Charakterisierung von chiralen Langmuir-Filmen mit Hilfe von IR-spektroskopischen, thermodynamischen und abbildenden Methoden sowie biomimetische Ansätze zur Aufklärung der Wirkweise des antibiotischen Peptids Surfactin

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereiches Chemie der Universität Hamburg

vorgelegt von

Frank Hoffmann

Hamburg 2002



FACHBEREICH CHEMIE UNIVERSITÄT HAMBURG Diese Arbeit ist im Zeitraum von November 1997 bis August 2002 am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. H. Hühnerfuss angefertigt worden.

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Hühnerfuss

2. Gutachter: Prof. Dr. H. Förster

Tag der Disputation: 05.11.02

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Themenstellung	1
2. N-Acylaminosäurederivate	9
2.1. Ergebnisse und Diskussion	12
2.1.1. N-Hexadecanoylalanin	12
2.1.1.1. Wäßrige Subphase	
2.1.1.2. Calciumionenhaltige Subphase	
2.1.1.3. Zinkionenhaltige Subphase	24
2.1.2. N-Hexadecanoylalaninmethylester	
2.1.3. N-Octadecanoylvalin	
2.1.3.1. Wäßrige Subphase	
2.1.3.2. Calcium- und zinkionenhaltige Subphase	
2.2. Abschließende Betrachtungen	44
3. Bolaamphiphile	
3.1. Bolaamphiphile an der Luft/Wasser-Grenzfläche	
3.2. Ergebnisse und Diskussion	
3.2.1. Methyl-17,18-dihydroxyoctadecanoat (M-17,18-DHO)	52
3.2.2. Methyl-9,10-dihydroxyoctadecanoat (M-9,10-DHO)	60
3.2.2.1. M-syn-9,10-DHO	60
3.2.2.2. M-anti-9,10-DHO	69
3.2.3. Methyl-2,3-dihydroxyoctadecanoat (M-2,3-DHO)	79
3.3. Zusammenfassende Diskussion	
4. Biomimetische Systeme – Wechselwirkungen von Modellmembranen mit	
Peptiden	90
4.1. Antimikrobielle Peptide	
4.2. Membranpermeabilisierende Peptid-Antibiotika	
4.2.1. Strukturelle Diversizität und Wirkspektrum	
4.2.2. Die Rolle der Lipidzusammensetzung der Membran	
4.2.3. Mechanismen der Membranpermeabilisierung	101
4.3. Surfactin	
4.4. Ergebnisse und Diskussion	
4.4.1. DPPC	109
4.4.2. DPPS	122
4.4.3. DPPG	127
4.4.4. POPC	134
4.4.5. Zusammenfassende Diskussion	139
5. Zusammenfassung	
6. Summary	154

7. Ausblick	
7.1. Bifunktionelle Amphiphile	
7.2. Chirale Induktion	159
7.3. Quantifizierung chiraler Diskriminierung	160
7.4. Biomimetische Systeme	
8. Experimenteller Teil	
8.1. Meßmethoden	
8.1.1. Aufnahme von II/A-Isothermen	163
8.1.2. Brewster-Winkel-Mikroskopie	163
8.1.3. Externe Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS)	
8.2. Untersuchte Substanzen und verwendete Chemikalien	
9. Literaturverzeichnis	

Abkürzungsverzeichnis

Α	Fläche pro Molekül
AFM	atomic force microscopy
AP	Antimikrobielle(s) Peptid(e)
AS	Aminosäure(n)
BAM	Brewster angle microscopy
CMC	critical micellar concentration
CL	Cardiolipin
СРК	Corey-Pauling-Kultin
CSM	continuous symmetry measures
DLA	diffusion-limited aggregation
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholin (1,2-Dihexadecanoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin)
DPPE	Dipalmitoylphosphatitylethanolamin (1,2-Dihexadecanoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphoethanolamin)
DPPG	Dipalmitoylphosphatidylglycerol (1,2-Dihexadecanoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphoglycerol)
DPPS	Dipalmitoylphosphatidylserin (1,2-Dihexadecanoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphoserin)
ee	enantiomeric excess
G^+	Gram-positiv(e)
G^-	Gram-negativ(e)
GIXD	grazing incident X-ray diffraction
HIV	Humane(s) Immunschwäche Viren/(Virus)
HTP	helical twisting power
IRRAS	Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie
LB	Langmuir-Blodgett
LC	1. Liquid Crystal
	2. liquid-condensed
LE/G	liquid-expanded/gaseous
LPS	Lipopolysaccharid(e)
LS	liquid-solid
MD	Moleküldynamik
MIC	Minimale Inhibitionskonzentration
MM	Molekülmechanik
NN	nearest-neighbour
PBC	periodic boundary conditions

PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PG	Phosphatidylglycerol
PI	Phosphatidylinositol
POPC	Palmitoyloleoylphosphatidylcholin (1-Hexadecanoyl-2-Z-9-octadecenyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin)
PS	Phosphatidylserin
SAR	structure activity relationship(s)
SAM	self-assembled monolayer
vdW	van-der-Waals

1. Einleitung und Themenstellung

Die vorliegende Arbeit berührt verschiedene Phänomene aus unterschiedlichen naturwissenschaftlichen Teildisziplinen. Das Kapitel 2 zu den Langmuir-Filmen von N-Acylaminosäuren ist am ehesten der Oberflächenchemie zuzuordnen, doch hat es einen biologischen Hintergrund – die Homochiralität der Grundbausteine der belebten Natur – und enthält ebenso Bezüge zu Struktur- und Musterbildungsmechanismen von Vielteilchensystemen, womit zugleich Verbindungen zur Thermodynamik reversibler und irreversibler Prozesse gegeben sind. Die Untersuchungen zum Verhalten von Bolaamphiphilen an der Luft/Wasser-Grenzfläche, die im 3. Kapitel dargestellt werden, knüpfen an Fragestellungen zur Chiralität und chiralen Erkennung an, betreffen jedoch ebenfalls Aspekte von Struktur-Funktionsbeziehungen von biomembranbildenden Molekülen, die sich in ähnlicher Form in der Natur bei Archaebakterien finden. Und das Kapitel 4, in dem versucht wird, mit Hilfe von biomembranmimetischen Methoden einen Beitrag zur Aufklärung der Wirkweise des antibiotischen Peptids Surfactin zu leisten, führt weit in den Bereich der Immunologie und Medizin hinein. Die Gemeinsamkeit aller drei Kapitel ist durch das angewendete Instrumentarium gekennzeichnet, mit dem all diesen Fragestellungen nachgegangen wurde und das eindeutig der Physik entstammt. Damit bewegt sich die Arbeit im Umfeld der Biophysik und (bio-)physikalischen Chemie. Die Verschmelzung der Termini der ehemals getrennten oder nebeneinander betriebenen naturwissenschaftlichen Bereiche ist nicht nur die sprachliche Entsprechung dafür, daß die Disziplinen immer enger zusammenwachsen und gegenseitige Abgrenzungen immer schwieriger vorzunehmen sind, sondern gleichzeitig ein Beleg dafür, daß die noch offenen Probleme und ungelösten Rätsel, denen hier teilweise nachgegangen wird, komplexer werden und ohne Aufbietung eines interdisziplinären Spektrums von Theorien und Methoden kaum aufzuklären sind.

Die eigentliche Einführung in das jeweilige Thema erfolgt in den einzelnen Kapiteln. Zuvor soll jedoch – mehr in der Form eines Essays oder Vorworts – umrissen werden, in welchem Spannungsfeld sich die Themen bewegen und welche Zusammenhänge zwischen den angedeuteten Gebieten existieren.

Biologie und Physik

Die Bemerkung vom Zusammenwachsen der Disziplinen bedeutet natürlich nicht, daß es nicht auch Sphären innerhalb der Teilbereiche gibt, die keinerlei Überlappungen zum jeweils anderen Gebiet zeigen. Die Elementarteilchenforschung der Hochenergiephysik auf der einen Seite und die botanische Klassifikation bisher unbekannter tropischer Pflanzen auf der anderen Seite sind gewiß solche separaten Domänen. Unbestritten ist aber, daß sich Biologie und Physik häufig gegenseitig befruchtet haben. Oft hat die Erfindung einer neuen physikalischen Methode zu einem Entwicklungsschub in der Biologie geführt; im Gegenzug gibt es auch viele Beispiele, wie die Physik von der Biologie neue Anstöße bekam.

Die prominentesten Beispiele der Bereicherung der Physik durch die Biologie sind die Entdeckung des allgemeinen Energieerhaltungssatzes durch Robert Meyer und Hermann von Helmholtz sowie die Theorie der Brownschen Molekularbewegung durch Albert Einstein. Meyer beobachtete als Schiffsarzt auf Java, daß das in den Venen zum Herzen zurückfließende Blut der Hafenarbeiter in den Tropen heller (d.h. sauerstoffreicher) ist, als in gemäßigten Zonen. Er schloß daraus intuitiv, daß die Arbeiter in den Tropen bei gleicher Arbeitsleistung weniger Energie verbrauchten als in gemäßigten Zonen, da weniger Wärme an die Umgebung abgegeben wird. Dies führte ihn auf die Äquivalenz von Wärme und mechanischer Arbeit und zur Bestimmung des mechanischen Wärmeäquivalents. Seine Intuition allein reichte nicht aus, um der Idee in der Physik zum Durchbruch zu verhelfen. Auch der Artikel Helmholtz⁴ aus dem Jahr 1843, in dem zum ersten Mal der allgemeine Energiesatz formuliert wurde, stieß zunächst auf Skepsis, stellte jedoch im Rückblick den Beginn eines Paradigmenwechsels¹ dar.

Einsteins Deutung der simplen Beobachtung des Botanikers Robert Brown, daß Bärlappsamen in Wasser wirre Bewegungen ausführen, hat die Physik zu Beginn des 20. Jahrhunderts fast ähnlich stark beeinflußt wie die Plancksche Strahlungsformel. Sie spielte eine wesentliche Rolle für die Entwicklung der modernen statistischen Physik und festigte das Konzept der atomistischen Struktur der Materie.

Besonders einflußreich für die Entwicklung der Biologie waren häufig physikalische Abbildungsverfahren im weitesten Sinne. Der Naturforscher Anton van Leeuwenhook entwickelte um 1670 die ersten hochauflösenden Mikroskope und schuf damit ein sehr wertvolles Werkzeug für die Biologie, mit dem erstmals lebende Zellen beobachtet werden konnten. Modernere für die Biologie nützliche Untersuchungsmethoden sind beispielsweise die Elektronenmikroskopie (E. Ruska, 1932), die den Einblick in die Architektur der Zelle ermöglicht, die Röntgenbeugung und die Lösung des Phasenproblems, die den Siegeszug der modernen Strukturbiologie einleitete (J. Kendrew und M. Perutz hatten 1942 die Abbésche Abbildungstheorie verwendet, um die Molekülstruktur aus dem Braggschen Beugungsbild zu rekonstruieren) und in immer häufigerem Maße die NMR-Spektroskopie (F. Bloch und E.M. Purcell, 1946), die zunehmend zur Strukturlösung von Proteinen eingesetzt wird, die sich nur schlecht oder gar nicht kristallisieren lassen

Der Erfolg der modernen Strukturbiologie war eng an die Entwicklung der Computerphysik gekoppelt. Dies gilt in noch stärkerem Maße für die Entwicklung moderner Bildgebungsverfahren wie der Kernspin-Tomographie und der Positronen-Emissions-Tomographie (PET), zwei Methoden, die die medizinische Diagnostik revolutionierten.

Abbildende Methoden und Oberflächenchemie

Die Oberflächenchemie profitierte in der Vergangenheit in nicht geringerem Maße von der Entwicklung von Mikroskopen und Sonden jeglicher Art. Hier sind neben den bereits

¹ Lektüre-Tip: Thomas S. Kuhn, Die Struktur wissenschaftlicher Revolutionen, 2. Aufl., Suhrkamp, Frankfurt a.M., 1976

erwähnten Verfahren insbesondere das Rastertunnel-Mikroskop (G. Binning, H. Rohrer, 1981) und alle darauf basierenden Vertreter von Raster-Sonden-Mikroskopen, darunter das häufig zum Einsatz kommende Raster-Kraft-Mikroskop (*scanning/atomic force microscope*, SFM/AFM), und das *optische* Nahfeld-Mikroskop (*scanning near-field optical microscope*, SNOM) zu nennen, das von Dürig, Fischer und Pohl 1984 entwickelt wurde und mit dem man inzwischen eine fast atomare Auflösung erreichen kann. Es bietet darüber hinaus den Vorteil nicht auf eine elektrisch leitende Oberfläche der Probe angewiesen zu sein; es erlaubt, auch empfindliche biologische, chemische und medizinische Oberflächen zerstörungsfrei zu untersuchen.

Morphologie von Langmuir-Filmen

Mit der Einführung des Fluoreszenzmikroskops (*fluorescence microscope*, FM) durch von Tscharner und McConnell^[1] im Jahre 1981 gelang es erstmals, die morphologischen Parameter (Homogenität, Stabilität, Gestalt und Struktur kondensierter Domänen) von Langmuir-Filmen *in situ* zu visualisieren. Zuvor mußten die Filme stets auf feste Träger übertragen werden, um sie als Langmuir-Blodgett-(LB)-Filme mikroskopieren zu können. Für FM-Untersuchungen wird dem Film ein Fluoreszenzmarker beigemengt, der in der weniger dicht gepackten Phase besser löslich ist, so daß sich kondensierte Domänen und Strukturen als dunkle Bereiche von der helleren, kontinuierlichen Phase abheben. Ohne den Zusatz eines Markierungsmittels können Langmuir-Filme mit Hilfe des Brewster-Winkel-Mikroskops (*Brewster angle microscope*, BAM) sichtbar gemacht werden, das 1991 unabhängig vonein-ander von Hönig und Möbius^[2] und Hénon und Meunier^[3] entwickelt worden ist (zur Funktionsweise s. Kap. 8).

Mit diesen beiden Techniken stehen hervorragende Werkzeuge zur Verfügung, Strukturund Musterbildungsmechanismen von Vielteilchensystemen zu studieren. Langmuir-Filme sind ausgezeichnete Modellsysteme für die Untersuchung von Wachstumsprozessen. Über die Variation der Kompressionsgeschwindigkeit lassen sich darüber hinaus relativ leicht Bedingungen realisieren, die entweder sehr nah oder fern des thermodynamischen Gleichgewichts liegen und Konsequenzen für die Größe, die Form und das Wachstumsmuster von kondensierten Domänen von Langmuir-Filmen haben. Generell läßt sich der Trend erkennen, daß mit zunehmender Entfernung vom thermodynamischen Gleichgewicht und mit zunehmender Fähigkeit der Amphiphile, gerichtete Kräfte wirksam werden zu lassen und so stabilisierende Netzwerke auszubilden (z.B. über Wasserstoffbrückenbindungen), ein Übergang von zirkularen oder ähnlich kompakten Formen zu immer stärker verformten und verästelten Strukturen erfolgt, bis schließlich dendritische oder fraktalähnliche Muster auftreten.

Dendritische und fraktale Muster sind in der Biologie, Geologie und Physik extrem verbreitet (s.a. Abb. 1): die Nervenzellen des Cortex, das bronchiale Gewebe der Lunge, der Aufbau von Farnblättern oder Blättern der Vogelbeere, die im Delta mäandernden Flüsse, Küstenlinien, Gewitterblitze, die innere Struktur vieler Metall-Legierungen und Elektrodeposite sind Beispiele dafür. Das Interessante daran ist, daß sie in allen Größenmaßstäben vorkommen. Bemerkenswerterweise scheint es eine Universalität der Strukturbildungsgesetze zu geben: Zustandsänderungen völlig verschiedener physikalischer, chemischer oder auch biologischer Systeme laufen nach gleichen Gesetzmäßigkeiten ab, die sich in vielen Fällen auf wenige wesentliche Merkmale der beteiligten Stoffe zurückführen lassen. Ein weiteres prägendes Charakteristikum solcher Systeme ist ihre sogenannte Skaleninvarianz, d.h. daß innerhalb weiter Grenzen keine Längenskala besonders ausgezeichnet ist: Ein beliebiger Teil des Objektes sieht, bei entsprechender Vergrößerung, im wesentlichen so aus wie das ganze Objekt.



Abb. 1: Ausgewählte Beispiele für natürliche dendritisch-fraktale Strukturen. Links: Innere Struktur einer Kobalt-Zinn-Kupfer-Legierung, durch Ätzung sichtbar gemacht; Mitte oben: Elektrodeposit-Struktur; Mitte unten: Gewitterblitz; Rechts: Farnblätter.

Kapitel 2 befaßt sich ausführlich mit derartigen Strukturbildungs-, Wachstums- und Ordnungsprozessen in 2-dimensionalen Systemen anhand der ausgesuchten Klasse der *N*-Acylaminosäureamphiphile an der Luft/Wasser-Grenzfläche. Es wird versucht werden, die Parameter zu bestimmen, die ihre morphologischen Merkmale steuern und einen Zusammenhang herzustellen zwischen dem einzelnen Molekül und den Eigenschaften des Kollektivs.

Chirale Langmuir-Filme, chirale Erkennung und Homochiralität

Das Studium von Langmuir-Filmen von *N*-Acylaminosäuren (aber auch anderen Filmen, die durch Moleküle mit einem asymmetrischen Zentrum konstituiert werden) – gerade mit Hilfe des BAMs – birgt darüber hinaus einen weiteren spannenden Aspekt: Bei chiralen monomolekularen Oberflächenfilmen beobachtet man bisweilen das Phänomen der chiralen Diskriminierung bzw. Erkennung. Dabei unterscheidet man zwei Fälle und spricht von heterochiralem Verhalten, wenn die attraktiven Wechselwirkungen zwischen den Enantiomerenpaaren der als Racemat eingesetzten Amphiphile größer sind, als zwischen den gleichartigen Enantiomeren eines enantiomerenreinen Films dieses Amphiphils, und entsprechend umgekehrt von homochiralem Verhalten, wenn die anziehende Wechselwirkung zwischen zwei Molekülen identischer Konfiguration größer ist als die zwischen zwei optischen Antipoden. Die Untersuchung von chiralen Langmuir-Filmen Systeme, die ein homochirales Verhalten zeigen, sind dabei von besonderem Interesse, weil bei Einsatz eines racemischen Films die Möglichkeit zur Ausbildung enantiomerenreiner Domänen besteht. Der Vorgang der Phasenseparation in Regionen, die dann ausschließlich aus Molekülen mit D- oder L-Konfiguration bestehen, wird auch als chirale Symmetriebrechung bezeichnet. Ein starkes Indiz für das Vorliegen von chiraler Diskriminierung erhält man durch das klassische Experiment mit der Filmwaage, wenn die Π/A -Isothermen des enantiomerenreinen und racemischen Films einen unterschiedlichen Verlauf zeigen. Für den Fall, daß die Π/A -Isotherme des enantiomerenreinen Films unterhalb (d.h. bei niedrigeren Oberflächendrücken) der des racemischen Films verläuft, kann auf homochirales Verhalten geschlossen werden. Im umgekehrten Fall ist der Rückschluß auf die Art des chirales Verhaltens nicht so ohne weiteres möglich, weil sowohl echte Racemate als auch mikrosegregierte Konglomerate, d.h. Mischungen enantiomerenreiner Domänen zu Π/A -Isothermen führen können, die bei niedrigeren Oberflächendrücken verlaufen als die Π/A -Isotherme des enantiomrenrein eingesetzten Films. Ebenso ist es unzulässig, bei identischen Kurvenverläufen der Π/A -Isothermen eines enantiomerenreinen und racemischen Films derselben amphiphilen Spezies auf die Abwesenheit jeglicher chiraler Effekte zu schließen, denn die Langmuir-Filmwaage ist lediglich in der Lage, das thermodynamische Verhalten der Filme als Ganzes zu untersuchen. Chirale Effekte, die sich auf der Ebene der einzelnen Filmmoleküle zeigen, lassen sich mit ihr nicht detektieren. Diese können jedoch z.B. mit Hilfe einer Variante der Schwingungsspektroskopie, der Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS), erkannt werden, mit der es unter anderem möglich ist, den Grad der konformativen Ordnung der Alkylketten der Amphiphile in Abhängigkeit von Kompressionszustand zu messen. Bei dieser Methode würde man von homochiralem Verhalten sprechen, wenn die Moleküle eines enantiomerenrein eingesetzten Films in einem konformativ höher geordneten Zustand vorliegen als die des entsprechenden racemischen Films im jeweils gleichen Kompressionszustand. Die "Sonde" bei derartigen Experimenten, die solche Aussagen ermöglicht, ist die Analyse der Lage der Bande der C-H-Valenzschwingung: Es gilt die phänomenologisch gewonnene Gesetzmäßigkeit, daß die Bande bei umso niedrigeren Wellenzahlen liegt, je höher die konformative Ordnung, d.h. je höher das trans/gauche-Verhältnis ist. Bemerkenswert ist, daß in der Vergangenheit häufiger festgestellt wurde, daß die "Vorzeichen" der chiralen Diskriminierung, die mit der Langmuir-Filmwaage einerseits und der IRRAS andererseits bestimmt wurden, nicht einander entsprechen müssen. Hier steht mit dem BAM ein Werkzeug zur Verfügung, das solche zunächst widersprüchlich erscheinenden Resultate wieder miteinander in Einklang bringen kann, indem man mit ihm die Phänomene untersucht, die sich zwischen der Ebene des gesamten Kollektivs und der des einzelnen Moleküls vollziehen. Die Ergebnisse von BAM-Untersuchungen können somit als wichtiges Bindeglied zur korrekten Interpretation von auftretenden chiralen Effekten dienen. Darüber hinaus ist es unentbehrlich, um dem Phänomen der chiralen Phasenseparation nachzugehen.

Chirale Phasenseparationen können sich auch darin manifestieren, daß sich die molekulare Chiralität in der Form der kondensierten Domänen widerspiegelt. Der Frage, ob sich *N*- Acylaminosäurederivate in dieser Weise verhalten und welche Effekte dafür im Einzelfall verantwortlich sind, wird ebenfalls in Kapitel 2 nachgegangen. In geringerem Umfang gilt das auch für die Bolaamphiphile, die in Kapitel 3 behandelt werden. Ferner werden Überlegungen auf der Grundlage der statistischen Thermodynamik bzw. Informationstheorie angestellt, welche entropischen Implikationen eine chirale Phasenseparation mit einschließt

Verknüpft mit dem Phänomen der chiralen Diskriminierung ist auch die nach wie vor offene und kontrovers diskutierte Frage nach der Homochiralität der biologischen Welt, d.h. die Frage, warum nahezu alle biologisch relevanten Systeme chiral sind und weitgehend in nur einer der beiden denkbaren Enantiomerensorten vorkommen. Einig sind sich jedoch fast alle Theorien darin, daß ein zunächst sehr geringer (stochastischer) Enantiomerenüberschuß durch bestimmte Prozesse so verstärkt wurde, daß bevorzugt die heutige Biochemie der L-Aminosäuren und D-Zucker entstand; Uneinigkeit besteht in der Natur des Verstärkungsmechanismus.

Lipidmembranen – architektonische Meisterwerke der Natur

Biomembrane – flüssige Häutchen, 10.000 mal dünner als ein Blatt Papier – verbinden auf erstaunliche Weise Stabilität mit mechanischer Flexibilität. Ein besonders eindrucksvolles Beispiel ist die Membran der Erythrocyten. Diese Zellen sind durch ihren verbundartigen Aufbau aus der fluiden Lipid-Doppelschicht, den eingebetteten Proteinen und dem lokal angedockten makromolekularen Netzwerk des Cytoskeletts gegenüber Biegung und Scherdeformation extrem flexibel. Diese elastischen Eigenschaften ermöglicht es den Zellen, sich während ihres rund 120-tägigen Lebens mehrere hundert Kilometer weit durch enge Kapillaren zu zwängen, ohne dabei zu zerbrechen.

