

ARTIFIZIELLE PHOSPHOLIPIDE – SYNTHESEN, EIGENSCHAFTEN UND ANWENDUNGEN

KUMULATIVE HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium habilitatus (Dr. rer. nat. habil.)

vorgelegt der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I (Biowissenschaften)
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von

Herrn Dr. rer. nat. Simon Drescher
geboren am 17. August 1978 in Zwickau

Gutachter:

1. Prof. Dr. Bodo Dobner, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
2. Prof. Dr. Heiko Heerklotz, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
3. Prof. Dr. Andreas Zumbühl, Université Fribourg (Schweiz)

Eingereicht: 9. Januar 2017

Verteidigung: 12. Oktober 2017

Probevorlesung: 4. Dezember 2017

Dank

Die hier vorgestellten Ergebnisse wurden in den Jahren 2009–2015 in verschiedenen Arbeitsgruppen des Instituts für Pharmazie und des Instituts für Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg sowie in Kooperation mit anderen Arbeitsgruppen erzielt. Diese Habilitationsschrift wäre dabei nicht ohne die stete Unterstützung, die vielen Ratschläge, das entgegengebrachte Vertrauen und die Geduld zahlreicher Personen möglich gewesen.

Mein besonderer Dank gilt dabei meinen beiden Mentoren Prof. Dr. Bodo Dobner und Prof. Dr. Alfred Blume für die Freundlichkeit und Offenheit während der gesamten Zeit, die immerwährende Bereitschaft zu Gesprächen über alte Probleme und neue Perspektiven sowie für die konstruktive Kritik während der Diskussion und Durchsicht der zur Realisierung der Arbeit notwendigen Anträge und Publikationen. Darüber hinaus gilt mein Dank Prof. Dr. Peter Imming, Prof. Dr. Karsten Mäder und Prof. Dr. Kirsten Bacia für die Unterstützung.

Zu sehr großem Dank bin ich PD Dr. Annette Meister verpflichtet – für die Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen von nunmehr fast 500 Proben, für die sehr vielen fachlichen sowie weniger fachlichen Gespräche, die zahlreichen Tipps und die fortwährende Unterstützung; auch zu unchristlichen Uhrzeiten.

Wichtige Beiträge dieser Arbeit kamen von Dr. Gesche Graf und Dr. Thomas Markowski, denen ich für die gute Zusammenarbeit danke. Darüber hinaus danke ich meinen Diplomanden Susan Becker, Katrin Helmig und Stefan Sonnenberger, deren Arbeiten ebenfalls Eingang in diese Habilitationsschrift gefunden haben. Den Mitgliedern der Arbeitsgruppen Biochemische Pharmazie, Pharmazeutische Chemie und Physikalische Chemie sei für die freundliche Unterstützung und die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre gedankt.

Die Vielzahl an physikalisch-chemischen Charakterisierungen, die dafür notwendigen auswärtigen Messungen sowie deren Auswertung und Interpretation wären ohne die Unterstützung von Dr. László Almásy, Dr. Günter Förster, Dr. Vasil M. Garamus, Dr. Christopher J. Garvey, Dr. Gerd Hause, Dr. Günter Hempel, Dr. Bob-Dan Lechner, Dr. Andreas Kerth und Dr. Christian Schwiager nicht möglich gewesen.

Die vorliegende Habilitationsarbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen der Projekte „Synthese langkettiger Bolaphospholipide und physikochemische Charakterisierung ihrer Aggregatstrukturen: Untersuchungen an Nanofasern und Hydrogelen“ und „Synthese und physikalisch-chemische Charakterisierung bipolarer Amphiphile zur Stabilisierung wirkstofftragender Vesikel für die orale Anwendung“ finanziell unterstützt.

Abschließend danke ich den wichtigsten Menschen in meinem Leben, meiner Frau Franziska und unserer Tochter Hannah – ohne ihre Liebe, unermüdliche Unterstützung und vor allem Verständnis wäre ein solches Werk nicht realisierbar gewesen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielstellung.....	1
2	Forschungsergebnisse.....	12
2.1	Synthesen	12
2.1.1	Synthesen einkettiger, symmetrischer Bolalipide.....	12
2.1.1.1	Variationen im Kopfgruppenbereich	12
2.1.1.2	Variationen im Alkylkettenbereich.....	13
2.1.2	Synthesen einkettiger, unsymmetrischer Bolalipide.....	16
2.1.2.1	Einkettige, unsymmetrische Bolalipide ohne Alkylkettenmodifizierung	17
2.1.2.2	Einkettige, unsymmetrische Bolalipide mit Phenylmodifizierung ...	18
2.1.3	Synthesen mehrkettiger, symmetrischer Bolalipide	19
2.1.4	Synthesen mehrkettiger, unsymmetrischer Bolalipide	21
2.2	Eigenschaften – Aggregationsverhalten bipolarer Amphiphile in wässriger Volumenphase	22
2.2.1	Einfluss der Kopfgruppenvariationen und der Alkylkettenlänge	22
2.2.2	Einfluss von Alkylkettenvariationen	25
2.2.3	Einfluss der Molekülasymmetrie	28
2.2.4	Packungsparameter	33
2.3	Anwendungen	35
2.3.1	Mischungsverhalten bipolarer Amphiphile mit klassischen Phospholipiden.....	35
2.3.1.1	Ternäre Mischungen	35
2.3.1.2	Mischungen mit Alkylketten-modifizierten, symmetrischen Bolalipiden.....	36
2.3.1.3	Mischungen mit unsymmetrischen Bolalipiden	39
2.3.2	Silizifizierung von Bolalipid-Nanofasern: Neue Hybridmaterialien als Templat für die eindimensionale Fixierung von Gold-Nanopartikeln	40
2.3.2.1	Silizifizierungsreaktion	40
2.3.2.2	Charakterisierung der Hybridmaterialien	42
2.3.2.3	Fixierung von Gold-Nanopartikeln.....	43
3	Zusammenfassung und Ausblick	44
4	Literaturverzeichnis	50
5	Lebenslauf	57
6	Veröffentlichte Originalarbeiten.....	59
7	Erklärung	63
8	Anhang: Der Habilitationsschrift zu Grunde liegende Veröffentlichungen	65

Vorbemerkung

Für die Darstellung der Forschungsergebnisse wurde die kumulative Form der Habilitation gewählt. Die ausgewählten Publikationen sind als Anlagen beigelegt und enthalten die experimentellen Daten sowie eine ausführliche Diskussion der entsprechenden Ergebnisse. In dieser Arbeit werden, unter Verweis auf die jeweils relevante(n) Publikation(en), die wesentlichen Aspekte kurz dargestellt und diskutiert. Für eine gegebenenfalls vorhandene *Supporting Information* zu den entsprechenden Publikationen sei auf die Online-Veröffentlichung bzw. die beigelegte DVD verwiesen.

Verzeichnis der dieser Habilitationsschrift zu Grunde liegenden Veröffentlichungen:

- A1:** Drescher, S.*; Graf, G.; Hause, G.; Dobner, B. und Meister, A.* Amino-functionalized single-chain bolalipids: Synthesis and aggregation behavior of new basic building blocks. *Biophys. Chem.* **2010**, *150*, 136-143.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20156670>
- A2:** Meister, A.*; Drescher, S.; Karlsson, G.; Hause, G.; Baumeister, U.; Hempel, G.; Garamus, V.M.; Dobner, B. und Blume, A. Formation of square lamellae by self-assembly of long-chain bolaphospholipids in water. *Soft Matter* **2010**, *6*, 1317-1324.
<http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2010/SM/b923066a#!divAbstract>
- A3:** Drescher, S.*; Helmig, K.; Langner, A. und Dobner, B. Synthesis of novel symmetrical, single-chain, diacetylene-modified bolaamphiphiles with different alkyl chain lengths. *Monatsh. Chem.* **2010**, *141*, 339-349.
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00706-010-0255-y>
- A4:** Markowski, T.; Drescher, S.; Meister, A.; Hause, G.; Blume, A. und Dobner, B.* Synthesis of optically pure diglycerol tetraether model lipids with non-natural branching pattern. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 5894-5904.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejoc.201100758/abstract>
- A5:** Drescher, S.*; Sonnenberger, S.; Meister, A.; Blume, A. und Dobner, B. Synthesis and aggregation behaviour of symmetrical phenylene/biphenylene-modified bolaamphiphiles. *Monatsh. Chem.* **2012**, *143*, 1533-1543.
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00706-012-0833-2>
- A6:** Drescher, S.*; Becker, S.; Dobner, B. und Blume, A. Bis-sonogashira cross-coupling: An expeditious approach towards long-chain, phenylene-modified 1 ω -diols. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 4052-4054.
<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/ra/c2ra20411h#!divAbstract>

- A7:** Drescher, S.*; Hempel, G.; Binder, W.H.; Dobner, B.; Blume, A. und Meister, A.* Functionalization of bolalipid nanofibers by silicification and subsequent one-dimensional fixation of gold nanoparticles. *Langmuir* **2012**, *28*, 11615-11624.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22783886>
- A8:** Graf, G.; Drescher, S.; Meister, A.; Garamus, V.M.; Dobner, B. und Blume, A.* Tuning the aggregation behaviour of single-chain bolaamphiphiles in aqueous suspension by changes in headgroup asymmetry. *Soft Matter* **2013**, *9*, 9562-9571.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26029763>
- A9:** Drescher, S.* und Dobner, B. Synthesis of novel asymmetrical single-chain phosphoglycol-based bolaamphiphiles. *Synth. Commun.* **2014**, *44*, 564-573.
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00397911.2013.825806>
- A10:** Blume, A.*; Drescher, S.; Graf, G.; Köhler, K. und Meister, A. Self-assembly of different single-chain bolaphospholipids and their miscibility with phospholipids or classical amphiphiles. *Adv. Colloid Interf. Sci.* **2014**, *208*, 264-278.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868614000050>
- A11:** Drescher, S.*; Lechner, B.-D.; Garamus, V.M.; Almásy, L.; Meister, A. und Blume, A. The headgroup (a)symmetry strongly determines the aggregation behavior of single-chain phenylene-modified bolalipids and their miscibility with classical phospholipids. *Langmuir* **2014**, *30*, 9273-9284.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25025213>
- A12:** Drescher, S.*; Meister, A.; Garamus, V.M.; Hause, G.; Garvey, C.J.; Dobner, B. und Blume, A. Influence of the substitution pattern of phenylene-modified bolaamphiphiles on the aggregations behavior and the miscibility with conventional phospholipids. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2014**, *116*, 1205-1216.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.201300387/abstract>
- A13:** Markowski, T.; Drescher, S.*; Meister, A.; Blume, A. und Dobner, B.* Structure-property relationships in a series of diglycerol tetraether model lipids and their lyotropic assemblies: The effect of branching topology and chirality. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 3649-3662.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24763471>
- A14:** Markowski, T.; Drescher, S.*; Forster, G.; Lechner, B.D.; Meister, A.; Blume, A. und Dobner, B.* Highly asymmetrical glycerol diether bolalipids: Synthesis and temperature-dependent aggregation behavior. *Langmuir* **2015**, *31*, 10683-10692.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26366715>

* korrespondierender Autor

1 EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG

Lipide, insbesondere die Phospholipide, gehören neben Proteinen, Nucleinsäuren und Kohlenhydraten zu den essentiellen Grundbausteinen aller Zellen. Die wichtigste Aufgabe der Phospholipide ist dabei die Strukturbildung, d.h. die Bildung von Membranen (Lipiddoppelschichten) zur Abgrenzung einzelner Kompartimente bzw. Zellen.

Aus strukturellen Gesichtspunkten gehören die klassischen Phospholipide zu den amphiphilen Molekülen: Sie bestehen aus einem lipophilen Molekülteil, den Fettsäureketten, und einer hydrophilen, phosphathaltigen Kopfgruppe. Die Molekülteile sind über einen Glycerolbaustein miteinander verbunden, wobei sich die Fettsäuren in *sn*-1- und *sn*-2-Position und die Kopfgruppe in *sn*-3-Position des Glycerols befinden (Abbildung 1). Abwandlungen hinsichtlich der Struktur werden durch Verwendung von in Länge und Sättigungsgrad differierender Fettsäuren bzw. durch unterschiedliche Kopfgruppen erhalten.

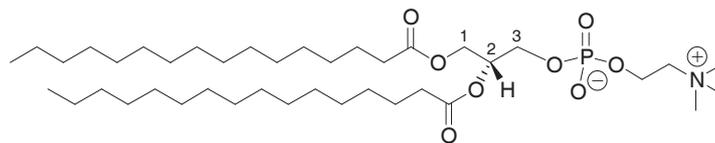


Abbildung 1: Chemische Struktur klassischer Phospholipide am Beispiel des 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholins (DPPC).

Neben den klassischen, monopolaren Phospholipiden sind die bipolaren Lipide (Bollipide oder auch Bolaamphiphile genannt) eine äußerst interessante Strukturklasse. Dabei stellen synthetische und physiko-chemische Untersuchungen dieser Bollipide ein wachsendes Forschungsgebiet dar, welches bis heute nichts an Aktualität eingebüßt hat (Benvegnu *et al.* 2004, Fuhrhop & Wang 2004, Meister & Blume 2007, Jacquemet *et al.* 2009, Meister & Blume 2012, Nuraje *et al.* 2013, Dhasaiyan & Prasad 2017). Im Unterschied zu den klassischen Phospholipiden besitzen die Bollipide zwei hydrophile Kopfgruppen, die über einen lipophilen Spacer miteinander verbunden sind. Ihren natürlichen Ursprung haben diese Lipide in den Membranlipiden der Archaeen.

Die Archaeen, welche neben den Bakterien und Eukaryoten die dritte Domäne der belebten, zellulären Welt bilden (Woese *et al.* 1990), nehmen eine Sonderstellung im Reich der Organismen ein (Kates 1992). Sie umfasst einige Arten an Extremophilen – Organismen, die sich an das Leben unter extremen Umweltbedingungen angepasst haben. Hierzu zählen z.B. die *Halophilen*, welche einer hohen Salzkonzentration bedürfen oder die unter hohen Temperaturen und niedrigen pH-Werten lebenden *Thermoacidophilen* (Woese & Fox 1977, Fuhrman *et al.* 1992, Kandler 1992, Delong *et al.* 1994).

Um diesen widrigen Lebensbedingungen standzuhalten, besitzen die Archaeen, insbesondere Vertreter der *Thermoacidophilen* und der *Methanogenen*, spezielle Membranlipide, die in ihrem Aufbau in entscheidendem Maße von den Membranlipiden

anderer Organismen abweichen. Kennzeichnend für die archaealen Lipide sind gesättigte, isoprenoid verzweigte Alkylketten variabler Länge, welche an beiden Enden über Etherbindungen an Glycerol mit *sn*-2,3-Konfiguration gebunden sind. Dabei werden der Diphytanylglyceroldiether (Archaeol) und dessen Dimer, der Di(biphytanyl)diglyceroltetraether (Caldarchaeol, Abbildung 2) als hydrophobe Hauptkomponenten unterschieden (Nishihara *et al.* 1987, Sprott 1992, Kates 1993). Natürlich vorkommende Abwandlungen innerhalb der langen Alkylketten können durch Hydroxylierung einer der beiden Ketten (Sprott *et al.* 1990, Gambacorta *et al.* 1995) sowie durch den Einbau von 1,3-verknüpften Cyclopentanringen erfolgen. Insbesondere die Variation von Anzahl und Position der Fünfringe wird für die Stabilität der Membran thermoacidophiler Archaeen verantwortlich gemacht (De Rosa *et al.* 1980, Gabriel & Chong 2000). Darüber hinaus kann auch die Kopfgruppe an *sn*-1-Position des Glycerols abgewandelt werden. So sind neben unsubstituierten Vertretern auch Derivate mit phosphorylierten und nicht-phosphorylierten Zuckerresten, wie dem Nonitol, bekannt (Gambacorta *et al.* 1995). Weiterhin können die Reste sowohl symmetrisch als auch unsymmetrisch an die beiden Enden der Alkylkette gebunden sein (De Rosa *et al.* 1986, Sprott 1992, Gambacorta *et al.* 1995, Gliozzi *et al.* 2002).

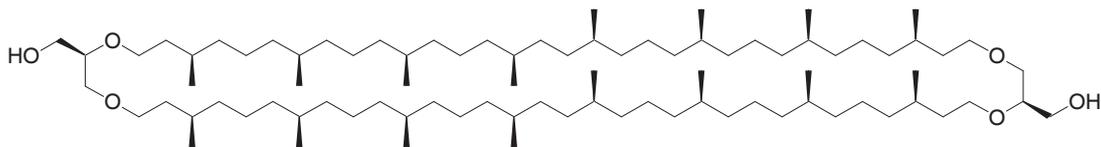


Abbildung 2: Chemische Struktur von Caldarchaeol.

Bedingt durch die außergewöhnliche Struktur der bipolaren Tetraetherlipide besitzen sie eine Reihe vorteilhafter Eigenschaften. So sind sie in der Lage, stabile Monoschichten, sogenannte *black lipid membranes* (Gliozzi *et al.* 1994), bzw. Liposomen (Elferink *et al.* 1994) auszubilden; beide Aggregatformen besitzen auf dem Gebiet der Pharmazie, der Biotechnologie und der Materialwissenschaften einen hohen Stellenwert. Untereinander bilden die Tetraetherlipide Monoschichtmembranen, die sich durch eine sehr hohe mechanische, chemische und enzymatische Stabilität auszeichnen (Gambacorta *et al.* 1995). Zudem besitzen diese Monoschichten eine geringe Permeabilität gegenüber kleinen Molekülen und Ionen (Komatsu & Chong 1998) sowie eine ausgeprägte thermische Stabilität, welche die Hitzesterilisation gebildeter Liposomen ermöglicht (Choquet *et al.* 1996). Für Mischungen der Tetraetherlipide mit klassischen Phospholipiden ist belegt, dass die Bolalipide in der Lage sind, sich in Lipiddoppelschichten einzubauen und diese zu stabilisieren (Gabriel & Chong 2000). Dies macht die Tetraetherlipide zu geeigneten Kandidaten für *drug delivery*-Systeme in Form wirkstoff- und antigenträger Vesikel (Sprott *et al.* 1997, Patel *et al.* 2000) (siehe auch: *Potentielle Anwendungen bipolarer Amphiphile*). Da die Kultivierung von Archaeen und die nachfolgende Gewinnung von Tetraetherlipiden aus den Membranen der Archaeen eine große Herausforderung darstellt, ist die Synthese von archaealen Modelllipiden unter Beibehaltung der wesentlichen Eigenschaften ein höchst aktuelles und attraktives Forschungsfeld.

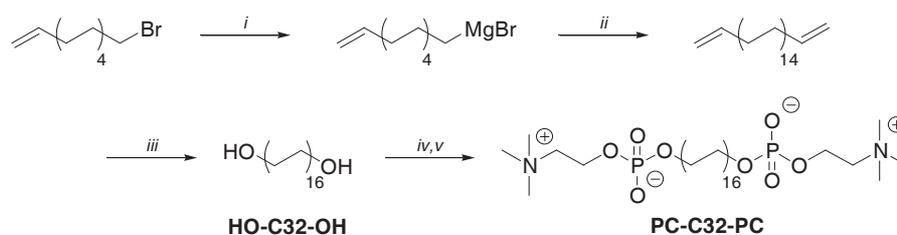
Synthetische Aspekte bipolarer Amphiphile

Die Darstellung archaealer Membranlipide gestaltet sich aufgrund der strukturellen Besonderheiten dieser Lipidklasse – wie das Vorhandensein isoprenoid verzweigter Alkylketten, Etherbindungen zum Glycerolgerüst, welches zudem in einer *sn*-2,3-Konfiguration vorliegt, sowie die Makrozyklenstruktur – als schwierig. In den frühen 1990er Jahren erfolgte die Synthese kleinerer, 32-gliedriger Makrozyklen, welche dem Archaeol glichen – zunächst ohne Methylgruppenverzweigungen durch EGUCHI und KAKINUMA (Eguchi *et al.* 1993) bzw. MENGER (Menger *et al.* 1993), später mit isoprenoid verzweigten Alkylketten (Eguchi *et al.* 1994). Etwas später erfolgte die Synthese eines 72-gliedrigen, bipolaren Makrozyklus; wiederum erst ohne Methylgruppenverzweigungen (Eguchi *et al.* 1996, Menger & Chen 1996), und danach mit Methylgruppen im Isoprenoidmuster (Eguchi *et al.* 1997). Allen Synthesen ist dabei folgende prinzipielle Vorgehensweise gemein: Zunächst werden terminal modifizierte Alkylketten in die gewünschte Position im Glycerolgerüst eingeführt. Die endständigen Modifikationen werden abschließend genutzt, um die Alkylketten miteinander zu verknüpfen. Als C–C-Kupplungsreaktionen dienen dabei vor allem die kupferkatalysierte GLASER-Kupplung von Alkinen, die MCMURRY-Kupplung (McMurry 1989), eine reduktive Verknüpfung von Aldehyden oder Ketonen unter Titan-Katalyse, oder die JULIA-Kupplung (Julia & Paris 1973), eine Additionsreaktion von Anionen der Phenylsulfone an Aldehyde bzw. Ketone, welche nach reduktiver Eliminierung mit Natrium-Amalgam oder Samarium(II)iodid *trans*-substituierte Alkene liefert, die zu Alkanen hydriert werden können. Darüber hinaus wird die Metathese-Reaktion unter Verwendung von GRUBBS-Katalysatoren der ersten Generation – Ruthenium-Katalysatoren, z. B. $[\text{RuCl}_2(=\text{CHPh})(\text{PCy}_3)_2]$ (Schwab *et al.* 1995) – sehr häufig angewendet. Voraussetzung hierfür ist das Vorhandensein einer endständigen Doppelbindung in der Alkylkette.

Da die Totalsynthese der archaealen Membranlipide ein sehr zeitaufwendiges Unterfangen darstellt, wurden frühzeitig Versuche unternommen, die Struktur dieser Lipide zu vereinfachen ohne dabei die wesentlichen, vorteilhaften Eigenschaften zu verlieren (Benvegnu *et al.* 2004). So wurde z. B. auf das Konzept der Makrozyklen verzichtet und eine durchspannende Kette durch zwei kürzere, isoprenoid verzweigte (Yamauchi *et al.* 1990) bzw. nicht verzweigte (Kim & Thompson 1992, Svenson & Thompson 1998) Alkylketten ersetzt. Die so erhaltenen azyklischen Bolalipide mit variablem, hydrophobem Gerüst unterscheiden sich zudem in der Natur der hydrophilen Kopfgruppe (Halter *et al.* 2004, Satgé *et al.* 2004, Kai *et al.* 2005). Eine weitere strukturelle Vereinfachung führte zu einkettigen Bolalipiden; hier wurden die Glycerolreste ersetzt und die polaren Kopfgruppen direkt mit der langen Alkylkette verknüpft. Dabei konnte gezeigt werden, dass viele dieser vereinfachten archaealen Modelllipide ebenfalls zu stabilen Monoschichten aggregieren. Es besteht jedoch ein komplexer Zusammenhang zwischen dem Aufbau der Bolalipide (Verhältnis zwischen Kopfgruppen- und Alkylkettenquerschnitt) und den ausgebildeten Aggregatstrukturen (Guilbot *et al.* 2001, Benvegnu *et al.* 2003): neben den bekannten Monoschichten werden auch andere Strukturen, wie lange Fasern, Stäbchen, Scheiben oder Mizellen, beobachtet (siehe auch: *Aggregationsverhalten bipolarer Amphiphile in wässriger Volumenphase*). Offen in diesem Zusammenhang ist

noch immer die Frage, wie weit ein Modelllipid strukturell vereinfacht werden kann, ohne nachteilige Änderungen der Eigenschaften zu bedingen.

Zentrales Element in der Synthese einkettiger, bipolarer Lipide ist die effektive Darstellung langkettiger, 1, ω -funktionalisierter Polymethylene, wie Dicarbonsäuren oder Diole, die im abschließenden Schritt mit verschiedenartigen, hydrophilen Kopfgruppen über Amid- oder Esterbindungen verknüpft werden. Für den Aufbau langer Alkylketten sind in der Literatur zahlreiche synthetische Varianten beschrieben. Beispielhaft aufgeführt seien hier die zweifache Acylierung von zyklischen Enaminen mit 1, ω -Dicarbonsäuredichloriden und anschließender Ringöffnung sowie WOLFF-KISHNER-Reduktion nach HÜNIG (Hünig & Buysch 1967), die Doppel-WITTIG-Reaktion von 1, ω -Bis(phosphoryliden) mit ω -substituierten Aldehyden (Grechishnikova *et al.* 1996) oder die durch verschiedene Übergangsmetallionen wie Silber oder Kupfer katalysierte Reaktion von GRIGNARD-Reagenzien mit verschiedenen Alkylhalogeniden (Suzuki *et al.* 1983, Mirviss 1989). Letztere stellt eine sehr effektive Möglichkeit dar, langkettige, unmodifizierte 1, ω -Diole in größerem Maßstab und sehr guten Ausbeuten zu synthetisieren. So kann beispielsweise das Dotriacontan-1,32-diol (HO-C32-OH) aus 11-Bromundec-1-en, welches in das analoge GRIGNARD-Reagenz überführt wird, und 1,10-Dibromdecan im Sinne einer zweifachen GRIGNARD-Kupplung (Bis-Kupplung) unter Katalyse von Dilithiumtetrachlorocuprat (Friedman & Shani 1974, Hosomi *et al.* 1987) und abschließender Hydroborierung und oxidativer Aufarbeitung dargestellt werden (Köhler *et al.* 2004b). Das HO-C32-OH kann nachfolgend in das PC-C32-PC durch zweifache Phosphorylierung und Quarternierung überführt werden (Abbildung 3). Das Bolalipid PC-C32-PC, welches aus zwei über eine C32-Alkylkette verbundenen Phosphocholin-Kopfgruppen besteht, stellt eines der einfachsten archaealen Modelllipide dar.



Reaktionsbedingungen:

i) Mg, Ether, ii) 1,10-Dibromdecan, Li_2CuCl_4 , THF, 0 °C, iii) Disiamyboran, THF; dann EtOH, NaOH, H_2O_2 ,
iv) $\text{Cl}_2\text{P}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{Br}$, CHCl_3 , TEA; dann THF, H_2O , v) $\text{N}(\text{CH}_3)_3$, CHCl_3 , CH_3CN , EtOH

Abbildung 3: Synthese des Bolalipids PC-C32-PC unter Verwendung der GRIGNARD-Bis-Kupplung (Köhler *et al.* 2004b) (TEA: Triethylamin).

Durch Variation der beiden Edukte ω -Bromalken und 1, ω -Dibromalkan können sehr effizient einkettige, symmetrische Bolalipide variabler Alkylkettenlängen (C22 bis C32) mit geradzahlig (Drescher *et al.* 2007) und ungeradzahlig (Anzahl an Kohlenstoffatomen (Meister *et al.* 2008a) erhalten werden.

Darüber hinaus ist eine Abwandlung der Kopfgruppenstruktur durch Austausch des Quarternierungsreagenz leicht zu erreichen. So können neben Phosphocholinen (PC) auch Phosphodimethylethanolamine (Me_2PE) (Köhler *et al.* 2006b) und Phosphomo-

nomethylethanolamine (MePE) (Meister *et al.* 2008a) eingeführt werden. Um den Kopfgruppenbereich unter Erhalt der PC-Struktur weiter zu diversifizieren, ist es erstrebenswert, funktionelle Gruppen einzubauen, die sich in einer nachgeschalteten Reaktion mit einer Vielzahl von Reaktionspartnern umsetzen lassen. Als funktionelle Gruppen sind hier in erster Linie Amino- und Hydroxygruppen sowie Doppel- und Dreifachbindungen zu nennen. Das Einbringen dieser Strukturelemente in eine Lipidkopfgruppe erfolgt dabei im einfachsten Fall durch Verwendung von substituierten Aminen während der Quarternierungsreaktion, wie z. B. *N,N*-Dimethyl-*N*-propinylamin oder 2-(Dimethylamino)ethanol. Jedoch sinkt mit zunehmender Größe des für die Quarternierung verwendeten Amins die Ausbeute (Drescher *et al.* 2008). Die Verwendung von *N,N*-Dimethylethylendiamin als Quarternierungsreagenz führt aufgrund der beiden reaktiven Stickstoffe nicht zum gewünschten Amin-funktionalisierten Bolalipid.

Im Rahmen dieser Habilitationsschrift soll ein synthetischer Zugang zu Kopfgruppen-modifizierten, im Speziellen Amin-funktionalisierten Bolalipiden etabliert werden. Dadurch soll eine Anbindung von größeren Strukturen ermöglicht werden, um das Anwendungsspektrum der Bolalipide zu erweitern.

Neben Abwandlungen in der Kopfgruppe wurden auch Variationen im Alkylkettenbereich der Bolalipide beschrieben. Hier wurde wiederum der Frage nachgegangen, inwieweit die Struktur der bipolaren Modelllipide verändert werden kann, ohne dass wesentliche Eigenschaften verloren gehen. Exemplarisch sei hier die Einführung von Cyclopentanringen (Jacquemet *et al.* 2011, Le Gall *et al.* 2014), aromatischen Ringsystemen (Han *et al.* 2004, Mizoshita & Seki 2006), Diacetylengruppen (Song *et al.* 2004, Kew & Hall 2006), Heteroatomen (Halter *et al.* 2004, Drescher *et al.* 2008) oder Triazolringen (Mitchell *et al.* 2017) angeführt.

Insbesondere der Einbau von Phenyl- oder Biphenylringen mit unterschiedlichem Substitutionsmuster (*ortho*-, *meta*- oder *para*-Substitution) bzw. mittelständigen Diacetylengruppen ist ein interessanter Ansatzpunkt für neuartige, symmetrische Bolalipide. In dieser Arbeit werden verschiedene Wege der Synthese einkettiger, Phenylen/Biphenylen-modifizierter sowie Diacetylen-modifizierter Bolalipide aufgezeigt und deren Praktikabilität erörtert. Darüber hinaus werden im Rahmen der vorliegenden Schrift neue Synthesewege zu ein- und mehrkettigen, unsymmetrischen Bolalipiden vorgestellt. Die Einführung einer Asymmetrie in bipolare Amphiphile erfordert zwar einen höheren synthetischen Aufwand, jedoch sind hier neuartige Aggregatformen in wässriger Suspension zu erwarten (siehe auch nächsten Abschnitt).

Aggregationsverhalten bipolarer Amphiphile in wässriger Volumenphase

Amphiphile Moleküle besitzen aufgrund ihres Molekülaufbaus die Tendenz, in wässriger Suspension definierte Überstrukturen auszubilden. Als treibende Kraft dieser Selbstaggregation wird der von den langen Alkylketten ausgehende hydrophobe Effekt verantwortlich gemacht (Eibl 1984): Da die Alkylketten keine Wechselwirkungen mit dem sie umgebenden Wasser eingehen können, sind die angrenzenden Wassermoleküle in ihrer Bewegung eingeschränkt und somit höher geordnet. Durch das Zusammenlagern der Alkylketten, bedingt durch VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen, wird die

Oberfläche der zum Wasser zugewandten, hydrophoben Molekülteile verkleinert und die Zahl der geordneten Wassermoleküle verringert, wodurch schließlich die Entropie des Systems steigt.

