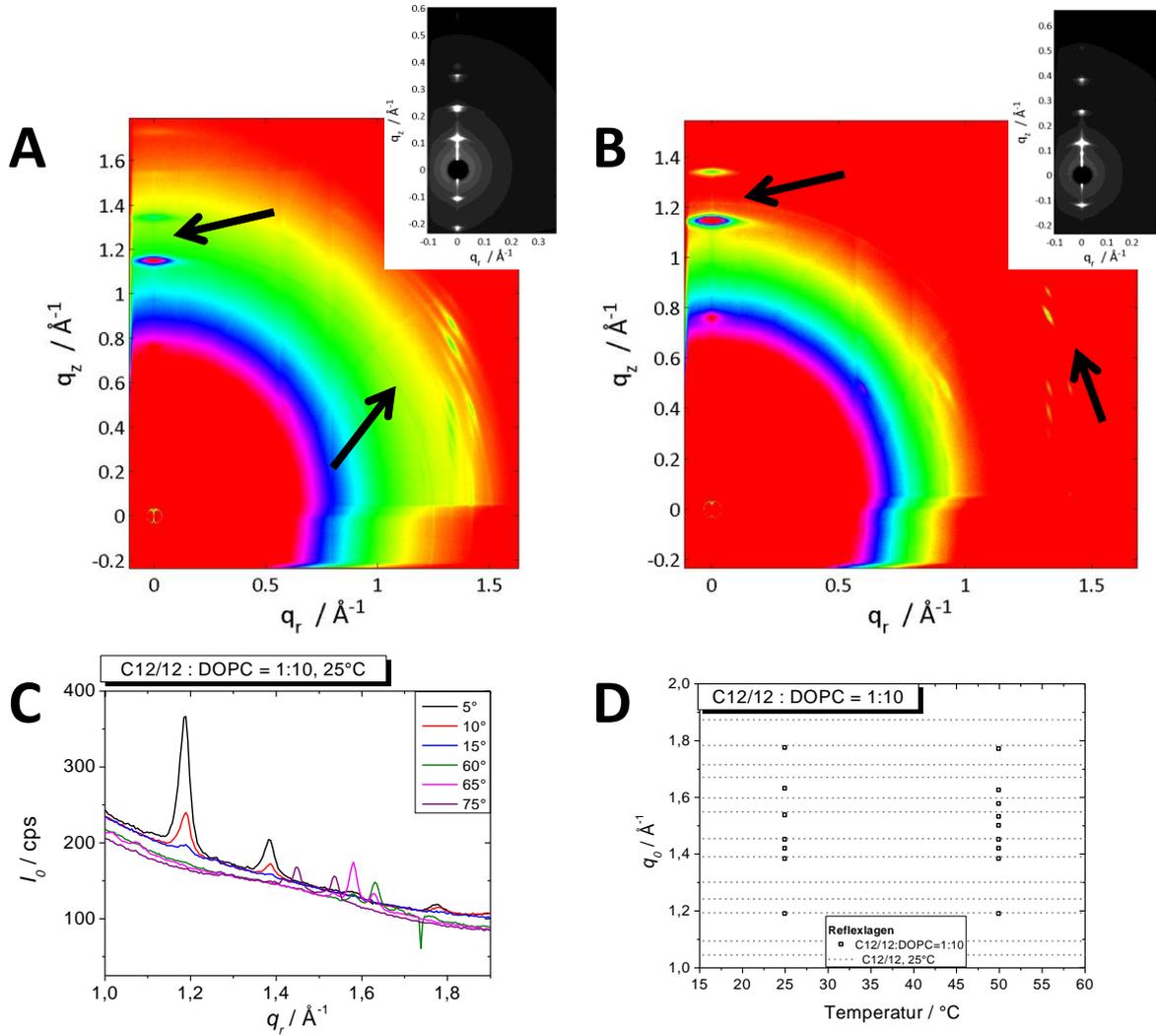


Abbildung 120. A/B: GIXD-Aufnahmen des Gemisches C12/12 : DOPC = 1:10 bei 25 °C (A), 50 °C (B) und 99 % RH; C: 1D-WAXS-Peakprofile bei 25 °C; D: WAXS-Peakpositionen als Funktion der Temperatur (graue Linien markieren die Reflexpositionen von C12/12 bei 25 °C, Daten aus Abbildung 117).



Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Diese Arbeit wurde an keiner anderen Universität oder Hochschule vorgelegt.

Halle (Saale), den

Bob-Dan Lechner

Lebenslauf

Bob-Dan Lechner
Geb. 12.10.1983
in Karl-Marx-Stadt

Ausbildung

- Seit 2008 Promotion im AK Prof. Dr. A. Blume im Rahmen der Forschergruppe FOR1145
 „Strukturbildung von synthetischen polyphilen Molekülen mit Lipidmembranen“
- Jul. 2008 Diplom in Chemie, Anorganische Chemie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
 Abschlussnote: sehr gut (1,1)
 Diplomarbeit: „Synthese und Charakterisierung neuartiger Silylamidliganden“
 AK Prof. Dr. K. Merzweiler
- Okt. 2003 Studium der Chemie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- Jun. 2003 Abitur am Johann-Mathesius-Gymnasium Rochlitz
 Abschlussnote: gut (1,8)
- Jun. 2000 Realschulabschluss an der Kirchnermittelschule, Wittgensdorf
 Abschlussnote: gut (1,5)

Stipendien

Leistungsstipendium der DOW Olefin Verbund GmbH (Okt. 2005 – Apr. 2006).

Betreute Abschlussarbeiten

Philip Biehl: „Wechselwirkungen von X-förmigen Polyphilen mit (Phospholipid-) Membranen“
(Bachelorarbeit: Apr. 2013-Sep. 2013).

Bianca Fricke: „Untersuchungen zur De- und Remineralisation von Zahnhartsubstanz durch fördernde Faktoren in Lebensmitteln“ (Diplomarbeit: Nov. 2011-Apr. 2012).

Robert Naumann: „Charakterisierung von Langmuir-Blodgett-Filmen mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie“ (Bachelorarbeit: Apr. 2011-Aug. 2011).

Caroline Weber: „Regeneration von Zahnschmelz durch Remineralisation fördernde Faktoren in Lebensmitteln“ (Diplomarbeit: Nov. 2010-Apr. 2011).

Nicole Westphal: „De- und remineralisierende Einflüsse von Nahrungsmitteln auf den nativen humanen Zahnschmelz“ (Diplomarbeit: Nov. 2010-Nov. 2012).

Florian Oehler: „Wechselwirkung einer polyphilen flüssigkristallinen Substanz mit Lipidmonoschichten und Lipidvesikeln“ (Bachelorarbeit: Apr. 2010-Aug. 2010).

Jan Ebenhan: „Untersuchungen zur Wechselwirkung einer amphiphilen flüssigkristallinen Substanz mit Lipidmodellmembranen“ (Bachelorarbeit: Apr. 2010-Aug. 2010).

Peggy Scholtysek: „Wechselwirkung polyphiler Moleküle mit Lipidmembranen – Einfluss eines facialen Amphiphils auf DPPC- und DMPC-Modellsysteme“ (Diplomarbeit: Okt. 2009-Jul. 2010).