Der Biegewiderstand von Biomembranen ist so klein, daß sie aufgrund der thermischen Bewegung der Umgebung ständig zu regellosen Biegeschwingungen angeregt werden. Membranen sind daher dynamisch rauhe Oberflächen, ähnlich der Meeresoberfläche bei Sturm. Diese dynamische Rauheit führt zu einer neuen Klasse intermolekularer Kräfte, den Undulationskräften. Mit Hilfe dieser Kräfte stoßen sich beispielsweise die erwähnten roten Blutkörperchen von den Aderwänden ab.

Die beschriebene Elastizität macht die Zellen und auch das Gewebe zu typischen viskoelastischen Körpern: Auf kurzen Zeitskalen (eine Millisekunde) verhalten sie sich starr, da es einige Zeit braucht, um die thermisch angeregten Verbiegungen auszugleichen. Nach dieser Phase geben die Körper jedoch nach, da die inneren Kräfte relaxieren. Ohne diese Viskoelastizität würden Mensch, Tier und Bakterium beispielsweise bei Stößen zerbrechen wie Glas.

Von imposanter und außergewöhnlicher Stabilität sind die Membranen von Archaebakterien, die selbst extremen äußeren Bedingungen (sehr hohe Temperaturen, Salz- oder Protonengehalte) standhalten. Ihre Membranen unterscheiden sich von denen anderer Lebewesen dadurch, daß sie aus einer Lipidmonoschicht aufgebaut sind, wobei die einzelnen Lipidmoleküle zwei hydrophile Kopfgruppen aufweisen (bipolare Amphiphile, auch Bolaamphiphile genannt). Über das Verhalten von Monoschichtsystemen bipolarer Amphiphile an der Luft/Wasser-Grenzfläche ist noch relativ wenig bekannt. In Kapitel 3 werden strukturelle Untersuchungen von Langmuir-Filmen präsentiert, die dieser Klasse von Amphiphilen zugeordnet sind, wobei auch hier wie im Falle der *N*-Acylaminosäuren der Rolle der Chiralität eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt wird.

Membranen als Funktionszentren und Filter

Ein weitere Besonderheit von Biomembranen ergibt sich aus ihrem 2-dimensionalen Aufbau: Die Beweglichkeit der Moleküle in der Membran hängt nur schwach vom Radius der Moleküle ab, d.h. große Proteine können fast ebenso schnell in der Membran diffundieren, wie die erheblich kleineren Lipidmoleküle. Dies erhöht die Effektivität der lokalen Strukturbildung und der biochemischen Reaktionen enorm und garantiert einen schnellen Stofftransport, der für die Aufrechterhaltung der Vielzahl an biochemischen Prozessen nötig ist, die an Membranen stattfinden, sowie eine reibungslose Signaltransduktion.

Einerseits bildet die Membran einer Zelle eine wichtige Schutzbarriere gegen unerwünschte Eindringlinge von außen; zudem müssen Potential- oder Stoffgradienten quer zur Membran aufrechterhalten werden. Andererseits müssen im Rahmen des Stoffwechselprozesses der Zelle beständig Stoffe in sie hinein oder aus ihr heraus geschleust werden. Mit anderen Worten: Die Membran fungiert als hochselektiver Filter, der den lebenswichtigen Stoffaustausch mit der Umgebung garantiert, aber ein einfaches Ausfließen des Zellinhalts und im Normalfall ein Eindringen nicht benötigter oder gar schädlicher Substanzen verhindern kann. Auch chirale Effekte können dabei eine Rolle spielen: Ein prominentes Beispiel dafür ist die Blut-Hirn-Schranke, die bezüglich bestimmter chiraler Xenobiotika eine enantioselektive Durchlässigkeit aufweist. Dieser Effekt ist vermutlich eng mit der molekularen Struktur der chiralen Komponenten der Endothelmembran korreliert, in der strukturell und funktionell asymmetrische Proteinsektionen eingelagert sind.

Antibiotische Peptide – Angriffe auf die Membranintegrität

Trotz der außergewöhnlichen Stabilität und Flexibilität von Biomembranen, trotz ihrer Fähigkeit, Gradienten zu bewahren und wichtige Filterfunktion wahrzunehmen, vermögen bestimmte Zellgifte diese Barriere zu durchbrechen. Dazu gehören nicht nur einige Xenobiotika, solche Substanzen sind auch in der Natur anzutreffen. Eine Klasse derartiger Substanzen bilden antibiotische Peptide, die – um es einmal salopp zu formulieren – in der Lage sind, sich am Wärter vorbeizuschleusen bzw. ihn auszuschalten und zwar dadurch, daß sie die Membran zunächst zerlöchern und schließlich ganz auflösen, was unweigerlich und schnell zum Tod der Zelle führt. Antibiotische Peptide können einen wichtigen Beitrag zum natürlichen Immunsystem eines Lebewesens leisten, indem sie beispielsweise selektiv die Membran von Bakterien und anderen Krankheitserregern angreifen, die eigene Wirtszelle aber unbeschädigt lassen. Der Mechanismus ist noch weitgehend ungeklärt. Dasselbe gilt auch von den Faktoren, die ihre Selektivität steuern. In Kapitel 4 wird ein Vertreter eines antimikrobiell wirksamen Peptids – das Surfactin – auf diese Fragestellungen hin untersucht. Es ist ferner der Versuch, den Bereich der Grundlagenforschung zu verlassen und Langmuir-Filmen als biomimetische Systeme ein neues, stärker anwendungsorientiertes Feld zu eröffnen

In der Hoffnung, mit der Darlegung des allgemeineren Hintergrunds dieser Arbeit zum Weiterlesen angeregt zu haben, wünscht der Autor bei den folgenden Kapiteln viel Spaß dabei.

2. N-Acylaminosäurederivate

Die am intensivsten untersuchte Klasse von Monoschichten chiraler Amphiphile sind neben der der Phospholipide *N*-Acylaminosäurederivate.^[4-10] Das besondere Interesse, das dieser Klasse entgegengebracht wird, ist darauf zurückzuführen, daß Aminosäuren als Bausteine der Proteine eine besondere Rolle spielen, daß die Synthesen verhältnismäßig einfach und die chiralen Diskriminierungseffekte häufig sehr stark sind und sie deshalb in besonderer Weise geeignet sind, diese Phänomene zu studieren.

Die Π/A -Isothermen von *N*-Octadecanoylserinmethylester,^[11] *N*-Tetradecanoyl-^[12,13] und *N*-Hexadecanoylalanin sowie *N*-Octadecanoylvalin^[14] deuten allesamt auf eine homochirale Diskriminierung hin. In ergänzenden fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurde während der Kompression racemischer Filme von *N*-Octadecanoylserinmethylester die Entstehung enantiomerenreiner Domänen entgegengesetzter Händigkeit beobachtet,^[15] und Gericke *et al.*^[16] stellten fest, daß sich der racemische und enantiomerenreine Film hinsichtlich der Änderung des Grads der konformativen Ordnung der Alkylketten im Verlauf der Kompression signifikant voneinander unterschieden. Darüber hinaus konnten Parazak *et al.*^[17] 1995 bei enantiomerenreinen Filmen von *N*-Octadecanoylserinmethylester einen bis zu diesem Zeitpunkt unbekannten Übergang eines dendritischen Wachstums der Domänen hin zu gekrümmten Formen bei weniger hohen Kompressionsraten im Fluoreszenzmikroskop verfolgen. Im Gegensatz dazu offenbarten sich in den Π/A -Isothermen von *N*-Icosanoylprolinmethylester weniger stark ausgeprägte Diskriminierungseffekte, und in den entsprechenden BAM-Aufnahmen erschienen kleinere und uneinheitlich geformte Domänen.^[18]

Das bisher einzige System mit heterochiralem Verhalten – *N*-Octadecanoyltyrosin – wurde von Stine und Mitarbeitern durch Filmwaageexperimente und fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen charakterisiert.^[19] Bemerkenswert ist, daß diese heterochirale Kennung jedoch nur bei acidifizierter Subphase auftritt. Bei einer durch einen Puffer aufrechterhaltenen neutralen Subphase konnten keinerlei chirale Diskriminierungseffekte festgestellt werden. Die zum Vergleich durchgeführten Messungen des entsprechenden Methylesters bei pH = 7 deuteten hingegen auf eine – wenngleich schwache – homochirale Kennung hin.

Dies hat die Frage aufgeworfen, inwiefern für die chirale Diskriminierung das Ausmaß der Bildung organisierter Netzwerke von Amid-Amid-Wasserstoffbrückenbindungen, in denen die Kopfgruppen involviert sind, verantwortlich ist. In einer Anschlußarbeit^[20] untersuchte die Gruppe von Stine Monoschichten von *N*-Octadecanoyl-L-valin und *N*-Octadecanoyl-*N*-methyl-L-valin. Die BAM-Aufnahmen zeigten für die nicht-methylierte Spezies dendritisch-kristalline Domänen, während die der methylierten Spezies kleiner und runder waren und eine unspezifische Textur besaßen. Außerdem wies die Π/A -Isotherme des nichtmethylierten Derivats einen deutlich kondensierteren Verlauf auf. Auch dieses Resultat steht im Einklang mit der These, daß die Ausbildung von H-Brücken die dominante Wechselwirkung ist. Unterstützende Befunde für diese These konnten durch die Arbeiten von Shinitzky und Haimovitz^[21] erbracht werden, die in CD-Spektren (*Circular Dichroismus*, CD) einer Reihe von *N*-Octadecanoylserin diagnostizierten, der als Resultat einer chiralen supra-

molekularen Organisation der Amidgruppen – vermittelt durch die Ausbildung von H-Brücken – die zu chiralen Micelloberflächen führt, interpretiert wurde. Die CD-Spektren der analogen Prolin- und Tyrosinderivate zeigten dagegen keinen erweiterten Cottoneffekt. Der Bildung von Netzwerken über H-Brücken wird auch eine strukturdeterminierende Schlüsselrolle für die röhren- und helixartigen Formen zugeschrieben, die von diacetylierten Aldonamidlipiden ausgebildet werden.^[22]

Bemerkenswerte Effekte hinsichtlich der chiralen Diskriminierung in Langmuir-Filmen von *N*-Acylaminosäuren konnten auch in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Subphase beobachtet werden. Hühnerfuss *et al.*^[23] zeigten anhand von Π/A-Isothermen und mit Hilfe von IRRAS-Messungen, daß in Anwesenheit zweiwertiger Metallkationen (Zn²⁺, Pb²⁺) die auf reiner wäßriger Subphase heterochirale Diskriminierung von *N*-Octadecanoyltyrosin nicht länger nachzuweisen ist. Es sind jedoch auch Fälle bekannt, bei denen durch anwesende Metallionen eine Umkehrung des chiralen Verhaltens hervorgerufen worden sind, so z.B. bei Monoschichten von 2-Hydroxyhexadecansäure.^[24] Die Verstärkung,^[25] Abschwächung oder Umkehrung von chiralen Effekten durch Metallkationen wird im Falle des Vorliegens von Säurekopfgruppen auf die Bildung von Metallcarboxylaten verschiedenen Typs zurückgeführt, die die Packungsanordnung der Amphiphile in spezifischer Weise beeinflussen.^[26,27]

Neben dem pH-Wert und der Zusammensetzung der Subphase kommt als weiterer Parameter der Temperatur eine überragende Bedeutung für das Auftreten von chiralen Diskriminierungseffekten zu. Bereits seit Pasteurs Arbeiten^[28] bezüglich der hemiedrischen racematspaltenden Kristallisation ist bekannt, daß Prozesse, die mit einem chiralen Symmetriebruch einhergehen, unter Umständen empfindlich auf Temperaturänderungen reagieren. Das Temperaturfenster, bei dem chirale Effekte registriert werden, ist in vielen Systemen nur wenige Kelvin breit. Dabei kann es sogar, jedenfalls in bezug auf bestimmte mikroskopisch oder makroskopisch in Erscheinung tretende Phänomene, innerhalb dieses Fensters zu einem Vorzeichenwechsel des chiralen Verhaltens kommen. Die Aspekte wurden anhand von Monoschichten von N-Hexadecanoylalanin und N-Octadecanoylvalin sowie ihrer Ester eingehend mit Hilfe der Langmuir-Filmwaage und mittels IRRA-Spektroskopie studiert.^[29,30] Diese Arbeiten trugen dazu bei, neue und weitreichende Einsichten in das (chirale) Verhalten dieser Substanzklasse zu gewinnen. Sie weisen aber in einer Hinsicht einen Mangel bzw. eine Lücke auf, und zwar fehlte eine Untersuchungsmethode im mittleren Größenmaßstab, eine, die zwischen der Ebene der Betrachtung des Kollektivs (thermodynamische Eigenschaften) und der der strukturellen Parameter der einzelnen Moleküle (IRRA-Spektroskopie) liegt. Mit diesen beiden Methoden lassen und ließen sich zwar Unterschiede zwischen den racemischen und enantiomerenreinen Filmen detektieren, jedoch können diese chiralen Diskriminierungseffekte stets nur Indizien für eine homo- oder heterochirale Kennung sein. Ein Beweis für das Stattfinden einer chiralen Phasenseparation, also der Bildung enantiomerenreiner Domänen beim racemischen Film (homochirale Kennung) oder der für das Vorliegen einer vollständigen Mischbarkeit der beiden Enantiomere (heterochirale Kennung) können durch sie nicht erbracht werden. Dies kann ganz zweifelsfrei im Prinzip nur durch röntgendiffraktometrische Methoden geschehen. Aber mit der Brewster-Winkel-Mikroskopie steht eine weitaus weniger aufwendige und dennoch sehr leistungsfähige Methode zur Verfügung, die

gegebenenfalls über eine ähnlich große Beweiskraft verfügen kann, wenn sich in der äußeren Form der visualisierten Domänen die Chiralität der Amphiphile widerspiegelt.

Deshalb wurden im Rahmen der vorliegenden Dissertation zu den bereits existierenden thermodynamischen und spektroskopischen Messungen an dieser Substanzklasse komplementierende BAM-Untersuchungen vorgenommen. Sie schließen sich damit an die Diplomarbeit des Autoren an,^[29] auf die auch im folgenden mit dem Hinweis "Diplomarbeit, FH" des öfteren Bezug genommen wird. Die Ziele bestanden darin,

- zu überprüfen, ob und eventuell unter welchen Umständen das Phänomen der chiralen Phasenseparation zu beobachten ist;
- die z.T. widersprüchlichen oder sich nicht gänzlich entsprechenden Befunde, die mit den beiden genannten Methoden erhalten wurden, miteinander in Einklang zu bringen;
- generell mehr in Erfahrung darüber zu bringen, wie sich das Wechselspiel der verschiedenen Arten von Attraktion und Repulsion zwischen den Amphiphilen auf die Filmmorphologie auswirkt und welchen Einfluß Zusätze von Metallsalzen zur Subphase sowie Temperaturänderungen haben,
- und es sollten Erkenntnisse darüber gewonnen werden, welche molekularen Triebkräfte einerseits und Kollektiveigenschaften der Aggregate andererseits (z.B. die *asymmetrische Grenzlinienspannung*) die Domänenform determinieren und welche Rolle dabei die Chiralität spielt.

Zum Einsatz kamen die enantiomerenreine und racemische Form von a) *N*-Hexadecanoylalanin, b) *N*-Hexadecanoylalaninmethylester und c) *N*-Octadecanoylvalin (Strukturformeln s. Abb. 2). Die BAM-Studien wurden auf wäßriger, calciumionen- sowie zinkionenhaltiger Subphase durchgeführt.



Abb. 2: Konstitutionsformeln der L-Enantiomere der eingesetzten *N*-Acylaminosäure-Amphiphile; (a) *N*-Hexadecanoylalanin, (b) *N*-Hexadecanoylalaninmethylester und (c) *N*-Octadecanoylvalin.

2.1. Ergebnisse und Diskussion

2.1.1. N-Hexadecanoylalanin

2.1.1.1. Wäßrige Subphase

A) L-Enantiomer

Die Morphologie des enantiomerenreinen Films von *N*-Hexadecanoylalanin wurde bei zwei verschiedenen Temperaturen untersucht (298 und 303 K, 25 und 30 °C). Obwohl sich in bezug auf das thermodynamische Phasenverhalten – bestimmt durch die Aufnahme von Π/A -Isothermen – nur minimale Unterschiede ergaben, weisen die morphologischen Merkmale bemerkenswerte Differenzen auf. In Abb. 3 ist zunächst die Π/A -Isotherme für T = 298 K gezeigt sowie eine Serie von BAM-Bildern, die während der isothermen Kompression zu verschiedenen Zeitpunkten aufgenommen wurden. Man erkennt, daß sich bereits unmittelbar nach dem Spreitprozeß (Bild A) bis zu mehreren Millimetern große, kristalline Inseln gebildet haben, die an Eisschollen erinnern. Sie koexistieren und sind umgeben von kleinen dimensionierten, flechtenartigen Strukturen, die z.T. ebenfalls große Bereiche abdecken. In Bild A und B ist gut zu sehen, daß in der Frühphase der Kompression weitreichende Areale filmfrei sind. Es ergibt sich insgesamt ein Szenario einer arktischen Schelfeis-Landschaft.



Abb. 3: Π /A-Isotherme sowie zugehörige BAM-Bilder (A-D) von *N*-Hexadecanoyl-L-alanin auf wäßriger Subphase (pH = 2, T = 298 K). Die Bilder wurden an den Punkten aufgenommen, die in der Isotherme mit den entsprechenden Buchstaben bezeichnet sind. Sie repräsentieren eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm.

Im Fortgang der Kompression werden die flechtenartigen Strukturen zunehmend dichter, und die einzelnen größeren kristallinen Inseln werden zusammengeschoben, ohne daß dabei der Oberflächendruck nennenswert steigt (Bild C). Schließlich steigt der Oberflächendruck innerhalb eines sehr kleinen Intervalls steil an, bis kurz vor dem Kollapspunkt eine nahezu einheitliche Flächenbedeckung entstanden ist, wobei es so scheint, als wären einzelne Inseln "zusammengesintert" worden (Bild D). Dies bestätigt die Annahme, daß es sich bei den Inseln um sehr eng gepackte Domänen, hoch-kristalline Aggregate handelt, die nahezu inkompressibel sind. Dies korrespondiert mit dem Ergebnis der IRRAS-Messungen (Diplomarbeit, FH),^[29,30] aus denen im wesentlichen ein vom Kompressionsstatus unabhängiger Zustand hoher konformativer Ordnung abgeleitet wurde. Bei großen Flächenwerten konnten allerdings zum Teil keine Signale detektiert werden, was dadurch erklärt werden kann, daß durch die Bildung großer einzelner, aber nur weniger Domänen große Areale filmfrei sind und der IR-Strahl mit hoher Wahrscheinlichkeit auf diese Bereiche trifft. Gleichzeitig scheinen die Domänen eine spröde Beschaffenheit aufzuweisen, wie aus den in Bild C zu erkennenden Frakturen hervorgeht.

Derartige Morphologien sind für Langmuir-Filme, die Isothermen von stark kondensierter Charakteristik zeigen, nicht untypisch. Ähnliche Texturen wurden beispielsweise für Filme eines bestimmten flüssigkristallinen Homopolymers^[31] und für Porphyrin-Filme^[32] beobachtet. Da die Inseln unmittelbar nach dem Spreitprozeß sichtbar werden und die Inselgröße proportional zur Konzentration der Spreitlösung zunimmt, nicht aber im Verlauf der Kompression, besteht eine schlüssige Interpretation darin, anzunehmen, daß das kristalline Material direkt beim Spreiten aus der Spreitlösung an der Luft/Wasser-Grenzfläche *ausfällt*.

Die Gestalt der kristallinen Inseln ist nicht regelmäßig, die äußere Form ist aber auch nicht chiral, so daß sich hier die molekulare Chiralität der filmbildenden Amphiphile – beispielsweise im Gegensatz zu Phospholipiden^[33,34] – nicht in den Grenzlinien der kristallinen Ensembles widerspiegelt. Zwei mögliche Erklärungen bieten sich hierfür an: a) Die Verbindung bildet prinzipiell keine chiralen Domänen aus, oder b) sie werden nicht unter den konkret vorliegenden experimentellen Bedingungen geformt. So ist beispielsweise die überaus hohe Geschwindigkeit zu bedenken, mit der sie gebildet werden, die nahelegt, daß es sich nicht um die energieärmsten Gleichgewichtsstrukturen handelt, sondern um eingefrorene metastabile Strukturen (vgl. Ostwald-Volmersche Stufenregel).

Temperaturabhängige Untersuchungen

Da sich in den früheren IRRA-spektroskopischen Untersuchungen^[29] herausstellt hat, daß ab Temperaturen von etwa 303 K und darüber der Grad der konformativen Ordnung der Alkylketten bei großen Flächen pro Molekül relativ gering ist und um der eben in Punkt b) angedeuteten Frage nachzugehen wurden zusätzlich BAM-Studien bei diesen erhöhten Temperaturen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 4 dargestellt.

Während des Spreitprozesses entstanden zunächst ausgedehnte, gekrümmt-dendritische Strukturen (Bild A). Diese lösten sich jedoch innerhalb einer Zeitspanne von 30 Minuten vollständig wieder auf. Anschließend wurde mit der Kompression begonnen. Ab Flächenwerten von ~ 0,7 nm²/Molekül bildeten sich erneut kondensierte Strukturen, ohne daß dabei der Oberflächendruck anstieg (Bild B). Im Unterschied zu den "Spreitstrukturen" waren nun zahlreiche kleinere Domänen zu erkennen, die eine häkchenartige Gestalt aufwiesen. Eine nähere Betrachtung förderte eine weitere, überaus bemerkenswerte Eigenschaft zutage: Sie sind 2-dimensional chiral und ausschließlich von derselben Sorte, d.h. daß das "Vorzeichen" ihrer Chiralität in allen Fällen identisch ist! Entsprechend spiegelbildliche Häkchen wurden nicht beobachtet.



Abb. 4: Π /A-Isotherme sowie zugehörige BAM-Bilder (A-D) von *N*-Hexadecanoyl-L-alanin auf wäßriger Subphase (pH = 2, T = 303 K). Die Bilder wurden an den Punkten aufgenommen, die in der Isotherme mit den entsprechenden Buchstaben bezeichnet sind. Sie repräsentieren eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm.

In Bild C (0,55 nm²/Molekül) wird deutlich, daß sich dendritische Strukturen entwickeln, wobei die beiden gewinkelten Stränge der Häkchen als Hauptwachstumsstränge der Dendriten identifiziert werden können, die in ihrer Länge zunehmen, einem geringen Dickenwachstum

unterliegen und von denen nun weitere, kürzere Äste abzweigen. Man erkennt ferner, daß zunächst die äußere chirale Gestalt im wesentlichen erhalten bleibt. Mit fortschreitender Kompression setzen sich diese Prozesse fort, es entstehen Dendriten von immer dichterer Textur (Bild D). Interessant ist darüber hinaus, daß in diesem Kompressionsstadium, in dem bereits große Teile der zur Verfügung stehenden Fläche mit kondensierten Strukturen bedeckt sind, kein Oberflächendruckanstieg registriert wird. Dies ist ein Hinweis darauf, daß die Domänen einen kristallinen Charakter aufweisen.

Parazak und Mitarbeiter hatten in fluoreszenzmikroskopischen Studien der Monoschichten des L-Enantiomers von *N*-Hexadecanoylalanin bei 308 K (35 °C) ebenfalls ein dendritisches Wachstum feststellen können.^[14] Sie konnten jedoch nur Bilder von Domänen aufnehmen, die sich bereits in einem fortgeschrittenen Wachstumszustand befanden, weshalb ihnen die explizit chiralen Domänenformen des frühen Entstehungsstadiums entgingen.