Welche Aggregatform amphiphile Moleküle im Allgemeinen und Bolalipide im Besonderen in wässriger Volumenphase ausbilden, hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab: Neben dem Wassergehalt bzw. der Konzentration des Lipids, der Temperatur sowie der Ionenstärke und des pH-Wertes der Lösung, hat die chemische Struktur des Lipids, d.h. das Verhältnis der Kopfgruppengröße zum Alkylkettenquerschnitt, einen sehr großen Einfluss auf die Gestalt der gebildeten Aggregate. ISRAELACHVILI definierte für klassische, monopolare Amphiphile einen sogenannten Packungsparameter P , welcher sich aus dem molekularen Volumen V der Alkylkette, deren Länge l_c und dem Flächenbedarfswert a_o der Kopfgruppe zusammensetzt: $P = V/(a_o \times l_c)$ (Israelachvili *et al.* 1980, Israelachvili 2011). Basierend auf der Größe von P bilden monopolare Lipide sphärische Mizellen ($P < 0.3$), zylindrische Mizellen ($P = 0.3-0.5$), flexible Doppelschichten bzw. Vesikel ($P = 0.5-1.0$), planare Doppelschichten ($P \approx 1$) oder invertierte Mizellen ($P > 1$) in wässriger Volumenphase.

Für die bipolaren Amphiphile existiert noch keine generalisierte Zuordnung von P zu unterschiedlichen Aggregatformen, da hier noch die Frage zu klären ist, wie die beiden, gleichen oder ungleichen Kopfgruppen zu handhaben sind. Verallgemeinert kann man aber sagen, dass die mehrkettigen Bolalipide (Tetraetherlipide) natürlichen Ursprungs maßgeblich zu Liposomen aggregieren. Modellverbindungen dieser archaealen Membranlipide zeichnen sich durch eine vereinfachte chemische Struktur aus: Eine durchspannende Kette wurde durch zwei kurze Alkylketten ersetzt und auf die Einführung von Methylverzweigungen wurde gänzlich verzichtet. Dieses Modelllipid, welches aus einer verknüpfenden C32- und zwei kurzen C16-Alkylketten, aggregiert jedoch in wässriger Lösung nicht zu Liposomen sondern zu schichtförmigen Strukturen (Yamauchi *et al.* 1989). Zudem besitzt dieses Bolalipid eine für archaeale Membranlipide untypisch hohe Umwandlungstemperatur von $T_m = 61.5^\circ\text{C}$. Dies zeigt, dass Störungen in Form von Methylgruppen innerhalb der Alkylkette der Tetraetherlipide notwendig sind, insbesondere im Hinblick auf eine mögliche Anwendung im Bereich des *drug delivery*, um die Bildung von stabilen Liposomen zu erreichen. Daraufhin führten verschiedene Gruppen isoprenoid verzweigte Phytanylreste als kurze Alkylkette in die Tetraetherlipide ein, um die Umwandlungstemperatur zu erniedrigen (Yamauchi *et al.* 1990, Raguse *et al.* 2000, Febo-Ayala *et al.* 2006, Brard *et al.* 2007).

Im Rahmen dieser Habilitationsschrift wird daher der Frage nachgegangen, wie viele Methylgruppen innerhalb der Alkylketten von Tetraetherlipiden notwendig sind, um eine ausreichende Fluidität der Alkylketten und somit die Formierung stabiler Liposomen sicherzustellen. Darüber hinaus soll abgeklärt werden, ob die Stereospezifität der eingeführten Methylgruppen für das Phasenverhalten der Tetraetherlipide relevant ist.

Im Gegensatz zu den mehrkettigen Bolalipiden aggregieren die einkettigen Bolalipide in den meisten Fällen zu langen Fasern, Bändern (Kew & Hall 2006) oder Nanoröhren (Kameta *et al.* 2005) und weniger zu vesikulären Strukturen (Nuraje *et al.* 2013). Auch

das archaeale Modelllipid PC-C32-PC assembliert in verdünnter, wässriger Suspension zu langen Nanofasern, welche zur Ausbildung eines dreidimensionalen Fasernetzwerks und zur Gelierung des Lösungsmittels führt (Köhler *et al.* 2004b). Die Gelierung tritt dabei schon bei hochverdünnten Lösungen (0.1 Gewichts%) auf. Der Sachverhalt der Hydrogelbildung wird jedoch im Rahmen der vorliegenden Habilitationsschrift nicht näher beleuchtet; vielmehr sei hier auf die Arbeiten von KÖHLER, MEISTER und GRAF verwiesen (Köhler *et al.* 2006a, Meister *et al.* 2007b, Graf *et al.* 2011).

Die Bildung der Nanofasern (Abbildung 4, links) konnte sowohl durch elektronenmikroskopische (EM-) Aufnahmen kontrastierter Proben als auch mit Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie (Cryo-TEM) bestätigt werden (Köhler *et al.* 2004a). Die Nanofasern haben eine Dicke von 6–7 nm, was der Länge eines PC-C32-PC-Moleküls mit gestreckter (*all-trans*) Alkylkette entspricht. Innerhalb der Faser sind die Bolamoleküle nebeneinander angeordnet. Aufgrund des Missverhältnisses zwischen der großvolumigen PC-Kopfgruppe und dem kleinen Querschnitt der einzelnen Alkylkette sind die Bolamoleküle gegeneinander verdrillt, was in einer helikalen Überstruktur der Nanofasern sowie der Ausbildung hydrophober Taschen resultiert (siehe Pfeil in Abbildung 4, links).

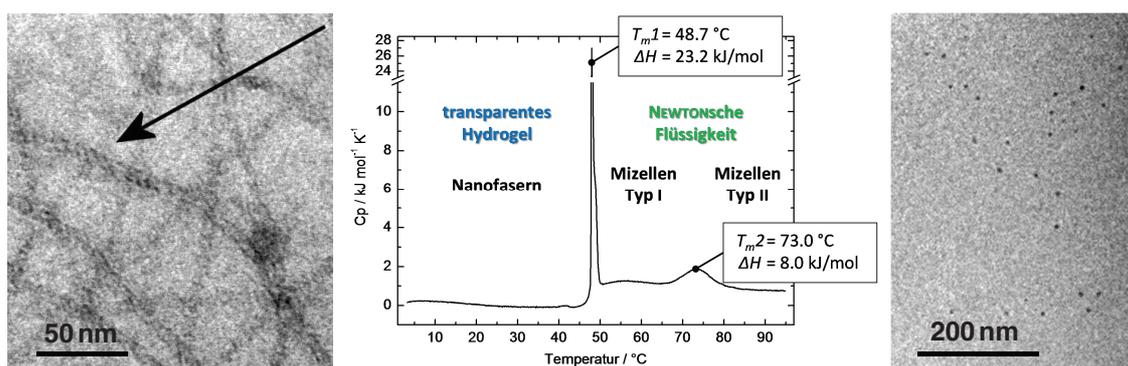


Abbildung 4: Links: Cryo-TEM-Aufnahme einer wässrigen Suspension von PC-C32-PC bei Raumtemperatur ($c = 0.3 \text{ mg/mL}$). Der Pfeil kennzeichnet einen Faserabschnitt mit sich andeutender helikaler Überstruktur (Köhler *et al.* 2004b). Mitte: DSC-Heizkurve von PC-C32-PC ($c = 1.0 \text{ mg/mL}$) mit Angabe der vorliegenden Aggregatformen sowie der Umwandlungstemperaturen und -enthalpien (Köhler *et al.* 2004a). Rechts: Cryo-TEM-Aufnahme einer wässrigen Suspension von PC-C32-PC ($c = 1.0 \text{ mg/mL}$); von 55°C gequenchet (von Göran Karlsson, Uppsala Universität, Schweden zur Verfügung gestellt).

Die Helizität konnte durch Cryo-TEM-Aufnahmen (Köhler *et al.* 2004a), hochauflöste Rasterkraftmikroskopie (Meister *et al.* 2008b) und *coarse grained* Monte-Carlo-Simulationen (Meister *et al.* 2008b, Wahab *et al.* 2010) bestätigt werden. Eine Temperaturerhöhung führt zu einem Auseinanderbrechen des Fasernetzwerks sowie der Nanofasern selbst und der Gelcharakter der Lösung geht verloren (Köhler *et al.* 2004a). Dieser Vorgang ist vollständig reversibel und die Gel-Sol-Übergangstemperatur kann durch die Wahl der Kettenlänge des Bolalipids variiert und eingestellt werden (Drescher *et al.* 2007).

Aus den Nanofasern bilden sich bei Temperaturerhöhung kleine, sphärische Mizellen (Typ-I-Mizellen); der Mizellbildungsvorgang kann dabei durch kalorimetrische Mes-

sungen (*differential scanning calorimetry*, DSC, Abbildung 4, Mitte) sowie durch Infrarot(IR)-Spektroskopie verfolgt und die Mizellen selbst durch Neutronenkleinwinkelstreuung (*small angle neutron scattering*, SANS) und dynamische Lichtstreuung (DLS) charakterisiert werden. Die mizellaren Aggregate zeigen eine erhöhte Fluidität der Alkylketten aufgrund einer erhöhten Anzahl an *gauche*-Konformeren; der genaue Aufbau der Mizellen ist jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt. Eine weitere Temperaturerhöhung führt zu einer zweiten, sehr breiten und somit wenig kooperativen Umwandlung in einen zweiten Typ von Mizellen, welche sich durch eine erneute Zunahme der Fluidität der Alkylketten auszeichnen (Köhler *et al.* 2004a). Zudem sind die Mizellen vom Typ-II im Vergleich zu den Typ-I-Mizellen kleiner und bestehen aus weniger Bolalipidmolekülen. Dies konnte durch SANS-Messungen kürzerkettiger Vertreter (PC-C24-PC) belegt werden (Meister *et al.* 2008a). Die Ursache für diese zweite Umwandlung zwischen zwei verschiedenen Mizelltypen konnte bisher noch nicht abschließend geklärt werden; vermutlich sind die Mizellen vom Typ-I sehr kurze Faserbruchstücke.

Im Vergleich zu den symmetrischen Bolalipiden bieten die unsymmetrischen Pendants zwei prinzipielle Möglichkeiten der Anordnung der verschiedenen Kopfgruppen zueinander: eine parallele Anordnung, bei der sich gleiche Kopfgruppen zusammenfinden, oder eine antiparallele Ausrichtung, bei der die Kopfgruppen wechselseitig (*interdigitiert*) angeordnet sind. Ersteres kann zur Bildung von kleinen Stäbchen (*rods*), Bändern (*tapes*) oder auch Lipid-Nanoröhren (*lipid nanotubes*) führen (Fuhrhop *et al.* 1993, Masuda & Shimizu 2004, Kameta *et al.* 2007a, Kameta *et al.* 2007b), deren innerer und äußerer Durchmesser gezielt kontrolliert werden kann (Shimizu *et al.* 2005). Eine *interdigitierte* Orientierung der unsymmetrischen Bolalipide kann hingegen die Ausbildung von Monolayer-Aggregaten bedingen (Masuda & Shimizu 2001, Masuda & Shimizu 2004).

Aufbauend auf diesen Erkenntnissen ist ein Schwerpunkt dieser Arbeit, die neu dargestellten, symmetrischen und unsymmetrischen Bolalipide hinsichtlich ihres Aggregationsverhaltens in wässriger Volumenphase zu charakterisieren. Dabei werden der Einfluss der Kopfgruppen- und Alkylkettenvariationen, der Alkylkettenlänge sowie die Auswirkungen einer Molekülasymmetrie auf die Form und Stabilität der gebildeten Aggregate beleuchtet. Damit soll ein wesentlicher Beitrag zum Verständnis des Zusammenhangs zwischen chemischer Struktur des Bolalipids und ausgebildeter Aggregatform geleistet werden.

Potentielle Anwendungen bipolarer Amphiphile

Neben der eher grundlagenorientierten, physiko-chemischen Charakterisierung des Aggregationsverhaltens der reinen Bolalipide in wässriger Volumenphase, sollen im Rahmen dieser Arbeit zudem mögliche Anwendungen dieser besonderen Lipidklasse ausgelotet werden. Im Vordergrund standen dabei pharmazeutisch-technologische Anwendungen (*liposomal drug delivery*) bzw. eine Nutzung im Bereich der Materialwissenschaften.

Liposomen, aufgebaut aus klassischen Phospholipiden, wie beispielsweise 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin (DPPC) oder 1,2-Dioleoyl-*sn*-glycero-3-phos-

phoethanolamin (DOPE), werden vielfach als *drug delivery*-Systeme angewendet (Allen & Cullis 2013, Fariya *et al.* 2015). Neben der intravenösen Gabe solch liposomal formulierter Arzneistoffe, z. B. Amphotericin B in AmBisome[®] (Hann & Prentice 2001) oder Doxorubicin in Doxil[®] (James *et al.* 1994, Barenholz 2012), wird derzeit auch der Einsatz dieser Systeme für andere Applikationswege beforscht. Beispielhaft angeführt seien die intravitreale (Bochot & Fattal 2012) und die transdermale (Schroeter *et al.* 2010, Gómez *et al.* 2012) Route. Aber auch die Möglichkeit der oralen Applikation von problematischen Arzneistoffen steht im Fokus der Forschung (Fricker *et al.* 2010). Als problematische Arzneistoffe sind hier in erster Linie in Wasser schwerlösliche Arzneistoffe anzuführen, deren Bioverfügbarkeit durch liposomale Formulierungen erhöht werden kann. Dies wurde für Ciclosporin (Czogalla 2008), Fenofibrat (Chen *et al.* 2009) und Insulin (Degim *et al.* 2006, Li *et al.* 2010) gezeigt. Dennoch besitzen diese liposomalen Formulierungen auch Nachteile; hervorzuheben sind hier insbesondere Stabilitätsprobleme: Zum einen verlieren die Liposomen selbst die Integrität, besonders nach oraler Applikation, und zum anderen weisen die Bestandteile der Liposomen, die Phospholipide, eine chemische Instabilität unter physiologischen Bedingungen auf, wie sie z. B. im Gastrointestinaltrakt vorzufinden sind. Zudem besteht die Gefahr, dass die in den Körper eingebrachten Liposomen schnell opsonisiert und vom retikuloendothelialen System (RES) aufgenommen werden. Letzteres kann durch Verwendung von Polyethylenglycol(PEG)-modifizierten Liposomen (Allen *et al.* 1991, Barbeau *et al.* 2011, Jiblaoui *et al.* 2016) teilweise unterbunden werden, was zu sogenannten *stealth liposomes* führt, welche nach intravenöser Gabe eine erhöhte Zirkulationshalbwertszeit aufweisen (Allen *et al.* 2002).

Eine Möglichkeit, die genannten Stabilitätsprobleme der Liposomen zu umgehen, besteht in der Verwendung von bipolaren Phospholipiden. Diese Bolalipide können sich in gestreckter Form in Phospholipid-Bilayer einbauen und so zu einer Stabilisierung dieser Bilayer und folglich der Liposomen führen (Abbildung 5).

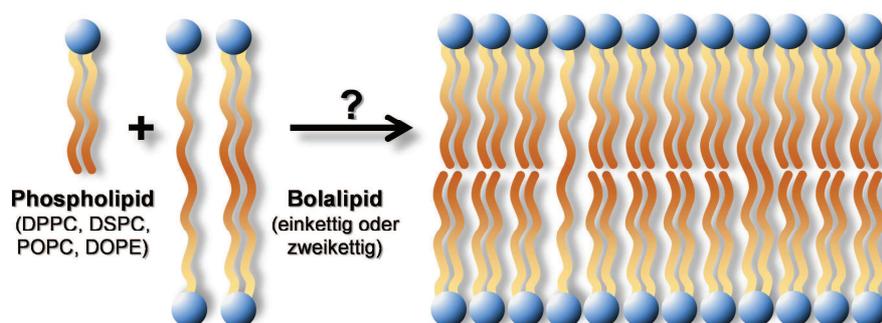


Abbildung 5: Schema einer möglichen Ausbildung von gemischten Bilayer-Membranen bestehend aus klassischen Phospholipiden und ein- bzw. zweikettigen Bolalipiden in gestreckter Konformation.

Die Anwendbarkeit des Konzepts der Stabilisierung von Liposomen unter Zuhilfenahme von natürlichen oder (teil)synthetischen Bolalipiden wurde bereits durch mehrere Arbeitsgruppen belegt. So verwendet die Gruppe von BENVEGNI verschiedene artifizielle Tetraetherlipide, um die Stabilität der daraus hergestellten Liposomen

(genannt Archaeosomen) in Gegenwart von Gallensalzen, Serumbestandteilen und niedrigen pH-Werten zu evaluieren (Benvegna *et al.* 2005, Réthoré *et al.* 2007, Jacquemet *et al.* 2009). Die Gruppe um XU verwendete ebenfalls Archaeosomen, hergestellt aus der polaren Lipidfraktion E (PLFE) von *Sulfobolus acidocaldarius*, für die orale Applikation von Insulin (Li *et al.* 2010). BRANDL *et al.* zeigten, dass Liposomen, welche aus Lipiden von *Sulfobolus islandicus* bestehen, gegenüber Gallensalzen stabil sind (Jensen *et al.* 2015), wohingegen BAKOWSKY *et al.* wiederum Tetraetherlipide von *Sulfobolus acidocaldarius* verwendeten, um mit Chlorin e6 beladene DPPC-Vesikel zu stabilisieren (Mahmoud *et al.* 2015). Schließlich entwickelten FRICKER *et al.* Liposomen, bestehend aus DPPC und Tetraetherlipiden, für die orale Applikation von Octreotide, einem synthetischen Analogon des Peptidhormons Somatostatin (Parmentier *et al.* 2011a, Parmentier *et al.* 2011b), sowie von Myrcludex B, einem in klinischer Studie befindlichen Peptidwirkstoff gegen Hepatitis B und D (Uhl *et al.* 2016).

Erste Untersuchungen zur Mischbarkeit zwischen dem unmodifizierten PC-C32-PC und DPPC, 1,2-Dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin (DMPC) bzw. 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin (POPC) wurden von MEISTER durchgeführt (Meister *et al.* 2007a). Während das Bolalipid nur in kleinsten Anteilen in die Membran der DPPC-Vesikel eingebaut wird, bevorzugt das im Überschuss angebotene DPPC eine Einlagerung in die hydrophoben Taschen der PC-C32-PC-Nanofasern. Letzteres führt zu einer Stabilisierung der Faserstruktur und wird an der Verschiebung des DSC-Umwandlungspeaks für PC-C32-PC zu höheren Temperaturen sichtbar. Cryo-TEM-Aufnahmen zeigen deutlich das Vorliegen von Vesikeln (DPPC) und Nanofasern (PC-C32-PC) schon bei einem Mischungsverhältnis von 1 : 16, PC-C32-PC : DPPC.

Als Ursache für diese Nichtmischbarkeit von PC-C32-PC mit klassischen Phospholipiden können Packungsprobleme angenommen werden: Aufgrund der relativ großen Querschnittsfläche der PC-Kopfgruppe im Vergleich zum kleinen Querschnitt der Alkylkette des PC-C32-PC führt der Einbau des Bolalipids in gestreckter Konformation in die DPPC-Membran zu einem Hohlraum, welcher weder durch DPPC noch durch das Bolalipid selbst „ausgefüllt“ werden kann. Ein Einbau ist daher energetisch unvorteilhaft und die Aggregation des PC-C32-PC in Nanofasern wird bevorzugt.

Aufbauend auf diesen Erfahrungen sollen die in dieser Arbeit neu synthetisierten, symmetrischen und unsymmetrischen Bolalipide umfangreichen Mischungsstudien unterzogen werden. Ziel dieser Untersuchungen war und ist es, ein einfach zu synthetisierendes (artifizielles) Bolalipid aufzufinden, welches sich stabilisierend in Bilayer-Membranen klassischer Phospholipide einbaut und so zu neuartigen Vehikeln für die orale Applikation problematischer Arzneistoffe führen kann.

Ein weiteres, mögliches Anwendungsgebiet für die bipolaren Lipide stellen die Materialwissenschaften dar. Von großem Interesse sind hier sogenannte Hybridmaterialien; Materialien, die aus anorganischen und organischen Stoffen bestehen. Die Sol-Gel-Kondensation von Tetraethoxysilan (Tetraethylorthosilikat, TEOS) – auch als Silizifizierung bezeichnet – ist eine sehr vielversprechende Methode organische Materialien zu stabilisieren. Die daraus entstehenden organisch-anorganischen Hybridmaterialien werden

u. a. in Bereichen der Katalyse oder der kontrollierten Freisetzung von Arzneistoffen eingesetzt. Die Herstellung Silizium-basierter Komposite fußt auf der alkalischen Hydrolyse von neutralen Alkyloxid-Vorstufen, z. B. TEOS oder anderen modifizierten Orthosilikaten, und der sich anschließenden Assemblierung und Kondensation auf der Oberfläche der jeweiligen organischen Template. Auf diese Weise werden eine Vielzahl auf Silizium basierender Nanostrukturen hergestellt, wobei die verschiedensten, organischen Template, wie Tenside (Kim *et al.* 1998, Zasadzinski *et al.* 2001), Peptidfibrillen (Meegan *et al.* 2004), Phospholipide (Baral & Schoen 1993, Bégu *et al.* 2003, Bégu *et al.* 2004, Binder *et al.* 2007) oder Diblockcopolymeren (Binder & Sachsenhofer 2008) zum Einsatz kommen.

Die erzeugten Hybridmaterialien können u. a. genutzt werden, um Gold-Nanopartikel (AuNP) in wässriger Lösung eindimensional anzuordnen. Diese eindimensionale Anordnung von Gold- oder anderen NP spielt in Bereichen der Nano-Optik, Katalyse, Sensorik sowie Nano-Elektronik eine wichtige Rolle (Rao *et al.* 2000, Schmid *et al.* 2001, Warner & Hutchison 2003, Liu & Lu 2005, Rosi & Mirkin 2005, Moores & Goettmann 2006, Corma & Garcia 2008, Das *et al.* 2012). Jedoch ist die Bildung eindimensionaler Anordnungen von Metallen in wässriger Lösung eine sehr schwierige Aufgabe, da die Metallpartikel häufig zu zwei- und dreidimensionalen Strukturen aggregieren. Aus diesem Grund sind bisher nur sehr wenige Beispiele bekannt, wo die eindimensionale Anordnung von NP in wässriger Lösung funktioniert. Zu nennen sind hier verschiedene Biopolymere (z. B. DNA) oder auch Lipidröhren, die als organische Template dienen (Alivisatos *et al.* 1996, Burkett & Mann 1996, Takagi & Ishiwatari 2002, Wyrwa *et al.* 2002, Bae *et al.* 2005, In *et al.* 2005). In ersten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Nanofasern bestehend aus unmodifizierten Bolalipiden zur eindimensionalen Fixierung von AuNP (mit einem Durchmesser von 5 nm) in wässriger Lösung geeignet sind (Meister *et al.* 2008b). Die Beladung mit AuNP (5 nm) kann dabei durch Verwendung von Bolalipiden mit schwefelhaltigen Kopfgruppen erhöht werden. Allerdings werden die Nanofasern durch kleinere AuNP (2 nm) zerstört: TEM-Aufnahmen belegen, dass die kleineren NP in der Lage sind, tiefer in die hydrophoben Taschen der Bola-Nanofasern einzudringen und die hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Bolalipidmolekülen zu stören, was zum Zerfall der Nanofasern führte (Meister *et al.* 2008b).

Im Rahmen dieser Arbeit soll gezeigt werden, dass sich aus Bolalipiden aufgebaute Nanofasern als Templat für eine Silizifizierung eignen. Weiterhin soll untersucht werden, ob das so erzeugte Hybrid-Material für eine eindimensionale Anordnung von Gold-Nanopartikeln (AuNP) in wässriger Lösung nutzbar ist.

Die nachfolgende Zusammenstellung der Forschungsergebnisse ist in der vorliegenden Habilitationsschrift in drei Abschnitte unterteilt: Kapitel 2.1 befasst sich mit der Synthese ein- und mehrkettiger, symmetrischer und unsymmetrischer Bolalipide. In Kapitel 2.2 werden die Untersuchungen zum Aggregationsverhalten der reinen Bolalipide in wässriger Volumenphase vorgestellt und Einflüsse der chemischen Struktur der bipolaren Lipide auf die Aggregatform und -stabilität dargelegt. Abschließend befasst sich Kapitel 2.3 mit möglichen Anwendungen der artifiziellen Bolalipide.

AETPC-C32-AETPC geknüpft werden (Abbildung 6). Die Verwendung dieses Spacers erlaubt zudem eine große Variabilität der Kopfgruppenstruktur, denn an die primäre Aminogruppe des 2-Azidoethylamins können vor der Verknüpfung mit dem Propinyl-Bolalipid verschiedenste Carbonsäuren als Amid gekuppelt werden. Damit besteht die Möglichkeit auch sehr große Moleküle in die Kopfgruppe der Bolalipide einzuführen. Die Anwendbarkeit dieser Synthesestrategie wurde mit drei Beispielen (Liponsäure, Sorbinsäure, di-Boc-Lysin) belegt; jedoch sind auch andere Strukturen, wie Fluoreszenz- oder ESR-Label, kleine Peptidfragmente zur Targetierung oder Polyethylenoxid-Einheiten denkbar.

2.1.1.2 Variationen im Alkylkettenbereich

(Vgl. Anlagen **A3**, **A5** und **A6**)

Diacetylen-Modifikationen (A3)

Die Einführung von mittelständigen Diacetylengruppen in die Alkylkette von einkettigen Bolalipiden erfolgte vor dem Hintergrund, polymerisierbare Bolalipide und damit gegebenenfalls thermostabile Nanofasern zu erhalten. Eine retrosynthetische Betrachtung der Zielmoleküle ergab, dass ω -Alkin-1-ole unterschiedlicher Kettenlänge eine zentrale Rolle in der Synthese einnehmen. Diese können in einer Kupfer(II)-katalysierten, oxidativen Kupplung nach EGLINTON zu Alkadiin-1, ω -diolen verknüpft (Eglinton & Galbraith 1959) und abschließend zu den gewünschten Bolalipiden umgesetzt werden.

Für die Synthese der ω -Alkin-1-ole werden drei verschiedene Routen diskutiert. Der Formaldehyd-Weg startet mit langkettigen, endständigen Alkinen, welche im Sinne einer GRIGNARD-analogen Umsetzung mit Ethylmagnesiumchlorid und Paraformaldehyd zur Reaktion gebracht werden. Die zweite Route (Propargylalkohol-Weg) beginnt mit der Alkylierung von THP-geschütztem 2-Propin-1-ol unter Verwendung von langkettigen primären Alkylbromiden. Beide Wege resultieren in Alk-2-in-1-olen unterschiedlicher Kettenlänge. Die sich anschließende baseninduzierte Verschiebung der Dreifachbindung an das Ende der Alkylkette (Alkin-Zipper-Reaktion) zeigt die Grenzen dieser beiden Reaktionswege auf: Die Zipper-Reaktion unter Verwendung des Natriumsalzes (Macaulay 1980) bzw. des Lithium/Kaliumsalzes (Oppolzer *et al.* 2001) des 1,3-Diaminopropan ist nur bei Alk-2-in-1-olen bis zu einer Gesamtkettenlänge von 16 C-Atomen erfolgreich; ein Befund, der den Arbeiten von GODT *et al.* widerspricht (Godt *et al.* 2002).

Um die Zipper-Reaktion zu umgehen, wurde im dritten Reaktionsweg Lithiumacetylid direkt mit langkettigen, THP-geschützten ω -Bromalkan-1-olen alkyliert. Die Verwendung eines Lithiumacetylid-Ethylendiamin-Komplexes war aber mit drastischen Reaktionsbedingungen verbunden und führte zudem zum bisalkylierten Nebenprodukt. Mit der Verwendung von Lithium(trimethylsilyl)acetylid (Carballeira *et al.* 2007) wurde die Bildung des Nebenprodukts vermieden, was den zusätzlichen Reaktionsschritt – Abspaltung der Trimethylsilyl-Schutzgruppe mit Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (TBAF) – rechtfertigt. Nach der Abspaltung der verbliebenen THP-Schutzgruppe

gelangt man schließlich zu den gewünschten zentralen Zwischenprodukten. Diese als Acetylid-Weg bezeichnete Variante stellt im Vergleich zu den anderen beiden Wegen die beste Wahl zur Darstellung von ω -Alkin-1-olen im Hinblick auf Reaktionsführung und Ausbeuten dar. Die so erhaltenen ω -Alkin-1-ole mit einer Gesamtkettenlänge von 15–18 C-Atomen können, wie eingangs erwähnt, zu den entsprechenden Alkadiin-1, ω -diolen der Kettenlänge C30, C32, C34 und C36 gekuppelt werden (Eglinton & Galbraith 1959). Die abschließende Phosphorylierung und Quarternierung mit Tri- und Dimethylamin führt zu den in Abbildung 7 dargestellten Diacetylen-modifizierten Bolalipiden mit PC- bzw. Me₂PE-Kopfgruppen.

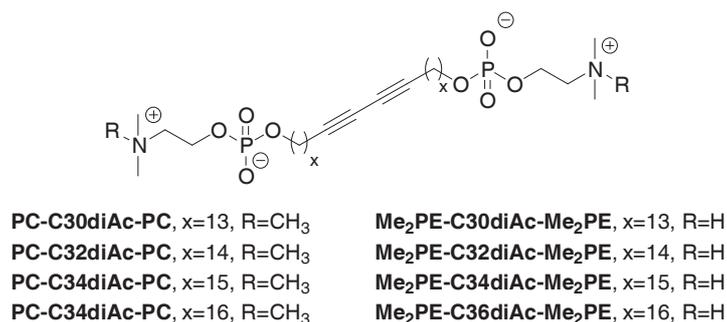


Abbildung 7: Chemische Struktur der Diacetylen-modifizierten Bolalipide.

Phenylen/Biphenylen-Modifikationen (A5, A6)

Die Einführung von ein oder zwei Phenylringen in die Alkylkette der Bolalipide geschah vor dem Hintergrund, den Querschnitt und somit den Platzbedarf der Alkylkette zu vergrößern, um eine Mischbarkeit mit klassischen, membranbildenden Phospholipiden zu erreichen (siehe Kapitel 2.3.1).

Für die Synthese Phenylen/Biphenylen-modifizierter Bolalipide bietet sich zunächst die bewährte Li₂CuCl₄-katalysierte GRIGNARD-Kupplung unter Verwendung von 1,4-Bis(chlormethyl)benzen oder 4,4'-Bis(chlormethyl)-1,1'-biphenyl – bzw. den analogen Bromderivaten – und langkettigen THP-geschützten ω -Bromalkan-1-olen an. Da es sich um eine zweifache GRIGNARD-Reaktion handelt, wird der Terminus „Bis-Kupplung“ eingeführt. Von Nachteil bei dieser Bis-Kupplung ist jedoch die Bildung der Phenylfreien Nebenprodukte, wenn das GRIGNARD-Reagenz des THP-geschützten ω -Bromalkan-1-ols mit nicht umgesetztem Edukt reagiert. Dies ist nicht *per se* nachteilig, jedoch konnte im Falle des Zwischenprodukts THPO-C16pPhC16-OTHP dieses nicht vom Nebenprodukt (THPO-C30-OTHP) aufgrund des sehr ähnlichen chromatographischen Verhaltens abgetrennt werden. Im Falle des Biphenylen-Derivates konnte das THPO-C12pPh2C12-OTHP vom Nebenprodukt THPO-C22-OTHP durch mehrfache Chromatographie und Umkristallisation getrennt werden. Nach Abspaltung der THP-Schutzgruppen und Einführung der PC-Kopfgruppen konnte auf dem Weg der GRIGNARD-Bis-Kupplung das PC-C12pPh2C12-PC in reiner Form erhalten werden. Das entsprechende Phenylen-Derivat (PC-C16pPhC16-PC, Abbildung 8) ist über diesen Syntheseweg nicht in reiner Form darstellbar; das Phenylen-freie Nebenprodukt PC-C30-PC war in allen Fraktionen der chromatographischen Reinigung nachweisbar.