Konferenzbeiträge

Vorträge

- B.-D. Lechner, A. Beerlink, S. Finger, A. Hädicke, G. Förster, H. Ebert, C. Tschierske, A. Blume, "Lipid Membranes and Polyphilic Molecules – order and disorder" *Autumn workshop on bio-membranes*, Prag, CR (Nov. **2013**).
- B.-D. Lechner, H. Ebert, C. Tschierske, A. Blume „Interaction of small polyphilic molecules with lipid membranes - molecular organization" *BMBF HALOmem retreat*, Wernigerode (Jul. **2012**).
- B.-D. Lechner, C. Weber, B. Fricke, A. Blume „Alteration of human tooth surfaces by food stuffs" *14. Frühjahrssymposium der GDCh/JCF*, Rostock (Mär. **2012**).
- B.-D. Lechner, A. M. Kerth, C. Tschierske, A. Blume „Interaction of small polyphilic molecules with lipid membranes" *39. German liquid crystal conference (GLCC) der DFKG*, Hamburg (Mär. **2011**).
- B.-D. Lechner, A. M. Kerth, C. Tschierske, A. Blume „Interaction of small polyphilic molecules with lipid membranes" *13. Frühjahrssymposium der GDCh/JCF*, Erlangen (Mär. **2011**).
- Vortrag auf 10 regulären *spring meetings und fall meetings der DFG FOR 1145 (2010-2014)*.

Posterbeiträge

- B.-D. Lechner, A. Beerlink, H. Ebert, C. Tschierske, A. Blume „Interactions of X-shaped amphiphilic molecules with lipid model membranes" *International workshop of molecular membrane biophysics*, Huenfeld (Mär. **2014**).
- B.-D. Lechner, C. Schwieger, H. Ebert, C. Tschierske, A. Blume „Molecular orientation of polyphilic molecules within lipid model membranes" *112. Bunsentagung*, Karlsruhe (Mai. **2013**).
- B.-D. Lechner, C.-E. Spitzner, A. Olubummo, M. Schulz, W. H. Binder, R. Magerle, A. Blume „Exploring what's underneath – sub-Surface AFM to locate Nanoparticles within Polymer Soft Matter " *15. Frühjahrssymposium der GDCh/JCF*, Berlin (Mär. **2013**).
- B.-D. Lechner, S. Werner, H. Ebert, C. Tschierske, K. Bacia, A. Blume "Molecular orientation of polyphilic molecules within lipid model membranes" *Faraday Discussion 161 – Lipids and membrane biophysics – of the RSC*, London, UK (Okt. **2012**).
- B.-D. Lechner, C. Weber, B. Fricke, S. Röper, J. Messerschmidt, R. Magerle, A. Blume „Alteration of human tooth surfaces by food stuffs" *Seeing at the Nano scale*, Bristol, UK (Jul. **2012**).
- B.-D. Lechner, H. Ebert, C. Schwieger, C. Tschierske, A. Blume „The interaction of small amphiphilic and polyphilic molecules with phospholipid membranes" *111. Bunsentagung*, Leipzig (Mai. **2012**).
- B.-D. Lechner, S. Werner, H. Ebert, C. Schwieger, C. Tschierske, K. Bacia, A. Blume „Interactions of small polyphilic molecules with phospholipid model membranes" *International workshop – membranes in health and disease – Gomadingen* (Feb. **2012**).
- B.-D. Lechner, R. Naumann, H. Ebert, A. M. Kerth, C. Tschierske, A. Blume "Small polyphilic molecules and their interaction with phospholipid membranes" *10th international symposium on SPM & optical tweezers in life sciences*, von JPK, Berlin (Okt. **2011**).
- B.-D. Lechner, N. Westphal, S. Röper, J. Messerschmidt, A. Blume "De- and remineralization of human tooth enamel" *9th international symposium on SPM & optical tweezers in life sciences*, von JPK, Berlin (Okt. **2010**).
- B.-D. Lechner, F. Oehler, J. Ebenhan, P. Scholtysek, C. Tschierske, A. M. Kerth, A. Blume „Interaction of small facial amphiphilic or polyphilic molecules with lipid membranes", *Annual meeting of the DGfB*, Bochum (Okt. **2010**).
- B.-D. Lechner, S. Röper, J. Messerschmidt, A. Blume "De- and remineralization of human tooth enamel" *12. Frühjahrssymposium der GDCh/JCF*, Göttingen (Mär. **2010**).
- B.-D. Lechner, K. Merzweiler "Synthesis and coordination behaviour of novel silylamide ligands" *11. Frühjahrssymposium der GDCh/JCF*, Essen (Mär. **2009**).