Diffusionsbegrenzte Anlagerung

Die Entstehung von dendritischen Strukturen kann generell für eine ganze Klasse von Systemen erwartet werden, deren Wachstum durch diffusionsbegrenzte Anlagerung (*diffusion-limited aggregation*, DLA) ihrer Teilchen bestimmt ist. Das von Witten und Sander^[35,36] 1981 eingeführte Modell der DLA konnte in der Folgezeit erfolgreich zur Simulation einer Reihe von unterschiedlichen, auch natürlichen Phänomenen angewandt werden, darunter die Nachbildung von Kristallwachstums-, elektrochemischen Abscheidungs- und kolloidalen Aggregationsprozessen sowie die von viskosem Verästeln (engl.: *viscous fingering*) und die nach Lichtenberg benannten elektrischen Entladungsfiguren. Die visuelle Ähnlichkeit all dieser Muster ist kein Zufall und beruht auf ihrer gemeinsamen Entstehungsweise, die durch das Vorherrschen von Nicht-Gleichgewichtsbedingungen gekennzeichnet ist, oder anders ausgedrückt, durch die Anwesenheit eines Potentialgradienten. Die genannten Vorgänge werden durch die Laplacesche Gleichung aus der Potentialtheorie beherrscht, wobei der Gradient dem Diffusionsfeld bei der DLA entspricht.

Ein gewöhnlicher Wachstumsprozeß gemäß diesem DLA-Modell führt zu verästelten Strukturen *irregulärer, fraktaler* Gestalt (s. Abb. 5). Der Zusammenhang zwischen der Potentialtheorie und dem Fraktalwachstum wurde durch sorgfältige Messung und numerische Lösungen der Potentialgleichung voll bestätigt.^[37]



Abb. 5: Fraktale Struktur, die durch die Simulation der Anlagerung von 15.000 Teilchen gemäß dem DLA-Modell entstanden ist.^[38]

Die Entstehung von *regulären* dendritischen Domänen, d.h. solchen, bei denen die einzelnen Dendriten in definierter Weise zueinander orientiert sind (bzw. ganz allgemein bei fraktalen Strukturen, deren Wachstum auf physikalisch-mathematischen Regeln basiert), läßt sich nur auf der Grundlage eines modifizierten DLA-Modells verstehen: Die Modifikation betrifft die Einführung einer Vorzugswachstumsrichtung. In Simulationen konnte durch die Anwendung von verschiedenartigen Gittern der zugrundeliegenden zellulären Automaten und der Festlegung, entlang welcher der Gitterebenen(schar) das Wachstum bevorzugt stattfinden soll, eine Reihe von *n*-armigen Mustern (n = 2 - 6) erzeugt werden, die ein hohes Maß an Anisotropie aufweisen.^[39] Die einzige anisotrope Kraft, die im vorliegenden Fall für die Bevorzugung einer Wachstumsrichtung verantwortlich sein kann und damit die Übertragung des Modells auf das reale chemische System erlaubt, ist die der gerichteten Wasserstoffbrückenbindung. Die vdW-Wechselwirkungen zwischen den Alkylketten sind isotroper Natur und führen deshalb in den Fällen, bei denen sie die dominanten intermolekularen Wechselwirkungen darstellen auch zu einem isotropen Wachstum der Domänen, typisch beispielsweise für Fettsäureester und Fettalkohole.

Generell ist es bisher nicht möglich, *a priori* durch Betrachtung des isolierten Moleküls die Kristallstruktur vorherzusagen, die es im 3-dimensionalen Verband annimmt. In einigen wenigen Fällen, bei denen Wasserstoffbrückenbindungen involviert sind, ist es dennoch gelungen.^[40] Prinzipiell sollte es aber möglich sein, makroskopische 2-dimensionale Domänenformen, sofern die Strukturen kristallinen Charakter aufweisen, mit der Kristallstruktur auf molekularem Niveau miteinander zu korrelieren;^[41] und es ist in der Vergangenheit auch bereits gelungen, so beispielsweise im Falle der Langmuir-Filme von *N*-Alkyl-4-hydroxybutan-amiden^[42] und (2,3-Dihydroxypropyl)-hexadecanamid.^[43]

Dabei ist es vernünftig anzunehmen, daß das höchste Maß an Positionsfernordnung entlang der Richtung der gerichteten Bindung erreicht wird.^[44] Ferner ist bekannt, daß die Druckabhängigkeit des Abstands zweier Amphiphile entlang der gerichteten Bindung geringer ist als entlang den Richtungen, die durch andere Gitternetzebenen aufgespannt werden. Die geometrischen Merkmale der in Abb. 4, Bild B, gezeigten Domänen sind in Abb. 6a wiedergegeben. Die beiden unterschiedlich langen Stränge des Häkchens bilden einen Winkel von ~ 65° . Die beobachtete Wachstumsgestalt läßt sich durch eine schiefwinklige Subzelle (dies ist für chirale Amphiphile die am häufigsten anzutreffende Geometrie) ableiten, bei der die H-Brücken entlang dem (kürzeren) Gittervektor *a* verlaufen und somit den kürzeren Hauptstrang sowie die dazu parallel verlaufenden kleineren Äste generieren (s. Abb. 6b). Der typische Abstand von zwei Amphiphilen, die über Amid-Wasserstoffbrücken verbunden sind, beträgt 0,49 nm.^[45] Der längere Hauptstrang könnte dann entlang dem Gittervektor *b* verlaufen; mit jedem weiteren Partikel, das sich an diesen Strang anlagert, nimmt daher auch seine Länge in größerem Maße und damit schneller zu.

Über die azimutale Neigungsrichtung der Moleküle können ohne GIXD-Messungen keine Aussagen getroffen werden. Charakteristisch sind in diesem frühen Kompressionsstadium jedoch *nearest-neighbour*-(NN)-Orientierungen, was hier der Richtung des Gittervektors *a* entspräche.



Abb. 6: (a) Schematische geometrische Wiedergabe der Domänenform von Monoschichten von *N*-Hexadecanoyl-L-alanin in der frühen Wachstumsphase bei T = 303 K (30 °C); (b) Modell der Korrelation von der Kristallstruktur mit der Domänenform. Die Positionen der Moleküle sind durch die schwarzen Kreise symbolisiert, die grauen dicken Linien repräsentieren die ausgezeichneten Wachstumsrichtungen. Die Pfeile deuten die mögliche Richtung der azimutalen Neigung an. In der linken oberen Ecke ist die Subzelle mit den Gittervektoren *a* und *b* eingezeichnet.

Konklusion

Zwei Merkmale sind an diesen Wachstumsfiguren ungewöhnlich: Zum einen ihre im Vergleich zu anderen Verbindungen, die dendritische Kristalle bilden, langsame Entstehungsgeschwindigkeit – normalerweise sind sie durch ein (nahezu) explosionsartiges Wachstum gekennzeichnet – und zum anderen ihre Chiralität. Allerdings ist weniger die Tatsache bemerkenswert, $da\beta$ sie chiral sind, als ihr *Chiralitätsmuster*, das gemäß der Kenntnis des Autoren bisher nicht in der Fachliteratur beschrieben wurde. Die Chiralität erklärt sich unproblematisch auf Grundlage des schiefwinkligen Gitters (zur Entstehung *nicht-dendritischer* chiraler Domänen, s. Abschnitt "Zinkionenhaltige Subphase"). Erheblich mehr Mühe bereitet es, eine Erklärung dafür zu finden, warum die verzweigenden Äste *einseitig* – zumindest in ihrer frühen Entstehungsgeschichte – von den beiden gewinkelten Hauptsträngen aus wachsen. Dieses Problem muß an dieser Stelle zunächst zurückgestellt werden.

B) Racemat

Das racemische Gemisch von *N*-Hexadecanoylalanin weist bei T = 298 K (25 °C) eine von der des enantiomerenreinen Films deutlich unterschiedene Morphologie auf. Erwartungsgemäß sind während der LE/G-Phase noch keine Domänen im BAM zu erkennen. Unmittelbar nach Erreichen des Phasenübergangspunkts in der Isotherme, d.h. mit Einsetzen des Kondensationsvorgangs, erscheinen riesige (bis zu 10 mm große) dendritische Cluster, aber von *irregulärer* fraktalähnlicher Gestalt (Abb. 7, Bild A) Darüber hinaus sind die Dendriten wesentlich dicker als die, die sich beim L-Enantiomer bei 303 K (30 °C) bildeten. Im mathematischen Sinne handelt es sich bei den Domänen, wie in Bild A gezeigt, nicht um *echte* Fraktale, weil sie nicht *streng* selbstaffin bzw. skaleninvariant sind, weshalb hier zunächst von fraktalähnlichen Gebilden gesprochen wurde. Eine Dimensionsanalyse des Bildes A ergab jedoch immerhin, daß die Flächenausfüllung der Domäne einen nicht-ganzzahligen Wert von 1,78 annimmt; insofern ist es wenigstens in dieser Hinsicht gerechtfertigt, einfach von fraktalen Strukturen zu sprechen. Die Abweichung vom theoretischen Wert der Dimension beim 2-dimensionalen (einfachen) DLA-Modell, der 1,71 beträgt, ist als gering einzustufen.



Abb. 7: Π/A -Isotherme sowie zugehörige BAM-Bilder (A-E) von *N*-Hexadecanoyl-DL-alanin auf wäßriger Subphase (pH = 2, T = 298 K). Die Bilder wurden an den Punkten aufgenommen, die in der Isotherme mit den entsprechenden Buchstaben bezeichnet sind. Sie repräsentieren eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm.

Eine nähere Betrachtung einzelner Domänen ergab, daß nicht ausschließlich dendritische Formen gebildet werden. Zahlreiche Domänen bestehen aus 2 verschieden zusammengesetzten Teilen, aus einem dendritischen und einem "angehängten", im wesentlichen linearen oder nur leicht gekrümmten, stark länglichen Teil (s. Bild B), auf dem sich wiederum senkrecht dazu kleinere Aggregate von organisch-pflanzlich anmutender, an Palmen erinnernde Gestalt abgeschieden haben. Das bedeutet, daß hier neben der DLA wahrscheinlich noch ein weiterer Wachstumsmechanismus die Erscheinungsform der Domänen bestimmt. Interessant ist, daß die länglichen, "bewachsenen" Strukturen nie isoliert zu beobachten waren.

Des weiteren konnte durch künstlich erzeugte Luftturbulenzen oberhalb der Subphase gezeigt werden, daß die einzelnen Dendriten nicht starr sind: Sie wiegen sich wie die Äste eines Baums im Wind hin und her. Die plastische Deformierbarkeit der Domänen geht auch aus den Bildern D und E hervor, die gegen Ende des Kondensationsvorgangs aufgenommen wurden. Der Kondensationsvorgang besteht wie beim Enantiomer auch im wesentlichen darin, daß die einzelnen Domänen zusammengeschoben werden, wobei es teilweise zu einer Verschmelzung kommt; ein weiteres Anwachsen ihres Ausmaßes konnte kaum beobachtet werden. Am Kollapspunkt hatte sich schließlich eine völlig einheitliche, im BAM keinerlei Kontrastunterschiede aufweisende Fläche gebildet.

Diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit denen der IRRAS-Messungen überein (Diplomarbeit, FH),^[29] in denen mit fortschreitender Kompression eine kontinuierliche Zunahme der konformativen Ordnung der Alkylketten der Amphiphile registriert wurde. Vor dem Hintergrund der hier gemachten Beobachtungen und der Tatsache, daß das IR-Signal dem Mittelwert eines ca. 5 mm² großen bestrahlten Flächenbereichs entspricht, ist dies so zu deuten, daß mit abnehmendem Flächenwert sowohl der Anteil der filmbelegten Fläche als auch die Ordnung innerhalb der Domänen steigt – bedingt durch ihre plastische Deformierbarkeit, so daß sukzessive eine engere Packung erreicht wird.

Konklusion

Das durch die Π/A -Isothermen und das Ergebnis der IRRAS-Messungen abgeleitete Vorliegen einer homochiralen Diskriminierung konnte durch die BAM-Aufnahmen bestätigt werden. Der enantiomerenreine Film weist eine Morphologie auf, die die niedriger verlaufende Π/A-Isotherme und das aus den IRRA-Messungen deduzierte höhere Maß konformativer Ordnung (Diplomarbeit, FH)^[29] zu erklären vermag. Damit wären zwar die Voraussetzungen für eine chirale Phasenseparation beim racemischen Film gegeben, jedoch konnten dafür keinerlei Anzeichen gewonnen werden. Sowohl das Fehlen enantiomerenspezifischer bzw. chiraler Domänen als auch die Nicht-Gleichgewichtsbedingungen der Entstehung der Domänen sprechen dagegen. Statt dessen scheinen sich Mischaggregate zu bilden, was auf eine heterochirale Erkennung schließen läßt. Eine Abschätzung der Stärke der Wechselwirkungen zwischen den beiden Antipoden (D:L) im Vergleich zu denen in enantiomerenreinen Domänen (L:L oder D:D) ist schwierig. Die Bildung von Mischaggregaten impliziert eigentlich stärkere Wechselwirkungen zwischen D- und L-Enantiomer, jedoch sind die Domänen des racemischen Films flächig ausgedehnter, weniger kompakt und die Packung der Alkylketten ist weniger dicht. Dieser Widerspruch kann gelöst werden, indem die Details des Mechanismus des DLA-Modells berücksichtigt werden. In diesem Prozeß bleibt ein einmal in Kontakt mit dem Verband getretenes Teilchen dauerhaft assoziiert, ohne daß es sich wieder ablösen und umorientieren könnte. Die Bildung von enantiomerenreinen voneinander separierten Domänen würde jedoch im Prinzip genau dies erfordern. Mit Hilfe von modifizierten DLA-Modellen kann gezeigt werden, daß bei weniger starken Wechselwirkungen, d.h. dem Zulassen von Ablöse- und Wiederanhaftungsprozessen ("Rauschreduzierung") der Flächenausfüllungsgrad und die Dimension der Gebilde zunehmen (s.a. Abb. 8).



Abb. 8: Fraktale Strukturen, die durch die Simulation der Anlagerung von 15.000 (links) bzw. 20.000 Teilchen (rechts) gemäß einem modifizierten DLA-Modell entstanden sind, wobei der "Rauschpegel" variiert wurde, der den Flächenausfüllungsgrad und somit die fraktale Dimension (links:1,73, rechts: 1,85) bestimmt.^[38,39]

Damit die Enantiomere zueinander finden können, um separierte Domänen bilden zu können, bedarf es während des Kondensationsvorgangs eines Mindestmaßes an lateralem Diffusionsvermögen. Der Grund dafür, warum die Separation hier ausbleibt, könnte also darin liegen, daß dieses Vermögen durch zu große Wechselwirkungen der Amphiphile untereinander zu stark eingeschränkt wird. Daraus kann eine generelle Hypothese in bezug auf eine grundsätzliche Bedingung und notwendige Voraussetzung für das Auftreten von chiralen Phasenseparationen abgeleitet werden: Die Stärke der Wechselwirkungen zwischen den beiden Enantiomerensorten muß nicht nur schwächer sein als die zwischen Enantiomeren gleicher Konfiguration, sie darf darüber hinaus auch, absolut betrachtet, ein gewisses, erst noch zu bestimmendes Maß nicht übersteigen. Damit ist auch eine Aussage über die Kinetik des Kondensationsvorgangs verbunden. Wenn die Domänenwachstumsgeschwindigkeit sehr groß ist und nur relativ wenige Domänen gebildet werden, die in einem einmal eingefrorenen Zustand verbleiben, ist die Wahrscheinlichkeit für eine Phasenseparation relativ gering. Es ist zu vermuten, daß umgekehrt, günstige Bedingungen für eine chirale Phasenseparation herrschen, wenn zwar die Keimbildungsgeschwindigkeit (Zahl der Entstehung neuer Nukleationszentren pro Zeiteinheit) groß, die Geschwindigkeit des Wachstumsprozesses hingegen relativ klein ist (s.a. Kapitel 2.2.)

Es sei noch angemerkt, daß Parazak und Mitarbeiter eine andere Auffassung bezüglich der Abwesenheit von chiralen Domänenformen in diesem Fall vertreten. Sie vermuten, daß eine chirale Phasenseparation stattfindet, die Positionsfernordnung bzw. Enantiomerenreinheit sich jedoch nicht über die gesamte Domäne erstreckt, sondern vielmehr aus einzelnen Segmenten zusammengesetzt ist, die je aus der einen oder anderen Enantiomerensorte aufgebaut sind. In ihrer Gesamtheit ergibt sich dann aufgrund des zufälligen Zusammentreffens dieser enantiomerenreinen Segmente eine irreguläre Gestalt. Aufrund der oben dargelegten Argumente erscheint dem Autoren diese Spekulation allerdings nur wenig begründet zu sein.

2.1.1.2. Calciumionenhaltige Subphase

L-Enantiomer und Racemat

Aufgrund der nahezu unterschiedslosen Merkmale der Filme des L-Enantiomers und des Racemats und wegen der vergleichsweise unspektakulären Ergebnisse, die bei den BAM-Untersuchungen erhalten wurden, werden sie hier gemeinsam und auch nur kurz besprochen.

Calcium ist dafür bekannt, eher ionische Carboxylatkomplexe mit den Säurekopfgruppen entsprechender Amphiphile zu bilden, weshalb es häufig expandierend auf Langmuir-Filme wirkt,^[46] im Gegensatz zu Metallen, die mit Säuregruppen kovalente Komplexe bilden, Bleioder Cadmiumoctadecanoate sind Beispiele dafür, und zu Isothermen stark kondensierten Charakters und einem extrem steil verlaufenden Anstieg der Kurve innerhalb der LS-Phase führen.^[47]

Die expandierende Wirkung von Ca²⁺-Ionen in der Subphase konnte für den vorliegenden Fall bereits durch IRRAS-Messungen, die auf eine wesentlich höhere konformative Unordnung der Alkylketten deuteten und durch die Aufnahme von Π/A -Isothermen, bei denen die Kurven im Vergleich zur rein wäßrigen Subphase zu deutlich höheren Oberflächendrücken verschoben waren (s.a. Abb. 9), bestätigt werden (Diplomarbeit, FH).^[29] Die Kollapspunkte liegen für beide Filme bei Werten, die unterhalb des theoretischen minimalen Querschnittsflächenbedarfs eines einzelnen Moleküls von ~ 0,24 nm² angesiedelt sind, was für das Vorliegen eines sich langsam vollziehenden, mikroskopischen Kollapsprozesses (Bildung von dreidimensionalen mikrokristallinen Strukturen vor dem eigentlichen, thermodynamischen Kollapspunkt) spricht.

Die BAM-Untersuchungen ergaben, daß sich während des gesamten Kompressionsverlaufs weder beim racemischen noch enantiomerenreinen Film kondensierte Domänen bildeten, zumindest nicht solche, die größer als 20 μ m waren (dies entspricht dem maximalen Auflösungsvermögen des eingesetzten BAMs). Während dies für den racemischen Film aufgrund der Π /A-Isotherme, die im wesentlichen nur eine ausgeprägte LE-Phase anzeigt, erwartet werden durfte, ist es für das L-Enantiomer insofern überraschend, als in der Isotherme eine zwar nur schmale aber so doch existente Plateauregion zu sehen ist. Eine mögliche Erklärung dafür wurde allerdings mit der beschränkten Auflösung des Mikroskops bereits gegeben. Eine Strukturbildung mit Dimensionen > 20 μ m konnte erst kurz bzw. beim Kollapspunkt beobachtet werden (s. Abb. 9), wobei beide Filme sehr ähnliche, streifenartige Kollaps-Morphologien aufweisen.



Abb. 9: Π/A -Isothermen von *N*-Hexadecanoylalanin (DL und L) auf calciumionenhaltiger Subphase (pH = 6, T = 298 K) sowie ein zugehöriges, repräsentatives BAM-Bild (A). Das Bild ist an dem Punkt aufgenommen, der in der Isotherme mit dem entsprechenden Buchstaben bezeichnet ist. Es repräsentiert eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm

Konklusion

Gemäß der im vorigen Abschnitt dargelegten Hypothese und den thermodynamischen Daten zufolge, lägen hier potentiell günstige Bedingungen vor, eine chirale Phasenseparation eventuell beobachten zu können. Die attraktiven Wechselwirkungen sind durch die ionisch vorliegenden und damit gleichnamig geladenen Amphiphile stark abgeschwächt. Da hier höchstwahrscheinlich keine chirale Phasenseparation (oder nur eine "submikroskopische") stattfindet, kann daraus vorsichtig geschlossen werden, daß die anziehenden Wechselwirkungen durch die Ca²⁺-Ionen bzw. Carboxylatbildung möglicherweise in einem zu starken Maße geschwächt werden, daß die starke Repulsion der ionischen Kopfgruppen eine Domänenbildung gänzlich unterbindet und daß die (verbliebenen) attraktiven vdW-Kräfte zwischen den Alkylketten nicht hinreichen, um kondensierte Phasen zu bilden.

2.1.1.3. Zinkionenhaltige Subphase

A) L-Enantiomer

In Abb. 10 ist die Π/A -Isotherme (T = 298 K) einer Monoschicht von *N*-Hexadecanoyl-Lalanin auf zinkionenhaltiger Subphase gezeigt sowie eine Serie von BAM-Bildern, die während der isothermen Kompression zu verschiedenen Zeitpunkten aufgenommen wurden. Die Isotherme weist zwar im Vergleich zu der, die auf rein wäßriger Subphase erhalten wurde, einen deutlich expandierteren Charakter auf, sie ist aber kondensierter als im Fall der calciumionenhaltigen Subphase, da die Oberflächendrücke bei gleichen Flächenwerten geringer ist.



Abb. 10: Π/A -Isotherme sowie zugehörige BAM-Bilder (A-E) von *N*-Hexadecanoyl-L-alanin auf zinkionenhaltiger Subphase (pH = 6, T = 298 K). Die Bilder wurden an den Punkten aufgenommen, die in der Isotherme mit den entsprechenden Buchstaben bezeichnet sind. Sie repräsentieren eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm, mit Ausnahme von Bild A (B × H = 2 × 1,5 mm). Die in Bild B mit ①, ② und ③ beschrifteten Strukturen sind im Text erklärt.

Bei 0,345 nm²/Molekül und 9,5 mN/m zeigt sie einen Phasenübergangspunkt 1. Ordnung, der jedoch kinetisch überhöht ist (sog. "overshoot"), weshalb das sich anschließende Plateau vom streng horizontalen Verlauf abweicht. Exakt mit Erreichen des Koexistenzgebiets beginnen sich kondensierte Strukturen von auffälliger und überaus bemerkenswerter Gestalt zu bilden (Bild A). Neben torusförmigen Domänen sind solche zu sehen, die sich in einem etwas weiter entwickelten Zustand befinden und in diesem spezifischen Wachstumsstadium ausschließlich und einheitlich eine stark gekrümmte, S-förmige und damit 2-dimensional chirale Gestalt aufweisen. Die entsprechend spiegelbildlichen (Fragezeichen-)Formen wurden zu diesem Zeitpunkt der Kompression nicht beobachtet. Durch mehrmaliges Wiederholen der BAM-Experimente konnte festgestellt werden, daß während des Phasenübergangs (i) beständig neue Domänen entstehen (im Gegensatz zu den Prozessen, die unter dem Abschnitt "Wäßrige Subphase" beschrieben wurden) und (ii) die einzelnen Domänen beim Wachstum mehreren Formmodifikationen unterliegen, so daß zu einem Zeitpunkt verschiedene Domänenformen gleichzeitig vorliegen. Mit Bild B gelang es, in einer Momentaufnahme drei unterschiedlich fortentwickelte Muster in nur einem Bild festzuhalten: Die zwei Metamorphosen – von den ① torusartigen Formen über die ② S-förmigen Strukturen hinzu ③ "Seepferdchen"-Domänen – sind typisch für diese Phase der Kompression. Im weiteren Fortgang der Kompression lagern sich die einzelnen Domänen zum Teil zu großen Clustern zusammen (Bild C), wobei sich, wie aus den Bereichen extrem hoher Reflektivität geschlossen werden kann, bereits 3-D Kristallite bilden. Zum anderen sind Felder zu beobachten, die an einen mit Seerosenblättern bedeckten Teich erinnern (Bild D). Die Abnahme der Zahl chiraler Domänenformen setzt sich bis zum Kollapspunkt fort, gleichzeitig steigt die Zahl dreidimensionaler Kristallstrukturen (Bild E).