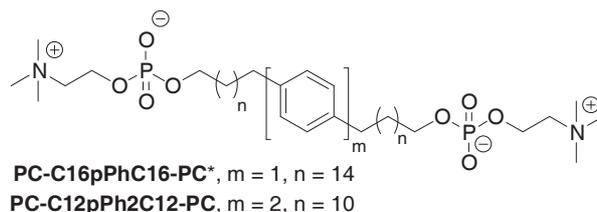


Abbildung 8: Chemische Struktur der Phenylen-Bolalipide, welche über GRIGNARD-Kupplung dargestellt wurden. (* Bei Verwendung der GRIGNARD-Bis-Kupplung ist das Produkt mit dem Phenylen-freien PC-C30-PC verunreinigt.)

Um dennoch einen Zugang zum PC-C16pPhC16-PC zu erhalten, wurde eine zwei-stufige GRIGNARD-Kupplung etabliert. Hierzu wird ein unsymmetrisch substituiertes Xylenderivat, [4-(Chlormethyl)phenyl]methanol, nach Schützen der freien OH-Gruppe zunächst ein erstes Mal mit einem GRIGNARD-Reagenz umgesetzt und nach Überführung der OH-Gruppe in ein Bromid erfolgt die zweite GRIGNARD-Reaktion. Nach Abspalten der Schutzgruppen und Einführung der PC-Kopfgruppen konnte das PC-C16pPhC16-PC (Abbildung 8) in reiner Form dargestellt werden.

Diese stufenweise GRIGNARD-Kupplung bietet noch einen weiteren Vorteil: Durch Verwendung von unterschiedlichen GRIGNARD-Reagenzien für die erste und zweite GRIGNARD-Reaktion können auf diese Weise sehr elegant unterschiedliche Alkyl-Kettenlängen bzw. verschiedenartige Kopfgruppen in das Phenylen-modifizierte Bolalipid eingeführt werden. Dies führt in der Folge zu unsymmetrischen Bolalipiden (Kapitel 2.1.2.2).

Neben der GRIGNARD-Reaktion sind auch noch andere C–C-Kupplungsreaktionen für den Aufbau der langkettigen, Phenylen-modifizierten 1, ω -Diole und nachfolgend der Bolalipide denkbar. Die SONOGASHIRA-Kupplung (oder auch SONOGASHIRA-TOHDA-HAGIHARA-Kupplung) (Sonogashira *et al.* 1975) ist dabei eine der meist genutzten und effektivsten Reaktionen zur C–C-Knüpfung in der organischen Synthese (Chinchilla & Nájera 2007, Doucet & Hierso 2007). Diese Palladium-katalysierte Kreuzkupplung führt jedoch durch Verwendung von Kupfer(I)-Ionen als Co-Katalysator oft zu homokuppelten Nebenprodukten der terminalen Alkine (Siemsen *et al.* 2000), welche aufgrund ähnlicher chromatographischer Eigenschaften schwierig vom gewünschten Produkt abzutrennen sind.

Um die Bildung dieser Nebenprodukte zu umgehen, wurde eine kupferfreie Variante der SONOGASHIRA-Kupplung etabliert. Cu-freie Varianten dieser Kreuzkupplung sind bereits in der Literatur beschrieben (Soheili *et al.* 2003, Lipshutz *et al.* 2008); jedoch nicht für Bis-SONOGASHIRA-Kupplungen, d.h. einer simultan durchgeführten zweifachen Kreuzkupplung wie im hier vorliegenden Fall.

Nach dem Prüfen verschiedener Palladium-Katalysatoren (wie Pd(CH₂CN)₂Cl₂, Pd(OAc)₂ oder PdCl₂(PPh₃)₂), Lösungsmittel und anderer Additive stellte sich die Verwendung von PdCl₂(PPh₃)₂ als Katalysator und TBAF¹ als beste Variante heraus.

¹ Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (TBAF) wird bei der verwendeten Reaktionstemperatur von 80 °C flüssig und stellt somit zugleich das Lösungsmittel (ionische Flüssigkeit) der SONOGASHIRA-Reaktion dar.

Durch Verwendung von terminalen Alkin-1-olen und Dibrombenzenen unterschiedlicher Substitutionsmuster konnten die entsprechenden kettenmodifizierten 1, ω -Dirole in Ausbeuten von 43–63 % erhalten werden. Nach katalytischer Hydrierung der beiden Dreifachbindungen und Einführung der PC-Kopfgruppen können die in Abbildung 9 gezeigten Phenylen-modifizierten Bolalipide dargestellt werden.

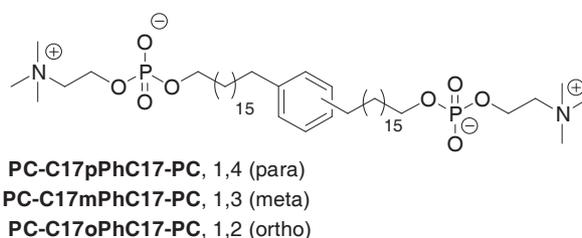


Abbildung 9: Chemische Struktur der Phenylen-Bolalipide, über SONOGASHIRA-Kupplung dargestellt.

Weitere Modifikationen

Neben den beschriebenen Modifikationen der Alkylkette von Bolalipiden durch Einführung von Diacetylengruppen bzw. ein oder zwei Phenylingen, wurden noch zwei weitere Variationen dargestellt (Abbildung 10): Zum einen das PC-C15AcC15-PC, ein Bolalipid mit einer zentralen Dreifachbindung, und zum anderen das PC-C32-10,23Me-PC (Heiser *et al.* 1997), welches zwei racemische Methylgruppen in der Alkylkette besitzt.

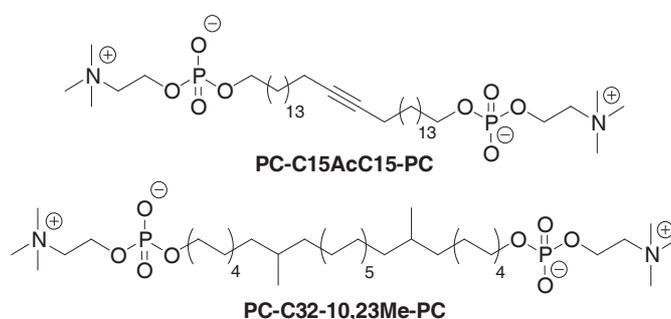


Abbildung 10: Chemische Struktur weiterer kettenmodifizierter Bolalipide.

2.1.2 SYNTHESEN EINKETTIGER, UNSYMMETRISCHER BOLALIPIDE

Die Einführung von Asymmetrie in einkettige Bolalipide erfordert einen höheren synthetischen Aufwand, da die klassischen Wege immer zu symmetrischen Verbindungen führen: die GRIGNARD-Kupplung, die EGLINTON-Kupplung oder auch die SONOGASHIRA-Kreuzkupplung. Es besteht natürlich die Möglichkeit, nur eine der beiden OH-Gruppen langkettiger 1, ω -Dirole z.B. durch eine Benzylisierung mit im Unterschuss vorliegenden Benzylbromid zu blockieren, jedoch erfordert dieser Weg eine aufwendige, chromatographische Reinigung der entstehenden Produkte. Effizienter ist es, die Synthese so zu gestalten, dass man direkt zu einfach geschützten 1, ω -Diolen gelangt.

2.1.2.1 Einkettige, unsymmetrische Bolalipide ohne Alkylkettenmodifizierung

(Vgl. Anlage A9)

Für die Synthese von symmetrischen Bolalipiden verwenden wir meist β -Bromethylphosphorsäuredichlorid (Hirt & Berchtold 1958) zur Einführung der Kopfgruppe. Nach erfolgter Phosphorylierung wird das zweite Chloratom am Phosphat in einer THF/Wasser-Mischung hydrolysiert. Anschließend erfolgt der Austausch des Broms gegen sekundäre bzw. tertiäre Amine. Bei dieser Reaktionsführung tritt stets ein Nebenprodukt mit Ausbeuten zwischen 5 und 15 % auf. Durch hochaufgelöste MS und H,H-COSY-NMR Untersuchungen konnte dieses Nebenprodukt als unsymmetrisches Bolalipid mit einer Phosphoglycol(POH)-Kopfgruppe identifiziert werden; die zweite Kopfgruppe ist die jeweils „gewünschte“. Ursache für die Bildung des Phosphoglycols ist der nukleophile Austausch des Bromatoms gegen Wasser, welches weiter zur OH-Gruppe reagiert, während der Hydrolyse des Chloratoms am Phosphat. Obwohl diese Hydrolyse des Phosphorsäurechlorids viel schneller abläuft, scheint der Austausch $\text{Br} \rightarrow \text{OH}$ bei jeder Phosphorylierung aufzutreten und demnach ein generelles Problem des β -Bromethylphosphorsäuredichlorids zu sein. Änderungen in der Reaktionsführung erbrachten keinen Erfolg hinsichtlich der Eliminierung dieses Nebenprodukts. Die in Abbildung 11 (links) gezeigten, unsymmetrischen Bolalipide konnten als Nebenprodukt bei der Synthese der entsprechenden symmetrischen Analoga nachgewiesen und charakterisiert werden.

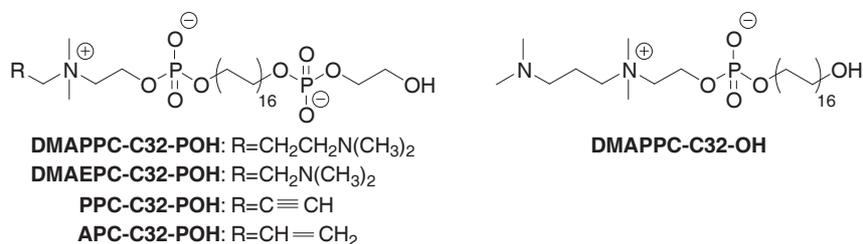


Abbildung 11: Links: Chemische Struktur unsymmetrischer Bolalipide, die als Nebenprodukt bei der Synthese der symmetrischen Analoga auftraten. Rechts: Chemische Struktur des DMAPPC-C32-OH.

Um die gefundene Struktur z.B. des DMAPPC-C32-POH eindeutig zu bestätigen, musste eine alternative Syntheseroute hin zu unsymmetrischen Bolalipiden etabliert werden. Als erfolgreich erwies sich dabei die Verwendung von THP-geschützten ω -Bromalkan-1-olen, z.B. das THPO-C15-Br. Dieses kann in zwei Stufen in das analoge, Benzyl-geschützte ω -Bromalkan-1-ol (Br-C15-OBn) überführt werden. Die GRIGNARD-Reaktionen dieser beiden, unterschiedlich blockierten Bromalkohole führt nach Abspaltung der THP-Schutzgruppe zum HO-C32-OBn, einem einfach geschützten 1, ω -Diol. Nach Einführung der DMAPPC-Kopfgruppe und katalytischer Hydrierung der verbliebenen Benzyl-Schutzgruppe konnte mit dem DMAPPC-C32-OH ein weiteres unsymmetrisches Bolalipid synthetisiert werden (Abbildung 11, rechts), welches einen sehr großen Unterschied in der Größe der beiden Kopfgruppen aufweist. Für die abschließende Einführung der Phosphoglycol-Kopfgruppe sind in der Literatur mehrere

Alternativen beschrieben: So nutzten EIBL oder DE JONGH POCl_3 und eine nachfolgende Reaktion mit Ethylenglycol (Eibl 1978, de Jongh & de Kruijff 1990), während DIJKMAN oder CAMPINS auf die Methode mit 2-Chlor-2-oxo-1,3,2-dioxaphospholan zurückgriffen (Dijkman *et al.* 1990, Campins *et al.* 2007). Um die Vergleichbarkeit zur Synthese der symmetrischen Analoga zu gewährleisten, wurde hier das bewährte β -Bromethylphosphorsäuredichlorid verwendet. Anstelle der Quarternierung wurde der Austausch $\text{Br} \rightarrow \text{OH}$ durch Reaktion im schwach alkalischen Medium bei leicht erhöhter Temperatur gewissermaßen erzwungen.

2.1.2.2 Einkettige, unsymmetrische Bolalipide mit Phenylmodifizierung

(Vgl. Anlage **A11**)

Neben den unsymmetrischen Bolalipiden mit unmodifizierter Alkylkette wurde auch ein Vertreter mit Phenylmodifizierung innerhalb der Alkylkette synthetisiert. Wie schon in Kapitel 2.1.1.2 dargelegt, kommt für die Darstellung eine zweifache GRIGNARD-Reaktion an einem unsymmetrisch substituierten Xylenderivat in Betracht. Da dieser Reaktionsweg aber sehr zeitaufwendig ist, wurde nach einem alternativen Weg gesucht. Die ebenfalls in Kapitel 2.1.1.2 vorgestellte SONOGASHIRA-Kreuzkupplung stellt auch hier eine elegante Alternative dar. Bei der Bis-SONOGASHIRA-Kupplung fällt immer das mono-gekuppelte Nebenprodukt (HO-C15pAcPh-Br) in Ausbeuten zwischen 5 und 20% an. Durch Anpassungen der Reaktionsführung kann die Ausbeute auf 51% erhöht werden. Dieses Nebenprodukt dient nun als Edukt für eine zweite SONOGASHIRA-Kupplung. Dabei führt die Verwendung eines Benzyl-geschützten ω -Alkin-1-ols zu einem einfach geschützten, Phenyl-modifizierten 1, ω -Diol ($\text{HO-C15pAcPhAcC15-OBn}$). Letzteres wird durch Einführung der PC-Kopfgruppe und katalytischer Debenzylierung bei zeitgleicher Reduktion der beiden Dreifachbindungen zum gewünschten unsymmetrischen Bolalipid PC-C17pPhC17-OH umgesetzt (Abbildung 12).

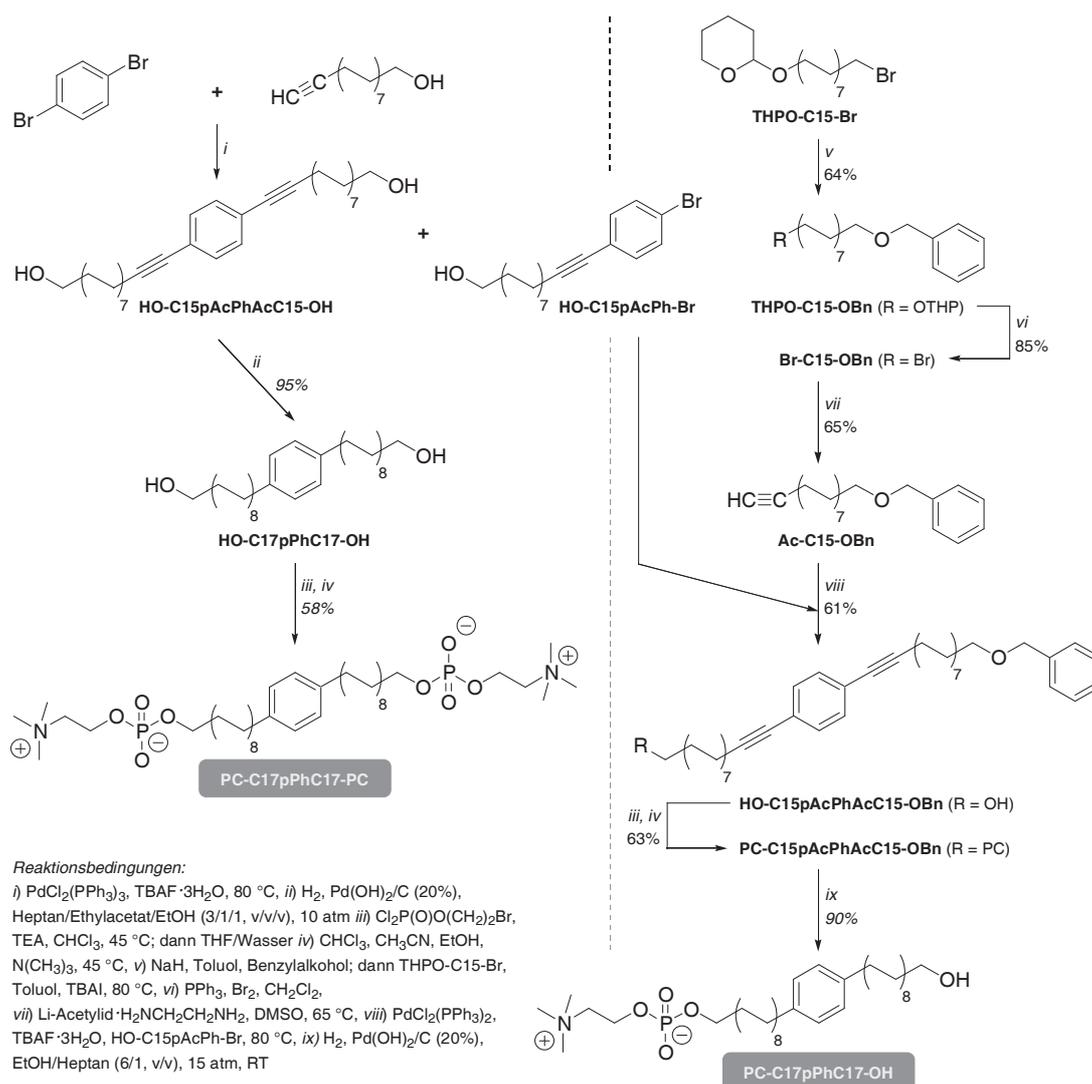


Abbildung 12: Syntheschema zur Darstellung des symmetrischen PC-C17pPhC17-PC (links) und des unsymmetrischen PC-C17pPhC17-OH (rechts) (TBAF: Tetra-*n*-butylammoniumfluorid, TEA: Triethylamin, TBAI: Tetra-*n*-butylammoniumiodid).

2.1.3 SYNTHESEN MEHRKETTIGER, SYMMETRISCHER BOLALIPIDE

(Vgl. Anlagen A4 und A13)

Die Zielstruktur der mehrkettigen, symmetrischen Bolalipide ist an die Struktur der natürlich vorkommenden, archaealen Membranlipide angelehnt. Die Tetraetherlipide bestehen aus einer durchspannenden C32-Alkylkette in *sn*-3-Position, einer C16-Alkylkette in *sn*-2-Position sowie der PC-Kopfgruppe in *sn*-1-Position des Glycerols. Zusätzlich wurden zwei oder vier Methylgruppen an definierten Positionen der Alkylketten eingeführt: in 10- und 10'-Position der langen Alkylkette und/oder in 10-Position der kurzen Alkylkette. Darüber hinaus liegen diese Methylverzweigungen entweder in optisch reiner Form (*R*-Konfiguration; in Analogie zu den Methylverzweigungen in natürlichen Tetraetherlipiden) oder als Racemat vor. Daraus ergaben sich sechs Vertreter der mehrkettigen, symmetrischen Tetraetherlipide (Abbildung 13).

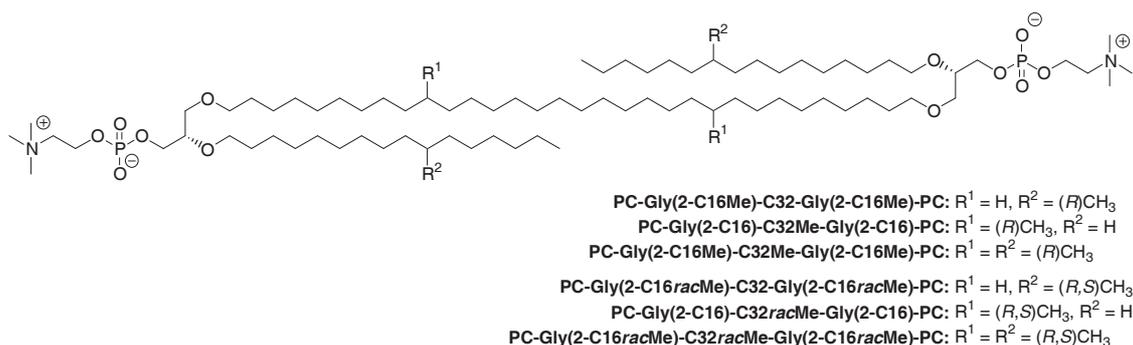


Abbildung 13: Chemische Struktur der Diglyceroltetraetherlipide.

Die Darstellung der Diglyceroltetraetherlipide wurde unter Einsatz der Metathese-Reaktion durchgeführt. Die Einführung der optisch reinen Methylverzweigungen erfolgt dabei durch Verwendung einer optisch aktiven Ausgangsverbindung, dem (*S*)-Citronellylbromid. Nach Ozonolyse mit reduktiver Aufarbeitung und zweifacher Kettenverlängerung mittels GRIGNARD-Reaktion werden zwei langkettige Alkylbromide mit optisch reiner Methylgruppe erhalten. Die Einführung der racemischen Methylgruppen erfolgt entweder durch Verwendung des (*RS*)-Citronellylbromids und analoger Syntheseführung oder durch Anwendung der Malonester-Chemie. Der Aufbau der Glycerolbausteine startet mit (*S*)-1,2-*O*-Isopropylidenglycerol (IP-Glycerol). Nach Einführung der ersten Alkylkette (mit endständiger Doppelbindung) in *sn*-3-Position und Spaltung der IP-Schutzgruppe erfolgt die selektive Blockierung der *sn*-1-Position. Dies kann entweder durch Tritylierung oder durch Benzylierung unter Verwendung von Dibutylzinnoxid erfolgen. Danach wird die zweite Alkylkette in die *sn*-2-Position eingeführt, bevor abschließend zwei Glycerolbausteine durch Metathese-Reaktion verknüpft werden. Die zentral in der langen Alkylkette verbleibende Doppelbindung wird danach durch Hydrierung am Palladiumkontakt reduziert; dabei werden sogleich die Trityl- bzw. Benzylschutzgruppen entfernt. Die so dargestellten 3,3'-*O*-(Alkan-1,1'-diyl)-bis(2-*O*-alkyl-*sn*-glycerol)e mit unterschiedlicher Anzahl an optisch reinen oder racemischen Methylgruppen können nunmehr nach bewährter Methode phosphoryliert und quarteriert werden.

Alternativ zur dargelegten Variante der Metathese-Reaktion wurde ein weiteres Verfahren zur Verknüpfung der Glycerolbausteine etabliert. Dieses basiert auf der Alkylierung von (*S*)-1,2-*O*-Isopropylidenglycerol mit langkettigen, unverzweigten oder 10,10'-dimethylierten 1,ω-Dibromiden bzw. 1,ω-Bis(mesylenen), welche aus den entsprechenden 1,ω-Diolen leicht herstellbar sind. Diese zweifache, verknüpfende *O*-Alkylierung, d.h. die Einführung der durchspannenden Alkylkette, gelingt in guten Ausbeuten zwischen 43–56%. Nach Spaltung der IP-Gruppe und selektiver Tritylierung der *sn*-1-Position erfolgt die Einführung der zweiten Alkylkette in die *sn*-2-Position. Auch hierbei handelt es sich um eine zweifache *O*-Alkylierung, die wiederum mit sehr guten Ausbeuten (47–57%) – insbesondere vor dem Hintergrund der hohen sterischen Ansprüche bedingt durch die Tritylgruppe in *sn*-1- und die lange Alkylkette in *sn*-3-Position – durchführbar ist.

2.1.4 SYNTHESEN MEHRKETTIGER, UNSYMMETRISCHER BOLALIPIDE

(Vgl. Anlage **A14**)

Neben den Diglyceroltetraetherlipiden (Kapitel 2.1.3) wurde eine neue Substanzklasse der glycerolhaltigen, mehrkettigen Bolalipide eingeführt: die unsymmetrischen Glyceroldietherlipide. Diese zeichnen sich durch eine unverzweigte C32-Alkylkette mit endständiger OH-Gruppe in *sn*-3-Position, eine Hexadecyl- oder (*RS*)-10-Methylhexadecyl-Kette in *sn*-2-Position und eine PC-Kopfgruppe in *sn*-1-Position des Glycerols aus (Abbildung 14). Bedingt durch dieses Alkylierungsmuster am Glycerol und der Verteilung der beiden Kopfgruppen besitzen die hier vorgestellten Glyceroldietherlipide eine stark keilförmige Molekülstruktur.

Die Synthese der Glyceroldietherlipide startet wiederum vom (*S*)-1,2-*O*-Isopropylidenglycerol. Die erste Alkylierung in *sn*-3-Position erfolgt durch Benzylgeschütztes 32-Bromdotriacontan-1-ol. Eine ebenfalls durchgeführte Alkylierung unter Verwendung des entsprechenden Mesylats lieferte eine geringere Ausbeute. Danach wird die IP-Schutzgruppe entfernt, die *sn*-1-Position selektiv trityliert, die zweite Alkylkette in die *sn*-2-Position eingeführt und die Trityl-Schutzgruppe wieder selektiv entfernt. Nach Einführung der PC-Kopfgruppe in *sn*-1-Position erfolgt die hydrogenolytische Spaltung der verbliebenen Benzylgruppe.

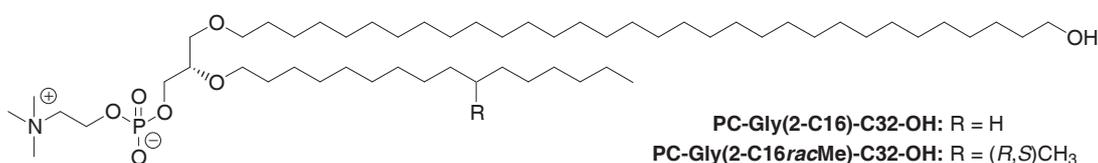


Abbildung 14: Chemische Struktur der Glyceroldietherlipide.

2.2 EIGENSCHAFTEN – AGGREGATIONSVERHALTEN BIPOLARER AMPHIPHILE IN WÄSSRIGER VOLUMENPHASE

2.2.1 EINFLUSS DER KOPFGRUPPENVARIATIONEN UND DER ALKYLKETTENLÄNGE

(Vgl. Anlagen **A1** und **A2**)

PC-Kopfgruppen mit Aminfunktion (A1)

Die beiden Amin-modifizierten Bolalipide AEPC-C32-AEPC und AETPC-C32-AETPC (Abbildung 6) besitzen aufgrund der zusätzlichen Aminfunktion in der PC-Kopfgruppe einen pH-Wert-abhängigen Protonierungsgrad: Im alkalischen Milieu (ca. ab einem pH-Wert von 10) ist die Aminogruppe deprotoniert und die Kopfgruppe, vergleichbar mit einem unmodifizierten Phosphocholin, zwitterionisch. Im neutralen Bereich besitzt die Kopfgruppe durch Protonierung der Aminogruppe eine positive Nettoladung und im stark sauren Milieu ($\text{pH} < 3.3$) zwei positive Nettoladungen, bedingt durch die Protonierung der Phosphatgruppe (Köhler *et al.* 2006a). Zudem könnte die deprotonierte Aminogruppe, analog der in einer früheren Arbeit eingeführten Hydroxygruppe (Drescher *et al.* 2008), über mögliche intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zur Stabilität der gebildeten Aggregate (Nanofasern) beitragen.

Für das AEPC-C32-AEPC zeigen EM-Aufnahmen kontrastierter Proben die Ausbildung von kurzen Faserstücken bis zu einer Länge von 50 nm bei $\text{pH} = 6$ (positiv geladene Kopfgruppe) und lange, flexible Nanofasern mit Längen von über einem Mikrometer bei $\text{pH} = 10$ (zwitterionische Kopfgruppe). Sehr wahrscheinlich führt die positive Kopfgruppenladung im sauren Milieu zur Abstoßung zwischen einzelnen Bolamolekülen. Dass sich dennoch kurze Faserstücke ausbilden, ist mutmaßlich einer nicht vollständigen Protonierung der Aminogruppe zuzuschreiben.

Die DSC-Heizkurve einer Suspension von AEPC-C32-AEPC weist zwei endotherme Umwandlungen im Temperaturbereich zwischen 2 und 95 °C auf, wobei auch hier der Einfluss des pH-Wertes sichtbar wird: Während bei $\text{pH} = 6$ die Umwandlungen bei $T_{m1} = 18.2^\circ\text{C}$ und $T_{m2} = 57.0^\circ\text{C}$ liegen, steigen diese Werte bei $\text{pH} = 10$ auf 44.0°C für T_{m1} und 70.0°C für T_{m2} . Die Ursache hierfür ist ebenfalls in der Abstoßung der positiv geladenen Kopfgruppen des AEPC-C32-AEPC im sauren Milieu zu finden. Die erste Umwandlung rührt vom Zerfall der Nanofasern in sphärische Mizellen her, während die zweite, sehr breite Umwandlung einem Übergang zwischen zwei Mizelltypen (Typ-I und Typ-II) zuzuschreiben ist. Die Typ-II-Mizellen sind im Vergleich zu den Typ-I-Mizellen kleiner, was durch DLS-Messungen belegt ist. Interessant in diesem Zusammenhang ist der Befund, dass die Einführung einer Aminogruppe nicht zu einer Erhöhung der Faser-Mizell-Umwandlungstemperatur führt, was aufgrund einer möglichen Wasserstoffbrückenbindung zu Nachbarmolekülen plausibel erschien.

Für das analoge AETPC-C32-AETPC wird ein vergleichbares Aggregationsverhalten beobachtet. Im Unterschied zum AEPC-C32-AEPC besitzt dieses Amin-modifizierte Bolalipid einen zusätzlichen 1,2,3-Triazolring zwischen der primären Aminogruppe und

der PC-Kopfgruppe (Abbildung 6). Dies führt aufgrund der erhöhten sterischen Beanspruchung zu leicht erniedrigten Umwandlungstemperaturen ($T_{m1} = 41.6^\circ\text{C}$ und $T_{m2} = 59.0^\circ\text{C}$) bei $\text{pH} = 10$. Im schwach sauren Milieu hingegen kann eine im Vergleich zum AEPC-Analogon um 6.4 K erhöhte Faser-Mizell-Umwandlungstemperatur ($T_{m1} = 24.6^\circ\text{C}$) gemessen werden. Ursache kann dabei wiederum eine unvollständige Protonierung der Aminogruppe sein und/oder ein stabilisierender Effekt des Triazolrings. EM-Aufnahmen kontrastierter Proben bei $\text{pH} = 6$ zeigen zudem, dass die Faserbruchstücke im Vergleich zum AEPC-Derivat mit 300 nm etwas länger sind und eine parallele Anordnung aufweisen.

Auswirkungen der Alkylkettenlänge – die Bildung drachenförmiger Aggregate (A2)

Interessant ist die Frage, ob sich bei Verlängerung der Alkylkette neben den bekannten Nanofasern neue Aggregatformen ausbilden. Zu diesem Zweck wurden Bolalipid-Derivate mit 34 und 36 C-Atomen untersucht. Darüber hinaus kamen teildeuterte Varianten dieser Bolalipide mit zwölf zentralen CD_2 -Gruppen für FTIR und NMR-Experimente zum Einsatz (Abbildung 15).

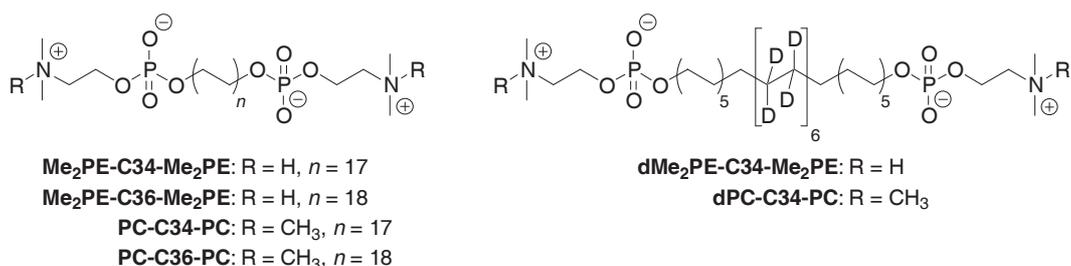


Abbildung 15: Chemische Struktur der Bolalipide $\text{Me}_2\text{PE-C}_n\text{-Me}_2\text{PE}$ (R = H) und $\text{PC-C}_n\text{-PC}$ (R = CH₃) mit $n = 34$ oder 36 C-Atomen sowie der teildeuterten Bolalipide $\text{dMe}_2\text{PE-C34-Me}_2\text{PE}$ (R = H) und dPC-C34-PC (R = CH₃).