Liste der Veröffentlichungen

B.-D. Lechner, H. Ebert, M. Prehm, S. Werner, A. Meister, G. Hause, A. Beerlink, K. Saalwächter, C. Bacia, C. Tschierske, A. Blume „Temperature-Dependent In-Plane Structure Formation of an X-Shaped Bolapolyphile within Lipid Bilayers” *Langmuir*, **2015**, 31, 2839.

S. Werner, H. Ebert, B.-D. Lechner, F. Lange, A. Achilles, R. Bärenwald, S. Poppe, A. Blume, K. Saalwächter, C. Tschierske, K. Bacia “Dendritic domains in lipid membranes formed by X-shaped bolamphiphiles in lipid membranes”, *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 1.

H. Hussain, S. Baleed, T. Naolou, B.-D. Lechner, K. Busse, J. Kressler “The Behavior of Fatty Acid Modified Poly(glycerol adipate) at the Air/Water Interface” *Colloids and Surfaces A*, **2015**, 468, 22.

S. Drescher, B.-D. Lechner, V. Garamus, L. Almasy, A. Meister, A. Blume „The headgroup (a)symmetry strongly determines the aggregation behavior of single-chain phenylene-modified bolalipids and their miscibility with classical phospholipids” *Langmuir*, **2014**, 30 (31), 9273.

T. Naolou, K. Busse, B.-D. Lechner, J. Kressler “The Behavior of Poly(ϵ -caprolactone) and Poly(ethylene oxide)-*b*-Poly(ϵ -caprolactone) Grafted to a Poly(glycerol adipate) Backbone at the Air/Water Interface”, *Colloid Polym. Sci.* **2014**, 292, 1199.

R. Zhang, T. Yan, B.-D. Lechner, K. Schröter, Y. Liang, B. Li, F. Furtado, P. Sun, K. Saalwächter “Heterogeneity, segmental and hydrogen bond dynamics, and aging of supramolecular self-healing rubber” *Macromolecules*, **2013**, 46 (5), 1841.

O. Adekunle, M. Schulz, B.-D. Lechner, P. Scholtysek, A. Blume, J. Kressler, W. Binder „Controlling the localization of polymer-functionalized nanoparticles in mixed lipid/polymer membranes” *ACS Nano*, **2012**, 6 (10), 8713.

S. Dölle, B.-D. Lechner, Ji Hyun Park, Stefan Schymura, J. P. F. Lagerwall, G. Scalia „Utilizing the Krafft Phenomenon to generate ideal micelle-free surfactant-stabilized nanoparticle suspensions”, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51 (13), 3254.

P. Scholtysek, A. Achilles, C.-V. Hoffmann, B.-D. Lechner, A. Meister, C. Tschierske, K. Saalwächter, K. Edwards, A. Blume „A T-shaped amphiphilic molecule forms closed vesicles in water and bicelles in mixtures with a membrane lipid”, *J. Phys. Chem. B.* **2012**, 116, 4871.

B.-D. Lechner, S. Hahn, C. Wagner, K. Merzweiler „Synthesis and Crystal Structures of Novel Functionalized Lithium Silylamides $R_{(4-n)}Si(N(Li)CH_2CH_2NR'_2)_n$ (R = Me, Ph; R' = Me, *i*-Pr; n=2, 3)”, *ZAAC*, **2013**, 639 (14), 2597.

B.-D. Lechner, K. Merzweiler „N, N'-Dicycloheylethylenediammonium dichloride” *Acta Cryst.* **2010**, E66 (1), o12.

B.-D. Lechner, S. Röper, J. Messerschmidt, R. Magerle, A. Blume “Imaging de- and remineralization of human teeth on the nanometre scale” *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2014**, submitted.

T. Markowski, S. Drescher, G. Förster, B.-D. Lechner, A. Meister, A. Blume, B. Dobner “Highly asymmetrical glycerol diether bolalipids: synthesis and temperature-dependent aggregation behavior”, *in preparation*.