Offenbar vermag die Anwesenheit von Zinkionen in der Subphase in einer Weise auf das Aggregationsverhalten Einfluß zu nehmen, daß – zumindest intermediär – chirale Domänenformen indiziert werden. An dieser Stelle wären damit zwei Fragen zu beantworten: (1) Handelt es sich um einen zinkionenspezifischen Effekt (auf molekularer Ebene) oder ist es lediglich das mittelbare Resultat eines durch die Zinkionen bzw. Carboxylatbildung veränderten Phasenverhaltens bzw. das Ergebnis einer durch die erhöhten Repulsionskräfte verminderte und damit näher am thermodynamischen Gleichgewicht befindlichen Wachstumsgeschwindigkeit der Domänen? (2) Durch welchen konkreten Mechanismus ließe sich überhaupt die durch die Zinkionen hervorgerufene Entstehung chiraler Domänen erklären?

- zu (1): Zwei – zugestandenermaßen schwache – Indizien sprechen für einen zinkionenspezifischen Effekt. Läge die Ursache lediglich darin, daß solche äußeren Randbedingungen vorliegen, die zu einem Phasenübergang 1. Ordnung in der Isotherme führen, könnte auch im Falle der wäßrigen Subphase ein Erscheinen chiraler Domänenformen erwartet werden, wenn diese Bedingung erfüllt ist. Oberhalb von 308 K (35 °C) ist diese Bedingung erfüllt, jedoch bilden sich bei diesen Temperaturen typisch dendritische und achirale Strukturen aus, wie bereits von Parazak *et al.*^[14] durch FM-Aufnahmen gezeigt werden konnte. Dies ist insofern nur ein schwaches Indiz, als die beiden Situationen nicht völlig identisch sind, da die Plateauregion im Fall der zinkionenhaltigen Subphase bei deutlich höheren Oberflächendrücken verläuft. Für das Erreichen vergleichbarer Situationen müßte der Film auf wäßriger Subphase schätzungsweise bei Temperaturen von über 323 K (50 °C) untersucht werden, was jedoch infolge von experimentellen Limitationen (zu hoher Dampfdruck, zu starke Bildung von Wasserdampfblasen in der Subphase, starke Zunahme der Solubilisierung bzw. des Transfers von Filmsubstanz in die Subphase) nicht möglich ist.

Das zweite Indiz ergibt sich aus einem Vergleich mit den BAM-Untersuchungen, die auf calciumionenhaltiger Subphase durchgeführt wurden. Trotz Vorliegens eines Hauptphasenübergangs beim L-Enantiomer und einer ähnlichen Lage des Plateaus der Isotherme, konnten keine chiralen Domänen beobachtet werden. Die eingeschränkte Gültigkeit dieses Arguments ergibt sich einerseits aus dem bereits erwähnten begrenzten Auflösungsvermögens des Mikroskops und andererseits daraus, daß die Isothermen, die auf Ca²⁺ bzw. Zn²⁺ aufgenommen wurden, zwar einen ähnlichen, aber doch nicht absolut identischen Verlauf zeigen: Die Π/A-Isotherme, die auf Ca²⁺ aufgenommen wurde, weist einen expandierteren Charakter auf. Es wäre daher auch denkbar, daß es sich im Prinzip um einen unspezifischen Effekt des Zinks handelt, der nur insofern spezifisch ist, als eben genau das exakt richtige Maß an Expansion bewirkt wird.

zu (2): Die gängige Erklärung zur Entstehung chiraler Domänenformen in Langmuir-Filmen geht auf das theoretische Konzept der asymmetrischen Grenzlinienspannung von McConnell zurück.^[48] Danach bewirkt eine regelmäßig und einheitlich ausgerichtete Ansammlung von Amphiphilen einer Enantiomerensorte innerhalb einer Domäne, die eine kritische Kohärenzlänge bzw. -breite übersteigt, eine Differenz der Grenzlinienspannung (2-dimensionales Analogon zur Grenzflächenspannung) auf verschiedenen Seiten einer Domäne (gegenüber der LE-Phase), so daß sich die Domäne in der Folge auf der Seite der größeren Grenzlinienspannung krümmt und damit die Grenzlinienlänge minimiert wird. Dieses Konzept wurde zwar zunächst für Formübergänge von plastisch deformierbaren, ehedem kompakten und symmetrischen Domänen entwickelt, die bereits eine gewisse Größe besitzen, McConnell konnte jedoch zeigen, daß dieses Konzept auch für quasikristalline, starre Gebilde gilt, für die keine Formübergänge erwartet werden können. In diesen Fällen ergibt sich ihre äußere chirale Gestalt statt dessen durch einen inhärent chiralen Wachstumsproze β , d.h. daß sich die an das wachsende Aggregat anlagernden Teilchen von vornherein so anordnen, daß die entstehenden Strukturen zu jedem Zeitpunkt bzw. in jedem Wachstumsstadium chiral sind.

Dem Augenschein nach handelt es sich im vorliegenden Fall nicht um plastisch deformierbare Domänen, so daß von einem solchen chiralen Wachstumsvorgang auszugehen ist. Die notwendige Voraussetzung für das Stattfinden eines chiralen Wachstums ist eine Komponente des Dipolmoments von nicht unerheblicher Größe bzw. dipolare elektrostatische Wechselwirkungen in der Ebene (*in-plane*) der Grenzfläche. Ist diese Voraussetzung erfüllt, können selbst achirale Moleküle chirale Aggregate bilden, wie Sandler *et al.* mit Hilfe von elektrostatischen Wachstumsmodellen gezeigt haben.^[49] Sollen die Domänen darüber hinaus einheitlich dasselbe chirale "Vorzeichen" besitzen, müssen sie

selbst aus (a) chiralen Teilchen und (b) von derselben Sorte aufgebaut sein, anderenfalls kommt es zu einer statistischen Verteilung von links- und rechtsgewundenen Strukturen. Bemerkenswerterweise konnten Sandler et al. unter anderem durch Monte Carlo-Simulation insbesondere die Entstehung von S-förmigen bzw. seepferdchenartigen Domänen nachbilden,^[50] womit (endlich) die Verbindung zum vorliegenden Fall genannt ist. Und zwar besteht sie konkret darin, daß die Bedingung einer dipolaren elektrostatischen *in-plane* Wechselwirkung erfüllt ist, wenn angenommen wird, a) daß die Zinkcarboxylate von eher ionischem Charakter sind oder zumindest - bei Vorliegen einer kovalenten Bindung – eine stark polarisierte Bindung zwischen dem Zink und dem Amphiphil gegeben ist und b) die Amphiphile eine Neigung in bezug auf die Oberflächennormale aufweisen. Für den ionischen Charakter des Carboxylats spricht der expandierte Charakter der Π/A -Isotherme. In vorangegangenen IRRAS-Studien (Diplomarbeit, FH)^[29] wurde durch die Analyse der Lage der Schwingungsbanden der Kopfgruppe versucht, nähere Aussagen über den vorliegenden Komplexierungstyp zu treffen. Anhand der Bandenpositionen der antisymmetrischen und symmetrischen Carboxylatschwingung bzw. ihrer Wellenzahlendifferenz ist es unter Umständen möglich, auf den Koordinationstyp des vorliegenden Metallcarboxylats zu schließen, bei denen in der Literatur zwischen vier idealisierten Grundtypen unterschieden wird.^[51,52] Danach gibt es Hinweise darauf, daß mehrere verschiedene Spezies gleichzeitig vorliegen, darunter solche vom einzähnigen und zweizähnigen Chelat-Typus. Darüber hinaus konnte nicht ausgeschlossen werden, daß als dritte Spezies auch ionische Komplexe zugegen sind. Die Bedingung für eine in-plane dipolare Wechselwirkung ist in jedem Fall erfüllt. Für die Gültigkeit der zweiten Annahme spricht die Größe der Kopfgruppe sowie zahlreiche Röntgenbeugungsuntersuchungen von N-Acylaminosäurederivaten, aus denen hervorgeht, daß alle bisher untersuchten Amphiphile dieser Klasse einen Neigungswinkel von mindestens 27° aufweisen.^[53,54]

Damit könnte das elektrostatische Wachstumsmodell eine durchaus plausible Erklärung für die hier beobachteten Phänomene liefern. Dem Autoren ist nicht bekannt, daß ein ähnlicher Fall, die Erzeugung chiraler Domänen bei Langmuir-Filmen durch Metallkomplexbildung, bereits in der Literatur beschrieben wäre.

B) Racemat

Die Ergebnisse der BAM-Untersuchungen des racemischen Films auf zinkionenhaltiger Subphase sind wenig aufsehenerregend. Dies konnte allerdings aufgrund des Verlaufs der Isotherme, die keinen Hauptphasenübergang anzeigt, auch erwartet werden (s. Abb. 11).



Abb. 11: Π /*A*-Isotherme sowie zugehöriges BAM-Bild (A) von *N*-Hexadecanoyl-DL-alanin auf zinkionenhaltiger Subphase (pH = 6, T = 298 K). Das Bild wurde an dem Punkt aufgenommen, der in der Isotherme mit dem entsprechenden Buchstaben bezeichnet ist. Es repräsentiert eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm

Erst kurz vor dem Kollapspunkt sind einige kleinere kondensierte Strukturen zu sehen; ihre hohe Reflektivität deutet darauf hin, daß es sich um 3D-Kristallite handelt (Bild A). Ihre Zahl nimmt bis zum Kollapspunkt merklich, ihr Ausmaß nur geringfügig zu. In starker digitaler Vergrößerung der BAM-Bilder ist darüber hinaus zwischen den Kristalliten eine griesig-körnige Textur sehr geringer Reflektivität zu erkennen. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um die Keimzentren, aus denen die späteren 3D-Nuklei hervorgehen. Zum Mechanismus und zur Kinetik der Bildung von vorgeformten 3D-Nukleationszentren unterhalb der kritischen Übersättigungsgrenze haben Vollhardt und Retter eine Theorie veröffentlicht.^[55]

Den Befunden zufolge, die beim L-Enantiomer erhalten wurden, bestünde beim Racemat potentiell die Möglichkeit, einen chiralen Symmetriebruch beobachten zu können, d.h. die Entstehung chiraler, spiegelbildlicher Domänen, bei denen sich in ihrem makroskopischen Äußeren die molekulare Chiralität der sie konstituierenden Teilchen widerspiegelt. Die Zinkionen wirken auf den racemischen Film jedoch in einem Maße expandierend, daß im Verlauf der Kompression keine kondensierte Phase ausgebildet wird. Leider änderte sich an diesem thermodynamischen Verhalten auch bei niedrigeren Temperaturen bis hinab zu 286 K (13 °C) nichts. Dies entspricht der niedrigsten Temperatur, die apparatebedingt einzustellen war.

2.1.2. N-Hexadecanoylalaninmethylester

Durch die Veresterung der Carboxylgruppe wird sowohl eine der beiden denkbaren intraals auch eine von zwei Möglichkeiten zur Bildung intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen unterbunden (s. Abb. 12). Inwieweit dies die Fähigkeit beeinträchtigt, stabile Amphiphilnetzwerke zu formen, welche Konsequenzen dies für das chirale Verhalten hat und in welcher Weise die Filmmorphologie beeinflußt wird, sollte mit Hilfe des BAMs untersucht werden. Da der Methylester keine Metallcarboxylate bilden kann, wurde er nur auf wäßriger und nicht auf metallionenhaltiger Subphase untersucht.



R₁ = Hexadecanoyl

Abb. 12: Darstellung der Möglichkeiten zur Ausbildung von (a) intra- und (b) intermolekularen H-Brückenbindungen von *N*-Hexadecanoylalanin (jeweils links der gestrichelten Linie) und *N*-Hexadecanoylalaninmethylester (jeweils rechts der gestrichelten Linie).

Der Verlauf der Π/A -Isothermen und IRRAS-Studien (Diplomarbeit, FH)^[29] ergaben ferner Hinweise darauf, daß beim racemischen Gemisch eine chirale Phasenseparation stattfinden könnte: Die Π/A -Isotherme des enantiomerenreinen Films zeigt eine kondensiertere Charakteristik, was für eine homochirale Diskriminierung spricht. In dieselbe Richtung wiesen die höheren Wellenzahlen der $v_{as}(CH_2)$ -Schwingung beim Racemat für Flächen > 0,5 nm²/Molekül. Die starke Absenkung der Wellenzahlen beim weiteren Fortgang der Kompressionauf auf das Niveau, das für den enantiomerenreinen Film gemessen wurde bekräftigt die Annahme einer Phasenseparation. Ein eindeutiger Beleg durch abbildende Methoden konnte jedoch bislang noch nicht erbracht werden.

A) L-Enantiomer

In Abb. 13 ist die Π/A -Isotherme (T = 298 K) der Monoschicht von *N*-Hexadecanoyl-Lalaninmethylester auf wäßriger Subphase gezeigt sowie eine Serie von BAM-Bildern, die während der isothermen Kompression zu verschiedenen Zeitpunkten aufgenommen wurden. Wie auch beim unveresterten Derivat sind bereits unmittelbar nach dem Spreiten kristalline Strukturen zu sehen (Bild A). Im Vergleich zur Säure sind sie jedoch erheblich kleiner, viel weniger kompakt und weitaus zahlreicher. Einige längliche Domänen sind zum Teil lose zu größeren Überstrukturen zusammengelagert. Bei Reduktion des Flächenwertes und zunehmender Domänendichte führen vermehrte Kollisionen der Domänen untereinander dazu, daß sie in kleinere Bruchstücke zerbrechen; sie neigen dennoch dazu, in losen Verbänden assoziiert zu bleiben (Bild B). Diese losen Assoziate aus festen, aber anscheinend spröden Teilchen werden im weiteren Verlauf der Kompression zusammengeschoben und schrittweise weiter "zerrieben", bis eine Situation wie in Bild C entsteht. Anschließend steigt der Ober-
flächendruck stark an, und es bildet sich eine einheitlich geschlossene Fläche ohne Kontrastunterschiede (Bild nicht gezeigt). In Bild D ist eine Post-Kollapsstruktur festgehalten, die auf sehr illustrative Weise verdeutlicht, wie sich in diesem Fall der Kollapsprozeß vollzieht, nämlich indem sich an vielen Stellen gleichzeitig die ehemals 2-dimensionale Schicht übereinander schiebt und schuppenartige Multischichten bildet.



Abb. 13: Π /*A*-Isotherme sowie zugehörige BAM-Bilder (A-D) von *N*-Hexadecanoyl-L-alaninmethylester auf wäßriger Subphase (pH = 6, T = 298 K). Die Bilder wurden an den Punkten aufgenommen, die in der Isotherme mit den entsprechenden Buchstaben bezeichnet sind. Sie repräsentieren eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm.

Die Filme des L-Enantiomers der freien Säure und des Methylesters zeigen Π/A -Isothermen derselben, vollständig kondensierten Charakteristik. Dies spiegelt sich im Prinzip auch in den Morphologien wider: Bei beiden Spezies liegen bereits bei sehr großen Flächenwerten (direkt nach dem Spreiten) kondensierte Strukturen vor. Unterschiede ergeben sich hinsichtlich der Kompaktheit der Strukturen, die bei der freien Säure wesentlich ausgeprägter ist. Es könnte sein, daß sich der geringere Zusammenhalt innerhalb der Domänen des Methylesters durch die eine fehlende Möglichkeit zur Ausbildung von intermolekularen H-Brückennetzwerken erklären läßt. Allerdings besteht prinzipiell noch die Möglichkeit zur Bildung von Amid-Amid-H-Brücken-Netzwerken (s. Abb. 12). Der geringere Zusammenhalt der Amphiphile untereinander findet auch seinen spektroskopischen Ausdruck darin (Diplomarbeit, FH),^[29] daß im Frühstadium der Kompression im Vergleich zur freien Säure etwas höhere Wellenzahlen der v_{as}(CH₂)-Schwingung gemessen wurden, die darauf hindeuten, daß die Packungsdichte etwas geringer und die Zahl der *gauche*-Defekte der Alkylketten höher ist.

Aus der Tatsache, daß hier keine chiralen Domänenformen gebildet werden, kann nicht geschlossen werden, daß im Racemat kein homochiraler Kennungsprozeß ablaufen könnte, jedoch ist die Wahrscheinlichkeit, einen solchen mit Hilfe des BAMs detektieren zu können, extrem gering.

Der Spreitprozeß im Detail

Aufgrund der spröden Beschaffenheit der Aggregate und der Tatsache, daß nach dem Spreiten der angewendeten Lösungsmittelmenge bereits große Teile der Fläche mit Filmmaterial bedeckt waren, bestand die Vermutung, daß sich die in Bild A der Abb. 13 gezeigten Domänen nicht in einem "jungfräulichen" Zustand befinden. Deshalb wurde in einem weiteren Versuch die Spreitlösungsmenge sukzessive reduziert, um Kollisionen der fragilen Domänen bei diesem großen Flächenwert zu vermeiden. Die entsprechenden BAM-Bilder sind in der folgenden Abb. 14 gezeigt.

Die Vermutung konnte durch die BAM-Aufnahmen voll bestätigt werden. Man erkennt nun ein ausgeprägt dendritisches Wachstum. Des weiteren konnte beobachtet werden, daß sich die Größe und Zahl der Domänen durch zwei Parameter steuern läßt: Über die Größe der vorgeformten Tropfen der Spreitlösung, die mit Hilfe der Spritze vorsichtig auf der Subphase abgesetzt werden (die Größe nimmt entsprechend der Größe der Tropfen zu, vgl. Bild A, C, E) und über die Frequenz, mit der sie abgesetzt werden (die Zahl der Domänen steigt mit der Absetzfrequenz, vgl. Bild B, D). Wird eine bestimmte Gesamtmenge an gespreiteter Lösung überschritten, läßt sich die zeitliche Fortentwicklung der Morphologieänderung verfolgen: Mit zunehmender Dauer verschwinden dendritische Formen durch Kollisionen der Domänen untereinander, und es werden Strukturen generiert, die der in Bild A der Abb. 13 nahekommen (vgl. Bild F).



Abb. 14: Eine Auswahl an BAM-Aufnahmen, aufgenommen während des Spreitprozesses von *N*-Hexadecanoyl-DL-alaninmethylester, wobei die Größe der Spreit-Tröpfchen (Zunahme: A,C,E) und ihre Absetzfrequenz variiert (Zunahme: B,D) wurden. Die Bilder A und B repräsentieren eine Fläche $B \times H = 2 \times 0.8$, die Bilder C bis F enstprechen Flächen von 6×4 mm.

Man kann vor allem drei verschiedene Typen von Domänenformen ausmachen, die am häufigsten beobachtet wurden. Der erste Typ entspricht der in Bild B wiedergegebenen. Diese Domäne weist einen ca. 2 mm langen, linearen Hauptstrang auf, an dessen Spitze zwei weitere Hauptverzweigungen zu sehen sind, die einen Winkel von ~ 90° zueinander bilden. Die Winkel zwischen dem Hauptstrang und den beiden Hauptverzweigungen betragen 35 - 40 bzw. 50 - 55°. Entlang dem Hauptstrang sind weitere, kleinere dendritische Äste zu sehen, die parallel zu den Hauptverzweigungen der Spitze verlaufen (s. Abb. 15a). Die anderen beiden Typen sind ganz ähnlich strukturiert, nur daß die Hauptstränge einen anderen Winkel zuein-

ander aufweisen; in Bild A bilden sie einen Winkel von ungefähr 115° , in Bild C einen von ca. 65 - 70° (s. Abb. 15b und c).



Abb. 15: Schematische geometrische Wiedergabe von drei repräsentativen Domänenform-Typen (a - c) von Monoschichten von *N*-Hexadecanoyl-L-alaninmethylester in der ungestörten Wachstumsphase.

Konklusion

Eine der beiden Möglichkeiten zur Ausbildung von intermolekularen H-Brücken wurde durch die Veresterung der Carboxylgruppe unterbunden. Damit verbleibt als Ursache einer gerichteten Kraft nur die der Amid-Amid-Wasserstoffbrückenbindung.

Beim Domänen-Typ a setzen die Hauptverzweigungen in einem Winkel von ca. 35 bzw. 55° am Hauptstrang an; daher läßt sich die beobachtete Wachstumsgestalt durch eine rechteckige Subzelle ableiten, bei der die H-Brücken entlang dem (kürzeren) Gittervektor *a* verlaufen und somit eine der beiden Hauptverzweigungen sowie die dazu parallel verlaufenden Äste generieren (s. Abb. 16a). Der (längere) Hauptstrang könnte dann entlang der Diagonalen der Gitterzelle verlaufen. Die beiden anderen Domänen-Typen b und c lassen sich näherungsweise auf der Grundlage eines *gemeinsamen* schiefwinkligen Gitters konstruieren (s. Abb. 16b). Dies ist für chirale Amphiphile die am häufigsten anzutreffende Geometrie der Subzelle. Daß anscheinend überhaupt verschiedene Gittertypen gleichzeitig vorliegen, ist zunächst etwas verwunderlich, doch kein Einzelfall. Vollhardt *et al.*^[56] konnten zeigen, daß der Winkel und die Zahl der Arme von dendritischen Domänen in Abhängigkeit von der Wachstumsrate variiert und damit auch das zugrundeliegende Gitter.



Abb. 16: Modell der Korrelation von der Kristallstruktur mit der Domänenform von Monoschichten aus N-Hexadecanoyl-L-alaninmethylester, (a) Domänen-Typ a, (b) Domänen-Typ b und c. Die Positionen der Moleküle sind durch die schwarzen Kreise symbolisiert, die grauen dicken Linien repräsentieren die ausgezeichneten Wachstumsrichtungen. Die Pfeile deuten die mögliche Richtung der azimutalen Neigung an. In der linken bzw. rechten oberen Ecke ist die jeweilige Subzelle mit den Gittervektoren a und b eingezeichnet

B) Racemat

Die morphologischen Merkmale des racemischen Gemischs des Methylesters sind in Abb. 17 gezeigt. Mit Beginn des Hauptphasenübergangs tauchen im Sichtfeld des BAM kondensierte Strukturen von filigraner, dendritenförmiger Gestalt auf (Bild A). Sie unterscheiden sich jedoch von den "jungfräulichen" Domänen des enantiomerenreinen Films, neben der weitaus größeren Ausmaße, in mehrfacher Hinsicht: Sie sind geprägt von einem sehr langen (mehrere Millimeter), nahezu linearen Strang, der eine der beiden Hauptwachstumsrichtungen darstellt sowie annähernd senkrecht dazu verlaufenden, zahlreichen Verzweigungen, die von lokalen Defekten abgesehen, in etwa äquidistant und parallel zueinander ausgerichtet sind. Die Zweige links und rechts des Hauptstrangs setzen in einigen Fällen am selben Punkt an, in anderen Fällen ist ihre Lage versetzt zueinander. Das fortschreitende Wachstum dieser Domänen führt zu einer Zunahme der Länge des Hauptstrangs, zu einem Längenwachstum der Verzweigungen, wobei diese keine einheitliche Länge aufweisen müssen (Bild B) und zu einer steigenden Zahl von Verzweigungen (Bild C). Das Dickenwachstum der Stränge und Verzweigungen ist im Vergleich zum Längenwachstun von untergeordneter Bedeutung. In Bild C kommt zum Ausdruck, daß die Äste und Zweige der Domänen als Ganzes deformierbar aber nicht fragil sind; bei Zusammenstößen der Domänen zerbrechen sie nicht. Sie scheinen damit weit weniger spröde zu sein als die des enantiomerenreinen Films.

Die Vorgänge setzen sich mit zunehmender Kompression in der beschriebenen Weise fort (Bild D), bis schließlich am Ende der Plateauregion der Isotherme eine nahezu geschlossene Fläche vorliegt (Bild E).



Abb. 17: Π /*A*-Isotherme sowie zugehörige BAM-Bilder (A-E) von *N*-Hexadecanoyl-DL-alaninmethylester auf wäßriger Subphase (pH = 6, T = 298 K). Die Bilder wurden an den Punkten aufgenommen, die in der Isotherme mit den entsprechenden Buchstaben bezeichnet sind. Sie repräsentieren eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm.

Konklusion

Wie beim L-Enantiomer läßt sich auch hier ein der Domänenform zugrundeliegendes Gitter ableiten. Hier könnte eine rechteckige Subzelle die beobachteten Wachstumsfiguren erklären, bei der die ausgezeichneten Wachstumsrichtungen senkrecht aufeinander stehen (Abb. 18).