Die Vertreter der Bis(phosphocholine) PC-C34-PC , PC-C36-PC und dPC-C34-PC zeigen ein den kurzkettingen Analoga vergleichbares Aggregationsverhalten. Bei Raumtemperatur bilden sie ein transparentes Hydrogel; TEM-Aufnahmen vitrifizierter Proben bestätigen das Vorliegen langer, quervernetzter Nanofasern. Ein Unterschied ist jedoch, dass in den Heizkurven der DSC-Messungen drei statt bisher zwei endotherme Umwandlungen detektierbar sind: Unterhalb der bekannten Faser-Mizell-Umwandlung erscheint eine neue Faser-Faser-Umwandlung, bei der die Anzahl der *gauche*-Konformere innerhalb der Alkylkette zwar zunimmt,² die Faserstruktur aber erhalten bleibt. Als drittes ist eine Umwandlung zwischen zwei verschiedenen Mizelltypen bei hohen Temperaturen detektierbar.

Einen auffallenden Unterschied im Aggregationsverhalten zeigen die Me_2PE -Vertreter mit 34 bzw. 36 C-Atomen. Zunächst bilden diese Bolalipide kein viskoses Hydrogel aus. In cryo-TEM-Aufnahmen wässriger Suspensionen von $\text{Me}_2\text{PE-C34-}$

² Die Fluidität (Beweglichkeit; *trans/gauche*-Verhältnis) der Alkylketten kann durch die Lage der CH_2 -Streckschwingungsbanden im IR bestimmt werden.

Me₂PE, Me₂PE-C36-Me₂PE und dMe₂PE-C34-Me₂PE sind zwei verschiedene Aggregattypen zu sehen: Neben langen Nanofasern, welche in Form und Größe denen der kurzkettigen Analoga entsprechen, sind auch rechteckige, lamellare Strukturen zu erkennen (Abbildung 16A). Interessanterweise befinden sich kurze Faserstücke immer an gegenüberliegenden Ecken der Lamellen, bzw. nur an einer Ecke, nie jedoch an benachbarten Ecken. Die nahezu quadratische Geometrie dieser Lamellen, welche eine Größe von 10–200 nm haben, kann durch TEM-Aufnahmen kontrastierter Proben³ bestätigt werden (Abbildung 16B). Weiterhin zeigen die Suspensionen der langkettigen Me₂PE-Derivate eine ausgeprägte Synärese. Nach drei bzw. sieben Tagen bildet sich ein Gelkuchen (Abbildung 16C), der, aus dem wässrigen Medium entfernt, sich weiter unter Abgabe von Wasser verdichtet. Offensichtlich werden die sich primär bildenden Nanofasern nach und nach in Lamellen transformiert, welche sich übereinander stapeln und einen dichten Gelkuchen ausbilden. Die Nanofasern anderer Bolalipide, z. B. des Me₂PE-C32-Me₂PE, sind dagegen über mehrere Monate stabil; die Bildung flächiger Aggregate konnte für das Me₂PE-C32-Me₂PE nur in sehr wenigen Cryo-TEM-Aufnahmen nachgewiesen werden (Köhler *et al.* 2006a).

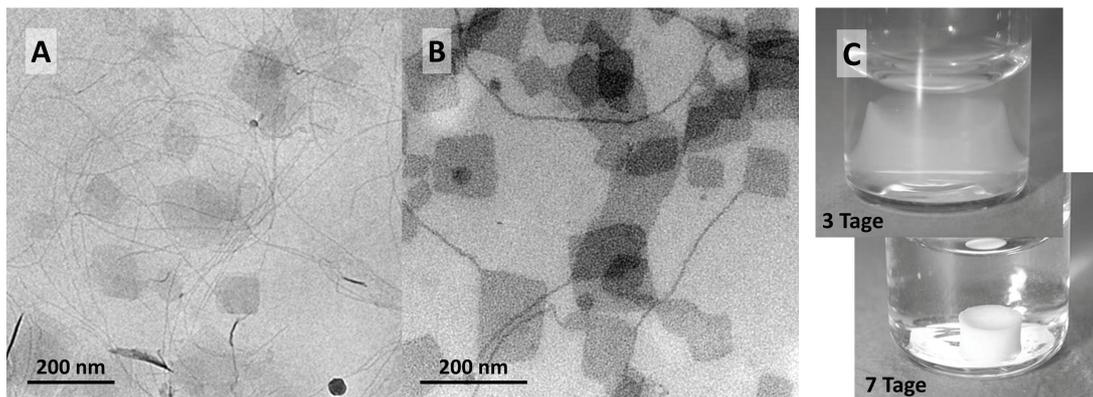


Abbildung 16: (A) Cryo-TEM-Aufnahmen einer wässrigen Suspension von Me₂PE-C34-Me₂PE ($c = 1 \text{ mg/mL}$), präpariert bei 25 °C; (B) TEM-Aufnahme einer wässrigen Suspension von Me₂PE-C36-Me₂PE ($c = 0.3 \text{ mg/mL}$), mit Uranylacetat kontrastiert; (C) Synärese einer Suspension von dMe₂PE-C34-Me₂PE ($c = 1 \text{ mg/mL}$) in Wasser nach drei bzw. sieben Tagen.

Die innere Struktur der quadratischen Lamellen konnte durch Neutronenstreu- sowie Röntgenbeugungsexperimente im Klein- und Weitwinkelbereich aufgeklärt werden. Es zeigt sich, dass die Lamellen eine Schichtdicke von 34.5 Å aufweisen und aus miteinander verschränkten, um 60° gekreuzten Bolalipidmolekülen bestehen, die zudem um einen Winkel von etwa 55° zur Layer-Normalen geneigt sind. Die Bildung der quadratischen Lamellen kann dabei wie folgt erklärt werden: Die Bolalipid-Nanofasern bestehen aus nebeneinander angeordneten Bolamolekülen, die aufgrund des im Vergleich zum Alkylkettenquerschnitt großen Kopfgruppendurchmessers gegeneinander verdrillt sind. Dies resultiert in Fasern mit einer Dicke von etwa der Länge eines Bolalipidmoleküls

³ TEM-Aufnahmen kontrastierter Proben haben gegenüber cryo-TEM-Aufnahmen den Vorteil, dass durch den Trocknungsprozess während der Probenpräparation die flächigen Aggregate in eine Orientierung parallel zur Grid-Oberfläche „gezwungen“ werden und somit „von oben“ betrachtet werden können.

(60 Å) und einer helikalen Überstruktur. Letztere führt zur Bildung hydrophober, zum Wasser exponierter Taschen bzw. Furchen. Wird nun die Alkylkette weiter verlängert, vergrößert sich die hydrophobe Oberfläche zusehends und die Ausbildung der Fasern ist mehr und mehr energetisch benachteiligt. An einem Faserdefekt, wo sich links- und rechtshändige Helices treffen, kommt es nun zur Ausbildung der Lamellen, indem sich die Fasern gewissermaßen „ineinander schieben“. Triebkraft dieser Umorientierung ist die Minimierung der zum Wasser exponierten, hydrophoben Oberfläche. Die Nanofasern stellen demnach die kinetisch stabile Aggregatform dar, während die quadratischen Lamellen thermodynamisch bevorzugt sind. Das Verschränken der beiden Fasern erklärt zudem die Tatsache, dass kurze Faserstücke nur an gegenüberliegenden Ecken der Lamellen zu finden sind. Das Größenwachstum der Quadrate geht solange weiter, bis ein Faserende aufgebraucht ist. Dies führt schließlich zu Lamellen mit nur einem Faserschwanz – den „Drachen“.

Das temperaturabhängige Aggregationsverhalten der langkettigen Me₂PE-Derivate ist in weiten Teilen mit den kurzkettigen Analoga vergleichbar. Die DSC-Heizkurven zeigen drei endotherme Umwandlungen, die einer Lamellen–Faser-, Faser–Mizell- und Mizell–Mizell-Umwandlung zuzuordnen sind. Die Dimensionen der verschiedenen Aggregate konnten durch SANS-Messungen eruiert werden.

2.2.2 EINFLUSS VON ALKYLKETTENVARIATIONEN

(Vgl. Anlagen **A4**, **A5**, **A10–A13**)

Unmodifizierte Bolalipide des Typ PC-C_n-PC ($n = 22–32$) aggregieren aufgrund der VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen der langen Alkylketten zu Nanofasern. Störungen innerhalb der Alkylkette können dieses Aggregationsverhalten empfindlich beeinflussen. Hier ergibt sich die Fragestellung, inwieweit Phenylringe, Acetylgruppen oder auch Methylverzweigungen innerhalb der Alkylkette die Wechselwirkung der Bolalipide untereinander und somit das Aggregationsverhalten beeinflussen.

Einkettige Bolalipide (A5, A10–A12)

Zunächst wurde das Phasenverhalten wässriger Suspensionen der kettenmodifizierten Bolalipide mittels DSC untersucht. Es zeigt sich, dass das PC-C16pPhC16-PC mit *para*-substituiertem Phenylring, das PC-C17m/oPhC17-PC mit *meta*- bzw. *ortho*-Substitution und der Vertreter mit zwei Methylgruppen in der Alkylkette, das PC-C32-10,23Me-PC, keine Umwandlung im Temperaturbereich (2–95 °C) aufweisen. Das Bolalipid mit einer mittelständigen Dreifachbindung im Molekül (PC-C15AcC15-PC) zeigt hingegen eine sehr kleine endotherme Umwandlung unterhalb von 10 °C. Das am Phenylring *para*-substituierte PC-C17pPhC17-PC weist drei Umwandlungen im untersuchten Temperaturbereich auf: einen sehr kleinen Peak bei $T = 6.6$ °C, den Peak mit der größten Umwandlungsenthalpie bei $T_{m1} = 22.8$ °C und eine sehr breite Umwandlung bei $T_{m2} = 40–42$ °C (Abbildung 17A). Ein Vergleich zum unmodifizierten PC-C32-PC sowie FTIR-Messungen legen die Vermutung nahe, dass es sich bei T_{m1} um eine Faser–Mizell- und bei T_{m2} um eine Mizell–Mizell-Umwandlung handelt.

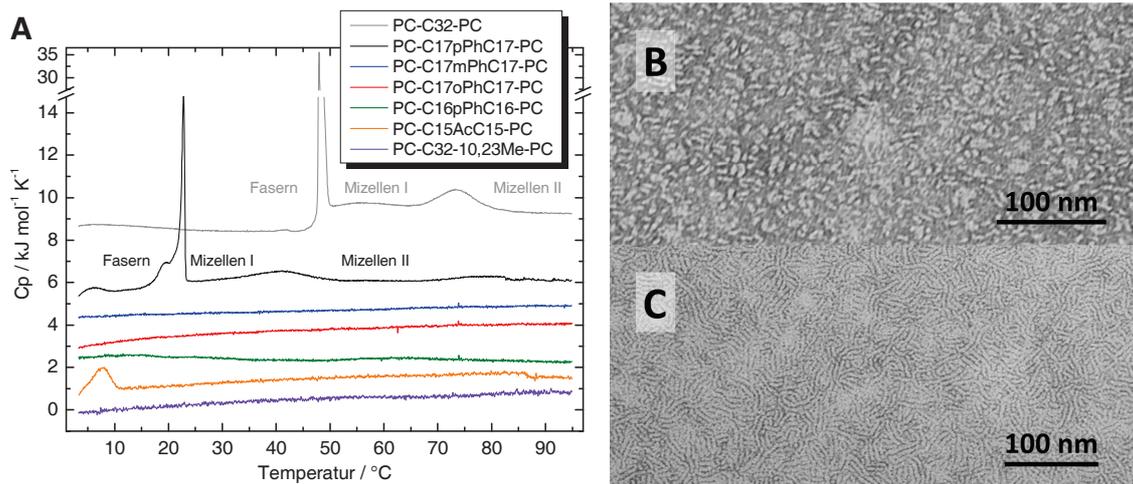


Abbildung 17: (A) DSC-Heizkurven von verschiedenen kettenmodifizierten Bolalipiden im Vergleich zum PC-C32-PC, $c = 1 \text{ mg/mL}$ in Wasser, Heizrate 20 K/h , die Kurven sind vertikal verschoben; (B,C) TEM-Aufnahmen wässriger Suspensionen von PC-C16pPhC16-PC (B, bei 25 °C) und PC-C17pPhC17-PC (C, bei 20 °C), mit Uranylacetat kontrastiert.

Durch EM-Aufnahmen kann belegt werden, dass die kettenmodifizierten Bolalipide ohne DSC-Umwandlungspeak sehr kleine, mizellare Strukturen bei Raumtemperatur ausbilden. So aggregiert PC-C16pPhC16-PC in kurzen Wurmizellen mit den Dimensionen von $8\text{--}18 \text{ nm}$ in der Länge und $3\text{--}4 \text{ nm}$ in der Breite (Abbildung 17B). Auch PC-C17mPhC17-PC und PC-C17oPhC17-PC bilden in wässriger Suspension längliche Mizellen vergleichbarer Größe, ebenso PC-C32-10,23Me-PC und PC-C15AcC15-PC. Die genannten Beispiele zeigen zudem keine Hydrogelbildung.

Anders verhält sich das Bolalipid PC-C17pPhC17-PC. Hier ist eine Gelierung des Wassers nach 24 stündiger Lagerung der Probe bei 4 °C zu beobachten. Dies spricht für die Ausbildung von Nanofasern, was durch EM-Aufnahmen von Proben, die unterhalb von T_mI präpariert wurden, belegt werden kann (Abbildung 17C). Der mittlere Durchmesser der Faser beträgt $d = 5.7 \text{ nm}$ und entspricht somit – in Analogie zu anderen Bolalipid-Nanofasern – etwa der Länge eines PC-C17pPhC17-PC-Moleküls. Ein Unterschied zu PC-C32-PC ist, dass die Fasern des Phenylen-modifizierten Bolalipids nur aus 6 ± 1 Molekülen/nm bestehen, während die Fasern des unmodifizierten PC-C32-PC 10 ± 1 Moleküle/nm beinhalten. Es ist offensichtlich, dass die Einführung eines Phenyrrings in Bolalipide nicht nur die VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen benachbarter Alkylketten stört – und somit zur Erniedrigung der Faser–Mizell-Übergangstemperatur führt – sondern zudem den Platzbedarf der Alkylkette erhöht, was sich in einer erniedrigten Aggregationszahl widerspiegelt.

Mehrkettige Bolalipide (A4, A13)

Mit den in dieser Arbeit untersuchten Tetraetherlipiden mit nicht-natürlichem Methylverzweigungsmuster (Abbildung 13) sollen zwei Fragen beantwortet werden: Erstens, ob zwei oder vier Methylgruppen an definierten Positionen der Alkylketten für eine Fluidisierung derselben und für eine Ausbildung stabiler Liposomen ausreichend sind; und zweitens, ob eine definierte Chiralität der Methylgruppen notwendig ist.

Die DSC-Heizkurven der Derivate mit optisch reinen, *R*-konfigurierten Methylgruppen sind in Abbildung 18A dargestellt. Diese zeigen eine breite endotherme Umwandlung bei $T_m = 16.7^\circ\text{C}$ für PC-Gly(2-C16Me)-C32-Gly(2-C16Me)-PC mit je einer Methylgruppe in 10-Position der kurzen Alkylketten. Für das Pendant mit zwei Methylgruppen in 10- und 10'-Position der durchspannenden Alkylkette wird eine leicht erniedrigte Umwandlungstemperatur bei $T_m = 8.5^\circ\text{C}$ registriert; ein Wert, der mit Modelllipiden mit zwei Phytanylresten vergleichbar ist (Yamauchi *et al.* 1990, Febo-Ayala *et al.* 2006). Für PC-Gly(2-C16Me)-C32Me-Gly(2-C16Me)-PC konnte keine Umwandlung oberhalb von 2°C festgestellt werden. Dies entspricht dem Phasenverhalten der natürlich vorkommenden, archaealen Tetraetherlipide (Blöcher *et al.* 1984). Für die analogen Derivate mit racemischen Methylverzweigungen werden vergleichbare DSC-Heizkurven ermittelt. Die entsprechenden Umwandlungstemperaturen liegen im Mittel 2.5 K über den T_m -Werten der Lipide mit *R*-konfigurierten Methylgruppen; für PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32*rac*Me-Gly(2-C16*rac*Me)-PC wird erneut keine Umwandlung zwischen 2 und 95°C detektiert (Abbildung 18A). Die leicht erhöhten Umwandlungstemperaturen der racemischen Derivate können auf kleine Änderungen in den VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen zwischen Alkylketten zurückgeführt werden. Bei Vertretern mit optisch reinen Methylgruppen weisen diese alle die gleiche Orientierung innerhalb der all-*trans* Alkylkette auf, was eine dichte Kettenpackung erschwert und folglich zu niedrigeren T_m -Werten führt.

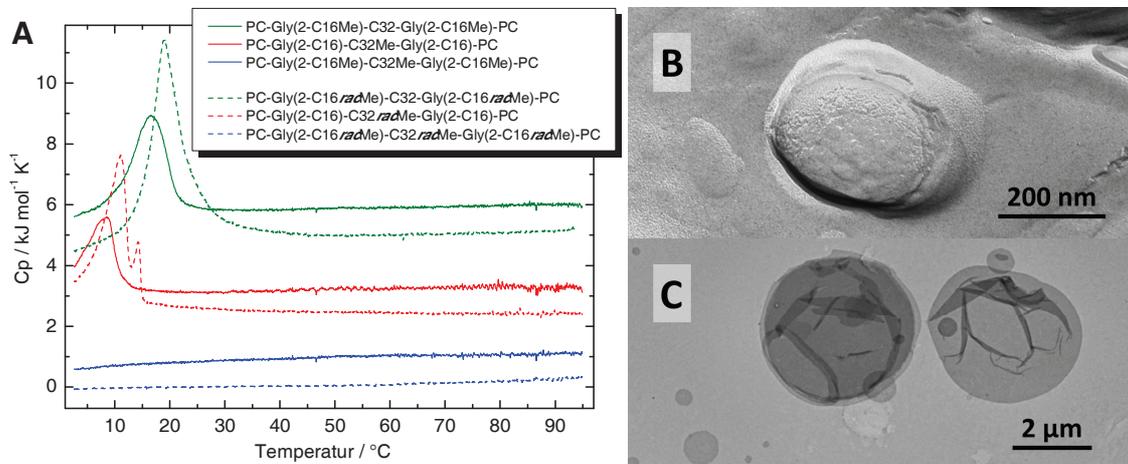


Abbildung 18: (A) DSC-Heizkurven der Tetraetherlipide mit optisch reinen, *R*-konfigurierten (durchgehende Linien) bzw. racemischen Methylverzweigungen (gestrichelte Linien), $c = 1 \text{ mg/mL}$ in Wasser, Heizrate 20 K/h , die Kurven sind vertikal verschoben; (B) EM-Aufnahme eines Gefrierbruchs von Liposomen aus PC-Gly(2-C16Me)-C32Me-Gly(2-C16Me)-PC; (C) TEM-Aufnahme einer wässrigen Suspension von PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32-Gly(2-C16*rac*Me)-PC (22°C), mit Uranylacetat kontrastiert.

Dass alle sechs Tetraetherlipide in der Lage sind, Liposomen in wässriger Lösung zu bilden, wurde durch EM-Aufnahmen sowohl von kontrastierten Proben als auch von Gefrierbrüchen belegt (Abbildung 18B,C). Die Aufnahmen zeigen z. T. multilamellare Vesikel. Aufgrund des Aussehens der Gefrierbruchaufnahmen, wie fehlende Unterschiede zwischen Innen- und Außenseite der Liposomen sowie fehlende „Schrägbrü-

che“, kann davon ausgegangen werden, dass die Tetraetherlipide in gestreckter Form und nicht in einer U-förmigen Anordnung die Membran ausbilden. Die Dicke des Lipidlayers beträgt 5–8 nm, was in etwa der Moleküllänge entspricht.

Darüber hinaus wurde die Langzeitstabilität der gebildeten Liposomen mittels DLS untersucht. Es kann gezeigt werden, dass mindestens zwei Methylverzweigungen innerhalb der langen, membrandurchspannenden Alkylkette hierfür essentiell sind. Fehlen diese Methylgruppen, so nehmen die Größe der Liposomen und auch die Polydispersität der Probe kontinuierlich zu, wohingegen für die Bolalipide PC-Gly(2-C16)-C32*rac*Me-Gly(2-C16)-PC und PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32*rac*Me-Gly(2-C16*rac*Me)-PC der Vesikeldurchmesser und deren Größenverteilung für mindestens drei Monate konstant bleiben.

2.2.3 EINFLUSS DER MOLEKÜLASYMMETRIE

(Vgl. Anlagen **A8**, **A11** und **A14**)

Um die Frage des Einflusses der Molekülasymmetrie zu beantworten, wurden die einkettigen Bolalipide ohne Alkylkettenmodifikation (DMAPPC-C32-POH, DMAPPC-C32-OH) bzw. mit einem zentralen Phenylring in der Alkylkette (PC-C17pPhC17-OH) sowie die mehrkettigen Bolalipide PC-Gly(2-C16)-C32-OH und PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32-OH untersucht.

Einkettige Bolalipide ohne Kettenmodifikation – der Einfluss des pH-Wertes (A8)

DMAPPC-C32-POH und DMAPPC-C32-OH wurden bei pH = 5 (Acetatpuffer) und 10 (Carbonatpuffer) untersucht, um den Einfluss unterschiedlicher Protonierungsgrade auf das Aggregationsverhalten zu eruieren.⁴ Das DMAPPC-C32-POH assembliert in saurem Milieu zu langen Nanofasern mit einem Durchmesser von $d = 6$ nm, was der Länge eines Bolalipidmoleküls entspricht. Zudem bildet sich ein Hydrogel aus. Neben den Fasern sind aber auch unregelmäßige, ringförmige Strukturen in EM-Aufnahmen zu erkennen. Das Entstehen dieser Aggregate wurde im Rahmen dieser Arbeit noch nicht vollständig aufgeklärt; wahrscheinlich bestehen diese aus kürzeren Faserstücken, die an den Enden miteinander verbunden sind. Da bei pH = 5 die DMAPPC-Kopfgruppe positiv und die POH-Gruppe negativ geladen ist, liegt die Vermutung nahe, dass die Moleküle in der Faser wechselseitig (interdigitiert) angeordnet sind, um die unterschiedlichen Ladungen zu kompensieren.

DSC-Untersuchungen bei pH = 5 zeigen ein dem Me₂PE-C32-Me₂PE ähnliches Verhalten mit drei endothermen Umwandlungen. SANS-Messungen belegen, dass die Dimensionen der gebildeten Aggregate (Nanofasern bis zur zweiten Umwandlung, Mizellen oberhalb T_m2) mit denen des Me₂PE-C32-Me₂PE vergleichbar sind. Beim Wechsel zu pH = 10 sind in den EM-Aufnahmen vermehrt kurze Faserstücke und

⁴ Die DMAPPC-Kopfgruppe weist bei pH = 5 eine positive Nettoladung auf und ist bei pH = 10 zwitterionisch; die POH-Kopfgruppe ist bei pH = 5 und 10 negativ geladen. Dies führt dazu, dass das DMAPPC-C32-POH-Molekül bei pH = 5 nach außen neutral und bei pH = 10 einfach negativ geladen ist; das DMAPPC-C32-OH-Molekül ist dagegen bei pH = 5 einfach positiv geladen und bei pH = 10 nach außen neutral.

längliche Mizellen zu erkennen; zudem ist makroskopisch keine Hydrogelbildung zu verzeichnen. DSC-Messungen zeigen, dass die drei Umwandlungen zu niedrigeren Temperaturen verschoben sind. Der Grund hierfür liegt in der negativen Gesamtladung des Bolalipidmoleküls und der daraus resultierenden Abstoßung.

Das DMAPPC-C32-OH zeigt ein anderes Aggregationsverhalten. Im Vergleich zum DMAPPC-C32-POH fällt hier der Größenunterschied zwischen beiden Kopfgruppen größer aus; darüber hinaus ist die OH-Gruppe permanent ungeladen. Im sauren Milieu bei $\text{pH} = 5$ zeigen TEM-Aufnahmen kontrastierter Proben das Vorhandensein lamellarer Aggregate und gestreckter Mizellen von etwa 25 nm Länge. Das etwas uneinheitliche Bild, welches durch die positive Gesamtladung und folglich der Abstoßung der Moleküle bedingt ist, ändert sich mit einem Wechsel zu $\text{pH} = 10$. Im alkalischen Medium ist nunmehr die Ausbildung großer, lamellarer Schichten bzw. Vesikel zu verzeichnen. Nanofasern oder kurze Faserstücke werden hingegen nicht beobachtet. Durch DSC-, FTIR- und SAXS-Messungen konnten der Aufbau und das thermotrope Verhalten der Lamellen bzw. der DMAPPC-C32-OH-Moleküle innerhalb der Lamelle bestimmt werden. Die erste und zweite DSC-Umwandlung ($T_{m1} = 36.0^\circ\text{C}$ und $T_{m2} = 78.5^\circ\text{C}$) ist mit einer Änderung der Packungsmodi der Alkylketten verbunden. Bei T_{m1} findet ein Übergang von einer orthorhombischen in eine hexagonale Kettenpackung statt, während bei T_{m2} die Beweglichkeit der Alkylketten zunimmt, diese aber immer noch einen sehr hohen Anteil an *trans*-Konformeren aufweisen. Die Bolalipide befinden sich oberhalb von T_{m2} demnach noch immer in der Gelphase. Erst bei sehr hohen Temperaturen (Beginn der dritten Umwandlung bei $T = 91.8^\circ\text{C}$) setzt das Schmelzen der Alkylketten und die Umwandlung zu einer flüssig-kristallinen Phase ein (Abbildung 19A,B).

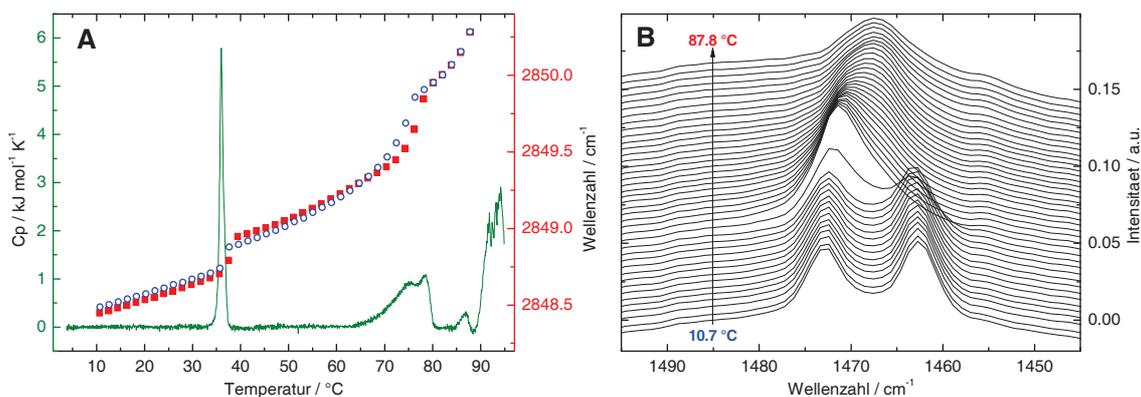


Abbildung 19: DMAPPC-C32-OH: (A) DSC-Heizkurve (grüne Linie, $c = 1 \text{ mg/mL}$) und FTIR-Daten ($c = 50 \text{ mg/mL}$) der symmetrischen CH_2 -Valenzschwingung (Heizen: rot, Kühlen: blau) jeweils in Carbonatpuffer ($\text{pH} = 10$); (B) FTIR-Schwingungsbanden ($c = 50 \text{ mg/mL}$) im Bereich der CH_2 -Deformationsschwingung bei verschiedenen Temperaturen von $T = 10.7^\circ\text{C}$ (unten) bis $T = 87.8^\circ\text{C}$ (oben) in 2-K-Schritten; die Kurven sind vertikal verschoben.

Aus diesen Ergebnissen kann eine Aggregation des DMAPPC-C32-OH in eine Monoschicht mit interdigitierten Bolalipidmolekülen, die senkrecht zur Oberfläche der Lamelle stehen, postuliert werden. Ein ähnliches Aggregationsverhalten wurde von POHLE für das PC-C22-OH beschrieben (Pohle *et al.* 2001) und auch einige Vertreter

der archaealen Bolalipide mit unsymmetrischer Molekülstruktur bilden Monolayer mit interdigitierten Lipidmolekülen (Gliozzi 1996).

Einkettige Bolalipide mit Phenylen-modifizierter Alkylkette (A11)

Ein weiteres unsymmetrisches Bolalipid ist das PC-C17pPhC17-OH. Dieses besitzt einen zentralen, *para*-substituierten Phenylring in der Alkylkette sowie eine PC- und eine OH-Kopfgruppe. Das symmetrische Pendant (PC-C17pPhC17-PC, siehe Kapitel 2.2.2) aggregiert in wässriger Suspension zu Nanofasern, welche sich oberhalb von $T_m = 22.8^\circ\text{C}$ in Mizellen umwandeln. PC-C17pPhC17-OH bildet hingegen sehr große, lamellare Strukturen von mehreren Mikrometern an Größe, wie EM-Aufnahmen belegen. Die Ausbildung eines transparenten Hydrogels wird nicht beobachtet. Dies bedeutet: der Wechsel von symmetrischen zu unsymmetrischen Bolalipiden durch „Weglassen“ einer PC-Kopfgruppe besitzt einen erheblichen Einfluss auf das Aggregationsverhalten.

Vergleiche mit dem im vorherigen Abschnitt besprochenen DMAPP-PC-C32-OH und dem von POHLE untersuchten PC-C22-OH (Pohle *et al.* 2001) legen nahe, dass es sich bei den lamellaren Aggregaten des PC-C17pPhC17-OH ebenfalls um einen Monolayer mit interdigitiert angeordneten Bolalipidmolekülen handelt. Dies konnte durch DSC-, FTIR- und Röntgenbeugungsmessungen bestätigt werden. Die DSC-Heizkurve zeigt nur eine endotherme, hoch-kooperative Umwandlung bei $T_m = 53.4^\circ\text{C}$. Diese Umwandlung ist mit einer Änderung des Packungsmodus der Alkylketten verbunden, jedoch befinden sich die Alkylketten oberhalb von T_m noch immer in einer *all-trans*-Konformation und ein „Kettenschmelzen“ hat noch nicht stattgefunden. Es ist anzunehmen, dass die Alkylketten bei T_m lediglich eine Zunahme der freien Rotierbarkeit erfahren. Im Unterschied zum DMAPP-PC-C32-OH bilden die Alkylketten unterhalb von T_m keine orthorhombisch-senkrechte sondern eine hexagonale Kettenpackung aus. Dies kann aus dem Fehler einer Aufspaltung der Methylen-Deformationsschwingungsbande geschlossen werden (Lewis & McElhane 1993). Ursache hierfür ist das Vorhandensein des mittelständigen Phenylrings. Dieser verhindert offensichtlich eine dichte, hochgeordnete Packung der Alkylketten, wie sie für ein Auftreten der Aufspaltung und einer orthorhombisch-senkrechten Kettenpackung notwendig wäre.

In Röntgenbeugungsexperimenten können im Kleinwinkelbereich (SAXS) vier äquidistante Reflexe detektiert werden, welche in einen Wiederholabstand der lamellaren Strukturen von $d = 6.66\text{ nm}$ resultieren. Da das PC-C17pPhC17-OH-Molekül eine Länge von zirka 6.2 nm besitzt, ist eine Neigung der Alkylketten in Bezug zur Oberfläche der Lamelle anzunehmen, um eine vollständige Hydratation der PC-Kopfgruppen zu gewährleisten. Zudem wird durch die Kettenneigung die Packung der Phenylringe verbessert. Wird die Probe erwärmt, verringert sich zunächst der Wiederholabstand auf $d = 6.32\text{ nm}$ bei $T = 70^\circ\text{C}$ (oberhalb von T_m), um anschließend auf $d = 8.33\text{ nm}$ bei $T = 100^\circ\text{C}$ anzusteigen. Letzteres ist auf ein Anwachsen der interlamellaren Wasserschicht zurückzuführen. Erst bei sehr hohen Temperaturen ($T > 120^\circ\text{C}$) tritt ein Schmelzen der Alkylkette und somit ein Übergang zur flüssig-kristallinen Phase auf.

Mehrkettige Bolalipide (A14)

Als letztes Beispiel für unsymmetrische Bolalipide sollen zwei Vertreter der neu eingeführten Substanzklasse der Glyceroldietherlipide (PC-Gly(2-C16)-C32-OH und PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32-OH, Abbildung 14) in ihrem Aggregationsverhalten untersucht werden. Aufgrund der keilförmigen Molekülstruktur mit einer langen, C32- und einer kurzen, C16-Alkylkette sind neben einer parallelen Anordnung der Moleküle, welche zur Ausbildung von röhrenartigen Strukturen führen könnte, zwei antiparallele Orientierungen möglich: Eine vollständig interdigitierte und eine partiell interdigitierte; beide Anordnungen sollten zu flächigen Strukturen der Glyceroldietherlipide führen.

TEM-Aufnahmen kontrastierter Proben beider Bolalipide zeigen ein vergleichbares Bild: Neben großen, lamellaren, unregelmäßig geformten Strukturen einer Größe von mehreren hundert Nanometern bis einigen Mikrometern sind auch kleinere, annähernd kreisförmige Aggregate mit einem Durchmesser von 50–500 nm zu detektieren (Abbildung 20A,B). Die DSC-Heizkurve des PC-Gly(2-C16)-C32-OH zeigt zwei endotherme Umwandlungen bei $T_{m1} = 31.8^\circ\text{C}$ und $T_{m2} = 94.0^\circ\text{C}$; der DSC-Scan der analogen Verbindung mit einer racemischen Methylgruppe in der C16-Alkylkette (PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32-OH) weist hingegen nur eine endotherme, breitere und daher weniger kooperative Umwandlung bei $T_m = 63.7^\circ\text{C}$ auf (Abbildung 20C).

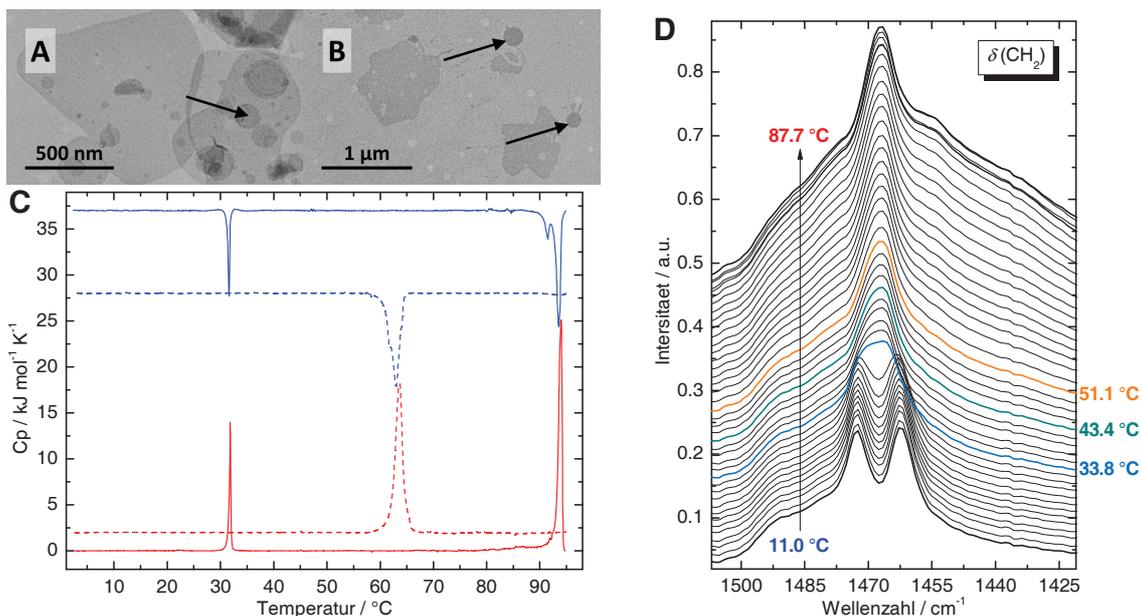


Abbildung 20: TEM-Aufnahmen wässriger Suspensionen ($c = 0.03 \text{ mg/mL}$, 22°C , kontrastiert) von (A) PC-Gly(2-C16)-C32-OH bzw. (B) PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32-OH, die schwarzen Pfeile zeigen kleinere, kreisförmige Aggregate; (C) DSC-Daten ($c = 1 \text{ mg/mL}$, Heizen: rot, Kühle: blau) von PC-Gly(2-C16)-C32-OH (durchgezogene Linie) und PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32-OH (gestrichelte Linie); (D) FTIR-Schwingungsbanden von PC-Gly(2-C16)-C32-OH ($c = 100 \text{ mg/mL}$) im Bereich der CH_2 -Deformations-schwingung bei verschiedenen Temperaturen von $T = 11.0^\circ\text{C}$ (unten) bis $T = 87.8^\circ\text{C}$ (oben) in 2-K-Schritten; die Kurven sind vertikal verschoben.

Die Auswertung der FTIR-Messungen ergab, dass die erste Umwandlung des PC-Gly(2-C16)-C32-OH erneut mit einer Änderung des Packungsmodus der Alkylketten

verknüpft ist. Unterhalb von T_m1 liegt eine hochgeordnete, orthorhombische, quasi-kristalline Kettenpackung vor (L_c - oder G_o -Phase), was an einer Aufspaltung der CH_2 -Deformationsschwingungsbande erkennbar ist (Abbildung 20D) (Lewis & McElhaney 1993). Oberhalb von T_m1 verschmelzen die beiden Schwingungsbanden zu einer Bande mit einer zusätzlichen Schulter hin zu höheren Wellenzahlen. Die Schulter nimmt in ihrer Intensität in einem Temperaturbereich zwischen 33–43 °C ab und ist oberhalb von 43 °C nicht mehr detektierbar. Die Umwandlung bei T_m1 ist demnach einem Wechsel von einer hochgeordneten, orthorhombischen Packung (G_o) zu einer gewöhnlichen (einfachen) orthorhombischen Kettenpackung (G_d - oder L_β' -Phase) zuzuordnen. Ein vergleichbarer Phasenübergang wurde bereits für langkettige, klassische Phospholipide bei niedrigen Temperaturen beschrieben (Snyder *et al.* 1996). Oberhalb von 43 °C geht die G_d -Phase in eine L_β -Phase mit hexagonaler Kettenpackung über; diese Umwandlung ist in DSC-Messungen nicht detektierbar. Die zweite Umwandlung (T_m2) ist sehr wahrscheinlich mit einem „Schmelzen“ der Alkylketten und einem Übergang zur flüssig-kristallinen (L_α) Phase verbunden. Mit der Einführung einer Methylgruppe in die kurze Alkylkette (PC-Gly(2-C16*rac*Me)-C32-OH) verschieben sich die Phasenumwandlungen zu niedrigeren Temperaturen, was auf eine Störung der Kettenpackung durch die zusätzliche CH_3 -Gruppe zurückzuführen ist. Die in der DSC-Messung detektierte Umwandlung bei $T_m = 63.7^\circ\text{C}$ ist mit einem Übergang von der Gelphase in die flüssig-kristalline Phase ($L_\beta \rightarrow L_\alpha$) verknüpft.

Detaillierte Aussagen zum molekularen Aufbau der lamellaren Strukturen können mit Röntgenbeugungsexperimenten und der Analyse der Klein- und Weitwinkelbereiche getroffen werden. Dabei zeigt sich, dass die Moleküle von PC-Gly(2-C16)-C32-OH unterhalb von T_m1 äußerst dicht gepackt sind und die gebildeten Lamellen aus vollständig interdigitierten Bolalipidmolekülen, die zudem um 20° in Bezug zur Layernormalen geneigt sind, bestehen (Abbildung 21).

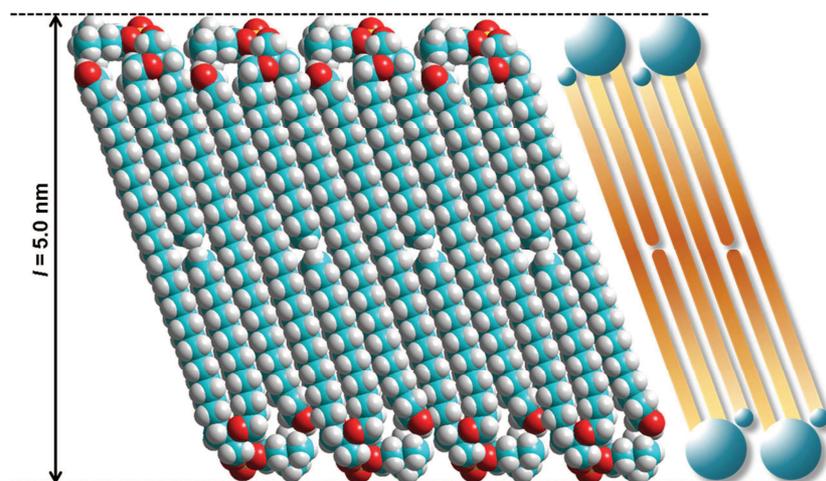


Abbildung 21: CPK-Modell von acht PC-Gly(2-C16)-C32-OH-Molekülen (links) bzw. schematische Darstellung der Bolalipidmoleküle (rechts) in einem Monolayer mit vollständig interdigitierten Alkylketten und einem Neigungswinkel von 20° in Bezug zur Layernormalen.

Eine partielle Interdigitierung, bei der die endständige OH-Gruppe eines Moleküls auf das Ende der kurzen Alkylkette eines anderen Moleküls trifft, kann ebenso wie eine U-förmige Anordnung der PC-Gly(2-C16)-C32-OH-Moleküle in einem Bilayer abgeschlossen werden.

2.2.4 PACKUNGSPARAMETER

(Vgl. Anlagen **A11** und **A12**)

Die Adaption des von ISRAELACHVILI für klassische, monopolare Amphiphile eingeführten Packungsparameters (P) auf bipolare Lipide ist schwierig, da die einkettigen Bolalipide meist in einer gestreckten Konformation mit zwei voneinander getrennten Kopfgruppen vorliegen und nicht in einer U-förmigen Konformation mit sich berührenden Kopfgruppen. Ein Versuch, das Molekülformkonzept dennoch auf verschiedene bipolare Amphiphile zu übertragen, wurde von BLUME durchgeführt (Blume *et al.* 2013). Für einkettige, symmetrische Bolalipide konnte gezeigt werden, dass Nanofasern die stabile Aggregatform sind, wenn der Wert für P zwischen 0.28 und 0.41 liegt. Bei einem Wert von $P < 0.28$ sind mizellare Strukturen präferiert; bei Werten oberhalb von 0.41 bilden sich bevorzugt lamellare Aggregate aus. Das Molekülformkonzept wurde ebenfalls auf einige in dieser Habilitationsschrift vorgestellten, Phenyl-modifizierten Bolalipide angewendet. Dabei wurde für den Phenylring eine Länge von vier durch Einfachbindung verknüpfte CH_2 -Gruppen und ein Volumen von 80.4 \AA^3 (Bondi 1964) angenommen. Die Länge der Alkylkette ergibt sich aus der Gleichung $l_c \approx 1.54 + 1.265 \times n$, wobei n der Anzahl der Methylengruppen entspricht (Israelachvili 2011). Der Flächenbedarfswert der Kopfgruppe kann entweder aus Röntgenbeugungs- bzw. Monolayer-Experimenten ermittelt oder aus molekularen Modellen abgeschätzt werden.

Für das PC-C17pPhC17-OH, sowie für alle unsymmetrischen Bolalipide im Allgemeinen, ergibt sich nunmehr die Frage, wie zwei unterschiedliche Kopfgruppen zu handhaben sind. In einem sehr einfachen Ansatz wird mit dem Mittelwert aus beiden Flächenbedarfswerten der Kopfgruppen gerechnet. Eine schematische Darstellung der für die Berechnung des Packungsparameters notwendigen Größen ist in Abbildung 22 wiedergegeben; die erhaltenen Ergebnisse sind im Vergleich zum DPPC in Tabelle 1 zusammengefasst.

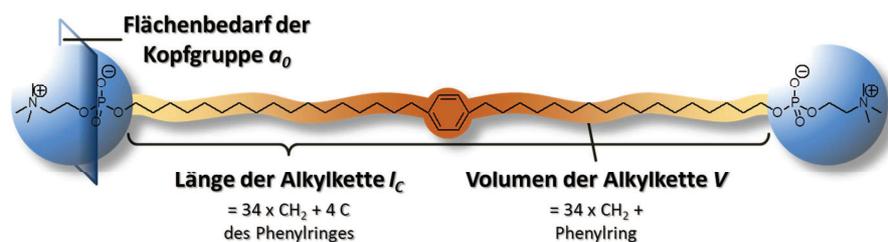


Abbildung 22: Schematische Darstellung des symmetrischen Bolalipids PC-C17pPhC17-PC in gestreckter Konformation und der für die Berechnung des Packungsparameters notwendigen Größen.

Tabelle 1: Werte für das Volumen (V)^a und die Länge (l_c)^b der Alkylkette, der Querschnittsfläche (a_o)^c der Kopfgruppe sowie den daraus berechneten Packungsparametern P nach ISRAELACHVILI.

Lipid	$V / \text{Å}^3$	$l_c / \text{Å}$	$a_o / \text{Å}^2$	$(a_o \times l_c) / \text{Å}^3$	P
DPPC	862	21.80	50	1090.0	0.790
PC-C32-PC	861	42.00	50	2100.0	0.410
PC-C17pPhC17-PC ^d	995	49.61	50	2480.5	0.401
PC-C17m/oPhC17-PC ^e	995	26.84	95 ^f	2549.8	0.390
PC-C17pPhC17-OH ^d	995	49.61	35 ^g	1736.4	0.573

^a Das Volumen der Alkylkette wurde nach einer Inkrementmethode berechnet (Israelachvili 2011); für den Phenylring wurde ein zusätzliches Volumen von 80.4 Å^3 angenommen (Bondi 1964).

^b Die Länge der Alkylkette wurde nach der Gleichung $l_c = 1.54 + 1.265 \times n$ ($n = \text{Anzahl der C-Atome}$) abgeschätzt.

^c Der Flächenbedarf der Kopfgruppe wurde anhand des entsprechenden CPK-Modells abgeschätzt oder es wurde auf Literaturwerte zurückgegriffen.

^d Im Falle des *para*-substituierten Bolalipids wurde eine gestreckte Konformation angenommen.

^e Im Falle des *meta*- und *ortho*-substituierten Bolalipids wurde eine U-förmige Konformation angenommen.

^f Für PC-C32-PC wurden bereits Monolayer-Experimente durchgeführt (Köhler *et al.* 2006b, Meister *et al.* 2007c), die eine Fläche von $a_o = 95 \text{ Å}^2$ für zwei PC-Kopfgruppen bei einer U-förmigen Anordnung der Lipidmoleküle an der Wasser-Luft-Grenzfläche ergaben.

^g Für das unsymmetrische Bolalipid wurde der Mittelwert der beiden Querschnittsflächen der Kopfgruppen verwendet.

Aus den berechneten Werten für P lässt sich erkennen, dass das Molekülformkonzept nach ISRAELACHVILI nur bedingt für bipolare Lipide anwendbar ist. Informationen, wie die Lage der beiden Kopfgruppen eines Bolalipidmoleküls zueinander oder die Anordnung der Moleküle innerhalb einer lamellaren Struktur, werden in diesem geometrischen Ansatz nicht berücksichtigt. Dennoch gibt der Packungsparameter einen ersten Anhaltspunkt für die in wässriger Volumenphase präferierte Aggregatform bipolarer Phospholipide.

2.3 ANWENDUNGEN

2.3.1 MISCHUNGSVERHALTEN BIPOLARER AMPHIPHILE MIT KLASSISCHEN PHOSPHOLIPIDEN

Im Hinblick auf eine Anwendung der bipolaren Amphiphile zur Stabilisierung von wirkstofftragenden Liposomen für ein späteres orales *drug delivery* sind Untersuchungen zur Mischbarkeit der Bolalipide mit klassischen, vesikelbildenden Phospholipiden unabdingbar. Um die in der Einleitung geschilderte Packungsproblematik zu umgehen, sind verschiedene Ansatzpunkte denkbar:

- a) die Verkleinerung der Kopfgruppe der für die Mischungsversuche verwendeten Vesikelbildner, beispielsweise durch Verwendung von Phosphoethanolaminen (PEs) bzw. Phosphatidylsäuren (PAs);
- b) das Zumischen einer dritten Substanz, wie z.B. Cholesterol, um den entstandenen Hohlraum auszufüllen (ternäre Mischungen);
- c) die Änderung des Kopfgruppenquerschnitt-Alkylkettenquerschnitt-Verhältnisses durch i) Verkleinerung der Kopfgruppe der für die Mischungsversuche verwendeten einkettigen Bolalipide oder durch ii) Einführen einer Molekülasymmetrie;
- d) die Vergrößerung des Alkylkettenquerschnittes der Bolalipide durch i) Übergang zu mehrkettigen Bolalipiden oder durch ii) die Einführung raumfüllender Gruppen in die Alkylkette.

Nachfolgend werden ternäre Mischungen, die Verwendung von kettenmodifizierten Bolalipiden sowie die Nutzung unsymmetrischer Bolalipide näher erläutert. Der Einfluss der Kopfgruppengröße von sowohl Bolalipiden als auch klassischen Phospholipiden auf deren Mischbarkeit bleibt weiterführenden Arbeiten vorbehalten.

2.3.1.1 Ternäre Mischungen

(Vgl. Anlage **A10**)

Cholesterol führt aufgrund des Molekülbaus meist zu einer Versteifung und somit Stabilisierung der Phospholipidmembranen. Um den Einfluss von Cholesterol auf die Mischbarkeit von PC-C32-PC mit DPPC in ternären Mischungen beurteilen zu können, wurden zunächst PC-C32-PC : CHOL-Mischungen untersucht. Sollte sich herausstellen, dass der Einbau von Cholesterol in Bolalipid-Nanofasern gegenüber dem Einbau in Phospholipidmembranen energetisch begünstigt ist, wäre es fraglich, ob der Zusatz von Cholesterol zu Bolalipid-Phospholipid-Mischungen einen erhöhten Einbau des Bolalipids in die Phospholipidmembran und somit deren Stabilisierung zur Folge hat.

Aus den DSC-Heizkurven von verschiedenen PC-C32-PC : CHOL-Mischungen wird ersichtlich, dass bereits 10% Cholesterol zu einer Erhöhung der Faser-Mizell-Umwandlungstemperatur führen. Eine weitere Steigerung des Cholesterolanteils führt nur noch zu einer geringen Verschiebung von T_mI , jedoch zu einer Verbreiterung des Umwandlungspeaks. Eine analoge Verbreiterung des DSC-Peaks wird auch für DPPC : CHOL-Mischungen beschrieben (Huang *et al.* 1993, Marsh 2009).

Aus der Lage der zwei endothermen Umwandlungen einer ternären Mischung von DPPC : PC-C32-PC : CHOL im molaren Verhältnis von 8 : 1 : 1 im Vergleich zu den Peakpositionen der jeweiligen binären Mischungen gleicher Zusammensetzung kann geschlussfolgert werden, dass es nicht zu einer signifikant höheren Mischbarkeit zwischen PC-C32-PC und DPPC kommt. Es existiert eine breite Umwandlung im Bereich der $L_{\beta}' \rightarrow L_{\alpha}$ Umwandlung der DPPC : CHOL-Mischung (9 : 1) und eine weitere Umwandlung im Bereich der Faser-Mizell-Umwandlung der PC-C32-PC : CHOL-Mischung (1 : 1). Es ist anzunehmen, dass zwei Phasen koexistieren, eine Phospholipid-reiche Phase mit zirka 70 % des zugemischten Cholesterols und sehr wenig PC-C32-PC, sowie eine Bolalipid-reiche Phase mit zirka 30 % Cholesterol und nahezu keinem DPPC. Aus diesem einfachen Mischungsexperiment lässt sich ableiten, dass Cholesterol nicht ausreicht, um den eingangs beschriebenen Hohlraum auszufüllen und die Mischbarkeit zwischen unmodifizierten, einkettigen, symmetrischen Bolalipiden mit klassischen Phospholipiden zu forcieren.

2.3.1.2 Mischungen mit Alkylketten-modifizierten, symmetrischen Bolalipiden

(Vgl. Anlagen A10–A12)

PC-C15AcC15-PC und PC-C32-10,23Me-PC (A10)

Die Einführung einer mittelständigen Dreifachbindung führt zu einem „Knick“ innerhalb der Alkylkette und zu einer Reduzierung der Gesamtlänge des hydrophoben Molekülteils. Das Mischungsverhalten von PC-C15AcC15-PC mit DPPC ist in Abbildung 23 dargestellt. Die DSC-Heizkurve für reines PC-C15AcC15-PC zeigt eine kleine, endotherme Umwandlung unterhalb von 10 °C. In Mischungen mit DPPC ist eine sehr breite Umwandlung detektierbar, deren Peakmaximum sich mit zunehmendem Anteil an DPPC zu höheren Temperaturen verschiebt (Abbildung 23A).

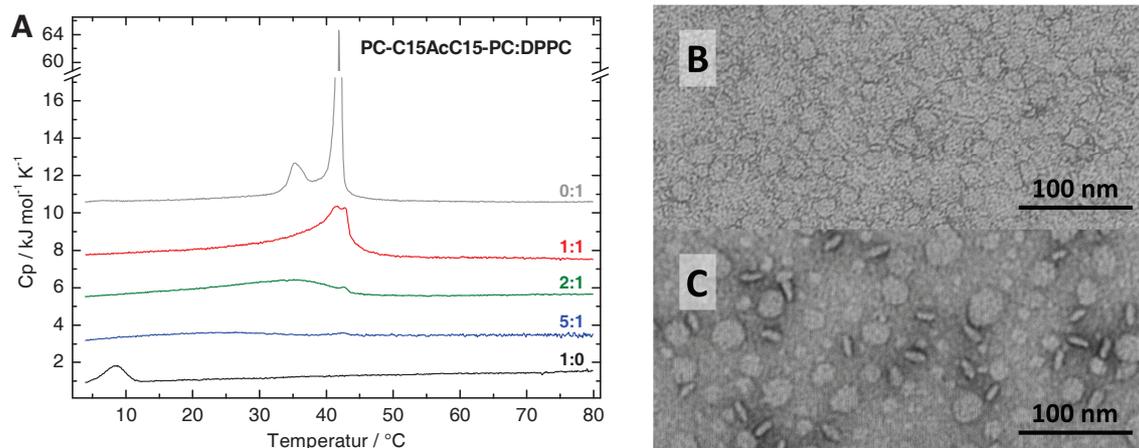


Abbildung 23: (A) DSC-Heizkurven von DPPC, PC-C15AcC15-PC ($c = 1 \text{ mg/mL}$) bzw. Mischungen unterschiedlicher Zusammensetzungen ($c = 3 \text{ mM}$), Heizrate 60 K/h , die Kurven sind vertikal verschoben; (B,C) TEM-Aufnahmen wässriger Suspensionen ($c = 50 \mu\text{M}$, $22 \text{ }^\circ\text{C}$) von PC-C15AcC15-PC : DPPC = 5 : 1 (B) bzw. 1 : 2 (C), mit Uranylacetat kontrastiert.

TEM-Aufnahmen kontrastierter Proben der PC-C15AcC15-PC : DPPC-Mischung (5 : 1) zeigen sowohl gestreckte Mizellen als auch kleine, scheibenförmige Aggregate (Abbildung 23B). Mit Erhöhung des DPPC-Anteils verschwinden die Disk-artigen Aggregate und es sind nur noch kurze Wurmmizellen zu erkennen. Bei einem Überschuss von DPPC bilden sich wieder scheibenförmige Strukturen mit einem Durchmesser von etwa 30 nm (Abbildung 23C). Aus den DSC- und EM-Daten lässt sich ableiten, dass beide Lipide miteinander mischbar sind. Es ist jedoch zu vermuten, dass es innerhalb der Disk-förmigen Aggregate, insbesondere bei einem Überschuss von DPPC, zu einer partiellen Entmischung kommt und dass sich die Bolalipidmoleküle am Rand der Scheibe anreichern, diese stabilisieren und so ein Fusionieren in größere Disks unterbinden. Geschlossene Lipidvesikel werden bei keinem Mischungsverhältnis beobachtet.

Für das PC-C32-10,23Me-PC mit zwei Methylgruppen innerhalb der Alkylkette wird ein vergleichbares Mischungsverhalten beobachtet. Auch hier ist in DSC-Messungen einer 1 : 1-Mischung eine breite Umwandlung mit einer im Vergleich zum DPPC niedrigeren Umwandlungstemperatur detektierbar. TEM-Aufnahmen kontrastierter Proben zeigen erneut kleine scheibenförmige Aggregate mit einem Durchmesser von zirka 20 nm; vesikuläre Strukturen werden auch hier nicht beobachtet.

PC-C17pPhC17-PC (A11)

Die Einführung eines mittelständigen Phenyrrings führt zu einer leichten Erhöhung des Platzbedarfs der Alkylkette, was sich in einer verbesserten Mischbarkeit dieses Bolalipids mit klassischen Phospholipiden widerspiegeln sollte. DSC-Messungen und EM-Aufnahmen zeigen jedoch, dass erneut nur eine partielle Mischbarkeit vorhanden ist. In der DSC-Heizkurve einer äquimolaren Mischung aus PC-C17pPhC17-PC und DPPC sind zwei endotherme Umwandlungen bei $T_{m1} = 29\text{--}30\text{ }^\circ\text{C}$ und bei $T_{m2} \approx 41\text{ }^\circ\text{C}$ detektierbar. In der entsprechenden Kühlkurve werden drei Umwandlungen registriert, was auf ein komplexes Phasenverhalten hindeutet. TEM-Aufnahmen kontrastierter Proben belegen das Vorhandensein von kurzen Wurmmizellen und kleinen, scheibenförmigen Aggregaten. Vesikel werden auch hier nicht beobachtet. Vermutlich bestehen die gestreckten Mizellen zumeist aus Bolalipiden, währenddessen das DPPC in Scheibchen aggregiert, deren Umrandung durch Bolalipide stabilisiert wird – analog den Mischungen mit PC-C15AcC15-PC und PC-C32-10,23Me-PC.

Die Mischung von PC-C17pPhC17-PC mit DSPC zeigt ein ähnliches Bild: Auch hier deuten DSC-Messungen auf eine partielle Mischbarkeit hin. In TEM-Aufnahmen sind abermals zwei verschiedene Aggregattypen erkennbar, gestreckte Mizellen und scheibenförmige Strukturen. Geschlossene, vesikuläre Aggregate werden nicht beobachtet.

PC-C17m/oPhC17-PC (A12)

Neben dem *para*-substituierten Bolalipid wurde auch das analoge *meta*- und *ortho*-substituierte Derivat untersucht, um den Einfluss des Substitutionsmusters der Phenylen-modifizierten Bolalipide auf das Mischungsverhalten mit klassischen Phospholipiden zu eruieren. Eine Stabilisierung der Phospholipid-Doppelschicht ist hier jedoch nicht zu erwarten, da die Bolalipidmoleküle sehr wahrscheinlich in einer U-förmigen Anordnung vorliegen.

In den DSC-Heizkurven der äquimolaren Mischungen von PC-C17m/oC17-PC mit DPPC wird ersichtlich, dass sich die Phasenumwandlung zu höheren Temperaturen verschiebt (Abbildung 24A); ein Fakt, der bisher noch nicht bei Bolalipid-Phospholipid-Mischungen beobachtet wurde. Die Temperaturerhöhung beträgt im Vergleich zum reinen DPPC 2.0 K für das *meta*- und 5.6 K für das *ortho*-substituierte Bolalipid. Bei letzterem tritt zudem eine kleine Umwandlung im Temperaturbereich des reinen DPPC auf. Darüber hinaus sind die Enthalpiewerte (ΔH) für die Umwandlungen (reines DPPC und Mischungen) vergleichbar, was für eine gemeinsame Fluidisierung der Alkylketten des Bolalipids und des Phospholipids spricht. Für die äquimolare Mischung mit DSPC wird im Falle des PC-C17mPhC17-PC eine geringe Erniedrigung der Phasenumwandlungstemperatur ($\Delta T = 1.3$ K) detektiert, während für PC-C17oPhC17-PC eine Aufspaltung in zwei Umwandlungspeaks beobachtet wird (Abbildung 24A).

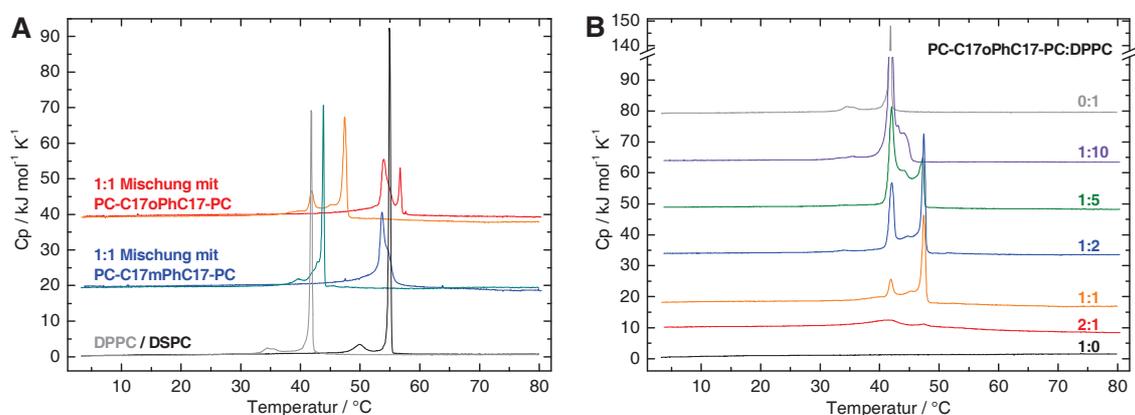


Abbildung 24: (A) DSC-Heizkurven von DPPC, DSPC ($c = 1$ mg/mL) sowie äquimolaren Mischungen ($c = 3$ mM) mit PC-C17m/oPhC17-PC; (B) DSC-Heizkurven von PC-C17oPhC17-PC, DPPC ($c = 1$ mg/mL) sowie Mischungen unterschiedlicher Zusammensetzung ($c = 3$ mM); die Kurven sind vertikal verschoben.

Für die Mischung PC-C17oPhC17-PC mit DPPC wurden noch weitere molare Verhältnisse untersucht (Abbildung 24B). Beginnend vom reinen DPPC entsteht durch Zumischen von zirka 10 % Bolalipid zunächst eine Schulter am Hauptumwandlungspeak in Richtung höherer Temperatur. Aus dieser Schulter formiert sich ein scharfer Peak bei $T_m2 = 47.5$ $^{\circ}\text{C}$, welcher mit steigender Bolalipidkonzentration an Intensität zunimmt. Zeitgleich nimmt der ursprüngliche Umwandlungspeak des DPPC an Intensität ab. Bei einem Überschuss von PC-C17oPhC17-PC sind schließlich nur noch zwei sehr breite Umwandlungen zu erkennen.