Abb. 18: Modell der Korrelation von der Kristallstruktur mit der Domänenform von Monoschichten aus *N*-Hexadecanoyl-DL-alaninmethylester. Die Positionen der Moleküle sind durch die schwarzen Kreise symbolisiert, die grauen dicken Linien repräsentieren die ausgezeichneten Wachstumsrichtungen. Die Pfeile deuten zwei mögliche Richtungen der azimutalen Neigung an. In der linken oberen Ecke ist die rechteckige Subzelle mit den Gittervektoren *a* und *b* eingezeichnet.

Bezüglich der für möglich gehaltenen chiralen Phasenseparation, die anhand des thermodynamischen und IRRA-spektroskopischen Verhaltens des enantiomerenreinen und racemischen Films nicht ausgeschlossen werden konnte, kann festgehalten werden, daß diese Hypothese fallengelassen werden muß. Die BAM-Studien ergaben keinen Hinweis darauf, daß beim Racemat eine Segregation stattfindet. Die höheren Wellenzahlen der v_{as}(CH₂)-Schwingung beim Racemat für Flächen 0,5 nm²/Molekül müssen schlicht so gedeutet werden, daß sich der Film in diesem Kompressionstadium in einer LE-Phase befindet während der enantiomerenreine bereits kondensierte Strukturen ausbildet (LC/LE-Koexistenz). Die Wellenzahlen des racemischen Films beginnen zu sinken sobald auch hier der Kondensationsvorgang einsetzt (s.a. Abb. 17). Da sich die Wellenzahlen des enantiomerenreinen und racemischen Films für Flächen < 0,4 nm²/Molekül nicht mehr voneinander unterschieden, muß davon ausgegangen werden, daß die beiden Filme – trotz ihrer verschiedenen Morphologien und Subzellenstrukturen – eine Packung vergleichbarer Dichte ausbilden, ein vergleichbares Niveau konformativer Ordnung der Alkylketten vorherrscht.

2.1.3. N-Octadecanoylvalin

Um den Einfluß zu studieren, den Alkylketten unterschiedlicher Länge und Kopfgruppen verschiedener Größe bzw. Polarität auf die Filmeigenschaften und insbesondere auf die chirale Kennung ausüben, wurden neben Filmen von *N*-Hexadecanoylalanin und seinem Methylester auch solche von *N*-Octadecanoylvalin mit Hilfe des Brewster-Winkel-Mikroskops untersucht.

In früheren Untersuchungen zum thermodynamischen und IRRA-spektroskopischen Verhalten (Diplomarbeit, FH)^[29] stellte sich heraus, daß die chiralen Diskriminierungseffekte bei diesem System weniger stark ausgeprägt sind als beim *N*-Hexadecanoylalanin. Auf

wäßriger Subphase zeigten die Π/A -Isothermen im Bereich kleiner Flächen eine leichte homochirale Diskriminierung an. Jedoch zeigte der Kurvenverlauf der Π/A -Isotherme des racemischen Films keinen Hauptphasenübergang an. Insofern ist es zweifelhaft, ob hier überhaupt eine chirale Phasenseparation stattfinden kann. Die IRRA-spektroskopischen Messungen ergaben eine schwache homochirale Diskriminierung im Flächenbereich kurz vor Erreichen des Kollapspunktes. Die Wellenzahlen der vas(CH2)-Schwingung lagen für Flächen > 0,4 nm²/Molekül für beide Filme zwischen 2923 und 2925 cm⁻¹, was dafür spricht, daß die Amphiphile in einem konformativ weitgehend ungeordneten Zustand vorliegen. Bei weiterer Kompression sinken die Wellenzahlen bis zum Kollapspunkt recht drastisch ab, wobei das Ausmaß der Absenkung für den enantiomerenreinen Film etwas deutlicher ausfällt. Die Tatsache, daß sich die Wellenzahlen der vas(CH2)-Schwingung der beiden Filme bis zum Kollapspunkt nicht wieder angleichen, spricht eigentlich gegen das Stattfinden einer chiralen Phasenseparation. Allerdings fanden Parazak und Mitarbeiter^[14] bei fluoreszenzmikroskopischen Studien Hinweise darauf, daß bei der racemischen Monoschicht doch eine chirale Phasenseparation stattfinden könnte, die sich im Auftauchen von (a) einzelnen, gebogenen Domänen, deren Krümmung gleichverteilt sowohl links- als auch rechtsgewunden war und (b) Domänen-Zwillingspärchen manifestierte, die aus zwei aneinander gehefteten, gebogenen Ärmchen bestanden, die einen spiegelbildlichen Drehsinn aufwiesen.

Zudem stellte sich im Rahmen der Ergebnisse der Diplomarbeit des Autors heraus, daß die Monoschichten von *N*-Octadecanoylvalin unempfindlicher auf Temperaturveränderungen reagieren. Ferner bewirkten die Zusätze von Metallionen zur Subphase eine Aufhebung jeglicher chiraler Diskriminierungserscheinungen. Sowohl die Π/A -Isothermen des enantiomerenreinen und racemischen Films zeigten einen identischen Verlauf (von vollständig expandierter Charakteristik) als auch die Datenpunkte der Wellenzahlen der $v_{as}(CH_2)$ -Schwingung in Abhängigkeit von der Fläche pro Molekül. Dies gilt gleichermaßen für die Studien, die auf calciumionen- und zinkionenhaltiger Subphase durchgeführt wurden.

2.1.3.1. Wäßrige Subphase

A) L-Enantiomer

In Abb. 19 sind die Π /A-Isotherme (T = 298 K) einer Monoschicht von *N*-Octadecanoyl-L-valin sowie eine Serie von BAM-Bildern gezeigt, die während der isothermen Kompression zu verschiedenen Zeitpunkten aufgenommen wurden.



Abb. 19: Π /A-Isotherme sowie zugehörige BAM-Bilder (A-C) von *N*-Octadecanoyl-L-valin auf wäßriger Subphase (pH = 2, T = 298 K). Die Bilder wurden an den Punkten aufgenommen, die in der Isotherme mit den entsprechenden Buchstaben bezeichnet sind. Bild A und B repräsentieren eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm, Bild C eine von 3,5 × 2,5 mm.

Bereits während des Durchlaufens der Phase, die anhand der П/A-Isotherme eigentlich als LE-Phase identifiziert wurde, waren im BAM ausgedehnte dendritische Strukturen zu erkennen, deren Gestalt und Textur an Vogelfedern erinnern (Bild A). Sie sind geprägt von einer außerordentlichen Regelmäßigkeit und sehr hohen Verzweigungsdichte, so daß sich bei geringen Vergrößerungen der Eindruck ergibt, es handelt sich um komplett geschlossene, kompakte Strukturen, ähnlich wie im Falle der "Eisschollen" des *N*-Hexadecanoyl-L-alanins. Die dendritische Struktur ist erst bei hinreichenden Vergrößerungen deutlich wahrzunehmen und insbesondere an den Rändern bzw. Ausläufern der Domänen. Auffällig in nahezu allen BAM-Aufnahmen ist die Existenz eines hervorgehobenen, deutlich dickeren Hauptstrangs, von dem die zahlreichen Nebenverzweigungen abgehen und der die Domänen zu einer der Seiten hin abgrenzt. In Bild C kommt gut zum Ausdruck, daß die einzelnen Domänen an den Rändern überlappen bzw. die Tendenz haben, sich partiell übereinander zu schieben.

Mit Beginn des Phasenübergangspunkts 1. Ordnung in der Isotherme (0,5 nm²/Molekül, 9 mN/m) ist der Kondensationsprozeß bereits im wesentlichen abgeschlossen. Die sich anschließende Plateauregion, in der der Oberflächendruck konstant bleibt, läßt sich daher nicht mit der klassischen Vorstellung vereinbaren, nach der in diesem Kompressionsbereich ein 2Phasenkoexistenzgebiet vorliegt. Das Plateau ergibt sich vielmehr dadurch, daß die einzelnen, (nahezu) komplett entwickelten Domänen zusammengeschoben werden, bis sie die (sich stetig reduzierende) zur Verfügung stehende Fläche vollkommen ausfüllen und beginnen, aneinanderzustoßen. Von diesem Punkt an steigt dann der Oberflächendruck steil an.

Bei näherer Betrachtung des Bildes A kann ohne Schwierigkeiten, in Analogie zu den bereits besprochenen dendritischen Domänenmorphologien, die vorherrschende geometrische Grundform der Domänen ausgemacht und die ihr zugrundeliegende Subzelle abgeleitet werden. Die vom Hauptstrang ausgehenden Nebenverzweigungen setzen in einem Winkel von ca. 125° an (Abb. 20a); von diesen gehen wiederum parallel zum Hauptstrang weitere zahlreiche Verzweigungen aus, so daß sich ein sehr enges, sich gegenseitig durchdringendes Geflecht ergibt. Die postulierte schiefwinklige Subzelle ist in Abb. 20b dargestellt.



Abb. 20: (a) Schematische geometrische Wiedergabe der Domänenform von Monoschichten von *N*-Octadecanoyl-L-valin bei T = 298 K (25 °C); (b) Modell der Korrelation von der Kristallstruktur mit der Domänenform Die Positionen der Moleküle sind durch die schwarzen Kreise symbolisiert, die grauen dicken Linien repräsentieren die ausgezeichneten Wachstumsrichtungen. Der Pfeil deutet die mögliche Richtung der azimutalen Neigung an. In der rechten unteren Ecke ist die Subzelle mit den Gittervektoren *a* und *b* eingezeichnet

Expansion und erneute Kompression – Reversibilität der Domänenbildung

Um der Frage nachzugehen, ob und in welchem Maße es sich bei der Bildung der hier beobachteten dendritischen Domänen um einen reversiblen Prozeß handelt, wurde der Film nach Erreichen des Kollapspunktes wieder expandiert und eventuelle Änderungen der Filmmorphologie mit dem BAM untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 21 gezeigt.

Der Oberflächendruck sinkt zu Beginn der Expansion stark ab und geht dann in ein Plateau über, dessen Niveau (8,8 mN/m) nur geringfügig unterhalb des Plateaus der Isotherme des ersten Kompressionszyklus liegt (9,4 mN/m); der nahezu bei allen Langmuir-Filmen vorhandene Hysteresis-Effekt ist damit vergleichsweise klein. In diesem Expansionsbereich erkennt man mit zunehmenden Flächenwert ein häufiger werdendes Auseinanderbrechen der Domänen in zahlreiche kleine Bruchstücke (Bild A). Und schließlich sind bei Durchlaufen des anschließenden Zweigs der Expansions-Isotherme mit exponentiell abnehmendem Oberflächendruck deutlich regelrechte Schmelz- bzw. Sublimationsvorgänge wahrzunehmen (Bild

Seite 41

B), bis bei Flächenwerten von 0,8 nm²/Molekül und einem Oberflächendruck von 0 mN/m die gesamte filmbelegte Fläche völlig frei von kondensierten Strukturen ist. Wird dieselbe Monoschicht anschließend erneut komprimiert, bilden sich bei nur wenig höheren Oberflächendrücken erneut Domänen des bereits beschriebenen Aussehens (Bild C).



Abb. 21: BAM-Aufnahmen von *N*-Octadecanoyl-L-valin auf wäßriger Subphase (pH = 2, T = 298 K), die beim Expansions- (Bild A und B) sowie erneuten Kompressionzyklus (Bild C) an ausgesuchten Punkten entlang der Π/A -Isotherme aufgenommen wurden. Die Bilder repräsentieren eine Fläche von B × H = 6 × 4 mm.

Konklusion

(a) Die Tatsache, daß sich bereits im Kompressionsbereich vor dem Plateau der Isotherme kondensierte Strukturen bilden, ist überraschend und sollte Konsequenzen für die künftige Interpretation und Bewertung der Ergebnisse der thermodynamischen Untersuchungen von Monoschichten haben. Sie macht deutlich, daß Charakterisierungen, die allein mit der Langmuir-Filmwaage erhalten werden, nur eine sehr begrenzte Aussagekraft besitzen. Zur korrekten Zuordnung von Isothermenabschnitten zu bestimmten Phasenzuständen ist die Zuhilfenahme von abbildenden Methoden zumindest sehr hilfreich, in einigen Fällen gar unabdingbar. (b) Wie die Enantiomere des *N*-Hexadecanoylalanins und seines Methylesters bilden Monoschichten von *N*-Octadecanoyl-L-valin kristallin-dendritische Domänen. Sie unterscheiden sich jedoch in dreierlei Hinsicht: Die Verzweigungsdichte ist wesentlich höher, dafür sind die einzelnen Dendriten merklich dünner, die Textur ist deutlich einheitlicher, d.h. neben dem einen begrenzenden Hauptstrang sind die Hauptwachstumsrichtungen des Gitters nicht im selben Maße prägend für die Gesamtgestalt, wachsen die zahlreichen Dendriten gewissermaßen gleichberechtigt und der die schiefwinklige Subzelle charakterisierende Winkel ist größer. (c) Es konnte gezeigt werden, daß die Entstehung der kristallin-dendritischen Domänen vollkommen reversibel ist. Dieses Merkmal unterscheidet sie von denen der anderen Monoschichten, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden und gleichfalls dendritische Strukturen ausbilden. Es ist ein Hinweis darauf, daß sich das Wachstum der Domänen weniger rasant und näher am thermodynamischen Gleichgewicht vollzieht. Dies könnte erklären, warum die Strukturen von dieser hohen Regelmäßigkeit und dem gleichberechtigten Wachstum entlang den beiden Gittervektoren a und b geprägt sind. (d) Das relativ hohe Niveau konformativer Unordnung, das bei großen Flächenwerten aus den IRRAspektroskopischen Daten abgeleitet wurde (Diplomarbeit, FH),^[29] kann künftig nicht mehr als Indiz dafür gewertet werden, daß keine kondensierten oder gar kristallinen Strukturen ausgebildet werden. Offenbar scheint für die Ausbildung regelmäßiger Packungen ein hohes Maß an Positionsfernordnung bezüglich der Kopfgruppen ausreichend zu sein. Oder umgekehrt ausgedrückt: Die recht voluminöse Valinkopfgruppe der Amphiphile führt auch in quasi-kristallinen Anordnungen nicht automatisch auch zu einer geordneten Alkylkettenpackung.

B) Racemat

Die Π /A-Isotherme des racemischen Films von *N*-Octadecanoylvalin sowie ein repräsentatives BAM-Bild, das während der Kompression kurz vor Erreichen des Kollapspunkts aufgenommen wurde, ist in der nachfolgenden Abb. 22 gezeigt. Bei größeren Flächenwerten konnte eine nur sehr schwach reflektierende, griesige Textur beobachtet werden, die Domänen waren zu klein, als daß sie das Mikroskop hätte auflösen können.

In Bild A sind neben vielen kleinen Domänen unspezifischer Gestalt einige etwas größere (~ 200 μ m) Domänen zu erkennen, die einen rundlichen Kopf aufweisen, die zu einer Seite hin sehr häufig einen länglichen, geraden und sehr selten einen gebogenen Schweif besitzen (im Bild mit einem weißen Pfeil markiert). Ob sich die Zahl der gekrümmten Domänen statistisch gleichmäßig auf solche mit links- und rechtsgewundenem Drehsinn verteilte, ließ sich leider nicht ermitteln, da ihre Zahl insgesamt zu klein war und sie selten die Ausmaße erreichten, die für eine zweifelsfreie Bestimmung der Krümmungsrichtung notwendig gewesen wäre.



Abb. 22: Π /A-Isotherme sowie zugehöriges BAM-Bild (A) von *N*-Octadecanoyl-DL-valin auf wäßriger Subphase (pH = 2, T = 298 K). Das Bild wurde an dem Punkt aufgenommen, der in der Isotherme mit dem entsprechenden Buchstaben bezeichnet ist. Es repräsentiert eine Fläche von B × H = 2,9 × 2 mm. Die Merkmale der mit dem Pfeil markierten Domäne sind im Text erläutert.

Konklusion

Kurz und knapp kann hier formuliert werden, daß das beschränkte Auflösungsvermögen des BAMs es nicht erlaubt, eindeutige Aussagen in bezug auf eine eventuelle chirale Phasenseparation zu treffen. Aufgrund des thermodynamischen Verhaltens (homochirale Diskriminierung) und der geringen Domänengröße, die auf eine nur schwache interamphiphile Wechselwirkung schließen läßt, wären die im Laufe dieses Kapitels entwickelten Bedingungen für einen solchen Prozeß zwar günstig, jedoch weitergehende Interpretationen recht spekulativ. Wie oben bereits erwähnt, erhärtet sich damit der Verdacht, daß die Wahrscheinlichkeit, eine chirale Phasenseparation beobachten zu können, ohne daß ein Hauptphasenübergang stattfindet, gering ist. Ebenso bestätigt sich die Gültigkeit der Konklusionen, die anhand der IRRA-spektroskopischen Messungen gezogen wurden: Die höheren Wellenzahlen der v_{as} (CH₂)-Schwingung des racemischen Films, d.h. eine Nicht-Wiederangleichung nach vollendeter Kompression an das Niveau des enantiomerenreinen Films, ist ein Indiz für das Ausbleiben einer chiralen Phasenseparation.

2.1.3.2. Calcium- und zinkionenhaltige Subphase

Sofern Untersuchungen, die ergebnislos verlaufen, nicht dialektisch eine Uminterpretation gemäß dem Motto "kein Ergebnis ist auch ein Ergebnis" erfahren, liegen zu diesem Abschnitt keine Ergebnisse vor. Die Π/A -Isothermen legen für 298 K (25 °C) lediglich das Vorhandensein einer ausgeprägten LE-Phase nahe, obwohl hier aufgrund der Erfahrungen, die auf wäßriger Subphase gemacht wurden, Zuordnungen vorsichtig vorzunehmen sind. Dennoch ist es nicht überraschend, daß erst in der Nähe des Kollapspunktes bei kleinen Flächen pro Molekül kleine kondensierte Strukturen unspezifischer Gestalt im BAM zu sehen waren, die darüber hinaus aufgrund ihrer hohen Reflektivität wahrscheinlich schon als 3-dimensionale Kristallite angenommen werden müssen.

2.2. Abschließende Betrachtungen

Trotz der großen Ähnlichkeit der untersuchten Substanzen offenbaren sich im BAM beträchtliche Differenzen ihrer morphologischen Merkmale. Ebenso zeigen sich in den meisten Fällen bemerkenswerte Unterschiede zwischen dem reinen Enantiomer und dem racemischen Gemisch derselben Verbindung. Ferner ergab sich, daß die Anwesenheit von Calcium- und Zinkionen in der Subphase nicht nur die thermodynamischen Eigenschaften des Gesamtkollektivs beeinflussen, sondern auch eine Änderung der Domänengestalt bewirken kann.

Aber: in keinem einzigen Fall konnten beim Racemat Anzeichen einer chiralen Phasenseparation beobachtet werden, selbst in den Fällen nicht, bei denen die im Vorfeld dieser Arbeit (Diplomarbeit, FH)^[29] und im Verlauf dieses Kapitels als günstig erkannten Bedingungen dafür gegeben waren (die Π/A -Isothermen des Enantiomers *und* des Racemats zeigen einen Phasenübergangspunkt 1. Ordnung, das Plateauniveau des Enantiomers liegt bei geringen Oberflächendrücken), und auch bei denjenigen nicht, bei denen der enantiomerenreine Film explizit chirale Domänengestalten ausbildet oder sich die Gestalt auf Grundlage eines schiefwinkligen Gitters ableiten läßt, das mit seinem Spiegelbild nicht zur Deckung zu bringen ist (z.B. *N*-Hexadecanoylalanin auf wäßriger Subphase bei 303 K und auf zinkionenhaltiger Subphase bei 298 K).

In Abschnitt 2.1.1.1. wurde eine Überlegung bezüglich des lateralen Diffusionsvermögens angestellt, das gegeben sein muß, damit im racemischen Gemisch die jeweils gleichartigen Enantiomere zueinander finden können, um schließlich separierte enantiomerenreine Domänen zu bilden. Ferner wurde eine Aussage über das Verhältnis der Stärke der interamphiphilen Wechselwirkung insgesamt zu der des chiralen Beitrags dazu getroffen: Gewöhnlich ist die Stärke der chiralen Wechselwirkung sehr gering, und damit sie einen nennenswerten Einfluß auf den Kondensationsvorgang ausüben kann, dürfen die anderen Anteile der Wechselwirkung diesen nicht zu stark dominieren. Hier sollen diese Gedanken noch einmal aufgegriffen werden, und zwar vor dem Hintergrund, welche Rolle eigentlich die Entropieänderung spielt, die mit einer Segregation einhergeht. Die Idee dabei ist, die Größe der Entropieminderung auf der Basis der statistischen Thermodynamik abzuschätzen und über diesen Wert und mit Hilfe der Gibbs-Helmholtz-Beziehung ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$) von der Quantität auf die qualitative Natur der in Frage kommenden Kräfte zu schließen, die eine Segregation bewirken könnten, um schließlich zu beurteilen, ob die eingangs aufgestellte Hypothese - Wasserstoffbrückenbindungen könnten ein wichtiger Faktor bei der chiralen Phasenseparation sein – überhaupt plausibel ist. Anders ausgedrückt: Es geht darum, die Frage zu beantworten, wie groß ΔH mindestens sein muß, um den Term $T\Delta S$ zu kompensieren, damit die Bedingung für einen freiwilligen Vorgang, $\Delta G < 0$, erfüllt ist.

Abschätzung der Entropieminderung

Die Zahl der gespreiteten Moleküle beträgt ca. $N_{Spreit} = 9 \times 10^{16}$. Legt man zunächst eine typische Domänengröße von 100 µm Ø zugrunde und berücksichtigt, daß der minimale Flächenbedarf eines einzelnen Moleküls 0,24 nm² beträgt, so ergibt sich, daß eine Domäne aus ungefähr $N_D = 3 \times 10^{10}$ Molekülen besteht und die Oberfläche mit insgesamt $Z_D = 3 \times 10^6$ Domänen bedeckt ist. Bei einer vollständigen Phasenseparation verteilen sie sich gleichermaßen auf je $1,5 \times 10^6$ "D-" und "L-Domänen".

Da hier nicht die Entropieänderung des Kondensationsvorgangs interessiert, sondern die Differenz der Entropieinhalte zweier kondensierter Ensembles, genügt es, einen Vergleich vorzunehmen zwischen der Entropie einer Domäne mit maximaler Unordnung (vollständig gemischt aus D- und L-Enantiomeren) und der eines vollständig phasenseparierten Ensembles derselben Molekülanzahl (s. Abb. 23); mit der Zahl der Domänen ergibt sich durch einfache Multiplikation die Gesamtentropieänderung.

(a)	DLDLDLDLDL	(b)	DDDDDDDDD
	LDLDLDLDLD		DDDDDDDDD
	DLDLDLDLDL		DDDDDDDDD
	LDLDLDLDLD		LLLLLLLL
	DLDLDLDLDL		LLLLLLLL
	LDLDLDLDLD		LLLLLLLL

Abb. 23: Schematische Wiedergabe des Modells einer vollständig gemischten, kondensierten Domäne aus D- und L-Enantiomeren (a) und eines vollständig phasenseparierten Ensembles derselben Molekülanzahl (b) als Grundlage für die Berechnung der Entropieminderung, die mit einer chiralen Phasenseparation einhergeht.

Die maximale Entropie eines Ensembles aus $N_D = 3 \times 10^{10}$ Molekülen beträgt, wenn man lediglich ihre (binären) Chiralitätseigenschaften betrachtet:

 $S_I = k \ln Q$; mit $Q = 2^{N_D}$ und k = Boltzmann-Konstante, Q = Zustandssumme;

 $S_I = 2,87 \times 10^{-13} \text{ JK}^{-1}$.