Um die Struktur der gebildeten Aggregate zu untersuchen, wurden TEM-Aufnahmen kontrastierter Proben angefertigt. In allen Mischungen wurden jedoch keine geschlossenen Vesikel (Liposomen) detektiert. Vielmehr kam es, wie auch in den zuvor untersuchten Mischungen, zur Ausbildung kleiner, scheibenförmiger Strukturen und länglichen Mizellen. Für die PC-C17oPhC17-PC-DPPC-Mischung konnte mit steigendem Anteil an DPPC eine Größenzunahme der Scheiben beobachtet werden. Bei einem Mischungsverhältnis von 1 : 10 (PC-C17oPhC17-PC : DPPC) waren neben den scheibenförmigen

Aggregaten (Abbildung 25A) auch kollabierte Vesikel zu erkennen. Der letzte Befund konnte durch Cryo-TEM-Aufnahme bestätigt werden (Abbildung 25C). Hier waren neben facettierten Vesikeln auch kleine Scheiben zu erkennen, welche entweder parallel oder senkrecht zur Gridoberfläche orientiert waren (schwarze Pfeile). Die Scheiben oder Disks bestehen vermutlich aus einer Phospholipid-Doppelschicht, welche an den Rändern durch Bolalipide stabilisiert ist (Abbildung 25B). Die Anzahl und die Größe der Disks kann dabei durch Variation der molaren Anteile beider Komponenten verändert werden. Vergleichbare Strukturen, welche oft auch *bicelles* genannt werden, sind für verschiedene gemischte Systeme in der Literatur beschrieben: z.B. für DPPC-DHPC-Mischungen (Rubio *et al.* 2011), in PEG-stabilisierten Systemen (Johansson *et al.* 2005, Zetterberg *et al.* 2011) oder für DPPC in Mischung mit T-förmigen Amphiphilen (Scholtysek *et al.* 2012).

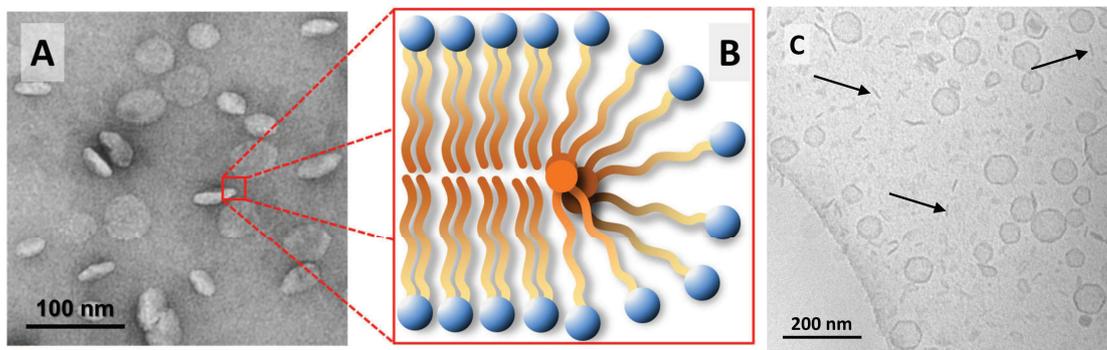


Abbildung 25: (A) TEM-Aufnahme einer wässrigen Suspension von PC-C17oPhC17-PC : DPPC (1 : 10, $c = 60 \mu\text{M}$), mit Uranylacetat kontrastiert; (B) Schematische Darstellung einer Disk bestehend aus einer Phospholipid-Doppelschicht, welche an den Rändern durch Bolalipide stabilisiert ist; (C) Cryo-TEM-Aufnahme einer wässrigen Suspension von PC-C17oPhC17-PC : DPPC (1 : 10, $c = 3 \text{mM}$), von Raumtemperatur gequenchet.

2.3.1.3 Mischungen mit unsymmetrischen Bolalipiden

(Vgl. Anlage **A11**)

Bei Betrachtung der bisher vorgestellten Ergebnisse kann man zu der Überzeugung gelangen, dass für eine Mischbarkeit und nachfolgend eine Stabilisierung der Liposomen die Aggregationsneigung der verwendeten Bolalipide zu Nanofasern bzw. kleinen, mizellaren Aggregaten kontraproduktiv ist: Unmodifizierte Bolalipide (PC-C32-PC) zeigen nur eine äußerst geringe Mischbarkeit mit Phospholipiden, wohingegen Alkylketten-modifizierte Bolalipide mit diesen zwar (partiell) mischbar sind, die Formierung von geschlossenen Vesikeln aber gestört und die Bildung scheibenförmiger Aggregate bevorzugt ist. Die Schlussfolgerung könnte nun sein, dass für eine „konstruktive Mischbarkeit“ – d.h. ein stabilisierender Einbau der Bolalipide in Phospholipid-Doppelschichten unter Beibehaltung der vesikulären Struktur – die Bolalipide in Reinform zu lamellaren Aggregaten assemblieren sollten. Um dieser Vermutung nachzugehen, wurden Mischungsuntersuchungen zwischen dem Membran-bildenden Bolalipid PC-C17pPhC17-OH und DPPC durchgeführt.

Aus den DSC-Heizkurven der PC-C17pPhC17-OH-DPPC-Mischungen unterschiedlicher Zusammensetzung ist leicht zu erkennen, dass die Umwandlungstemperatur des DPPC nicht durch einen steigenden Anteil an Bolalipid beeinflusst wird. Die Umwandlung des PC-C17pPhC17-OH verschiebt leicht zu höheren Temperaturen ($\Delta T = 1.2 \text{ K}$); zudem ist ein kleiner zusätzlicher Peak bei $T = 57.8^\circ\text{C}$ zu erkennen. Beide Peaks verbleiben bei den entsprechenden Temperaturen unabhängig von der molaren Zusammensetzung der Mischung. In den dazugehörigen DSC-Kühlkurven sind zwei hochkooperative Umwandlungen bei vergleichbarer Temperatur vorzufinden. Diese Ergebnisse belegen, dass beide Komponenten nicht mischbar sind, unabhängig von der Tatsache, dass beide Lipide lamellare Strukturen ausbilden.

Die Ergebnisse werden durch EM-Aufnahmen kontrastierter Proben der verschiedenen Mischungen unterstützt. Diese zeigen das Vorhandensein von DPPC-Vesikeln neben großen, flächigen Aggregaten aus PC-C17pPhC17-OH. Die Ursache dieser Nichtmischbarkeit könnte die Fähigkeit des unsymmetrischen Bolalipids sein, äußerst stabile Monoschichten auszubilden, in denen die Alkylketten erst bei Temperaturen von $T > 120^\circ\text{C}$ in den fluiden Zustand übergehen. Es ist anzunehmen, dass hier die gleichen Packungsprobleme auftreten, wie sie für Mischungen des PC-C32-PC mit DPPC beschrieben wurden. Durch das Missverhältnis zwischen einer großen Querschnittsfläche der PC-Kopfgruppe und dem kleinen Alkylkettenquerschnitt führt ein Einbau von PC-C17pPhC17-OH in gestreckter Konformation in DPPC-Bilayer zu einem „Hohlraum“, welcher durch keine der beiden Lipidspezies ausgefüllt werden kann. Dieser Hohlraum scheint energetisch so unvorteilhaft zu sein, dass sich Bolalipid und Phospholipid komplett entmischen.

2.3.2 SILIZIFIZIERUNG VON BOLALIPID-NANOFASERN: NEUE HYBRID-MATERIALIEN ALS TEMPLAT FÜR DIE EINDIMENSIONALE FIXIERUNG VON GOLD-NANOPARTIKELN

(Vgl. Anlage A7)

Der in der Einleitung geschilderte Zerfall der Nanofasern unmodifizierter Bolalipide bei Anbindung kleiner AuNP (2 nm) sollte mittels Silizifizierung umgangen werden. Für die Untersuchungen wurden das PC-C32-PC und das HEPC-C35-HEPC verwendet. Letzteres verfügt über eine zusätzliche Hydroxylfunktion in der PC-Kopfgruppe, welche die Möglichkeit eröffnet, die Orthosilikate kovalent zu binden. Als Orthosilikat-Vorstufen wurden das TEOS sowie zwei Schwefel-modifizierte Varianten, (3-Mercaptopropyl)trimethoxysilan (MP-TMOS) und (3-Mercaptopropyl)triethoxysilan (MP-TEOS), verwendet. Die zusätzliche Thiolgruppe wurde gewählt um die Anbindung der AuNP zu forcieren.

2.3.2.1 Silizifizierungsreaktion

Für eine erste Charakterisierung der erhaltenen Hybridmaterialien nach erfolgter Silizifizierung wurden EM-Aufnahmen angefertigt. Da Silizium eine höhere Elektronendich-

te im Vergleich zu den Elementen der Bolalipidmoleküle aufweist, wurden EM-Aufnahmen von kontrastierten und von nicht-kontrastierten Proben aufgenommen.

Aus der systematischen Variation der Reaktionsbedingungen konnten folgende Größen für eine erfolgreiche Silizifizierung von Bolalipid-Nanofasern abgeleitet werden: Die Konzentration des Bolalipid-Templats sollte so gering wie möglich sein, um ein „Verkleben“ der Nanofasern zu verhindern (Abbildung 26A). Die Silikat-Vorstufen sollten in einem 40fachen Überschuss in Bezug auf die Bolalipidkonzentration eingesetzt werden; ein geringerer Überschuss führt zu einer unvollständigen Silizifizierung. Eine ausreichende Silizifizierung konnte, im Falle des TEOS, bereits nach 30 Minuten verzeichnet werden. Eine Verlängerung der Reaktionszeit bringt keine signifikante Vergrößerung der Silikatschicht auf dem Bolalipid-Templat. Zudem hat sich gezeigt, dass die Reaktionsmischung ausreichend stark gerührt werden muss (300–800rpm), um eine homogene Verteilung der Silikat-Vorstufen und somit eine einheitliche Silizifizierung zu erreichen (Abbildung 26B). Als vorteilhaft hat sich das Abstoppen der Silizifizierungsreaktion durch Zugabe von wässriger Salzsäure (auf einen neutralen pH-Wert) erwiesen. Dadurch kann ein unkontrolliertes Fortschreiten der Silizifizierung und die Ausbildung von unspezifischen Siliziumaggregaten weitestgehend unterbunden werden (Abbildung 26C).

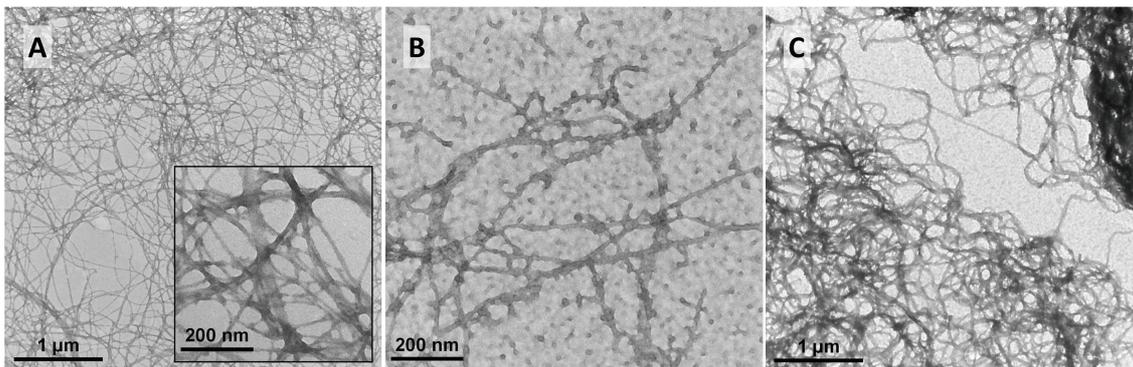


Abbildung 26: TEM-Aufnahmen von Bolalipid-Silikat-Hybridmaterialien; $c_{PC-C32-PC} = 0.33$ mg/mL, 40facher Überschuss an TEOS, 30 min silizifiziert: (A) 300rpm, ohne HCl-Zugabe; (B) 50rpm, ohne HCl-Zugabe; (C) 300rpm, nach Zugabe von HCl (auf pH = 7) zum Abstoppen, weitere 3h ohne Rühren. Die Proben wurden nicht kontrastiert.

Weitere Untersuchungen wurden für die schwefelhaltigen Silikat-Vorstufen durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass das MP-TMOS aufgrund seiner sehr schlechten Löslichkeit in Wasser und der schnellen Dissoziation der Methoxygruppen nicht für eine Silizifizierung von Bolalipid-Nanofasern geeignet ist. Das entsprechende Analogon MP-TEOS kann dagegen ohne weiteres verwendet werden, obgleich hier die Reaktionszeit auf drei Stunden zu verlängern ist, um eine ausreichende Silizifizierung zu erreichen. Zudem können Mischungen aus TEOS und MP-TEOS Anwendung finden, was zu einer gesteigerten Effektivität der Silizifizierung im Vergleich zum reinen MP-TEOS führt.

2.3.2.2 Charakterisierung der Hybridmaterialien

Die erhaltenen Bolalipid-Silikat-Hybridmaterialien wurden physiko-chemisch charakterisiert. Es galt zu klären, ob die Silikathülle komplett geschlossen ist, ob die Bolalipidmoleküle innerhalb der silifizierten Nanofasern in der Beweglichkeit eingeschränkt sind und ob es zu kovalenten Bindungen zwischen der OH-Gruppe des HEPC-C35-HEPC und den Silikaten kommt. Zur Klärung dieser Fragen kamen DSC sowie ^{31}P - und ^{13}C -NMR-Untersuchungen zum Einsatz.

Die DSC-Heizkurven des silifizierten PC-C32-PC zeigen in Abhängigkeit des jeweiligen Heizscans ein unterschiedliches Bild. Im ersten Heizscan ist die Faser–Mizell-Umwandlung des PC-C32-PC zu höheren Temperaturen verschoben und zudem in zwei, relativ breite Peaks aufgespalten ($T = 53.0$ und 56.4°C). Die Mizell–Mizell-Umwandlung ist ebenfalls stark verbreitert und zu höheren Temperaturen verschoben ($T = 78\text{--}82^\circ\text{C}$). Der zweite Heizscan zeigt indes nur eine sehr breite Umwandlung bei $T = 64\text{--}64^\circ\text{C}$. Dieses Verhalten könnte wie folgt erklärt werden: Zunächst sind die Bolalipid-Nanofasern durch die Silikathülle stabilisiert, was eine Erhöhung der Umwandlungstemperatur zur Folge hat. Nach der Umwandlung der Fasern in die Mizellen ist die Reorganisation der Fasern während des Abkühlens massiv gestört und innerhalb der Zeit des DSC-Kühlscans und eines erneuten Aufheizens nicht abgeschlossen. Dies führt zum Fehlen der Faser–Mizell-Umwandlung im zweiten Heizscan. Zudem ist eine nahezu geschlossene Silikathülle um die Nanofasern zu vermuten. Andernfalls wäre ein Austreten der Bolalipidmoleküle im mizellaren Zustand aus der Silikathülle wahrscheinlich, was im zweiten Heizscan zu einer Faser–Mizell-Umwandlung im Bereich des unmodifizierten PC-C32-PC führen sollte. TEM-Aufnahmen nach der DSC-Messung belegen, dass die Bolalipid-Silikat-Nanofasern noch immer intakt sind.

Die Beweglichkeit der Bolalipid-Kopfgruppen innerhalb der Hybridmaterialien wurde durch vergleichende ^{31}P Festkörper-NMR-Untersuchungen von silifizierten und nicht-silizifizierten Proben eruiert. Es konnte gezeigt werden, dass die freie, isotrope Drehbarkeit der Kopfgruppen stark eingeschränkt ist, was durch einen breiten ^{31}P -Peak zum Ausdruck kommt.⁵ Zudem zeigt das ^{31}P -Signal eine ausgeprägte und im Vergleich zum nicht-silizifizierten PC-C32-PC andere Asymmetrie, welche auf eine Überlagerung von mehreren Signalen hindeutet.

Um die Frage nach einer möglichen, kovalenten Bindung zwischen den OH-Gruppen des HEPC-C35-HEPC und den Silikaten zu beantworten, wurden ^{13}C -Festkörper-NMR-Messungen von silifizierten und nicht-silizifizierten Proben durchgeführt. Es ist zu erwarten, dass eine kovalente C–O–Si-Bindung zu einer deutlichen Verschiebung des ^{13}C -Signals des in die Bindung involvierten C-Atoms führt. In den entsprechenden ^{13}C -NMR-Spektren ist zu erkennen, dass die ^{13}C -Peaks der silifizierten Proben im Vergleich zu den nicht-silizifizierten Derivaten deutlich breiter sind. Dies ist auf eine eingeschränkte Beweglichkeit der Bolalipidmoleküle bzw. der Kopfgruppen innerhalb

⁵ Die Signalbreite der silifizierten Probe entspricht $\Delta\delta = 43$ ppm, während das ^{31}P -Signal der nicht-silizifizierten Probe eine Breite von $\Delta\delta = 20$ ppm – jeweils bei Raumtemperatur gemessen – aufweist (Meister, A.; Bastrop, M.; Koschoreck, S.; Garamus, V.M.; Sinemus, T.; Hempel, G.; Drescher, S.; Dobner, B.; Richtering, W.; Huber, K. und Blume, A. (2007). Structure-property relationship in stimulus-responsive bolaamphiphile hydrogels. *Langmuir*, **23**, 7715-7723.)

der Bolalipid-Silikat-Hybridmaterialien zurückzuführen. Jedoch ist die Position der ^{13}C -Signale, insbesondere in der $-\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppe, nur geringfügig verändert. Diese minimale Verschiebung zu einer höheren Resonanzfrequenz lässt den Schluss zu, dass es nicht zu einer Ausbildung einer kovalenten C–O–Si-Bindung kommt.

2.3.2.3 Fixierung von Gold-Nanopartikeln

Abschließend wurde die Dotierung der Bolalipid-Silikat-Hybridmaterialien mit AuNP untersucht. In einem ersten Versuch wurden mit TEOS beschichtete PC-C32-PC-Nanofasern mit 5 nm AuNP dotiert. Wie in Abbildung 27A zu erkennen, lagern sich einzelne Faserstränge zusammen, welche durch die AuNP verbrückt und zusammengehalten werden. Verglichen mit unmodifizierten Nanofasern aus PC-C32-PC zeigen die silifizierten Nanofasern eine signifikant höhere Beladungsdichte (Meister *et al.* 2008b). Da die AuNP durch Citrat stabilisiert sind und die silifizierten Nanofasern eine hydrophile Oberfläche aufweisen, ist anzunehmen, dass die AuNP über hydrophile Wechselwirkungen (Wasserstoffbrückenbindungen) an die Oberfläche der Hybridmaterialien gebunden sind; ein Austausch der Citratgruppe gegen eine Silanolgruppe (SiOH) der Oberfläche ist ebenfalls vorstellbar. Die Verwendung von schwefelhaltigen Silikat-Vorstufen (MP-TEOS in Mischung mit TEOS) führt dazu, dass nur noch zwei Faserstränge über 5 nm AuNP verknüpft werden (Abbildung 27B). Eine Steigerung der Beladungsdichte im Vergleich zur Silifizierung mit reinem TEOS konnte jedoch nicht beobachtet werden. Es kann demnach davon ausgegangen werden, dass die freie Thiolgruppe des MP-TEOS keinen signifikanten Effekt auf die Bindung von AuNP ausübt. Letztlich wurde auch die Fixierung von 2 nm AuNP untersucht. Wie in Abbildung 27C leicht zu erkennen, bleiben die silifizierten Nanofasern nach Zugabe der AuNP intakt – ein gravierender Unterschied zur Verwendung der nicht-silifizierten Nanofasern (Meister *et al.* 2008b). Analog zur Anbindung der 5 nm AuNP (Abbildung 27B) sind die 2 nm AuNP wieder zwischen zwei Fasersträngen angeordnet.

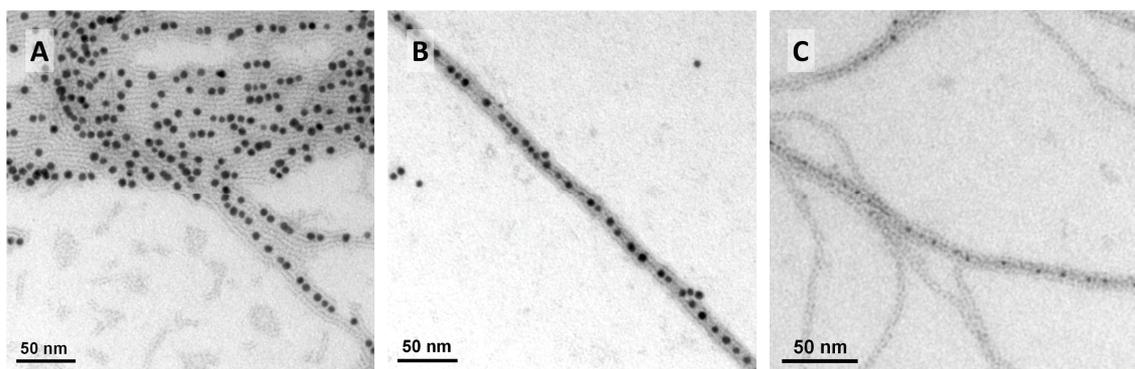


Abbildung 27: TEM-Aufnahmen von silifizierten und mit Gold-Nanopartikeln dotierten Bolalipid-Nanofasern. Reaktionsbedingungen: $c_{\text{PC-C32-PC}} = 0.033 \text{ mg/mL}$; 40facher Überschuss an TEOS (A) bzw. TEOS : MP-TEOS (5 : 1) (B,C); 30 min (A) bzw. 180 min (B,C) silifiziert; bei 300rpm. Nach der Silifizierung erfolgte die Zugabe von Gold-Nanopartikeln einer Größe von 5 nm (A,B) bzw. 2 nm (C) im Verhältnis 1000 : 1 (Bolalipid : AuNP). Die Proben wurden mit Uranylacetat kontrastiert.

3 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Die in dieser Habilitationsschrift vorgestellten artifiziellen Phospholipide gehören zu den Bolalipiden; eine Lipidklasse, die sich durch zwei polare, gleiche oder ungleiche Kopfgruppen, welche über eine lange hydrophobe Alkylkette miteinander verbunden sind, auszeichnet. Ihren Ursprung haben die Bolalipide in den Membranlipiden verschiedener Spezies der Archaeen, wo sie für deren außerordentliche Stabilität gegenüber äußeren Einflüssen, wie sehr große Hitze oder extrem niedrige pH-Werte, verantwortlich sind. Die außergewöhnlichen Eigenschaften dieser bipolaren Phospholipide und die vielfältigen Aggregatformen, welche natürliche und artifizielle Bolalipide in wässriger Volumenphase ausbilden, stellen ein noch immer wachsendes Forschungsgebiet dar.

Die vorliegende Arbeit fasst kumulativ die erzielten Ergebnisse der Synthese (1. Abschnitt, Kapitel 2.1) und physiko-chemischen Charakterisierung (2. Abschnitt, Kapitel 2.2) bipolarer Amphiphile zusammen. Ferner werden Aspekte für mögliche Anwendungen der neuen Lipide vorgestellt (3. Abschnitt, Kapitel 2.3).

1. Abschnitt: Synthetische Arbeiten

Der chemische Aufbau der bipolaren Phospholipide wurde in vielfacher Hinsicht modifiziert. Im Mittelpunkt standen dabei Abwandlungen in der Kopfgruppenstruktur der Bolalipide, insbesondere die Einführung pH-sensitiver Kopfgruppen und einer Molekülasymmetrie, sowie Variationen in der Struktur des hydrophoben Bereiches. Zudem wurden ein- und mehrkettige Bolalipide synthetisiert.

Für die Darstellung von einkettigen, Amin-funktionalisierten Bolalipiden konnten zwei neue Syntheserouten etabliert werden: Zum einen kann *N,N*-Dimethylethylen-diamin, mit als Imin geschützter primärer Aminogruppe, für die Quarternierungsreaktion verwendet werden. Zum anderen kann die freie primäre Aminogruppe durch Verwendung von 2-Azidoethylamin und einem Propinyl-modifizierten Bolalipid via Click-Reaktion in die Kopfgruppe der Bolalipide eingeführt werden. Die freie Aminogruppe eröffnete die Möglichkeit, weitere Marker oder Funktionalisierungen, wie z. B. Fluoreszenz- oder ESR-Label, Aminosäuren, Peptide (Erkennungsstrukturen) oder polymerisierbare Gruppen (wie Sorbinsäure), einzuführen. Diese Möglichkeit konnte mit drei Beispielen belegt werden (vgl. Anlage **A1**).

Für die Darstellung der einkettigen Bolalipide mit zwei mittelständigen Dreifachbindungen wurden drei verschiedene Reaktionswege diskutiert. Für die Synthese der zentralen Zwischenprodukte, der ω -Alkin-1-ole, stellte die als Acetylid-Weg bezeichnete Variante die im Hinblick auf Reaktionsführung und erzielte Ausbeuten beste Wahl dar. Auf diese Weise konnten acht, in der Gesamtkettenlänge variierende, Diacetylen-modifizierte Bolalipide mit Phosphocholin- bzw. Phosphodimethylethanolamin-Kopfgruppe synthetisiert werden (vgl. Anlage **A3**).

Für die Synthese von einkettigen, Phenylen/Biphenylen-modifizierten Bolalipiden konnten zwei neue Routen unter Verwendung der GRIGNARD-Kupplung (vgl. Anlage **A5**) oder der SONOGASHIRA-Kreuzkupplung (vgl. Anlage **A6**) etabliert werden. Die

SONOGASHIRA-Kreuzkupplung erlaubte zudem die einfache Darstellung unterschiedlicher Substitutionsmuster (*ortho*-, *meta*- oder *para*-Substitution) am Phenylring. Beide Varianten sind darüber hinaus für die Darstellung unsymmetrischer Bolalipide geeignet (vgl. Anlage **A11**) und lassen sich natürlich auch auf andere Alkylkettenlängen anwenden. Ferner bietet die freie OH-Gruppe des PC-C17pPhC17-OH Raum für zusätzliche Funktionalisierungen.

Ein Nebenprodukt, welches generell bei der Synthese von Bolalipiden unter Verwendung von β -Bromethylphosphorsäuredichlorid als Phosphorylierungsmittel sowie nachfolgender Quarternierung in Größenordnungen von 5–15% auftritt, konnte als Phosphoglycol-Derivat identifiziert werden. Die chemische Struktur des Nebenproduktes konnte durch Etablierung eines neuen Zugangs zu einkettigen, unsymmetrischen Bolalipiden bestätigt werden (vgl. Anlage **A9**).

Mehrketttige, symmetrische Bolalipide (Tetraetherlipide) mit einer durchspannenden (C32) und zwei kürzeren (C16) Alkylketten konnten durch Verknüpfung von entsprechenden Glycerolbausteinen unter Verwendung der Metathese-Reaktion dargestellt werden (vgl. Anlagen **A4** und **A13**). Diese Tetraetherlipide besitzen zwei oder vier, optisch reine oder racemische Methylverzweigungen an definierten Positionen der Alkylketten. Darüber hinaus konnte ein weiterer Syntheseweg für die Tetraetherlipide etabliert werden. Hierbei wurde die durchspannende Alkylkette in einem zwei Glycerolbausteine verknüpfenden Reaktionsschritt eingeführt. Ein Vergleich der beiden Reaktionsführungen zeigt, dass die Metathese-Route die höheren Gesamtausbeuten (15–32% *versus* 8–20%) liefert, der zweite Syntheseweg jedoch einen Reaktionsschritt kürzer ist und zudem die Verwendung der kostenintensiven Ruthenium-Katalysatoren umgeht. Darüber hinaus verknüpft der zweite Weg auf elegante Art die Synthese einkettiger und mehrkettiger Bolalipide (vgl. Anlage **A13**).

Abschließend wurde eine neue Substanzklasse, die unsymmetrischen Glyceroldietherlipide, eingeführt, deren Darstellung in dieser Arbeit beschrieben wird (vgl. Anlage **A14**). Die hier vorgestellte Synthese ist wiederum auf andere Alkylkettenmuster und Kopfgruppen übertragbar. Zudem besitzen diese Bolalipide, neben einer interessanten Molekülstruktur, die Möglichkeit weiterführender Modifikationen: An die freie OH-Gruppe können beispielsweise eine zweite, pH-sensitive Kopfgruppe, Fluoreszenzlabel oder andere Strukturen geknüpft werden.

2. Abschnitt: Eigenschaften bipolarer Amphiphile

Das Aggregationsverhalten der neu dargestellten, bipolaren Amphiphile in wässriger Volumenphase wurde im zweiten Abschnitt dieser Arbeit umfangreich charakterisiert. Für diese physikalisch-chemischen Untersuchungen kamen vor allem kalorimetrische Verfahren (*differential scanning calorimetry*, DSC), Streumethoden (Dynamische Lichtstreuung, DLS; Neutronenstreuung, SANS; Röntgenstreuung, SAXS und WAXS), spektroskopische Methoden (Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie, FTIR; Kernresonanzspektroskopie, NMR) sowie bildgebende Verfahren (Transmissionselektronenmikroskopie, TEM; Cryo-TEM; Gefrierbruch-EM) zum Einsatz. Die zentrale Frage dabei war: Wie wirken sich Änderungen in der Kopfgruppenstruktur und Alkylkettenmodifikationen von ein- und mehrkettigen Bolalipiden bzw. die Einführung einer

Molekülasymmetrie auf die Form der gebildeten Aggregate und deren Stabilität aus und können durch Adaption des Packungsparameters nach ISRAELACHVILI Vorhersagen zur Aggregatform getroffen werden. Das Aggregationsverhalten der Bolalipide wird maßgeblich vom Wechselspiel zwischen „Dimensionsfaktor“ (Länge der Alkylkette und Verhältnis zwischen Kopfgruppen- und Alkylkettenquerschnitt) und „Wechselwirkungsfaktor“ (Art und Stärke intermolekularer Wechselwirkungen) bestimmt.

Durch die Einführung einer primären Aminogruppe in die Kopfgruppenstruktur von Bis(phosphocholinen) konnte ein pH-abhängiges Aggregationsverhalten erreicht werden: Im Alkalischen bildeten die Amin-modifizierten Bolalipide AEPC-C32-AEPC und AETPC-C32-AETPC lange Nanofasern, während dies im sauren Milieu aufgrund der positiven Gesamtladung der Bolalipidmoleküle unterbunden wurde (vgl. Anlage **A1**). Bei den $\text{Me}_2\text{PE-C}_n\text{-Me}_2\text{PE}$ -Derivaten ($n = 22\text{--}32$) ist ein gegenläufiges Verhalten zu beobachten, was zukünftig – insbesondere bei Mischung dieser beiden Lipidspezies – interessante Aggregationseigenschaften hervorzubringen vermag.

Ein Verlängern der Alkylkette der Bis(phosphodimethylethanolamine) auf 34 bzw. 36 Kohlenstoffatome brachte eine neue, bis dahin noch nicht detailliert beschriebene Aggregatform hervor. Neben den kinetisch stabilen Nanofasern bildeten sich nach einiger Zeit thermodynamisch stabile, quadratische Lamellen mit einer Kantenlänge von bis zu 200 nm. Die innere Struktur dieser Lamellen konnte durch SAXS- und WAXS-Messungen aufgeklärt werden (vgl. Anlage **A2**). Dieses Beispiel zeigt sehr eindrucksvoll, wie sehr kleine Unterschiede im Molekülbau – Verlängerung der Alkylkette um zwei bzw. vier Methylenheiten – einen großen Einfluss auf die Aggregatform haben können.