Die Entropie eines vollständig entmischten Ensembles ergibt sich zu:

 $S_2 = k \ln Q \quad ; \text{ mit } Q = 2^2 \quad ;$

 S_2 kann gegenüber S_1 vernachlässigt werden; daraus folgt für die Differenz:

$$\Delta S = -S_1$$

Bei $Z_D = 3 \times 10^6$ Domänen ergibt sich insgesamt eine Entropieänderung von:

 $\Delta S_{ges} = -8,61 \times 10^{-7} \text{ JK}^{-1}$

mit T = 298 K = const. ergibt sich:

 $T\Delta S_{ges} = -2,56 \times 10^{-4} \text{ J}$

bezieht man sich auf ein Mol, ergibt sich ein Wert von:

 $T\Delta S_{ges} = -1,71 \text{ kJ/mol.}$

Man beachte, daß dieser Wert größer sein kann, wenn die Domänengröße und damit die Zahl der Moleküle pro Domäne steigt und kleiner sein kann, wenn man nicht von einer maximalen Unordnung beim Mischaggregat ausgeht, sondern statt dessen von einigen zufällig entstandenen lokalen Clustern, in denen die Enantiomeren von derselben Sorte sind.

Damit sich also eine chirale Phasenseparation freiwillig vollziehen kann, muß dieser entropiebedingte Beitrag zur freien Enthalpie durch einen anderen Enthalpiebeitrag derselben Größe aber umgekehrten Vorzeichens kompensiert werden. Die Ausbildung von Amid-Amid-Wasserstoffbrücken führt zu einem Enthalpiegewinn von ca. 5 - 22 kJ/mol. Dieser Wert gilt für 3-dimensionale Kristalle und kann in zwei Dimensionen etwas vermindert sein; ebenso ist zu berücksichtigen, daß auch hier wieder 2 Fälle miteinander verglichen werden müssen bzw. sich die interesssierende Größe aus der Differenz zweier möglicher H-Brückennetzwerke ergibt; auf der einen Seite das Netzwerk, das im Fall des racemischen Gemischs ausgebildet werden kann, auf der anderen Seite das Netz in enantiomerenreinen Ansammlungen. Dennoch kann abgeschätzt werden, da es sich bei beiden Energietermen um dieselbe Größenordnung handelt, daß Wasserstoffbrücken als Kompensationsfaktor durchaus in Frage kommen könnten. Abschließend beantworten läßt sich diese Frage hier jedoch nicht: Unter Berücksichtigung des oben Gesagten, daß die Gesamtstärke der interamphiphilen Wechselwirkungen vergleichsweise gering sein muß, könnte der Gesamtbeitrag durch die H-Brücken sogar auch etwas zu groß sein.

Π/A-Isothermen, chirale Diskriminierung und chirale Phasenseparation

Üblicherweise gilt eine homochirale Diskriminierung als gegeben, wenn die Π/A -Isotherme und insbesondere die Plateauregion des enantiomerenreinen Films bei geringeren Oberflächendrücken verläuft, als der racemische Film. Daraus wird häufig gefolgert, daß das Racemat die Tendenz aufweisen sollte, sich in enantiomerenreine Phasen zu separieren.

Unbestritten ist die Tatsache, daß inzwischen viele enantiomerenreine Langmuir-Filme mit abbildenden Methoden untersucht wurden, bei denen sich die molekulare Chiralität in der Gestalt der Domänen widerspiegelt, d.h. beim Einsatz des einen *oder* anderen Enantiomers entsprechend chirale Domänenformen beobachtet werden konnten. Die zweifelsfrei bewiesenen Fälle, in denen aber tatsächlich beim Einsatz des Racemats eine chirale Phasenseparation stattfindet, sind demgegenüber äußerst rar; auch das am häufigsten (irrtümlich) zitierte Beispiel – Dipalmitoylphosphatidylcholin – gehört *nicht* dazu, die Domänen des racemischen

Films sind achiral.^[57] Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage: Ist die im vorigen Absatz erwähnte Folgerung auf Basis des Verlaufs der П/A-Isothermen stichhaltig und kann beim Racemat ein Segregationsprozeß erwartet werden? Der Autor behauptet, daß das nicht unbedingt der Fall ist und argumentiert wie folgt: Angenommen der enantiomerenreine Film bildet Domänen chiraler Gestalt, und die zugehörige Π/A -Isotherme läuft unterhalb der des Racemats. Unterstellt man nun, daß beim racemischen Film eine chirale Phasenseparation stattfindet, so muß ebenfalls angenommen werden, daß die einzelnen enantiomerenreinen Domänen, die entweder nur aus D- oder nur aus L-Enantiomeren bestehen, grundsätzlich dieselbe (wenn auch spiegelbildlich zueinander) Gestalt annehmen sollten, wie die Domänen, die sich bei Einsatz des einen oder anderen Enantiomers bilden, und daß die Domänen ungefähr in derselben Anzahl und bei vergleichbaren Flächenwerten entstehen. Unter dieser Voraussetzung sollte der racemische Film dann aber auch dieselben thermodynamischen Eigenschaften aufweisen wie der enantiomerenreine, und somit wären die Π /A-Isothermen gerade nicht mehr voneinander zu unterscheiden! Anders ausgedrückt: Die П/A-Isothermen des racemischen und enantiomerenreinen Films sollten unterschiedlich verlaufen a) für den Fall, daß keine Phasenseparation stattfindet, das Racemat als solches bestehen bleibt und es sich thermodynamisch vom Enantiomer unterscheidet, und b) im Fall einer chiralen Phasenseparation, aber nur bis zum Endpunkt des Kondensationsvorgangs. Nach erfolgter Kondensation und Segregation in enantiomerenreine Domänen sollten sich die Π/A -Isothermen im weiteren Verlauf der Kompression (bis zum Kollapspunkt) nicht mehr voneinander unterscheiden lassen. Das bedeutet, daß Π/A-Isothermen, bei denen der Verlauf des enantiomerenreinen Films (über weite Teile des Kompressionsbereiches, insbesondere im Plateaubereich nach erfolgter Kondensation, die den hier gemachten Erfahrungen zufolge unter Umständen relativ frühzeitig erfolgt) unterhalb der des Racemats liegt, gegen das Zustandekommen einer chiralen Phasenseparation sprechen, eine angenommene Identität ab dem Punkt des nahezu vollständig abgeschlossenen Kondensationsvorgangs - zusammen mit chiralen Domänenformen, die im FM oder BAM beobachtet werden - ist potentiell ein Hinweis für einen derartigen Prozeß.

3. Bolaamphiphile

Amphiphile, die über die polare Kopfgruppe hinaus eine zweite polare Gruppe innerhalb des unpolaren Teils des Moleküls aufweisen, werden als bipolare oder auch Bola-Amphiphile bezeichnet.² Bei Bolaamphiphilen im engeren Sinne befinden sich die beiden polaren Gruppen an den entgegengesetzten Enden der hydrophoben Kette(n) (2 Kopfgruppen), im weiteren Sinne spricht man jedoch auch von Bolaamphiphilen, wenn nur eine Kopfgruppe vorhanden ist und die zweite polare Gruppe an einer beliebigen Position entlang der Kette sitzt.

Vorkommen in Archaebakterien

Bolaamphiphile mit 2 Kopfgruppen weisen eine strukturelle Ahnlichkeit zum inneren Aufbau von Lipiddoppelschichten auf. Und tatsächlich finden sich Bolaamphiphile auch in der belebten Natur als Strukturelemente der Zellmembran einer ganz bestimmten Klasse von Organismen – den Archaebakterien, die gleichberechtigt neben Eukaryonten und Bakterien ein dritte Klasse von Lebewesen bilden.³ Sie sind in der Lage außergewöhnliche ökologische Nischen zu besiedeln und gedeihen unter extremen Lebensbedingungen, weshalb sie zu den *extremophilen* Mikroorganismen gezählt werden.^[59] Die drei verbreitetsten Arten sind a) die Thermophile, die im Extremfall Temperaturen bis zu 113 °C vertragen und beispielsweise in heißen Quellen auf Island oder im Yellowstone Nationalpark vorkommen, b) die Halophile, die eine minimale Salzkonzentration von 0,2 M zum Wachstum benötigen, aber auch in gesättigten Salzlösungen gedeihen können und c) die Methanogene, die unter strikt anaeroben Bedingungen leben.

Die besonderen Lebensbedingungen der Archaebakterien spiegeln sich auch in der chemischen Struktur ihrer Membranlipide wider, die in erheblichem Maße von denen anderer Lebewesen abweicht. Es handelt sich in der Regel um *Tetraetherglycerole*, deren membranspannende Alkylketten aus einem isoprenoid verzweigten und 1,3-verknüpften Cyclopentaneinheiten enthaltenden (null bis acht Ringe pro Molekül) Gerüst aufgebaut und über die *sn*-2,3-Positionen mit dem Glycerol verbunden sind. Es kommen sowohl acyclische als auch makrocyclische Lipidspezies vor (s. Abb. 24).^[60] Die *sn*-1-Position des Glycerols kann dabei

² Der Begriff *Bola* (span.: Kugel) stammt aus dem südamerikanischen Raum und bezeichnet dort ein Gerät, das auch heute noch von den Pampas-Indianern und ihren Nachbarn im Andengebiet als Waffe bei der Jagd eingesetzt wird. Es handelt sich um eine Anordnung von Schleudersteinen, die über ein Seil miteinander verbunden sind und als eine Art "tödliches" Lasso verwendet werden. Die Namensgebung der Bolaamphiphile ergibt sich aufgrund der Ähnlichkeit zu der äußeren schematischen Gestalt speziell der zweikugeligen Ausführung der Bolas [58] (s.a. http://www.flight-toys.com/bolas.htm).

³ Die Archaebakterien wurden früher zu den Prokaryonten gezählt, die wie sie keinen Zellkern enthalten; aber ihre DNA enthält auch Gene, die nur bei Eukaryonten vorkommen. Es wird angenommen, daß sich die Archaebakterien zu einem sehr frühen Zeitpunkt der Entwicklungsgeschichte des Lebens von den Prokaryonten abgetrennt haben und daß sich diese Linie etwas später in Archaebakterien und Eukaryonten aufgespaltet hat.

sowohl durch identische als auch verschiedene polare Kopfgruppen substituiert sein, darunter auch der ungewöhnliche Nonitolrest.^[61]



Abb. 24: Typische (a) makrocyclische und (b) acyclische Membranlipidstrukturen thermophiler Archaebakterien. Neben der symmetrischen Substitution der Reste durch Wasserstoff, findet man für R auch Phosphatidylinositolgruppen und für R' Nonitolreste, die ihrerseits zusätzlich mit Gluco- oder Galactopyranosidresten substituiert sein können.

Die Thermostabilität und die häufig gleichzeitig beobachtete Beständigkeit gegenüber Säuren – die Archaebakterien-Spezies *Sulfolubus acidocaldarius* beispielsweise gedeiht in einem bis zu 100 °C heißen und pH-Wert von 1 aufweisenden Milieu, weshalb sie zu der Untergruppe der *thermoacidophilen* Archaeen gehört – kann auf das Vorhandensein der im Vergleich zur Esterbindung chemisch viel beständigeren Etherbindung gegenüber Hydrolyse und auf die membrandurchspannenden Ketten, insbesondere wenn sie in relativ rigiden makrocyclischen Strukturen eingebunden sind, zurückgeführt werden.

Ganz generell ergibt sich ein interessantes Wechselspiel von Fluiditäts- und Stabilitätskriterien der Membranlipide in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur verschiedener Archaebakterien-Arten. Sie passen sie sich ihrer Umgebung an, indem sie die Lipidzusammensetzung ihrer Membranen so verändern, daß stets ein flüssig-kristalliner Phasenzustand erhalten bleibt und damit die Aufrechterhaltung der Membranintegrität als solcher einerseits und die Regelung der Membranpermeabilität und damit der notwendige Austausch mit der Umgebung andererseits gewährleistet bleibt. Analysen der Lipidkompositionen verschiedener Archae-Spezies, die bei unterschiedlich hohen Temperaturen kultiviert wurden, ergaben, daß mit steigender Temperatur die Kettenlänge zunimmt, das Verhältnis von *iso*- gegenüber *anteiso*- Verzweigungen innerhalb der Alkylketten und zugleich ihr Sättigungsgrad steigt, der Anteil makrocyclischer Lipide auf Kosten der acyclischen wächst und schließlich sowohl der Anteil cyclopentanhaltiger Lipide als auch die Anzahl der Cyclopentaneinheiten pro Kette steigt.^[62] Ferner wird vermutet, daß durch eine asymmetrische Substitution der polaren Kopfgruppen mit sterisch unterschiedlich anspruchsvollen Resten eine Membrankrümmung induziert wird, über die eine zusätzliche Formstabilisierung der äußeren Gestalt der Membranen der Archaebakterien erreicht werden kann.^[63] Eine generelle Übersicht über die Zusammensetzung der Membranlipide von Archaebakterien in Abhängigkeit von ihren Lebensbedingungen und über den Zusammenhang zwischen ihrer Struktur und Funktion geben van de Vossenberg *et al.* in [64].

Technische Anwendungen

Aus der besonderen chemischen Struktur leiten sich auch spezielle physikochemische Eigenschaften ab, die in den letzten Jahren zu einem starken Anwachsen des Interesses an pharmazeutischen, industriellen und biotechnologischen Anwendungen dieser Verbindungen geführt hat. Hier sind insbesondere die Verkapselung von Wirkstoffen in Vesikeln zum zielgerichteten Transport im Körper (*drug targeting*),^[65,66] die Entwicklung neuartiger Membranen und Molekularsiebe für spezielle Trennoperationen^[67] und der Einsatz auf dem Sektor der Membran-Biosensoren^[68] zu nennen.

3.1. Bolaamphiphile an der Luft/Wasser-Grenzfläche

Über das Aggregations- und Phasenverhalten einer Reihe ganz unterschiedlicher Typen von Bolaamphiphilen wurde in der jüngeren Vergangenheit recht intensiv geforscht (siehe z.B. [69,70]), darunter auch Archaebakterienmembranlipid-Mimetika.^[71] Ein Ziel dieser Forschung besteht u.a. in der Aufklärung der Prinzipien der Selbstorganisation der Materie, und darin, Antworten auf die Frage zu finden, ob es möglich ist, neue Substanzen zu entwickeln, die natürlichen supramolekularen Systemen ähneln, deren Funktion durch ihre dreidimensionale Selbstaggregation bestimmt wird. So haben z.B. Escamilla und Newkome^[72] die Synthese einiger Verbindungen beschrieben, die automorphogene Superstrukturen mit helicaler oder bandartiger Morphologie, bekannt als Arborole oder Dendrimere, bilden. Den Einfluß der Anwesenheit und Anzahl von Wasserstoffbrückenbindungen in supramolekularen Ensembles unsymmetrischer Bolaamphiphile auf Urocansäure-Basis studierten Sirieix *et al.*, denen es gelang, die Morphologie der Aggregate gezielt über diesen Parameter zu steuern.^[73]

Ebenso sind auf dem Gebiet der Flüssigkristalle Bolaamphiphile zum Einsatz gekommen und charakterisiert worden.^[74,75] Demgegenüber ist über das Verhalten von Monoschichtsystemen bipolarer Amphiphile relativ wenig bekannt. Zwar wurden einige Oberflächendruck- und Oberflächenpotential-Messungen sowie fluoreszenzmikroskopische und Röntgenbeugungs-Studien veröffentlicht,^[76-79] doch muß dieses bisher angewendete methodische Spektrum zur Charakterisierung solcher Systeme als recht begrenzt eingestuft werden. Nur wenige der bislang publizierten Arbeiten diskutieren strukturelle und molekulare Aspekte solcher Systeme.^[80,81] Im Rahmen einer Kooperation mit der Münsteraner Gruppe um Prof. Schäfer wurden Langmuir-Filme einer Reihe von Regioisomeren chiraler, bipolarer, vicinaler Methyldihydroxyoctadecanoate untersucht (s. Abb. 25), die in racemischer und enantiomerenangereicherter bzw. enantiomerenreiner Form verfügbar waren. Im Vordergrund der Untersuchungen standen dabei Fragestellungen, die man in zwei Klassen einteilen kann.



Abb. 25: Strukturformeln von (a) Methyl-2,3-, (b) Methyl-9,10- und (c) Methyl-17,18-dihydroxy-octadecanoat. Die stereogenen Zentren sind durch Sternchen markiert.

Zum einen in bezug auf die Chiralität:

- treten auch bei dieser Klasse von Amphiphilen chirale Diskriminierungseffekte auf?
- wie reagiert das System auf Temperaturänderungen?
- welche Rolle spielen mögliche Wasserstoffbrückenbindungen?
- wie wirkt sich die Positionsänderung der zweiten polaren Gruppe entlang der unpolaren Alkylkette auf chirale Kennungseffekte aus? Oder anders ausgedrückt: hat der Abstand des stereogenen Zentrums von der Kopfgruppe einen Einfluß auf die chirale Diskriminierung?
- ist für das Auftreten chiraler Kennung die Verankerung des stereogenen Zentrums in der Kopfgruppe eine notwendige Voraussetzung?

Die andere Klasse richtet ihren Blick auf die strukturellen Konsequenzen, die mit der Einführung eines zweiten polaren Restes im Amphiphil verbunden sind:

- taucht nur eine der polaren Gruppen in die wäßrige Subphase ein oder sind es beide?
- wenn es nur eine ist: welche bevorzugt die wäßrige Phase und was sind die Gründe dafür?
- treten während der Kompression der Monoschicht molekulare Umorientierungen auf, hebt sich eine der beiden polaren Gruppen aus dem Wasser heraus für den Fall, daß zunächst beide in die Subphase eintauchen?
- wie sind die einzelnen Molekülteile in Abhängigkeit von der den Amphiphilen zur Verfügung stehenden Fläche in bezug zueinander und auf die Oberflächennormale orientiert, welche Aussagen lassen sich über das *trans/gauche*-Verhältnis der Methylensegmente der hydrophoben Alkylketten treffen?
- welchen Effekt hat die gegenüber einer Methylengruppe größere Raumbeanspruchung eines vicinalen Dihydroxyalkylrestes auf die Packungsanordnung der Alkylketten?

Die Mehrzahl dieser Fragen lassen sich ohne die Einbeziehung IR-spektroskopischer Messungen nicht beantworten, womit sie sowohl eine Notwendigkeit als auch ein Novum darstellen. Überhaupt sind bisherige Studien in bezug auf chirale Diskriminierungseffekte in Monoschichten von bipolaren Amphiphilen äußerst rar.^[82,83] Arbeitsteilig wurden in Münster die Messungen mit der Langmuir-Filmwaage und die Untersuchungen mit dem Brewster-Winkel- und Rasterkraft-Mikroskop durchgeführt, während in Hamburg die IRRAS-Messungen erfolgten.

Neben der *per se* gegebenen Herausforderung, neue Einsichten über das Verhalten von Langmuir-Filmen dieser Art zu gewinnen, macht ein weiterer Umstand die Einbeziehung von Untersuchungen an dieser Substanzklasse für das Gesamtvorhaben der Promotion attraktiv: das Studium der chiralen Kennung in 2-dimensionalen Systemen bleibt nicht auf eine Amphiphilklasse beschränkt und eröffnet damit zumindest die Chance, ein tieferes und gewissermaßen verallgemeinertes Verständnis dieses Phänomens zu erarbeiten; der Bezug zu den Fragestellungen, die im Kapitel 2 dargelegt worden sind (z.B. die Rolle der H-Brücken), ist unmittelbar gegeben.

3.2. Ergebnisse und Diskussion

3.2.1. Methyl-17,18-dihydroxyoctadecanoat (M-17,18-DHO)

Π/A-Isothermen

In Abb. 26 sind die Π/A -Isothermen eines racemischen und eines M-17*R*,18-DHO-Films in enantiomerenangereicherter⁴ Form dargestellt (im folgenden auch kurz als "*rac*-" und "*ent*-Film" bezeichnet).

⁴ Bedauerlicherweise betrug der Enantiomerenüberschuß (*enantiomeric excess*, ee) synthesebedingt nur 84 %, weshalb es möglich ist, daß alle Schlußfolgerungen in bezug auf



Abb. 26: Π /*A*-Isothermen von M-*rac*-17,18-DHO und M-17*R*,18-DHO-Filmen, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C)

Sie zeigen einen absolut identischen Verlauf, so daß auf dieser thermodynamischen Ebene Anzeichen chiraler Diskriminierung gänzlich fehlen. Ab einem relativ großen Flächenwert von 1,4 nm²/Molekül wird ein Anstieg des Oberflächendrucks registriert. Ab 1,0 nm²/Molekül und einem Oberflächendruck von 4 mN/m vollzieht sich ein Phasenübergang 1. Ordnung (LE \rightarrow LE/LC), der zu einem sehr ausgedehnten Plateau führt, bevor dann bei ~ 0,2 nm²/Molekül ein fast senkrecht verlaufender Oberflächendruckanstieg die Vollendung des Kondensationsvorgangs indiziert. Bei 45 mN/m und 0,195 nm²/Molekül ist schließlich der Kollapspunkt erreicht. Dieser Flächenwert ist nur wenig größer als die Querschnittsfläche einer Alkylkette in all-*trans*-Konformation (0,184 nm²/Molekül).

BAM-Aufnahmen,^[84] die von Filmen von M-17,18-DHO gemacht wurden, bestätigten den Hauptphasenübergang durch das Erscheinen kondensierter Domänen (~ 10-50 µm große, sternenförmige Domänen im Falle des Racemats, ~ 200 µm große, dendritische Domänen beim Enantiomer) für Flächen < 1,0 nm²/Molekül (s. Abb. 27).

chirale Diskriminierungseffekte eventuell nicht in demselben Maße gültig sind, als käme die praktisch enantiomerenreine Form zum Einsatz.



Abb. 27: BAM-Aufnahmen der Monoschichten von (a) M-17*R*,18-DHO und (b) M-*rac*-17,18-DHO während des Hauptphasenübergangs, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

IRRAS-Messungen

Im folgenden sollte nun durch die Aufnahme von IRRA-Spektren evaluiert werden, welche Aussagen hinsichtlich der Änderung der konformativen Ordnung der Alkylketten im Verlauf der Kompression der Filme sowie der Struktur bzw. Konfiguration der Kopfgruppe(n) und der Orientierung der Moleküle in bezug auf die Oberflächennormalen getroffen werden können, und ob sich auf der molekularen Ebene, abweichend von den Π/A -Isothermen, chirale Diskriminierungseffekte feststellen lassen.

In Abb. 28 sind typische *RA*-Spektren der entsprechenden Filme gezeigt, die in einem komprimierten Zustand bei 0,251 nm²/Molekül aufgenommen wurden, ein Status, in dem die Banden gut entwickelt sind und die Zuordnung zu Schwingungsmoden leichtfällt.



Abb. 28: IRRA-Spektren eines (a) M-*rac*-17,18-DHO- und (b) M-17*R*,18-DHO-Films im Bereich 3000 - 2700 und 2000 - 1200 cm⁻¹, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C) und A = 0,251 nm²/Molekül.

Die Banden bei 2916 und 2850 Wellenzahlen können der antisymmetrischen $v_{as}(CH_2)$ bzw. symmetrischen $v_s(CH_2)$ -Methylenvalenzschwingung zugeordnet werden. Eine relativ intensive und scharfe, nicht-gesplittete Bande bei 1740 cm⁻¹ wird durch die v(C=O)-Carbonylstreckschwingung der Estergruppierung und die Bande bei 1468 cm⁻¹ von der $\delta_{ip}(CH_2)$ -Methylenscherenschwingung verursacht. Dagegen ist die Herkunft der schwachen Bande bei 1668 Wellenzahlen, die beim enantiomerenangereicherten Film ausgeprägter ist, unklar.

Die beiden Spektren ähneln sich sehr stark, mit Ausnahme der etwas intensiveren Banden beim 17*R*-Isomer, und auf den ersten Blick scheint es, als zeigten die beiden Filme keine unterschiedlichen strukturellen Merkmale. Dies ändert sich jedoch, wenn man sich nicht auf einen diskreten Kompressionszustand beschränkt und statt dessen die Aufmerksamkeit auf die dynamischen Änderungen lenkt, die im Verlauf des gesamten Kompressionsbereiches auftreten – und dies gleich in mehrfacher Hinsicht.

Konformative Ordnung und chirale Diskriminierung

Zum einen in bezug auf den Grad der konformativen Ordnung der Alkylketten, deren Änderung der Abb. 29 entnommen werden kann, in der die Wellenzahl der $v_{as}(CH_2)$ -Schwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für beide Filme aufgetragen ist.



Abb. 29: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für Filme von M-17,18-DHO auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C). Bei den durch die Datenpunkte (Mittelwerte aus 4 Messungen) verlaufenden gestrichelten Linien handelt es sich um gefittete Boltzmann-Funktionen.

Bei Flächenwerten von 0,8 nm²/Molekül zeigen die Wellenzahlen von ~ 2927 cm⁻¹ an, daß sich die Alkylketten in einem konformativ hochgradig ungeordneten Zustand befinden. Im weiteren Verlauf der Kompression beobachtet man für den *rac*-Film eine im wesentlichen kontinuierliche Abnahme der Wellenzahl, während sie für den *ent*-Film zunächst konstant auf diesem sehr hohen Niveau verbleibt, um dann bei ~ 0,6 nm²/Molekül abrupt abzufallen bis bei 0,4 nm²/Molekül ein sehr niedriger Wert von 2917 cm⁻¹ erreicht wird, der dann bis zum Kollapspunkt nahezu konstant bleibt. Im Gegensatz zu diesem sprunghaften Absinken innerhalb eines Kompressionsintervalls von nur 0,2 nm²/Molekül, nehmen die Werte für den racemischen Film über den gesamten Kompressionsbereich in kontinuierlicher Weise ab.

Die Lage und Entwicklung der Datenpunkte legen für große Flächen/Molekül das Vorliegen einer heterochiralen Diskriminierung nahe, während für Flächen < 0,5 nm²/Molekül, der Punkt an dem sich die beiden Meßpunktreihen "kreuzen", homochirales Verhalten vorherrscht, d.h. daß innerhalb der isothermen Kompression ein Wechsel von heterochiraler zu homochiraler Diskriminierung stattfindet. Mit dem Terminus der chiralen Diskriminierung soll zunächst nicht mehr gesagt sein, als daß der racemische und enantiomerenangereicherte Film in bezug auf den jeweils untersuchten Parameter ein unterschiedliches Verhalten zeigen. Zur Beantwortung der Frage, ob es darüber hinaus zu einer chiralen Erkennung kommt, die sich im racemischen Film dahingehend auswirken kann, daß eine chirale Phasenseparation stattfindet, d.h. es zur Bildung enantiomerenreiner Domänen kommt, bedarf es weiterer Überlegungen. Mit der Beobachtung der Position der vas(CH₂)-Bande können vorerst nur Aussagen über das Verhältnis der trans/gauche-Konformationen der Alkylkette gemacht werden. Die in Abb. 29 präsentierten Daten sprechen nun dafür, daß die kontinuierlich verlaufende Umwandlung von gauche- in trans-Konformationen beim Racemat die Widerspiegelung eines eher passiven Prozesses sein könnte, der das Resultat der Erhöhung des äußeren lateralen Drucks ist, während die diskontinuierliche Umwandlung beim 17*R*-Isomer, im Sinne eines spontanen Selbstassoziationsprozesses, der bei einem bestimmten Grad der Kompression stattfindet, gedeutet werden könnte.

Orientierung der polaren Gruppen und E/Z-Isomerie der Estergruppierung

Diese Interpretation leitet direkt zur nächsten Fragestellung über, zu der Frage, welche polaren Gruppen in die wäßrige Phase tauchen und ob es während der Kompression zu Umorientierungen kommt. Hier wird von folgenden Annahmen ausgegangen: (i) bei großen Flächen pro Molekül (> 1,0 nm²/Molekül) tauchen beide polare Gruppen in die Subphase, (ii) während der Kompression löst sich eine der polaren Einheiten, nämlich die vicinalen Hydroxylgruppen, von der Subphase ab; dieser Vorgang, der im folgenden als "Flip-Prozeß" bezeichnet wird, vollzieht sich beim Racemat "schleppend", beim Enantiomer innerhalb eines schmalen Kompressionsintervalls, (iii) die aufgerichteten Moleküle bilden innerhalb der den Phasenübergang 1. Ordnung repräsentierenden Plateauregion der Isotherme kondensierte Domänen.

Die Frage, warum sich der endotherme Desolvatationsvorgang der Hydroxylgruppen nicht in den Isothermen widerspiegelt, kann bisher nicht vollständig beantwortet werden. Eine Erklärungsmöglichkeit bestünde darin, daß es sich nicht um einen Phasenübergang 1. Ordnung handelt. Ferner wäre denkbar, daß der Verlust der Hydratationsenergie durch die Ausbildung intermolekularer H-Brücken zwischen den OH-Gruppen, wie in Abb. 30 angedeutet, zumindest teilkompensiert wird.



Abb. 30: Mögliche intermolekulare H-Brücken-Konfiguration innerhalb einer Domäne von aufgerichteten M-17,18-DHO-Amphiphilen.

Die gemachten Annahmen können durch theoretische Überlegungen und die vorliegenden experimentellen Befunde untermauert werden:

(a) Die hohen v_{as} (CH₂)-Wellenzahlen zu Beginn der Kompression zeigen das Vorliegen eines sehr niedrigen *trans/gauche*-Verhältnisses an. Das ist nur schwer mit der Hypothese zu vereinbaren, daß bereits in diesem Kompressionsstadium aufgerichtete Moleküle vorliegen, sehr wohl aber mit der Vorstellung von kontinuierlich "verdrillten" Methylensegmenten, die insgesamt zu einer gebogenen Struktur des Moleküls führt und so die Anordnung ermöglicht wird, in der die beiden Kettenenden ins Wasser tauchen.

(b) Der kleine Flächenwert, bei dem der Kollaps stattfindet, schließt eine zu diesem Zeitpunkt vorliegende Struktur aus, bei der beide polaren Gruppen in die Subphase eintauchen. Der Platzbedarf einer solchen "Doppel-Kopfgruppe" in Verbindung mit einer gebogenen Alkylkette wäre viel zu groß. Eine solche Anordnung würde ferner durch die Ausbildung intramolekularer H-Brücken zwischen der Diolgruppierung und der Carbonylgruppe der Esterfunktion eine Aufsplittung der Bande der Carbonyl-Streckschwingung bewirken. Außerdem wäre das Signal einer protonierten C=O-Gruppe um etwa 20-40 Wellenzahlen zu niedrigeren Werten verschoben. Wie aus Abb. 28 hervorgeht, wird statt dessen eine scharfe, nicht-gesplittete C=O-Bande bei ~1740 cm⁻¹ beobachtet, was der Lage der Bande einer v(C=O)-Streckschwingung einer nicht-protonierten Carbonylgruppe eines Esters entspricht.

(c) Ein weiteres Indiz für die vorgeschlagene Orientierung ergibt sich aus den sehr kleinen Wellenzahlen der v_{as} (CH₂)-Schwingung, die bei kleinen Flächenwerten gemessen wurden. Bei einer umgekehrten Orientierung käme es aufgrund des größeren Raumbedarfs der Estergruppierung gegenüber der vicinalen Diolgruppe zu einer stärkeren Störung der dichten Packung, also zu einer Zunahme an *gauche*-Konformationen entlang der Alkylketten. Damit wäre die Störung an dem Ort lokalisiert, an dem ohnehin die Mehrzahl eventueller *gauche*-Defekte auftreten, nämlich an dem der Wasserphase abgewandten Ende von Amphiphilketten.^[85] Die Folge wäre also, daß wesentlich höhere Wellenzahlen auftreten müßten. (d) Anknüpfend an (c) kann weiterhin die Konformation der Estergruppierung betrachtet werden, die prinzipiell in der *E*- oder *Z*-Konformation vorliegen kann. In der Gasphase liegt sie bevorzugt in der *Z*-Form vor, die *E*-Form ist demgegenüber energetisch benachteiligt. Begründet wird dies - in Analogie zum anomeren Effekt (z.B. bei Zuckern) - damit, daß bei der *Z*-Form eine Teilkompensation des Dipolmoments, der Polarisierung der Carbonylgruppe erreicht wird, während die *E*-Form zu einer gleichgerichteten Additivität der beiden Dipolmomente führt (s. Abb. 31). In der wäßrigen Phase drehen sich nun zunächst die energetischen Verhältnisse um, weil die *E*-Form besser hydratisiert werden kann und damit Solvatationsenergie gewonnen wird. Im Verlauf der isothermen Kompression eines Ester-Amphiphils, wenn sich die Kopfgruppen sehr nahe kommen, findet ein Konformationswechsel statt, die *E*-geht in die *Z*-Form über.^[86]



Abb. 31: Dipolmomente in der Z- bzw. E-Form von Methylester-Amphiphilen und die Darstellung des Übergangs der Konformationen während der Kompression einer entsprechenden Monoschicht an der Luft/Wasser-Grenzfläche

"Squeeze-out"-Effekt

Damit verbunden ist der sog. *"squeeze-out-effect"*, der dafür steht, daß die Wassermoleküle, die die Carbonylgruppe hydratisiert haben, aus den Zwischenräumen der Amphiphil-Kopfgruppen heraus gedrückt werden; die Carbonylgruppe ist dann partiell durch die Methylgruppen desselben und der benachbarten Ester-Amphiphile abgeschirmt. Diese beiden gekoppelten Prozesse sind von zwei spektroskopischen Erscheinungen begleitet:^[87] In der *E*-Konformation ist die Carbonylgruppe in verschiedene Formen kurzzeitiger H-Brücken involviert, was zu einer relativ breiten Bande bei ca. 1720 cm⁻¹ führt bzw. bei Vorliegen diskreter H-Brücken-Spezies zu einer Aufsplittung des Signals. Nach dem "squeeze-out"-Vorgang und dem Übergang in die Z-Form verschiebt sich die Bande zu höheren Wellenzahlen (~ 1740 cm⁻¹), und sie wird – bei Verlust des Rotationsfreiheitsgrades der Kopfgruppen in der Ebene – wesentlich schmaler; der Film gewinnt ein hohes Maß an Positionsfernordnung.

Dieses Verhalten konnte für den *ent*-Film bei den IRRAS-Messungen im Detail nachvollzogen werden (s. Abb. 32).



Abb. 32: Gegenüberstellung der Entwicklung der Bandenposition der $v_{as}(CH_2)$ - und v(C=O)-Schwingung während der Kompression einer Monoschicht von M-17*R*,18-DHO (pH = 6, T = 293 K).

Bemerkenswert an diesem Verhalten sind zwei Dinge: Erstens vollzieht sich der Wechsel der Konformation, der mit einem Sprung der Wellenzahl der v(C=O)-Bande verbunden ist, ebenso abrupt wie oder sogar noch etwas abrupter als die Abnahme der Wellenzahl der $v_{as}(CH_2)$ -Schwingung und zweitens beobachtet man beide Phänomene bei gleichen Flächenwerten! Diese Quasi-Simultanität erlaubt es, die Kombination beider Prozesse – der "Flip-Prozeß" einerseits und die Kondensation zu dichtgepackten Domänen mit einem einhergehenden Konfigurationswechsel der Estergruppierung andererseits – als konzertierten Vorgang zu beschreiben. Auch im Falle des racemischen Films konnte eine Verschiebung der v(C=O)-Bande zu höheren Wellenzahlen beobachtet werden, diese verlief jedoch kontinuierlich – ein Verhalten, das Gericke *et al.*^[88] auch für unsubstituierte Fettsäuremethylester beschrieben haben.

Zur weiteren Untersuchung bezüglich der Orientierung wurden IRRA-Spektren des *rac*-Films im Wellenzahlenbereich von 4000 – 3000 cm⁻¹ bei Flächen zwischen 1,77 und 0,31 nm²/Molekül aufgenommen. Der Zweck bestand darin, eventuelle Veränderungen der Bande der v(O-H)-Schwingung im Verlauf der Isotherme zu detektieren. Die erhaltenen Banden waren jedoch unspezifisch und es war keine signifikante Veränderung festzustellen (Daten nicht gezeigt).

Subzellenstruktur

Die Entscheidung darüber, ob bei kleinen Flächen pro Molekül eine regelmäßige Packung der Alkylketten mit Positionsfernordnung (kristalliner Charakter) vorliegt, kann durch die Auswertung der Form und Lage der δ_{ip} (CH₂)-Bande gefällt werden.^[89] Eine relativ breite Bande bei 1467 cm⁻¹ läßt auf eine hexagonale oder trikline Subzelle schließen, eine scharfe Bande bei 1471 cm⁻¹ dagegen eindeutig auf eine trikline Packung. Ein Dublett mit Schwerpunkten bei 1473 und 1462 cm⁻¹ ist typisch für ein orthorhombisches Gitter und ein breites

Signal bei 1465 cm⁻¹ weist auf eine ungeordnete Struktur hin. Bei den hier betrachteten Verbindungen wird eine scharfe Bande zwischen 1471 und 1468 cm⁻¹ gefunden, was das Vorliegen einer hexagonalen, mehr jedoch einer triklinen Packung wahrscheinlich macht.

Abschließend soll noch einmal kurz auf den Aspekt der chiralen Diskriminierung eingegangen werden. Die Tatsache, daß die Wellenzahlen der v_{as} (CH₂)-Schwingung der beiden Filme zum Ende der Kompression identisch sind, könnte ein Indiz für eine chirale Phasenseparation sein. Sowohl die BAM-Untersuchungen (s. Abb. 27) als auch Röntgenbeugungsmessungen unter streifendem Einfall^[90] sprechen jedoch dagegen, daß beim racemischen Film ein chiraler Symmetriebruch stattfindet. Die GIXD-Experimente ergaben lediglich für den *ent*-Film das Vorliegen einer chiralen Subzelle. Die Beugungsreflexe des *rac*-Films gaben Hinweise auf eine Antipoden-Dimerbildung.

3.2.2. Methyl-9,10-dihydroxyoctadecanoat (M-9,10-DHO)

M-9,10-DHO hat zwei stereogene Zentren und kommt entsprechend in zwei Enantiomerenpaaren vor. Die Enantiomere, bei denen die beiden Hydroxylgruppen auf derselben räumlichen Seite stehen, werden mit dem stereochemischen Präfix *threo* oder auch *syn* versehen. Bei den vorliegenden Molekülen entspricht dies einer Anordnung gleichnamiger Konfiguration an den beiden Zentren (9*R*,10*R* oder 9*S*,10*S*). Für den umgekehrten Fall ist entsprechend die Vorsilbe *erythro* bzw. *anti* gebräuchlich (entspricht 9*R*,10*S* oder 9*S*,10*R*). In dieser Arbeit kamen zum einen M-9*S*,10*S*-DHO (ee = 95 %) und eine 1:1 Mischung aus M-9*R*,10*R*- und M-9*S*,10*S*-DHO (= M-*rac-syn*-9,10-DHO) und zum anderen M-9*R*,10*S*-DHO (ee = 93 %) und eine 1:1 Mischung aus M-9*R*,10*S*-. und M-9*S*,10*R*-DHO (= M-*rac-anti*-9,10-DHO) zum Einsatz.

3.2.2.1. M-syn-9,10-DHO

Π/A-Isothermen

In Abb. 33 sind die Π/A-Isothermen der Filme von M-9*S*,10*S*- und M-*rac-syn*-9,10-DHO dargestellt, die bei 293 K (20 °C) aufgenommen wurden. Die Kurve des racemischen Films verläuft zunächst unterhalb der des enantiomerenangereicherten, der Phasenübergangspunkt mit der sich anschließenden Plateauregion ist jedoch gegenüber dem des *ent*-Films zu kleineren Flächen und höheren Oberflächendrücken verschoben. Im Vergleich zum M-17,18-DHO liegen die Plateaus beider Isothermen bei höheren Drücken und ihre Kompressions-intervalle sind wegen der bei kleineren Flächen/Molekül stattfindenden Phasenübergänge kleiner.



Abb. 33: Π /*A*-Isothermen von M-*rac-syn*-9,10-DHO und M-9*S*,10*S*-DHO-Filmen, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

Interessant ist ferner, daß der racemische Film zum Ende der Kompression keinen steilen Druckanstieg in der Isotherme zeigt und sich statt dessen ein diffuser Kollapsprozeß anschließt. Dies sind Anzeichen für eine instabile kondensierte Phase. Und tatsächlich haben die begleitenden BAM-Studien^[84] ergeben, daß beim LE \rightarrow LE/LC-Übergang zwar Domänen entstehen, dieser Vorgang jedoch gleichzeitig von der Bildung dreidimensionaler Kristallite begleitet ist. Des weiteren ging aus ihnen hervor, daß sich die Domänenformen vom *rac-* und *ent-*Film deutlich voneinander unterscheiden; im Falle des Racemats sind runde, halbmond-ähnliche Domänen zu erkennen, während der *ent-*Film solche von faserartiger Gestalt ausbildet (s. Abb. 34). Eine chirale Phasenseparation, die sich im Erscheinungsbild entmischter Domänen entgegengesetzter Händigkeit äußern würde, war dagegen nicht zu beobachten.



Abb. 34: BAM-Aufnahmen von (a) M-*rac-syn*-9,10-DHO und (b) M-9*S*,10*S*-DHO-Filmen während des Hauptphasenübergangs, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

Insofern sprechen die thermodynamischen Befunde und die auf der mikroskopischen Ebene gemachten Beobachtungen für eine schwache chirale Diskriminierung, die es jedoch nicht erlaubt, eine eindeutige Spezifikation in bezug auf das Vorliegen eines hetero- oder homochiralen Verhaltens zu machen. Ob sich diese Frage evtl. durch die Betrachtung auf molekularer Ebene beantworten läßt, sollte durch die Aufnahme kompressionsabhängiger IRRA-Spektren geklärt werden.

IRRAS-Messungen

In Abb. 35 ist ein charakteristisches *RA*-Spektrum eines enantiomerenangereicherten Films im Bereich des 2-Phasenkoexistenzgebiets dargestellt. Es soll verdeutlichen, daß sich die Auswertung der Spektren als – unerwartet – schwierig herausstellte.



Abb. 35: IRRA-Spektrum eines M-9*S*,10*S*-DHO-Films im Bereich 3000 - 2700 und 2000 - 1200 cm⁻¹, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C) und A = 0.423 nm²/Molekül

Die Spektren waren in höchstem Maße verrauscht, die Methylenschwingungsbanden erwiesen sich als äußerst intensitätsschwach; das Signal/Rausch-(S/R)-Verhältnis betrug günstigenfalls etwa drei, in Einzelfällen gar wiesen die Stör- und Bandensignale vergleichbare Intensitäten auf. Es war deshalb geboten, bei der Beurteilung der durch den automatisch arbeitenden "center of gravity"-Algorithmus^[91] ermittelten Bandenschwerpunktslagen entsprechende Vorsicht walten zu lassen.

Das niedrige S/R-Verhältnis spiegelt sich in Abb. 36 wider, in der die Wellenzahlen der $v_{as}(CH_2)$ -Schwingung in Abhängigkeit von der Fläche pro Molekül für den *rac*- und *ent*-Film aufgetragen sind. Obwohl es sich um Mittelwerte aus 7 (*rac*) bzw. 6 (*ent*) Wiederholungsmessungen handelt, unterliegen die Datenpunkte selbst bei kleinen Flächenwerten einer nicht

unerheblichen Streuung, was für einkettige Amphiphile mit relativ kleinen Kopfgruppen atypisch ist.



Abb. 36: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für Filme von M-*rac-syn*-9,10- und M-9*S*,10*S*-DHO und auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

Die Werte sind für beide Filme nahezu kompressionsunabhängig und die Mittelwerte schwanken für Flächen $< 0.7 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ zwischen ~ 2924 und 2922 cm^{-1} . Wegen der starken Streuung innerhalb der einzelnen Serien gibt das obige Diagramm jedoch einen verfälschenden Eindruck wider und die Aussagekraft bezüglich des tatsächlich vorliegenden konformativen Ordnungszustands ist daher beschränkt. Genausowenig sind so ohne weiteres Schlüsse auf das chirale Verhalten möglich.

Eine nähere Betrachtung der einzelnen Spektren der verschiedenen Serien förderte folgende Merkmale zutage: (i) entlang eines Kompressionsverlaufs wechselte die Bandenform der v_{as} (CH₂)-Schwingung von einem Kompressionsschritt zum nächsten, von einem gesplitteten Signal über solche, die auf der höherfrequenten Seite eine Schulter aufwiesen bis hin zu "regulären" Bandenformen, die als charakteristisch bekannt sind bzw. gelten; (ii) ebenso schwankten die Bandenpositionen beträchtlich zwischen 2930 und 2917 cm⁻¹, sowohl innerhalb einer isothermen Kompression als auch von Isotherme zu Isotherme bei identischen Flächenwerten; somit waren sämtliche Anforderungen, die an eine Reproduzierbarkeit zu stellen wären, hier nicht erfüllt; (iii) unabhängig von der Lage und Form der Banden nahm ihre Intensität im Verlauf der Kompression kaum zu, was in besonderem Maße für das Racemat gilt (s. Abb. 37); auch dies ist ein untypisches Verhalten; (iv) in keiner der Einzelserien konnte beim Phasenübergangspunkt der Isothermen (0,4 bzw. 0,6 nm²/Molekül für den *rac*- bzw. *ent*-Film) eine signifikante Änderung der Spektren beobachtet werden, die gewöhnlich mit der Entstehung dichterer Domänen verbunden ist; (v) die Spektren wiesen im Bereich

zwischen 1800 und 1400 cm⁻¹ keine auswertbaren Banden auf, so daß Aussagen über die Kopfgruppenstruktur oder bezüglich des Typs der Subzelle nicht getroffen werden konnte.



Abb. 37: Vergleich der Bandenintensitäten der Methylenvalenzschwingungen von (A) M-*rac-syn*-9,10 DHO bei (1) 0,862 und (2) 0,283 nm²/Molekül, sowie von (B) M-9*S*,10*S*-DHO bei (1) 0,806 und (2) 0,265 nm²/Molekül

Konklusion

In leicht lyrischem Ton gesprochen, scheint es so, als bliebe dieses System auf die Befragung seiner strukturellen Merkmale hin in gewissem Sinne stumm. Dennoch erlaubt die Weigerung zu antworten, unter Berücksichtigung des konkreten experimentellen Ansatzes und unter Zuhilfenahme eines indirekten Rückschlusses in diesem Fall, eine Interpretation zu geben, die sich nicht auf Negativ-Aussagen beschränkt. Berücksichtigt werden muß zunächst die optische Geometrie des IR-Experiments: In dieser Arbeit wurde der Struktur-Spektren-Korrelation eine stärkere Bedeutung beigemessen als der Möglichkeit, quantitative Aussagen über den Neigungswinkel der filmbildenden Moleküle zu machen, was Messungen mit ppolarisierter Strahlung in der Nähe des Brewster-Winkels erfordert hätte, aber aufgrund der in diesem Winkelbereich äußerst geringen Reflektivität problematisch ist. Stattdessen wurde mit unpolarisierter Strahlung und einem festen Einfallswinkel von 30° gearbeitet. Dies führt dazu, daß der Anteil p-polarisierter Strahlung fast vollkommen unterdrückt wird und die Spektren damit denen entsprechen, die mit s-polarisierter Strahlung aufgenommen würden. Dies hat allerdings zur Konsequenz, daß nur die Normalschwingungen angeregt bzw. detektiert werden können, deren Übergangsdipolmomente eine nichtverschwindende Komponente senkrecht zur Einfallsebene des IR-Strahls aufweisen. Es können also nur die Normalschwingungen detektiert werden, deren Auslenkvektoren annähernd parallel zur Grenzfläche verlaufen, nicht jedoch solche, bei denen die Normalkoordinaten entlang der Oberflächennormalen verlaufen (sog. Oberflächenauswahlregel, engl.: surface selection rule). Oder anders ausgedrückt: je stärker die Moleküle geneigt sind, desto intensiver erscheinen im Spektrum die Banden, deren korrespondierende Schwingungen entlang des Rückgrats der Amphiphile verlaufen (z.B. die v(C-C)-Valenzschwingung) und desto schwächer sind diejenigen, die senkrecht dazu verlaufen, insbesondere also die $v_{as}(CH_2)$ - und $\delta_{ip}(CH_2)$ -Banden. Neben dem Grad der konformativen Ordnung der Alkylketten, der "Oberflächendichte" (Anzahl der Amphiphile pro Flächeneinheit), bestimmt sich die Intensität der $v_{as}(CH_2)$ -Bande deswegen auch durch den Neigungswinkel θ (engl.: *tilt angle*) der Amphiphile. Umgekehrt kann daher von der Bandenintensität zumindest in qualitativer Weise auf den Neigungswinkel bzw. die Orientierung in Relation zur Oberflächennormalen zurückgeschlossen werden.