Der Einbau von „Störungen“ – in Form von Methylverzweigungen, Dreifachbindungen oder Phenylringen – in die langen Alkylketten der Bolalipide führt zu einer Destabilisierung der Faserstruktur, was sich in einer Erniedrigung der Umwandlungstemperatur bzw. dem Fehlen einer Faser-Mizell-Umwandlung im Temperaturbereich zwischen 2 und 95 °C widerspiegelt. In den meisten Fällen wird die Faserbildung unterbunden und stattdessen sehr kleine, mizellare Strukturen (Wurmmizellen) beobachtet (vgl. Anlagen **A5**, **A10–A12**). Zudem zeigt der direkte Vergleich von PC-C16pPhC16-PC mit PC-C17pPhC17-PC, dass eine kritische Länge für die unmodifizierte Alkylkette existiert, ab derer die Bildung von Nanofasern möglich ist. Die Untersuchungen belegen ebenfalls, dass ein Phenylring innerhalb der Alkylkette von einkettigen, symmetrischen Bolalipiden nicht zur Ausbildung von $\pi\text{--}\pi$ -Wechselwirkungen befähigt ist. Diese Wechselwirkungen sind nur von kurzer Reichweite und zudem von der relativen Lage der Phenylringe zueinander abhängig. Aufgrund des Missverhältnisses zwischen der relativ großen PC-Kopfgruppe und des schmalen Alkylkettenquerschnitts sind die Bolalipidmoleküle innerhalb der Fasern gegeneinander verdrillt. Dies hat zur Folge, dass die Phenylringe für eine konstruktive Wechselwirkung nicht nah genug zueinander finden.

Die mehrkettigen Bolalipide (Tetraetherlipide) assemblieren im Wässrigen zu vesikulären Strukturen. Dabei sind die Anzahl und Position nicht aber die Stereospezifität der Methylgruppen innerhalb der Alkylketten für das Phasenverhalten der Tetraetherli-

pide entscheidend. Zwei oder vier racemische Methylverzweigungen an den „richtigen“ Positionen der Alkylkette sind ausreichend, um ein den natürlichen, archaealen Tetraetherlipiden analoges Verhalten zu induzieren (vgl. Anlagen **A4** und **A13**). Darüber hinaus kann festgehalten werden, dass das Phasenverhalten der kettenmodifizierten Tetraetherlipide maßgeblich von der längsten, unverzweigten Alkylkette bestimmt wird. Für die Langzeitstabilität der Liposomen sind Methylverzweigungen in der membran-durchspannenden Alkylkette der Tetraetherlipide essentiell (vgl. Anlage **A13**).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das Aggregationsverhalten von Bolalipiden nicht nur durch Anzahl, Länge und Abwandlungen der Alkylketten sowie durch Größe und Ladung der Kopfgruppen gesteuert werden kann, sondern auch durch Einführung einer Molekülasymmetrie, d.h. der Anbindung von zwei unterschiedlichen Kopfgruppen. Geringe Unterschiede in der Größe der Kopfgruppen, wie im Falle des DMAPPC-C32-POH, können dabei kompensiert werden und es bilden sich Nanofasern. Ab einem bestimmten Größenunterschied sind helikale Nanofasern nicht mehr die präferierte Aggregatform: Für die einkettigen Bolalipide DMAPPC-C32-OH (vgl. Anlage **A8**) und PC-C17pPhC17-OH (vgl. Anlage **A11**) konnten große, lamellare Aggregate, in denen die Bolalipidmoleküle antiparallel (interdigitiert) angeordnet sind, beobachtet werden. Auch die mehrkettigen Glyceroldietherlipide mit einer keilförmigen Molekülstruktur bilden im wässrigen Medium große, lamellare Aggregate mit interdigitiert angeordneten Lipidmolekülen (vgl. Anlage **A14**). In allen Fällen konnte durch FTIR-Messungen und Röntgenbeugungsexperimente der molekulare Aufbau der Lamellen aufgeklärt werden. Zudem konnte gezeigt werden, dass der Übergang zur flüssig-kristallinen Phase erst bei sehr hohen Temperaturen von zum Teil über 120°C stattfindet, was auf die sehr dichte Packung der Alkylketten innerhalb der lamellaren Aggregate zurückzuführen ist.

Abschließend wurde das Molekülformkonzept nach ISRAELACHVILI, welches für monopolare Lipide definiert ist, auf die bipolaren Lipide adaptiert. Als Resultat können nunmehr grobe Abschätzungen getroffen werden, ob Mizellen, Nanofasern oder lamellare Strukturen die bevorzugte Aggregatform von Bolalipiden in wässriger Suspension darstellen.

3. Abschnitt: Aspekte zur Anwendung bipolarer Amphiphile

Neben der Charakterisierung der reinen Bolalipide in wässriger Volumenphase wurden im letzten Abschnitt der vorliegenden Habilitationsschrift eher anwendungsbezogene Fragen thematisiert. Im Fokus standen dabei Fragen nach der Mischbarkeit der Bolalipide mit klassischen Phospholipiden sowie die Nutzung der Nanofasern für die Bildung neuartiger Hybridmaterialien.

Ausgangspunkt war die Nichtmischbarkeit des unmodifizierten PC-C32-PC mit klassischen Phospholipiden, welche auf Packungsprobleme – dem Missverhältnis zwischen großer Querschnittsfläche der PC-Kopfgruppe und kleinem Alkylkettenquerschnitt – zurückzuführen ist. Zunächst wurde versucht, diese Packungsproblematik durch Zumischen einer dritten Komponente (Cholesterol) zu umgehen, was aber nicht zum gewünschten Erfolg führte. Ein weiterer Ansatzpunkt war die Einführung von raumfüllenden Gruppen (Phenylringe, Methylverzweigungen) in die Alkylkette der bipolaren Amphiphile. Es konnte gezeigt werden, dass diese kettenmodifizierten,

einkettigen, symmetrischen Bolalipide in begrenztem Umfang mit klassischen Phospholipiden mischbar sind (vgl. Anlagen **A10** und **A11**). Jedoch wurden die Phospholipid-Bilayer nicht stabilisiert und die Ausbildung vesikulärer Strukturen wurde ebenfalls nicht beobachtet; stattdessen bildeten sich scheibenförmige Aggregate (Nanodisks). Des Weiteren hatte das Substitutionsmuster des Phenylrings der Phenylen-modifizierten Bolalipide einen Einfluss auf das Mischungsverhalten: Mit Verwendung des PC-C17oPhC17-PC konnte eine Stabilisierung der Phospholipid-Bilayer erreicht werden, was sich in einer erhöhten Phasenumwandlungstemperatur widerspiegelte (vgl. Anlage **A12**). Jedoch bildeten sich auch in diesem Fall keine vesikulären Strukturen (Liposomen) sondern wiederum Nanodisks, deren Anzahl und Größe durch Variation der molaren Anteile beider Komponenten verändert werden konnte. Auch die abschließende Verwendung des PC-C17pPhC17-OH, welches in Reinform in lamellare Strukturen assembliert, führte nicht zu einem stabilisierenden Einbau in Phospholipid-Bilayer unter Beibehaltung der vesikulären Struktur (vgl. Anlage **A11**).

Abschließend konnte gezeigt werden, dass sich die aus Bolalipiden (PC-C32-PC) aufgebauten Nanofasern als organisches Templat für die Abscheidung von anorganischen Silikaten eignen. Dieser als Silifizierung bezeichnete Vorgang wurde hinsichtlich der Effizienz optimiert und die erhaltenen Hybridmaterialien charakterisiert. NMR-Untersuchungen belegten dabei, dass eine zusätzlich in die Kopfgruppe der Bolalipide eingeführte Hydroxygruppe (HEPC-C35-HEPC) nicht zu einer kovalenten C–O–Si-Bindung führte. Die erhaltenen Hybridmaterialien eignen sich zudem für die Fixierung von Gold-Nanopartikeln einer Größe von 5 bzw. 2 nm (vgl. Anlage **A7**). Insbesondere die eindimensionale Anbindung von äußerst kleinen Nanopartikeln in wässriger Lösung, welche zu außergewöhnlichen elektrischen und optischen Eigenschaften führen könnte, ist in der Literatur nur wenig beschrieben.

Ausblick

Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse zu der Synthese, den Eigenschaften und möglichen Anwendungen artifizieller Phospholipide bilden die Grundlage für eine Vielzahl neuer Fragestellungen für zukünftige Arbeiten.

Von synthetischer Seite wäre es erstrebenswert, die freie Hydroxygruppe der un-symmetrischen Bolalipide zu nutzen, um andere Strukturen, wie phosphathaltige Kopfgruppen, Fluoreszenzmarker, Peptidfragmente oder Zucker, in die Bolalipide einzuführen. So könnten z. B. durch Verwendung von Fluoreszenz-markierten Bolalipiden und der Einzelmolekül-Fluoreszenz-Korrelationsspektroskopie (FCS) Aussagen zur Diffusion der Moleküle innerhalb der unterschiedlichen Aggregatformen getroffen werden.

Ferner könnten die Diacetylen-modifizierten Bolalipide genutzt werden, um nach erfolgreicher Polymerisierung stabile Nanofasern zu erhalten. Die so erzeugten Polydiacetylene (PDA) könnten zudem eine, durch äußere Einflüsse wie Temperatur oder Ionenstärke steuerbare, Farbigekeit aufweisen, die wiederum für Anwendungen in der Sensorik von Nutzen wären.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Bolalipide mit pH-sensitiven Kopfgruppen, wie beispielsweise der POH-, der AEPC- oder der DMAPPC-Kopfgruppe, könnten in

Mischungen untereinander bzw. mit anderen mono- oder bipolaren Amphiphilen zu interessanten, neuartigen Strukturen führen. Es ist vorstellbar, dass z.B. die Mischung von Bolalipiden mit positiv geladenen (AEPC) und negativ geladenen (POH) Kopfgruppen aufgrund ionischer Wechselwirkungen die Ausbildung sehr stabiler Aggregate bedingen könnte. Darüber hinaus besteht bei der negativ geladenen POH-Kopfgruppe die Möglichkeit, die Einflüsse von mono-, di- und trivalenten Kationen auf das Aggregationsverhalten der Bolalipide zu untersuchen.

Für die Anwendung der Bolalipide im Bereich des *drug delivery* muss man konstatieren, dass es bisher noch nicht gelungen ist, ein einfach zu synthetisierendes, möglichst einkettiges Bolalipid aufzufinden, welches sich stabilisierend in Phospholipid-Bilayer unter Erhalt der vesikulären Struktur einbaut. Möglicherweise muss der Alkylkettenbereich einkettiger Bolalipide durch Einbau von längeren Alkylverzweigungen weiter vergrößert werden – insbesondere in Kopfgruppennähe –, um den fehlenden Platzbedarf in Mischung mit klassischen Phospholipiden aufzufüllen. Diesem Sachverhalt widmet sich ein aktuelles, von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziertes Projekt (Dr 1024/1-1). Darüber hinaus erscheint auch die Verwendung von langkettigen 1, ω -Dicarbonsäuren, welche durch Oxidation der analogen 1, ω -Diole erhalten werden können, möglich, um die beschriebenen Packungsprobleme zu lösen.

Die Nanodisks, welche in Mischungen kettenmodifizierter, einkettiger Bolalipide – insbesondere dem PC-C17 ω PhC17-PC – mit klassischen Phospholipiden erhalten werden, könnten zur Stabilisierung von Phospholipid-Membranen (mit darin eingebetteten Proteinen) und somit in der Analytik von Membranproteinen eingesetzt werden.

Schließlich ist die Kalzinierung der Bolalipid-Silikat-Hybridmaterialien ein vielversprechender Ansatz, um sehr kleine Nanoröhren mit exakt definiertem Durchmesser, welcher zirka der Länge eines Bolalipidmoleküls entspricht, zu erhalten.

4 LITERATURVERZEICHNIS

- Alivisatos, A.P.; Johnsson, K.P.; Peng, X.; Wilson, T.E.; Loweth, C.J.; Bruchez Jr, M.P. und Schultz, P.G. (1996). Organisation of 'nanocrystal molecules' using DNA. *Nature*, **382**, 609-611.
- Allen, C.; Dos Santos, N.; Gallagher, R.; Chiu, G.N.; Shu, Y.; Li, W.M.; Johnstone, S.A.; Janoff, A.S.; Mayer, L.D.; Webb, M.S. und Bally, M.B. (2002). Controlling the physical behavior and biological performance of liposome formulations through use of surface grafted poly(ethylene glycol). *Biosci. Rep.*, **22**, 225-250.
- Allen, T.M.; Hansen, C.; Martin, F.; Redemann, C. und Yau-Young, A. (1991). Liposomes containing synthetic lipid derivatives of poly(ethylene glycol) show prolonged circulation half-lives in vivo. *Biochim. Biophys. Acta*, **1066**, 29-36.
- Allen, T.M. und Cullis, P.R. (2013). Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Adv. Drug Del. Rev.*, **65**, 36-48.
- Bae, A.H.; Numata, M.; Hasegawa, T.; Li, C.; Kaneko, K.; Sakurai, K. und Shinkai, S. (2005). 1D arrangement of Au nanoparticles by the helical structure of schizophyllan: a unique encounter of a natural product with inorganic compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 2030-2033.
- Baral, S. und Schoen, P. (1993). Silica-Deposited Phospholipid Tubules as a Precursor to hollow Submicron-Diameter Silica Cylinders. *Chem. Mater.*, **5**, 145-147.
- Barbeau, J.; Cammas-Marion, S.; Auvray, P. und Benvegna, T. (2011). Preparation and Characterization of Stealth Archaeosomes Based on a Synthetic PEGylated Archaeal Tetraether Lipid. *Journal of Drug Delivery*, 1-11.
- Barenholz, Y. (2012). Doxil - the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J. Control. Release*, **160**, 117-134.
- Bégu, S.; Durand, R.; Lerner, D.A.; Charnay, C.; Tourné-Péteilh, C. und Devoisselle, J.M. (2003). Preparation and characterization of siliceous material using liposomes as template. *Chem. Commun.*, 640-641.
- Bégu, S.; Girod, S.; Lerner, D.A.; Jardiller, N.; Tourné-Péteilh, C. und Devoisselle, J.-M. (2004). Characterization of a phospholipid bilayer entrapped into non-porous silica nanospheres. *J. Mater. Chem.*, **14**, 1316-1320.
- Benvegna, T.; Lecollinet, G.; Guilbot, J.; Roussel, M.; Brard, M. und Plusquellec, D. (2003). Novel bolaamphiphiles with saccharidic polar headgroups: synthesis and supramolecular self-assemblies. *Polym. Int.*, **52**, 500-506.
- Benvegna, T.; Brard, M. und Plusquellec, D. (2004). Archaeobacteria bipolar lipid analogues: structure, synthesis and lyotropic properties. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **8**, 469-479.
- Benvegna, T.; Réthoré, G.; Brard, M.; Richter, W. und Plusquellec, D. (2005). Archaeosomes based on novel synthetic tetraether-type lipids for the development of oral delivery systems. *Chem. Commun.*, 5536-5538.
- Binder, W.H.; Sachsenhofer, R.; Farnik, D. und Blaas, D. (2007). Guiding the location of nanoparticles into vesicular structures: a morphological study. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **9**, 6435-6441.
- Binder, W.H. und Sachsenhofer, R. (2008). Polymersome/Silica Capsules by 'Click'-Chemistry. *Macromol. Rapid. Comm.*, **29**, 1097-1103.
- Blöcher, D.; Gutermann, R.; Henkel, B. und Ring, K. (1984). Physicochemical characterization of tetraether lipids from *Thermoplasma acidophilum* Differential scanning calorimetry studies on glycolipids and glycophospholipids. *Biochim. Biophys. Acta*, **778**, 74-80.
- Blume, A.; Drescher, S.; Meister, A.; Graf, G. und Dobner, B. (2013). Tuning the Aggregation Behaviour of Single-Chain Bolaamphiphiles in Aqueous Suspension: From Nanoparticles to Nanofibres to Lamellar Phases. *Faraday Disc.*, **161**, 193-213.
- Bochot, A. und Fattal, E. (2012). Liposomes for intravitreal drug delivery: a state of the art. *J. Control. Release*, **161**, 628-634.
- Bondi, A. (1964). van der Waals Volumes and Radii. *J. Phys. Chem.*, **68**, 441-451.
- Brard, M.; Lainé, C.; Réthoré, G.; Laurent, I.; Neveu, C.; Lemiègre, L. und Benvegna, T. (2007). Synthesis of Archaeal Bipolar Lipid Analogues: A Way to Versatile Drug/Gene Delivery Systems. *J. Org. Chem.*, **72**, 8267-8279.
- Burkett, S.L. und Mann, S. (1996). Spatial organization and patterning of gold nanoparticles on self-assembled biolipid tubular templates. *Chem. Commun.*, 321-322.
- Campins, N.; Dieudonné, P.; Grinstaff, M.W. und Barthélémy, P. (2007). Nanostructured assemblies from nucleotide-based amphiphiles. *New J. Chem.*, **31**, 1928.
- Carballeira, N.M.; Montano, N. und Padilla, L.F. (2007). First total syntheses of (Z)-15-methyl-10-hexadecenoic acid and the (Z)-13-methyl-8-tetradecenoic acid. *Chem. Phys. Lipids*, **145**, 37-44.

- Chen, Y.; Lu, Y.; Chen, J.; Lai, J.; Sun, J.; Hu, F. und Wu, W. (2009). Enhanced bioavailability of the poorly water-soluble drug fenofibrate by using liposomes containing a bile salt. *Int. J. Pharm.*, **376**, 153-160.
- Chinchilla, R. und Nájera, C. (2007). The Sonogashira Reaction: A Booming Methodology in Synthetic Organic chemistry. *Chem. Rev.*, **107**, 874-922.
- Choquet, C.G.; Patel, G.B. und Sprott, G.D. (1996). Heat sterilization of archaeal liposomes. *Can. J. Microbiol.*, **42**, 183-186.
- Corma, A. und Garcia, H. (2008). Supported gold nanoparticles as catalysts for organic reactions. *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 2096-2126.
- Czogalla, A. (2008). Oral cyclosporine A - the current picture of its liposomal and other delivery systems. *Cellular & Molecular Biology Letters*, **14**, 139-152.
- Das, D.; Kar, T. und Das, P.K. (2012). Gel-nanocomposites: materials with promising applications. *Soft Matter*, **8**, 2348-2365.
- de Jongh, H.H.J. und de Kruijff, B. (1990). The conformational changes of apocytochrome c upon binding to phospholipid vesicles and micelles of phospholipid based detergents: a circular dichroism study. *Biochim. Biophys. Acta*, **1029**, 105-112.
- De Rosa, M.; Esposito, E.; Gambacorta, A.; Nicolaus, B. und Bu'Lock, J.D. (1980). Effects of temperature on ether lipid composition of *Caldariella acidophila*. *Phytochemistry*, **19**, 827-831.
- De Rosa, M.; Gambacorta, A. und Gliozzi, A. (1986). Structure, Biosynthesis, and Physicochemical Properties of Archaeobacterial Lipids. *Microbiol. Rev.*, 70-80.
- Degim, I.T.; Gümüşel, B.; Degim, Z.; Özçelikay, T.; Tay, A. und Güner, S. (2006). Oral Administration of Liposomal Insulin. *J. nanosci. Nanotechnol.*, **6**, 2945-2949.
- Delong, E.F.; Wu, K.Y.; Prezelin, B.B. und Jovine, R.V.M. (1994). High Abundance of Archaea in Antarctic Marine Picoplankton. *Nature*, **371**, 695-697.
- Dhasaiyan, P. und Prasad, B.L. (2017). Self-Assembly of Bolaamphiphilic Molecules. *Chem. Rec.*, 10.1002/tcr.201600085.
- Dijkman, R.; Dekker, N. und de Haas, G.H. (1990). Competitive inhibition of lipolytic enzymes. II. Preparation of 'monoacylamino' phospholipids. *Biochim. Biophys. Acta*, **1043**, 67-74.
- Doucet, H. und Hierso, J.-C. (2007). Palladium-Katalysatorsysteme für die Synthese von konjugierten Eninen durch Sonogashira-Kupplungen und verwandte Alkinylierungen. *Angew. Chem.*, **119**, 850-888.
- Drescher, S.; Meister, A.; Blume, A.; Karlsson, G.; Almgren, M. und Dobner, B. (2007). General synthesis and aggregation behaviour of a series of single-chain 1,w-bis(phosphocholines). *Chem. Eur. J.*, **13**, 5300-5307.
- Drescher, S.; Meister, A.; Graf, G.; Hause, G.; Blume, A. und Dobner, B. (2008). General synthesis and aggregation behaviour of new single-chain bolaphospholipids: variations in chain and headgroup structures. *Chem. Eur. J.*, **14**, 6796-6804.
- Eglinton, G. und Galbraith, A.R. (1959). Macrocyclic Acetylenic Compounds. Part 1. cycloTetradeca-1:3-diyne and Related Compounds. *J. Chem. Soc.*, 889-896.
- Eguchi, T.; Terachi, T. und Kakinuma, K. (1993). Direct closure of a 36-membered ring using the McMurry coupling: Synthetic studies on the macrocyclic archaeobacterial membrane lipids. *Tetrahedron Lett.*, **34**, 2175-2178.
- Eguchi, T.; Terachi, T. und Kakinuma, K. (1994). The first synthesis of an archaeobacterial 36-membered macrocyclic diether lipid. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **5**, 137.
- Eguchi, T.; Kano, H. und Kakinuma, K. (1996). Synthetic studies of archaeal macrocyclic tetraether lipids - a versatile approach to desmethylated analogues of the 72-membered macrocycle dibiphtanyldiglycerol. *Chem. Commun.*, 365-366.
- Eguchi, T.; Kano, H.; Arakawa, K. und Kakinuma, K. (1997). Synthetic Studies of Archaeal Macrocyclic Tetraether Lipids: Practical Synthesis of 72-Membered Tetraether Model Compounds. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **70**, 2545-2554.
- Eibl, H. (1984). Phospholipide als funktionelle Bausteine biologischer Membranen. *Angew. Chem.*, **96**, 247-262.
- Eibl, H.J. (1978). Phospholipid synthesis: Oxazaphospholanes and dioxaphospholanes as intermediates. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 4074-4077.
- Elferink, M.G.L.; Dewit, J.G.; Driessen, A.J.M. und Konings, W.N. (1994). Stability and Proton-Permeability of Liposomes Composed of Archaeal Tetraether Lipids. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes*, **1193**, 247-254.
- Fariya, M.; Jain, A.; Dhawan, V.; Shah, S. und Nagarsenker, M.S. (2015). Bolaamphiphiles: a pharmaceutical review. *Adv Pharm Bull*, **4**, 483-491.
- Febo-Ayala, W.; Morera-Felix, S.L.; Hrycyna, C.A. und Thompson, D.H. (2006). Functional Reconstitution of the Integral Membrane Enzyme, Isoprenylcysteine Carboxyl Methyltransferase, in Synthetic Bolaalipid Membrane Vesicles. *Biochem.*, **45**, 14683-14694.

- Fricker, G.; Kromp, T.; Wendel, A.; Blume, A.; Zirkel, J.; Rebmann, H.; Setzer, C.; Quinkert, R.-O.; Martin, F. und Müller-Goymann, C. (2010). Phospholipids and Lipid-Based Formulations in Oral Drug Delivery. *Pharm. Res.*, **27**, 1469-1486.
- Friedman, L. und Shani, A. (1974). Halopolycarbon Homologation. *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 7101-7103.
- Fuhrhop, J.-H.; Spiroski, D. und Boettcher, C. (1993). Molecular monolayer rods and tubules made of α -(L-lysine), ω -(amino) bolaamphiphiles. *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 1600-1601.
- Fuhrhop, J.-H. und Wang, T. (2004). Bolaamphiphiles. *Chem. Rev.*, **104**, 2901-2937.
- Fuhrman, J.A.; McCallum, K. und Davis, A.A. (1992). Novel Major Archaeobacterial Group from Marine Plankton. *Nature*, **356**, 148-149.
- Gabriel, J.L. und Chong, P.L. (2000). Molecular modeling of archaeobacterial bipolar tetraether lipid membranes. *Chem. Phys. Lipids*, **105**, 193-200.
- Gambacorta, A.; Gliozzi, A. und Rosa, M. (1995). Archaeal lipids and their biotechnological applications. *World J. Microbiol. Biotechn.*, **11**, 115-131.
- Gliozzi, A.; Relini, A.; Rolandi, R.; Dante, S. und Gambacorta, A. (1994). Organization of Bipolar Lipids in Monolayers at the Air-Water-Interface. *Thin Solid Films*, **242**, 208-212.
- Gliozzi, A. (1996). *Handbook of Nonmedical Applications of Liposomes*. Barenholz, Y. und Lasic, D.D. Boca Raton, New York/London/Tokyo, CRC Press: 329-348.
- Gliozzi, A.; Relini, A. und Chong, P.L.G. (2002). Structure and permeability properties of biomimetic membranes of bolaform archaeal tetraether lipids. *J. Membrane Sci.*, **206**, 131-147.
- Godt, A.; Duda, S.; Unsal, O.; Thiel, J.; Härter, A.; Roos, M.; Tschierske, C. und Diele, S. (2002). An efficient synthesis of liquid crystalline gigantocycles combining banana-shaped and rod-like mesogenic units. *Chem. Eur. J.*, **8**, 5094-5106.
- Gómez, C.; Benito, M.; Teijón, J.M. und Blanco, M.D. (2012). Novel methods and devices to enhance transdermal drug delivery: the importance of laser radiation in transdermal drug delivery. *Ther. Deliv.*, **3**, 373-388.
- Graf, G.; Drescher, S.; Meister, A.; Dobner, B. und Blume, A. (2011). Self-Assembled Bolaamphiphile Fibers Have Intermediate Properties between Crystalline Nanofibers and Wormlike Micelles: Formation of Viscoelastic Hydrogels Switchable by Changes in pH and Salinity. *J. Phys. Chem. B*, **115**, 10478-10487.
- Grechishnikova, I.; Johansson, L.B.-A. und Molotkovsky, J.G. (1996). Synthesis of new bifluorophoric probes adapted to studies of donor-donor electronic energy transfer in lipid systems. *Chem. Phys. Lipids*, **81**, 87-98.
- Guilbot, J.; Benvegnu, T.; Legros, N.; Plusquellec, D.; Dedieu, J.-C. und Gulik, A. (2001). Efficient Synthesis of Unsymmetrical Bolaamphiphiles for Spontaneous Formation of Vesicles and Disks with a Transmembrane Organization. *Langmuir*, **17**, 613-618.
- Halter, M.; Nogata, Y.; Dannenberger, O.; Sasaki, T. und Vogel, V. (2004). Engineered lipids that cross-link the inner and outer leaflets of lipid bilayers. *Langmuir*, **20**, 2416-2423.
- Han, F.; He, X.; Huang, J.; Li, Z.; Wang, Y. und Fu, H. (2004). Surface Properties and Aggregates in the Mixed Systems of Bolaamphiphiles and Their Oppositely Charged Conventional Surfactants. *J. Phys. Chem. B*, **108**, 5256-5262.
- Hann, I.M. und Prentice, H.G. (2001). Lipid-based amphotericin B: a review of the last 10 years in use. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **17**, 161-169.
- Heiser, U.F.; Wolf, R. und Dobner, B. (1997). Simple and high yield synthesis of (\pm)-10,10'-dimethyl-dotriacontan-1,1'-diol as a building block for branched bola compounds. Preparation of (\pm)-10,10'-dimethyl-dotriacontan-1,1'-diyl-bis[2-(trimethylammonio)ethyl phosphate] and the corresponding unbranched equivalent. *Chem. Phys. Lipids*, **90**, 25-30.
- Hirt, G. und Berchtold, R. (1958). Synthesis of phosphatides. A new synthesis of lecithin. *Pharm. Acta Helv.*, **33**, 349-356.
- Hosomi, A.; Hoashi, K.; Tominaga, Y.; Otaka, K. und Sakurai, H. (1987). A Novel Synthesis of 3-Alkyl-Substituted Isoprenylsilanes. *J. Org. Chem.*, **52**, 2947-2948.
- Huang, T.H.; Lee, C.W.B.; Das Gupta, S.K.; Blume, A. und Griffin, R.G. (1993). A carbon-13 and deuterium nuclear magnetic resonance study of phosphatidylcholine/cholesterol interactions: Characterization of liquid-gel phases. *Biochem.*, **32**, 13277-13287.
- Hünig, S. und Buysch, H.-J. (1967). Kettenverlängerung von Dicarbonsäuren um 24 C-Atome. *Chem. Ber.*, **100**, 4017-4026.
- In, I.; Jun, Y.-W.; Kim, Y.J. und Kim, S.Y. (2005). Spontaneous one dimensional arrangement of spherical Au nanoparticles with liquid crystal ligands. *Chem. Commun.*, 800-801.
- Israelachvili, J.N.; Marcelja, S. und Horn, R.G. (1980). Physical principles of membrane organisation. *Quart. Rev. Biophys.*, **13**, 121-200.
- Israelachvili, J.N. (2011). Intermolecular and Surface Forces. Burlington, Academic Press.

- Jacquemet, A.; Barbeau, J.; Lemiègre, L. und Benvegna, T. (2009). Archaeal tetraether bipolar lipids: Structures, functions and applications. *Biochimie*, **91**, 711-717.
- Jacquemet, A.; Lemiègre, L.; Lambert, O. und Benvegna, T. (2011). How the Stereochemistry of a Central Cyclopentyl Ring Influences the Self-Assembling Properties of Archaeal Lipid Analogues: Synthesis and CryoTEM Observations. *J. Org. Chem.*, **76**, 9738-9747.
- James, N.D.; Coker, R.J.; Tomlinson, D.; Harris, J.R.; Gompels, M.; Pinching, A.J. und Steward, J.S. (1994). Liposomal doxorubicin (Doxil): an effective new treatment for Kaposi's sarcoma in AIDS. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)*, **6**, 294-296.
- Jensen, S.M.; Christensen, C.J.; Petersen, J.M.; Treusch, A.H. und Brandl, M. (2015). Liposomes containing lipids from *Sulfolobus islandicus* withstand intestinal bile salts: An approach for oral drug delivery? *Int. J. Pharm.*, **493**, 63-69.
- Jiblaoui, A.; Barbeau, J.; Vivès, T.; Cormier, P.; Glippa, V.; Cosson, B. und Benvegna, T. (2016). Folate-conjugated stealth archaeosomes for the targeted delivery of novel antitumoral peptides. *RSC Adv.*, **6**, 75234-75241.
- Johansson, E.; Engvall, C.; Arfvidsson, M.; Lundahl, P. und Edwards, K. (2005). Development and initial evaluation of PEG-stabilized bilayer disks as novel model membranes. *Biophysical Chemistry*, **113**, 183-192.
- Julia, M. und Paris, J.M. (1973). Syntheses Using Sulfones. 5. Method for General Synthesis of Doubles. *Tetrahedron Letters*, 4833-4836.
- Kai, T.; Sun, X.-L.; Faucher, K.M.; Apkarian, R.P. und Chaikof, E.L. (2005). Design and synthesis of asymmetric acyclic phospholipid bolaamphiphiles. *J. Org. Chem.*, **70**, 2606-2615.
- Kameta, N.; Masuda, M.; Minamikawa, H.; Goutev, N.V.; Rim, J.a.; Jung, J.H. und Shimizu, T. (2005). Selective Construction of Supramolecular Nanotube Hosts with Cationic Inner Surfaces. *Adv. Mater.*, **17**, 2732-2736.
- Kameta, N.; Masuda, M.; Minamikawa, H.; Mishima, Y.; Yamashita, I. und Shimizu, T. (2007a). Functionalizable Organic Nanochannels Based on Lipid Nanotubes: Encapsulation and nanofluidic Behavior of Biomacromolecules. *Chem. Mater.*, **19**, 3553-3560.
- Kameta, N.; Masuda, M.; Minamikawa, H. und Shimizu, T. (2007b). Self-Assembly and Thermal Phase Transition Behavior of Unsymmetrical Bolaamphiphiles Having Glucose- and Amino-Hydrophilic Headgroups. *Langmuir*, **23**, 4634-4641.
- Kandler, O. (1992). Where Next with the Archaeobacteria. *Biochem. Soc. Symp.*, 195-207.
- Kates, M. (1992). Archaeobacterial Lipids - Structure, Biosynthesis and Function. *Biochem. Soc. Symp.*, **58**, 51-72.
- Kates, M. (1993). Membrane-Lipids of Extreme Halophiles - Biosynthesis, Function and Evolutionary Significance. *Experientia*, **49**, 1027-1036.
- Kew, S.J. und Hall, E.a.H. (2006). Structural effect of polymerisation and dehydration on bolaamphiphilic polydiacetylene assemblies. *J. Mater. Chem.*, **16**, 2039.
- Kim, J.M. und Thompson, D.H. (1992). Tetraether bolaform amphiphiles as models of archaeobacterial membrane lipids: synthesis, differential scanning calorimetry, and monolayer studies. *Langmuir*, **8**, 637-644.
- Kim, S.S.; Zhang, W. und Pinnavaia, T.J. (1998). Ultrastable Mesostructured Silica Vesicles. *Science*, **282**, 1302-1305.
- Köhler, K.; Förster, G.; Hauser, A.; Dobner, B.; Heiser, U.F.; Ziethe, F.; Richter, W.; Steiniger, F.; Drechsler, M.; Stettin, H. und Blume, A. (2004a). Temperature-dependent behavior of a symmetric long-chain bolaamphiphile with phosphocholine headgroups in water: from hydrogel to nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 16804-16813.
- Köhler, K.; Förster, G.; Hauser, A.; Dobner, B.; Heiser, U.F.; Ziethe, F.; Richter, W.; Steiniger, F.; Drechsler, M.; Stettin, H. und Blume, A. (2004b). Self-assembly in a bipolar phosphocholine-water system: the formation of nanofibers and hydrogels. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 245-247.
- Köhler, K.; Meister, A.; Förster, G.; Dobner, B.; Drescher, S.; Ziethe, F.; Richter, W.; Steiniger, F.; Drechsler, M.; Hause, G. und Blume, A. (2006a). Conformational and thermal behavior of a pH-sensitive bolaform hydrogelator. *Soft Matter*, **2**, 77-86.
- Köhler, K.; Meister, A.; Dobner, B.; Drescher, S.; Ziethe, F. und Blume, A. (2006b). Temperature-dependent aggregation behavior of symmetric long-chain bolaamphiphiles at the air-water interface. *Langmuir*, **22**, 2668-2675.
- Komatsu, H. und Chong, P.L.G. (1998). Low permeability of liposomal membranes composed of bipolar tetraether lipids from thermoacidophilic archaeobacterium *Sulfolobus acidocaldarius*. *Biochem.*, **37**, 107-115.

- Le Gall, T.; Barbeau, J.; Barrier, S.; Berchel, M.; Lemiègre, L.; Jeftić, J.; Meriadec, C.; Artzner, F.; Gill, D.R.; Hyde, S.C.; Férec, C.; Lehn, P.; Jaffrès, P.-A.; Benvegno, T. und Montier, T. (2014). Effects of a Novel Archaeal Tetraether-Based Colipid on the In Vivo Gene Transfer Activity of Two Cationic Amphiphiles. *Molecular Pharmaceutics*, **11**, 2973-2988.
- Lewis, R.N.A.H. und McElhaney, R.N. (1993). Studies of Mixed-Chain Diacyl Phosphatidylcholines with Highly Asymmetric Acyl Chains: A Fourier Transform Infrared Spectroscopic Study of Interfacial Hydration and Hydrocarbon Chain Packing in the Mixed Interdigitated Gel Phase. *Biophys. J.*, **65**, 1866-1877.
- Li, Z.; Chen, J.; Sun, W. und Xu, Y. (2010). Investigation of archaeosomes as carriers for oral delivery of peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **394**, 412-417.
- Lipshutz, B.H.; Chung, D.W. und Rich, B. (2008). Sogogashira Couplings of Aryl Bromides: Room Temperature, Water Only, No Copper. *Org. Lett.*, **10**, 3793-3796.
- Liu, J. und Lu, Y. (2005). Stimuli-responsive disassembly of nanoparticle aggregates for light-up colorimetric sensing. *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 12677-12683.
- Macaulay, S.R. (1980). Isomerization of Internal Triple Bonds of Alkyn-1-ols with Sodium Hydride in 1,3-Diaminopropane. *J. Org. Chem.*, **45**, 734-735.
- Mahmoud, G.; Jedelska, J.; Strehlow, B. und Bakowsky, U. (2015). Bipolar tetraether lipids derived from thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus acidocaldarius* for membrane stabilization of chlorin e6 based liposomes for photodynamic therapy. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **95**, 88-98.
- Marsh, D. (2009). Cholesterol-induced fluid membrane domains: A compendium of lipid-raft ternary phase diagrams. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes*, **1788**, 2114-2123.
- Masuda, M. und Shimizu, T. (2001). Multilayer structure of an unsymmetrical monolayer lipid membrane with a 'head-to-tail' interface. *Chem. Commun.*, 2442-2443.
- Masuda, M. und Shimizu, T. (2004). Lipid nanotubes and microtubes: experimental evidence for unsymmetrical monolayer membrane formation from unsymmetrical bolaamphiphiles. *Langmuir*, **20**, 5969-5977.
- McMurry, J.E. (1989). Carbonyl-Coupling Reactions Using Low-Valent Titanium. *Chem Rev*, **89**, 1513-1524.
- Meegan, J.E.; Aggeli, A.; Boden, N.; Brydson, R.; Brown, A.P.; Carrick, L.; Brough, A.R.; Hussain, A. und Ansell, R.J. (2004). Designed Self-Assembled β -Sheet Peptide Fibrils as Templates for Silica Nanotubes. *Adv. Funct. Mater.*, **14**, 31-37.
- Meister, A.; Köhler, K.; Drescher, S.; Dobner, B.; Karlsson, G.; Edwards, K.; Hause, G. und Blume, A. (2007a). Mixing behaviour of a symmetrical single-chain bolaamphiphile with phospholipids. *Soft Matter*, **3**, 1025-1031.
- Meister, A.; Bastrop, M.; Koschoreck, S.; Garamus, V.M.; Sinemus, T.; Hempel, G.; Drescher, S.; Dobner, B.; Richtering, W.; Huber, K. und Blume, A. (2007b). Structure-property relationship in stimulus-responsive bolaamphiphile hydrogels. *Langmuir*, **23**, 7715-7723.
- Meister, A. und Blume, A. (2007). Self-assembly of bipolar amphiphiles. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **12**, 138-147.
- Meister, A.; Weygand, M.J.; Brezesinski, G.; Kerth, A.; Drescher, S.; Dobner, B. und Blume, A. (2007c). Evidence for a reverse U-shaped conformation of single-chain bolaamphiphiles at the air-water interface. *Langmuir*, **23**, 6063-6069.
- Meister, A.; Drescher, S.; Garamus, V.M.; Karlsson, G.; Graf, G.; Dobner, B. und Blume, A. (2008a). Temperature-dependent self-assembly and mixing behavior of symmetrical single-chain bolaamphiphiles. *Langmuir*, **24**, 6238-6246.
- Meister, A.; Drescher, S.; Mey, I.; Wahab, M.; Graf, G.; Garamus, V.M.; Hause, G.; Mögel, H.-J.; Janshoff, A.; Dobner, B. und Blume, A. (2008b). Helical nanofibers of self-assembled bipolar phospholipids as template for gold nanoparticles. *J. Phys. Chem. B*, **112**, 4506-4511.
- Meister, A. und Blume, A. (2012). Chapter Four - Single-Chain Bolaamphiphiles: Temperature-Dependent Self-assembly and Mixing Behavior with Phospholipids. *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*, **16**, 93-128.
- Menger, F.M.; Chen, X.Y.; Brocchini, S.; Hopkins, H.P. und Hamilton, D. (1993). Synthesis and thermotropic properties of macrocyclic lipids related to archaeobacterial membranes. *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 6600-6608.
- Menger, F.M. und Chen, X.Y. (1996). Synthesis of a double-phospholipid. *Tetrahedron Lett.*, **37**, 323-326.
- Mirviss, S.B. (1989). Synthesis of Omega-Unsaturated Acids. *Journal of Organic Chemistry*, **54**, 1948-1951.
- Mitchell, G.M.; Hesketh, A.; Lombardi, C.; Ho, C. und Fyles, T.M. (2017). A membrane-spanning macrocyclic bolaamphiphile lipid mimic of archaeal lipids. *Can. J. Chem.*, DOI: 10.1139/cjc-2016-0252.
- Mizoshita, N. und Seki, T. (2006). Organised structures of flexible bolaamphiphiles with trisiloxane spacers: three- and two-dimensional molecular assemblies with different molecular conformation. *Soft Matter*, **2**, 157.

- Moores, A. und Goettmann, F. (2006). The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and applications. *New J. Chem.*, **30**, 1121-1132.
- Nishihara, M.; Morii, H. und Koga, Y. (1987). Structure Determination of a Quartet of Novel Tetraether Lipids from *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *J. Biochem.*, **101**, 1007-1015.
- Nuraje, N.; Bai, H. und Su, K. (2013). Bolaamphiphilic molecules: Assembly and applications. *Progress in Polymer Science*, **38**, 302-343.
- Oppolzer, W.; Radinov, R.N. und El-Sayed, E. (2001). Catalytic asymmetric synthesis of macrocyclic (E)-allylic alcohols from omega-alkynals via intramolecular 1-alkenylzinc/aldehyde additions. *J. Org. Chem.*, **66**, 4766-4770.
- Parmentier, J.; Becker, M.M.M.; Heintz, U. und Fricker, G. (2011a). Stability of liposomes containing bioenhancers and tetraether lipids in simulated gastro-intestinal fluids. *Int. J. Pharm.*, **405**, 210-217.
- Parmentier, J.; Thewes, B.; Gropp, F. und Fricker, G. (2011b). Oral peptide delivery by tetraether lipid liposomes. *Int. J. Pharm.*, **415**, 150-157.
- Patel, G.B.; Agnew, B.J.; Deschatelets, L.; Fleming, L.P. und Sprott, G.D. (2000). In vitro assessment of archaeosome stability for developing oral delivery systems. *Int. J. Pharm.*, **194**, 39-49.
- Pohle, W.; Selle, C.; Rettig, W.; Heiser, U.; Dobner, B. und Wartewig, S. (2001). Phase transitions and hydrogen bonding in a bipolar phosphocholine evidenced by calorimetry and vibrational spectroscopy. *Arch. Biochem. Biophys.*, **396**, 151-161.
- Raguse, B.; Culshaw, P.N.; Prashar, J.K. und Raval, K. (2000). The synthesis of archaeobacterial lipid analogues. *Tetrahedron Lett.*, **41**, 2971-2974.
- Rao, C.N.R.; Kulkarni, G.U.; Thomas, P.J. und Edwards, P.P. (2000). Metal nanoparticles and their assemblies. *Chem. Soc. Rev.*, **29**, 27-35.
- Réthoré, G.; Montier, T.; Le Gall, T.; Delépine, P.; Cammas-Marion, S.; Lemiègre, L.; Lehn, P. und Benvegna, T. (2007). Archaeosomes based on synthetic tetraether-like lipids as novel versatile gene delivery systems. *Chem. Commun.*, 2054-2056.
- Rosi, N.L. und Mirkin, C.A. (2005). Nanostructures in biodiagnostics. *Chem. Rev.*, **105**, 1547-1562.
- Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V. und Sharpless, K.B. (2002). A stepwise huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 2596-2599.
- Rubio, L.; Rodríguez, G.; Alonso, C.; López-Iglesias, C.; Cócera, M.; Coderch, L.; De la Maza, A.; Parra, J.L. und López, O. (2011). Structural effects of flufenamic acid in DPPC/DHPC bicellar systems. *Soft Matter*, **7**, 8488.
- Satgé, C.; Granet, R.; Verneuil, B.; Champavier, Y. und Krausz, P. (2004). Synthesis and properties of new bolaform and macrocyclic galactose-based surfactants obtained by olefin metathesis. *Carbohydr. Res.*, **339**, 1243-1254.
- Sauter, F.; Fröhlich, J.; Blasi, K. und Gewald, K. (1995). [Bis(methylthio)methylene]aminoesters (BMMA): novel reagents for annelation of pyrimidine moieties. *Heterocycles*, **40**, 851-866.
- Schmid, G.; Liu, Y.-P.; Schumann, M.; Raschke, T. und Radehaus, C. (2001). Quasi One-Dimensional Arrangements of Au₅₅(PPh₃)₁₂Cl₁₆ Clusters and Their Electrical Properties at Room Temperature. *Nano Lett.*, **1**, 405-407.
- Scholtyssek, P.; Achilles, A.; Hoffmann, C.V.; Lechner, B.D.; Meister, A.; Tschierske, C.; Saalwachter, K.; Edwards, K. und Blume, A. (2012). A T-Shaped Amphiphilic Molecule Forms Closed Vesicles in Water and Bicelles in Mixtures with a Membrane Lipid. *Journal of Physical Chemistry B*, **116**, 4871-4878.
- Schroeter, A.; Engelbrecht, T.; Neubert, R.H.H. und Goebel, A.S. (2010). New nanosized technologies for dermal and transdermal drug delivery. A review. *J. Biomed. Nanotechnol.*, **6**, 511-528.
- Schwab, P.; France, M.B.; Ziller, J.W. und Grubbs, R.H. (1995). Eine Reihe definierter Metathesekatalysatoren - Synthese von und Reaktionen mit [RuCl₂(=CHR')(PR₃)₂]. *Angew. Chem.*, **107**, 2179-2181.
- Shimizu, T.; Masuda, M. und Minamikawa, H. (2005). Supramolecular nanotube architectures based on amphiphilic molecules. *Chem. Rev.*, **105**, 1401-1443.
- Siemsen, P.; Livingston, R.C. und Dieterich, F. (2000). Acetylenic Coupling: A Powerful Tool in Molecular Construction. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **39**, 2632-2657.
- Snyder, R.G.; Liang, G.L.; Strauss, H.L. und Mendelsohn, R. (1996). IR Spectroscopic Study of the Structure and Phase Behavior of Long-Chain Diacylphosphatidylcholines in the Gel State. *Biophys. J.*, **71**, 3186-3198.
- Soheili, A.; Albaneze-Walker, J.; Murry, J.A.; Dormer, P.G. und Hughes, D.L. (2003). Efficient and General Protocol for the Copper-Free Sonogashira Coupling of Aryl Bromides at Room Temperature. *Org. Lett.*, **5**, 4191-4194.
- Song, J.; Cisar, J.S. und Bertozzi, C.R. (2004). Functional self-assembling bolaamphiphilic polydiacetylenes as colorimetric sensor scaffolds. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 8459-8465.

- Sonogashira, K.; Tohda, Y. und Hagihara, N. (1975). *Tetrahedron Lett.*, **16**, 4467-4470.
- Sprott, G.D.; Ekiel, I. und Dicaire, C. (1990). Novel, Acid-Labile, Hydroxydiether Lipid Cores in Methanogenic Bacteria. *J. Bio. Chem.*, **265**, 13735-13740.
- Sprott, G.D. (1992). Structures of Archaeobacterial Membrane-Lipids. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **24**, 555-566.
- Sprott, G.D.; Tolson, D.L. und Patel, G.B. (1997). Archaeosomes as novel antigen delivery systems. *FEMS Microbiol. Lett.*, **154**, 17-22.
- Suzuki, S.; Shinono, M. und Fujita, Y. (1983). Grignard Coupling Reactions of (Z)-Trisubstituted Allylic Acetates with Retention of the Double Bond Stereo- and Regiochemistry. *Synthesis*, 804-806.
- Svenson, S. und Thompson, D.H. (1998). Facile and Efficient Synthesis of Bolaamphiphilic Tetraether Phosphocholines. *J. Org. Chem.*, **63**, 7180-7182.
- Takagi, K. und Ishiwatari, T. (2002). Polymer Chain-Guided Arrangement of Gold Nanoparticles. *Chem. Lett.*, **31**, 990-991.
- Uhl, P.; Helm, F.; Hofhaus, G.; Brings, S.; Kaufman, C.; Leotta, K.; Urban, S.; Haberkorn, U.; Mier, W. und Fricker, G. (2016). A liposomal formulation for the oral application of the investigational hepatitis B drug Myrcludex B. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **103**, 159-166.
- Wahab, M.; Schiller, P.; Schmidt, R. und Moegel, H.J. (2010). Monte Carlo Study of the Self-Assembly of Achiral Bolaform Amphiphiles into Helical Nanofibers. *Langmuir*, **26**, 2979-2982.
- Warner, M.G. und Hutchison, J.E. (2003). Linear assemblies of nanoparticles electrostatically organized on DNA scaffolds. *Nat. Mater.*, **2**, 272-277.
- Woese, C.R. und Fox, G.E. (1977). Phylogenetic Structure of Prokaryotic Domain - Primary Kingdoms. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **74**, 5088-5090.
- Woese, C.R.; Kandler, O. und Wheelis, M.L. (1990). Towards a Natural System of Organisms - Proposal for the Domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **87**, 4576-4579.
- Wyrwa, D.; Beyer, N. und Schmid, G. (2002). One-Dimensional Arrangements of Metal Nanoclusters. *Nano Lett.*, **2**, 419-421.
- Yamauchi, K.; Moriya, A. und Kinoshita, M. (1989). Peculiar membrane morphologies of archaeobacterial lipid models: 1,1'-polymethylenebis(2-alkyl-sn-glycero-3-phosphocholine). *Biochim. Biophys. Acta*, **1003**, 151-160.
- Yamauchi, K.; Sakamoto, Y.; Moriya, A.; Yamada, K.; Hosokawa, T.; Higuchi, T. und Kinoshita, M. (1990). Archaeobacterial Lipid Models. Highly Thermostable Membranes from 1,1'-(1,32-Dotriacontamethylene)-bis(2-phytanyl-sn-glycero-3-phosphocholine). *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 3188-3191.
- Zasadzinski, A.; Kisak, E. und Evans, C. (2001). Complex vesicle-based structures. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **6**, 85-90.
- Zetterberg, M.M.; Reijmar, K.; Pr anting, M.; Engstr om,  .; Andersson, D.I. und Edwards, K. (2011). PEG-stabilized lipid disks as carriers for amphiphilic antimicrobial peptides. *Journal of Controlled Release*, **156**, 323-328.

5 *LEBENS LAUF*

Name	Dr. rer. nat. Simon Drescher
Geburtsdatum, -ort	17. August 1978 in Zwickau
Familienstand	verheiratet, eine Tochter: Hannah Drescher (*2015) Ehefrau: Dr. rer. nat. Franziska Drescher, geb. Simmel
Adresse	Franz-Schubert-Straße 5, 06108 Halle (Saale)

01/2017	Antrag auf Eröffnung des Habilitationsverfahrens an der Martin-Luther-Universität (MLU) Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftliche Fakultät I – Biowissenschaften
seit 06/2015	Leiter der Arbeitsgruppe Biophysikalische Pharmazie (DFG) an der MLU Halle-Wittenberg
05/2015	Zentrum für Innovationskompetenz HALOmem <i>„Struktur und Dynamik von Membranproteinen“</i>
2012 – 2015	Habilitand an der MLU Halle-Wittenberg, Institut für Pharmazie
2010 – 2011	Postdoc an der MLU Halle-Wittenberg, Institut für Chemie
2008 – 2010	Postdoc an der MLU Halle-Wittenberg, Institut für Pharmazie
09/2008	Promotion zum Dr. rer. nat. (Prädikat: summa cum laude) Titel: <i>„Synthese und physiko-chemische Charakterisierung einkettiger symmetrischer Bolaamphiphile“</i>
2004 – 2008	Promotion (DFG) an der MLU Halle-Wittenberg, Fachbereich Pharmazie
03/2004	Approbation als Apotheker
2003	Diplomarbeit an der MLU Halle-Wittenberg, Fachbereich Pharmazie Titel: <i>„Selektive nucleophile Substitutionsreaktionen an hochfunktionalisierten Thieno[2.3-d]pyrimidinen“</i> (Note: sehr gut)
10/2002 – 03/2003	Praktische Ausbildung im Rahmen des Dritten Abschnitts Apotheke Am Borberg in Kirchberg (Sachsen)
1998 – 2002	Studium der Pharmazie an der MLU Halle-Wittenberg

6 VERÖFFENTLICHTE ORIGINALARBEITEN

1. Briel, D.; Drescher, S. und Dobner, B. Selective nucleophilic replacement of the benzylsulfanyl group in 2,4-disulfanyl-substituted thieno[2.3-*d*]pyrimidin-6-carboxylic acid derivatives by secondary amines. *J. Het. Chem.* **2005**, *42*, 841-846.
2. Köhler, K.; Meister, A.; Förster, G.; Dobner, B.; Drescher, S.; Ziethe, F.; Richter, W.; Steiniger, F.; Drechsler, M.; Hause, G. und Blume, A. Conformational and thermal behavior of a pH-sensitive bolaform hydrogelator. *Soft Matter* **2006**, *2*, 77-86.
3. Köhler, K.; Meister, A.; Dobner, B.; Drescher, S.; Ziethe, F. und Blume, A. Temperature-dependent aggregation behavior of symmetric long-chain bolaamphiphiles at the air-water interface. *Langmuir* **2006**, *22*, 2668-2675.
4. Drescher, S.; Ramsbeck, D.; Briel, D. und Dobner, B. Selective nucleophilic substitution reactions in 2,4,6-trisulfanyl-substituted pyrimidin-5-carbonitriles by secondary amines. *J. Het. Chem.* **2007**, *44*, 757-763.
5. Drescher, S.; Meister, A.; Blume, A.; Karlsson, G.; Almgren, M. und Dobner, B. General synthesis and aggregation behaviour of a series of single-chain 1, ω -bis(phosphocholines). *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5300-5307.
6. Meister, A.; Weygand, M.J.; Brezesinski, G.; Kerth, A.; Drescher, S.; Dobner, B. und Blume, A. Evidence for a reverse U-shaped conformation of single-chain bolaamphiphiles at the air-water interface. *Langmuir* **2007**, *23*, 6063-6069.
7. Meister, A.; Bastrop, M.; Koschoreck, S.; Garamus, V.M.; Sinemus, T.; Hempel, G.; Drescher, S.; Dobner, B.; Richtering, W.; Huber, K. und Blume, A. Structure-property relationship in stimulus-responsive bolaamphiphile hydrogels. *Langmuir* **2007**, *23*, 7715-7723.
8. Meister, A.; Köhler, K.; Drescher, S.; Dobner, B.; Karlsson, G.; Edwards, K.; Hause, G. und Blume, A. Mixing behaviour of a symmetrical single-chain bolaamphiphile with phospholipids. *Soft Matter* **2007**, *3*, 1025-1031.
9. Meister, A.; Drescher, S.; Mey, I.; Wahab, M.; Graf, G.; Garamus, V.M.; Hause, G.; Mögel, H.-J.; Janshoff, A.; Dobner, B. und Blume, A. Helical nanofibers of self-assembled bipolar phospholipids as template for gold nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 4506-4511.
10. Meister, A.; Drescher, S.; Garamus, V.M.; Karlsson, G.; Graf, G.; Dobner, B. und Blume, A. Temperature-dependent self-assembly and mixing behavior of symmetrical single-chain bolaamphiphiles. *Langmuir* **2008**, *24*, 6238-6246.

11. Drescher, S.; Meister, A.; Graf, G.; Hause, G.; Blume, A. und Dobner, B. General synthesis and aggregation behaviour of new single-chain bolaphospholipids: Variations in chain and headgroup structures. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6796-6804.
12. Bastrop, M.; Meister, A.; Metz, H.; Drescher, S.; Dobner, B.; Mäder, K. und Blume, A. The motional dynamics in bolaamphiphilic nanofibers and micellar aggregates: An ESR spin probe study. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 574-582.
13. Drescher, S.; Graf, G.; Hause, G.; Dobner, B. und Meister, A. Amino-functionalized single-chain bolalipids: Synthesis and aggregation behavior of new basic building blocks. *Biophys. Chem.* **2010**, *150*, 136-143.
14. Drescher, S.; Helmig, K.; Langner, A. und Dobner, B. Synthesis of novel symmetrical, single-chain, diacetylene-modified bolaamphiphiles with different alkyl chain lengths. *Monatsh. Chem.* **2010**, *141*, 339-349.
15. Meister, A.; Drescher, S.; Karlsson, G.; Hause, G.; Baumeister, U.; Hempel, G.; Garamus, V.M.; Dobner, B. und Blume, A. Formation of square lamellae by self-assembly of long-chain bolaphospholipids in water. *Soft Matter* **2010**, *6*, 1317-1324.
16. Bastrop, M.; Meister, A.; Metz, H.; Drescher, S.; Dobner, B.; Mäder, K. und Blume, A. Water dynamics in bolaamphiphile hydrogels investigated by ¹H NMR relaxometry and diffusometry. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 14-22.
17. Markowski, T.; Drescher, S.; Meister, A.; Hause, G.; Blume, A. und Dobner, B. Synthesis of optically pure diglycerol tetraether model lipids with non-natural branching pattern. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 5894-5904.
18. Graf, G.; Drescher, S.; Meister, A.; Dobner, B. und Blume, A. Self-assembled bolaamphiphile fibers have intermediate properties between crystalline nanofibers and wormlike micelles: Formation of viscoelastic hydrogels switchable by changes in pH and salinity. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 10478-10487.
19. Drescher, S.; Becker, S.; Dobner, B. und Blume, A. Bis-sonogashira cross-coupling: An expeditious approach towards long-chain, phenylene-modified 1,ω-diols. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 4052-4054.
20. Drescher, S.; Hempel, G.; Binder, W.H.; Dobner, B.; Blume, A. und Meister, A. Functionalization of bolalipid nanofibers by silicification and subsequent one-dimensional fixation of gold nanoparticles. *Langmuir* **2012**, *28*, 11615-11624.
21. Drescher, S.; Sonnenberger, S.; Meister, A.; Blume, A. und Dobner, B. Synthesis and aggregation behaviour of symmetrical phenylene/biphenylene-modified bolaamphiphiles. *Monatsh. Chem.* **2012**, *143*, 1533-1543.
22. Graf, G.; Drescher, S.; Meister, A.; Garamus, V.M.; Dobner, B. und Blume, A. Bolalipid fiber aggregation can be modulated by the introduction of sulfur atoms into the spacer chains. *J. Coll. Interf. Sci.* **2013**, *393*, 143-150.

-
23. Blume, A.; Drescher, S.; Meister, A.; Graf, G. und Dobner, B. Tuning the aggregation behaviour of single-chain bolaphospholipids in aqueous suspension: From nanoparticles to nanofibres to lamellar phases. *Faraday Disc.* **2013**, *161*, 193-213.
 24. Wölk, C.; Drescher, S.; Meister, A.; Blume, A.; Langner, A. und Dobner, B. General synthesis and physicochemical characterisation of a series of peptide-mimic lysine-based amino-functionalised lipids. *Chem. Eur. J.* **2013**, 12824-12838.
 25. Graf, G.; Drescher, S.; Meister, A.; Garamus, V.M.; Dobner, B. und Blume, A. Tuning the aggregation behaviour of single-chain bolaamphiphiles in aqueous suspension by changes in headgroup asymmetry. *Soft Matter* **2013**, *9*, 9562-9571.
 26. Drescher, S. und Dobner, B. Synthesis of novel asymmetrical single-chain phosphoglycol-based bolaamphiphiles. *Synth. Commun.* **2014**, *44*, 564-573.
 27. Blume, A.; Drescher, S.; Graf, G.; Köhler, K. und Meister, A. Self-assembly of different single-chain bolaphospholipids and their miscibility with phospholipids or classical amphiphiles. *Adv. Colloid Interf. Sci.* **2014**, *208*, 264-278.
 28. Markowski, T.; Drescher, S.; Meister, A.; Blume, A. und Dobner, B. Structure-property relationships in a series of diglycerol tetraether model lipids and their lyotropic assemblies: The effect of branching topology and chirality. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 3649-3662.
 29. Wölk, C.; Pawlowska, D.; Drescher, S.; Auerswald, A.; Meister, A.; Hause, G.; Blume, A.; Langner, A.; Brezesinski, G. und Dobner, B. New micellar transfection agents. *Langmuir* **2014**, *30*, 4905-4915.
 30. Janich, C.; Wölk, C.; Tassler, S.; Drescher, S.; Meister, A.; Brezesinski, G.; Dobner, B. und Langner, A. Composites of malonic acid diamides and phospholipids – structural parameters for optimal transfection efficiency in A549 cells. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2014**, *116*, 1184-1194.
 31. Drescher, S.; Lechner, B.-D.; Garamus, V.M.; Almásy, L.; Meister, A. und Blume, A. The headgroup (a)symmetry strongly determines the aggregation behavior of single-chain phenylene-modified bolalipids and their miscibility with classical phospholipids. *Langmuir* **2014**, *30*, 9273-9284.
 32. Drescher, S.; Meister, A.; Garamus, V.M.; Hause, G.; Garvey, C.J.; Dobner, B. und Blume, A. Influence of the substitution pattern of phenylene-modified bolaamphiphiles on the aggregations behavior and the miscibility with conventional phospholipids. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2014**, *116*, 1205-1216.
 33. Wölk, C.; Janich, C.; Pawlowska, D.; Drescher, S.; Meister, A.; Hause, G.; Dobner, B.; Langner, A. und Brezesinski, G. Lamellar versus micellar structures-aggregation behavior of a three-chain cationic lipid designed for nonviral polynucleotide transfer. *ChemPhysChem* **2015**, *16*, 2115-2126.

34. Frank, J.; Elewa, M.; Said, M.M.; El Shihawy, H.A.; El-Sadek, M.; Müller, D.; Meister, A.; Hause, G.; Drescher, S.; Metz, H.; Imming, P. und Mäder, K. Synthesis, characterization, and nanoencapsulation of tetrathiatriarylmethyl and tetrachlorotriarylmethyl (trityl) radical derivatives—a study to advance their applicability as in vivo EPR oxygen sensors. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 6754-6766.
35. Erdmann, N.; Wölk, C.; Schulze, I.; Janich, C.; Folz, M.; Drescher, S.; Dittrich, M.; Meister, A.; Vogel, J.; Groth, T.; Dobner, B. und Langner, A. Tris(2-aminoethyl)amine-based α -branched fatty acid amides – synthesis of lipids and comparative study of transfection efficiency of their lipid formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015**, *96*, 349-362.
36. Markowski, T.; Drescher, S.; Forster, G.; Lechner, B.D.; Meister, A.; Blume, A. und Dobner, B. Highly asymmetrical glycerol diether bolalipids: Synthesis and temperature-dependent aggregation behavior. *Langmuir* **2015**, *31*, 10683-10692.
37. Frank, J.; Gündel, D.; Drescher, S.; Thews, O. und Mäder, K. Injectable LiNc-BuO loaded microspheres as in vivo EPR oxygen sensors after co-implantation with tumor cells. *Free Rad. Bio. Med.* **2015**, *89*, 741-749.
38. Wölk, C.; Janich, C.; Meister, A.; Drescher, S.; Langner, A.; Brezesinski, G. und Bakowsky, U. Investigation of binary lipid mixtures of a three-chain cationic lipid with phospholipids suitable for gene delivery. *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26*, 2461-2473.
39. Elewa, M.; Maltar-Strmečki, N.; Said, M.M.; El Shihawy, H.A.; El-Sadek, M.; Frank, J.; Drescher, S.; Drescher, M.; Mäder, K.; Hinderberger, D. und Imming, P. Synthesis and EPR-spectroscopic characterization of the perchlorotriarylmethyl tricarboxylic acid radical (PTMTC) and its ^{13}C labelled analogue (^{13}C -PTMTC). *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *revidierte Version eingereicht*.

7 *ERKLÄRUNG*

Hiermit erkläre ich, Dr. Simon Drescher, an Eides statt, dass die vorliegende Habilitationsschrift selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht wurden.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Arbeit an keiner anderen Universität oder Hochschule im In- und Ausland vorgelegt habe.

Dr. Simon Drescher
Halle (Saale) im Januar 2017