Da im vorliegenden Fall die Intensität der entsprechenden Bande a) sehr gering ist und b) während der Kompression kaum zunimmt, muß dies so interpretiert werden, daß die Moleküle den gesamten Kompressionsverlauf über annähernd flach auf dem Wasser liegen, mit beiden polaren Gruppierungen in die Subphase tauchend, daß es also im Gegensatz zum M-17,18-Derivat zu keinem Flip-Vorgang kommt. Es wird weiterhin angenommen, daß der Hauptbeitrag zur Intensität der vas(CH2)-Bande vom C11-C18-Kettensegment geleistet wird, dessen Freiheitsgrad in bezug auf den Neigungswinkel kaum eingeschränkt ist, während das Gegenteil für das Kettensegment zwischen den polaren Gruppen gilt. Im wesentlichen horizontal ausgerichtete Moleküle führen zudem notwendig zu einer im Vergleich zu vertikal angeordneten Aggregaten reduzierten Oberflächendichte, womit ein weiterer Grund für die geringe Bandenintensität gegeben wäre. Trifft die vorgeschlagene Orientierung tatsächlich zu, könnte dies nun im Gegenzug prinzipiell zu einer meßbaren Verstärkung des Signals der v(C-C)-Schwingung führen. Bei der sorgfältigen Durchsicht der Spektrenserien konnte jedoch kein entsprechendes Signal identifiziert werden, was allerdings aufgrund der ohnehin geringen Oszillatorstärke und der wegen der vielfältigen Kopplungsmöglichkeiten in langkettigen Kohlenwasserstoffen im allgemeinen wenig charakteristischen Position (~ 1130 - 850 cm^{-1}) auch nicht unbedingt zu erwarten war.

Die zwar sehr schwach ausgeprägte aber doch zu detektierende Intensitätszunahme der v_{as} (CH₂)-Bande könnte damit erklärt werden, daß es bei der Bildung der dichteren Domänen während des Phasenübergangs 1. Ordnung mit abnehmender Fläche pro Molekül zu einer allmählichen Aufrichtung der C₁₁-C₁₈-Kettensegmente und/oder zu einer Assoziation dieser Segmente untereinander kommt, in dessen Folge schließlich auch *gauche*-Defekte zunehmend vermindert werden. Eine solche Packung würde sich damit erheblich von solchen unterscheiden, die von Amphiphilen ausgebildet werden, die der gesamten Länge nach vertikal orientiert sind. Sie bestünde aus einer – in x-Richtung – alternierenden Anordnung aus Strängen – in y-Richtung – von doppelten horizontal orientierten Halbketten, wobei die beiden Estergruppierungen von je zwei Ketten zueinander zeigen, und doppelten vertikal orientierten Halbketten, bei denen je zwei *vic*-Diolgruppen direkt benachbart sind. Dabei sollten auch entsprechende periodische Muster mit 1-dimensionaler Translationssymmetrie möglich sein. Diese Vorstellungen sind in der nachstehenden Abb. 38 visualisiert.



Abb. 38: Postulierte Anordnung von M-syn-9,10-DHO-Amphiphilen in kondensierten Domänen

Dieses Modell erlaubt es, zwei weitere Beobachtungen zu erklären: Zum einen die wechselnden Bandenpositionen und zum anderen das gelegentlich auftretende Bandensplitting. Weil in einer solchen Packungsanordnung der Neigungswinkel der Stränge der "freien" Kettenenden nicht festgelegt ist, könnten gleichzeitig verschiedene Domänen oder auch Subdomänen vorliegen, in denen die freien Kettenenden keine einheitlichen Neigungswinkel aufweisen. Trifft der IR-Strahl auf Bereiche innerhalb einer Domäne, in denen der Großteil der Kettenenden vertikal angeordnet ist, wird eine Bande bei relativ niedrigen Wellenzahl registriert, deren Intensität wegen der kleinen Oberflächendichte und der Kürze der Segmente jedoch gering bleibt. Trifft er hingegen auf solche Bereiche, in denen die entsprechenden Segmente mehrheitlich eine große Neigung aufweisen und zusätzlich nicht besonders geordnet vorliegen, wird die Bande bei relativ hohen Wellenzahlen beobachtet. Und wenn der IR-spot schließlich simultan zwei (Sub-)Domänen erfaßt, in denen verschiedene Orientierungen eingenommen werden, könnte ein gesplittetes Signal resultieren. Es lägen dann also gewissermaßen zwei unterschiedlich geordnete/orientierte Spezies vor, deren Signale sich gemäß ihrer Mengenanteile bzw. Populationsdichte addieren und überlagern würden, so daß entsprechend variierende Bandenformen und -lagen entstehen. Ein analoges Verhalten wurde übrigens kürzlich von Elmore und Dluhy^[92] bei Monoschichten von Phospholipiden beschrieben, die mit Hilfe polarisierter IRRAS und 2-dimensionaler Infrarot-Korrelationsanalyse verfolgen konnten, daß auch in diesem System eine Mischung aus zwei verschieden geordneten Spezies vorliegt und im Verlauf der Kompression die geordnete Phase auf Kosten der ungeordneten wächst, mit entsprechenden Konsequenzen für die Bandenform der $v_{as}(CH_2)$ -Schwingung.

Der auffälligste Unterschied zwischen dem *rac-* und *ent-*Film ist das Kollapsverhalten; ein Merkmal, das das vorgeschlagene Modell nicht zu erklären vermag. Bedenkt man jedoch, daß gemäß der in Abb. 38 postulierten Anordnung die vicinalen Diolgruppierungen direkt benachbart sind, könnten H-Brücken dafür verantwortlich sein. Dabei müßte angenommen werden, daß in Abhängigkeit von der vorliegenden Konfiguration unterschiedliche Möglichkeiten bestehen, solche auszubilden und sie zu verschiedenen Stabilitäten der komprimierten Monoschichten führen. Allerdings muß konzidiert werden, daß kein widerspruchsfreies Bild für den Zustand des *ent-*Films in der Nähe des Kollapspunktes entworfen werden kann. Der kleine Flächenwert ist nur unter der Annahme, daß bereits vorher ein Verlust eines Teil des
Filmmaterials in die Subphase stattfand bzw. simultan Nukleationsprozesse eingetreten sind, mit dem Modell vereinbar. Immerhin können aber mit Hilfe dieses Modells die Mehrzahl der Befunde erklärt werden. Für die partielle Falsifikation oder auch endgültige Verifikation⁵ wären ortsaufgelöste Messungen der Schichtdicke sehr vielversprechend, die z.B. mit Hilfe einer Variante der BAM, bei der die Reflektivität quantitativ erfaßt wird, oder der BAM-Autokorrelationsspektroskopie^[94] durchgeführt werden könnten oder auch nach dem Über-tragen auf einen festen Träger unter Zuhilfenahme der ATR-IR-Spektroskopie^[95] oder Raster-Kraft-Mikroskopie.

Temperaturabhängige Messungen von M-syn-9,10 DHO

Es ist bekannt, daß chirale Diskriminierungseffekte selbst in zweidimensionalen Systemen, in denen sie oft ausgeprägter in Erscheinung treten als in dreidimensionalen, häufig in einem nur sehr kleinen Temperaturintervall bzw. nur bei Über- oder Unterschreiten einer bestimmten Temperaturgrenze zu beobachten sind. Ein derartiges temperaturabhängiges Verhalten wurde z.B. bei Monoschichten von *N*-Acylaminosäurederivaten beschrieben^[30] (s.a. Kap. 2), bei denen sich außerdem eine deutliche Diskrepanz zwischen thermodynamischen und spektroskopischen Resultaten zeigte.

Aus diesen Gründen und weil sich bei 293 K (20 °C) zumindest ein leichter chiraler Diskriminierungseffekt andeutete, wurden zusätzlich IRRAS-Messungen bei 288 (15 °C) und 298 K (25 °C) durchgeführt, deren Ergebnisse in Abb. 39 gezeigt sind.



⁵ Den Anhängern des ,Kritischen Rationalismus' oder eingeschränkt skeptizistischen Positionen anderer Couleur sei wärmstens die Lektüre des Buches "Das letzte Wort" von Th. Nagel empfohlen [93].



Abb. 39: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche pro Molekül für Filme von M-*rac-syn*-9,10- und M-9*S*,10*S*-DHO auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 288 (15 °C). und (b) 298 K (25 °C).

Gegenüber den Messungen, die bei 293 K durchgeführt wurden, liegen die Datenpunkte um mindestens zwei Wellenzahlen höher und sie streuen stärker. Dies ist jedoch darauf zurückzuführen, daß nur jeweils drei Serien in die Mittelwertbildung eingingen. Aus diesem Grund ist auch bei dem Versuch, eventuelle chirale Diskriminierungseffekte abzuleiten, Vorsicht geboten. Die Inspektion der einzelnen Spektren ergab ein aus der Sicht des Spektroskopikers ähnlich unbefriedigendes Bild wie im Falle der Messungen bei 293 K, mit einem vergleichbar niedrigen S/R-Verhältnis, dem Auftreten von sehr breiten, gesplitteten und irregulären Bandenformen sowie stark schwankenden Bandenpositionen. Insbesondere ergab sich, daß der Befund nicht hinreichend abzusichern ist, bei 298 K von einem heterochiralen Diskriminierungseffekt zu sprechen, den die Datenlage zunächst suggerierte. Umgekehrt ergab sich aber für 288 K ein auffälliges Merkmal, das als schwach homochirale Diskriminierung gedeutet werden kann: Bei allen Serien ergaben sich beim Enantiomer für Flächen $\leq 0,287 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ gut auszuwertende, intensiver werdende Signale für die v_{as}(CH₂)-Schwingung, während eine solche Entwicklung beim Racemat nicht beobachtet werden konnte. Interessant ist weiterhin, daß bei 293 und 298 K ein derartiger qualitativer Wechsel im Erscheinungsbild der Spektren auch zum Ende der Kompression nicht auftrat. Somit zeichnet sich ab, daß die obere Temperaturgrenze für eine chirale Diskriminierung, nämlich eine homochirale, bei diesem System zwischen 288 und 293 K liegt. Ob das Ausmaß Kennungseffektes bei noch tieferen Temperaturen stärker des hervortritt. konnte bedauerlicherweise nicht evaluiert werden, da die instrumentellen Voraussetzungen für Messungen bei Temperaturen unterhalb von 288 K nicht gegeben waren.

3.2.2.2. M-anti-9,10-DHO

Π/A-Isothermen

Auch für die M-*anti*-9,10-DHO-Isomere wurden zunächst Π /A-Isothermen bei 293 K (20 °C) aufgenommen, die für das racemische Gemisch und die enantiomerenangereicherte Form in Abb. 40 gegenübergestellt sind.



Abb. 40: Π /*A*-Isothermen von M-*rac-anti*-9,10-DHO und M-9*R*,10*S*-DHO-Filmen, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

Im Vergleich zu den entsprechenden *syn*-Isomeren erkennt man, daß sie eine kondensiertere Charakteristik aufweisen: Die Phasenübergänge finden bei größerer Fläche pro Molekül statt (~ 1,0 und 0,9 nm²/Molekül für den *ent*- bzw. *rac*-Film) und die sich anschließenden Plateauregionen liegen bei niedrigeren Oberflächendrücken.(5 und 10 mN/m für den *ent*- bzw. *rac*-Film). Im Gegensatz zu den *syn*-Isomeren tritt hier eine klare homochirale Diskriminierung hervor, die mit dem Phasenübergang beginnt und bis zum Kollapspunkt erhalten bleibt.

IRRAS-Messungen

Welche Aussagen in bezug auf den konformativen Ordnungszustand gemacht werden können, ob sich das thermodynamische Verhalten auch auf der molekularen Ebene widerspiegelt und ob eventuell weitere strukturelle Unterschiede zwischen den Aggregaten des Racemats und Enantiomers zum Vorschein kommen, sollte durch die Aufnahme von *RA*-Spektren herausgefunden werden. Abb. 41 stellt den Zusammenhang zwischen dem Grad konformativer Ordnung und dem Kompressionszustand dar.



Abb. 41: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für Filme von M-*rac-anti*-9,10- und M-(9*R*,10*S*)-9,10-DHO auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C). Mittelwerte aus 9 (*rac*) bzw. 6 (*ent*) Einzelmessungen.

Zu Beginn der Kompression bei großen Flächen pro Molekül liegen die Werte der asymmetrischen Methylenvalenzschwingung auf einem sehr hohen Niveau, entsprechend einem sehr hohen Grad konformativer Unordnung, wobei eine leichte heterochirale Diskriminierung vorzuliegen scheint; dies ist jedoch aufgrund des spektralen Erscheinungsbilds unsicher, da es in etwa dem entspricht, das bei den syn-Isomeren vorherrschte. Im weiteren Verlauf der Kompression verbleiben die Wellenzahlen zunächst auf diesem hohen Niveau und unterliegen einer gewissen Streuung, um dann bei ca. 0,6 nm²/Molekül innerhalb eines sehr kleinen Kompressionintervalls dramatisch abzufallen, bis bei ca. 0,45 nm²/Molekül Werte von 2920 (rac) bzw. 2917 cm⁻¹ (ent) erreicht werden. Von dort an sinken die Werte noch einmal bis zum Kollapspunkt kontinuierlich auf 2917 (rac) bzw. 2916 cm⁻¹ (ent) und diejenigen des ent-Films liegen signifikant unter denen des rac-Films, weshalb auf homochirale Diskriminierung geschlossen werden muß. Das bedeutet, daß auch hier, wie beim 17,18-Diastereomer, innerhalb der isothermen Kompression ein Wechsel des Vorzeichens der chiralen Diskriminierung stattfindet. Ferner ist interessant, daß sich dieser Übergang der Alkylketten von einem in höchstem Maße ungeordneten Zustand in einen, der das Vorliegen einer all-trans-Konformation nahelegt, bei Flächenwerten vollzieht, bei denen in der Isotherme keine Auffälligkeiten zu erkennen sind und die insbesondere nicht mit dem Wert des Phasenübergangs 1. Ordnung übereinstimmen.

Wendet man den Blick von der Auftragung in Abb. 41, in der eine Durchschnittsbildung aus 9 (*rac*) bzw. 6 (*ent*) Meßwerten erfolgte, hin zu den einzelnen Serien, erkennt man, daß das Absinken der Wellenzahlen noch dramatischer und abrupter, weniger weich ausfällt und die Entwicklung der Datenpunkte statt durch eine sigmoide Funktion besser durch eine nicht-



monotone, unstetige Sprungfunktion wiedergegeben werden kann. Ein repräsentatives Beispiel für zwei einzelne Serien ist in Abb. 42 dargestellt.

Abb. 42: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für Filme von M-*rac-anti*-9,10- und M-9*R*,10*S*-DHO auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C). Repräsentatives Beispiel je einer einzelnen Serie.

In ihr kommen drei Charakteristika zum Ausdruck, die für die übergroße Mehrzahl aller Einzelmessungen gelten: (i) bei großen Flächenwerten liegen die Wellenzahlen für den *ent*-Film höher, (ii) der Sprung auf das niedrige Niveau findet beim *ent*-Film bei etwas kleineren Flächenwerten statt, (iii) nach dem Sprung liegen die Wellenzahlen beim *ent*-Film niedriger, oder anders ausgedrückt, der Sprung findet beim Enantiomer (a) "später" statt, (b) fällt dafür aber größer aus.

Zwar schwankt der Flächenwert, bei dem der Sprung stattfindet, von Isotherme zu Isotherme, und insofern konnte diesbezüglich keine Reproduzierbarkeit erreicht werden, er vollzieht sich aber übereinstimmend in allen Serien innerhalb von nur einem bis maximal drei Kompressionsschritten, was einem extrem kleinen, fast schon sensationell zu nennenden Intervall von $\Delta A = \sim 0.03 \text{ nm}^2/\text{Molekül entspricht}$. Der Durchschnittswert der "Sprungstelle" beträgt 0,49 und 0,44 nm²/Molekül für den racemischen bzw. *ent*-Film.

Gleichzeitig mit der abrupten Zunahme der konformativen Ordnung nimmt auch die Intensität der entsprechenden v_{as} (CH₂)-Banden sehr stark zu. Dies ist anhand eines Beispiels für den racemischen und *ent*-Film in Abb. 43 gezeigt.



Abb. 43: Vergleich der Bandenintensitäten der Methylenvalenzschwingungen von (A) M-*rac-anti*-9,10 DHO bei (1) 0,521 und (2) 0,475 nm²/Molekül, sowie von (B) M-9*R*,10*S*-DHO bei (1) 0,475 und (2) 0,451 nm²/Molekül

Auch in diesem Bild spiegeln sich die oben beschriebenen Charakteristika wider: bei vergleichbaren Kompressionsstadien vor der abrupten Abnahme der Wellenzahl sind die Banden des Racemats bereits entwickelter als beim Enantiomer, nach dem Abfall sind die des Enantiomers intensiver, d.h. daß auch die Bandenintensitätszunahme ausgeprägter ist.

Konklusion

Ausgehend von den bereits in den vorigen Abschnitten *in extenso* dargelegten Sachverhalten bezüglich des experimentellen Setups und der daraus folgenden Bandenintensität für die verschiedenen Normalschwingungen, besteht eine vernünftige Interpretation darin, anzunehmen, daß analog zum 17,18-Isomer während der Kompression innerhalb der Plateauregion ein Flip-Vorgang stattfindet. Dieser macht sich ebensowenig in der Isotherme bemerkbar wie beim 17,18-Isomer. Überhaupt ähnelt sich das Verhalten dieser beiden Systeme sehr stark, sie zeigen z.B. Isothermen vergleichbarer Charakteristik, eine ähnlich ausgeprägte Abnahme der $v_{as}(CH_2)$ -Wellenzahl sowie Intensitätszunahme der entsprechenden Bande. Auch die Flächenintervalle, innerhalb derer sich diese Wandlungen vollziehen, stimmen zumindest für die beiden Enantiomere recht gut überein. Unterschiede ergeben sich hinsichtlich des chiralen Verhaltens, das im Gegensatz zum 17,18-Isomer auch auf der thermodynamischen Ebene sichtbar ist. Und während sich die Reduktion von *gauche*- Defekten beim racemischen 17,18-Isomer kontinuierlich vollzieht, findet sie hier diskontinuierlich statt.

Der naheliegendere Vergleich mit den 9,10-*syn*-Diastereomeren führt zu der überraschenden Erkenntnis, daß neben dem Vorliegen eines enantiospezifischen Effekts beim Flip-Vorgang (bei den *anti*-Diastereomeren), die Konfigurationsumkehr an nur einem der beiden stereogenen Zentren ein komplett anderes Grenzflächenverhalten dieser Amphiphile bewirken, nämlich das Ausbleiben oder Hervorrufen eines Flipvorgangs, induzieren kann.

Den/die Leser/in mag es vielleicht verwundern, warum hier von einer überraschenden Erkenntnis gesprochen wird, schließlich sind diastereospezifische bzw- selektive Eigenschaften und Prozesse in der Natur und bei technologischen Applikationen eher die Regel und nicht die Ausnahme, wenn man etwa an Enzyme denkt, die in vielen Fällen enantio- und substratspezifisch/selektiv wirken, oder auch an die organoleptischen Eigenschaften von diastereomeren Geruchsstoffen, wie beispielsweise dem polycyclischen Moschusduftstoff HHCB (Galaxolid[®]), der ebenfalls in Form zweier Enantiomerenpaare vorkommt, von denen jeweils nur ein Enantiomer moschusartig riecht, um nur zwei willkürliche Beispiele zu nennen. Man muß jedoch bedenken, daß man es bei diesen Beispielen mit Phänomenen zu tun hat, bei denen jeweils zwei verschiedene molekulare Spezies mit einander interagieren, die chirale *und* diastereometrische Eigenschaften aufweisen; im erstgenannten Beispiel wechsel-wirken Enzyme und Substrate miteinander, im zweiten Beispiel sind es Geruchsstoffe und entsprechende Geruchsrezeptoren in der Nasenschleimhaut.

Bei Langmuir-Filmen liegt eine andere Situation vor, sofern nur eine einzige filmbildende Substanz eingesetzt wird. Die Gründe für das unterschiedliche Verhalten sind daher in den inhärenten (Grenzflächen-)Eigenschaften der Amphiphile zu suchen. Damit kommen zumindest zwei Ursachen in Betracht: Entweder bildet eines der Diastereomere im Vergleich zum jeweils anderen stabilere intermolekulare Anordnungen, wenn beide polare Gruppierungen in die wäßrige Subphase tauchen, so daß die Triebkraft für einen Flip-Prozeß gering bzw. nicht vorhanden ist, oder aber es gibt eine ausgezeichnete Anordnung, in der nur die Estergruppierung ins Wasser taucht. Eine entsprechende Analyse ergibt tatsächlich Unterschiede in der Möglichkeit der Ausbildung intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen für Ensembles, bei denen beide polaren Funktionen in die Subphase tauchen, wenn man annimmt, daß entlang der C8-C11-Achse eine synperiplanare Konformation eingenommen wird, was nicht unrealistisch ist, weil so am ehesten gewährleistet ist, daß beide Hydroxylgruppen Kontakt mit der Subphase haben. Das ist für je ein syn- und anti-Enantiomer in Abb. 44 veranschaulicht, und man erkennt, daß beim syn-Enantiomer die Ausbildung eines H-Brücken-Netzwerks quer zur Längsachse des Moleküls möglich ist, während – abhängig von der Orientierung in der Ebene – dies beim anti-Enantiomer nicht gegeben ist oder höchstens Dimere gebildet werden können, auch wenn diese dann durch zwei H-Brücken zusammengehalten werden.

Dies wäre eine denkbare Erklärungsmöglichkeit dafür, warum beim syn-Isomer der Flipvorgang ausbleibt. Bevor nun Versuche unternommen werden, das enantiospezifische

Verhalten der *anti*-Isomere zu erklären, sollen jedoch die Ergebnisse, die bei den temperaturabhängigen Messungen erhalten wurden in die Betrachtung mit einbezogen werden.



Abb. 44: Schematisches Modell zur Erklärung des Ausbleibens des Flipvorgangs bei den M-9,10-*syn*-Isomeren. Dargestellt sind die Newman-Projektionen entlang der C-C-Achse der 9*S*,10*S*- und 9*R*,10*S*-Amphiphile, die sich ergeben, wenn angenommen wird, daß sie flach auf dem Wasser liegend mit beiden polaren Gruppierungen in die Subphase eintauchen und an den die vicinalen Hydroxylgruppen tragenden C-Atomen eine synperiplanare Konformation vorliegt. Unterschiede ergeben sich bezüglich der Möglichkeit zur Formation von intermolekularen H-Brücken.

Temperaturabhängige Messungen von M-anti-9,10-DHO

Wie beim M-syn-9,10-DHO wurden zusätzlich IRRA-Messungen bei 288 und 298 K durchgeführt. Die konformative Ordnung in Abhängigkeit von der Fläche pro Molekül ist wiederum in Form der Wellenzahl der vas(CH₂)-Bande in Abb. 45 dargestellt. Gegenüber den Messungen, die bei 293 K durchgeführt wurden, ergeben sich interessante Merkmalsverschiebungen, und zwar zum einen in bezug auf den Flächenwert, bei dem die sprunghafte Zunahme der konformativen Ordnung registriert wird und zum anderen im Hinblick auf das Ausgangsniveau der Wellenzahl vor dem Sprung, wobei zusätzlich Unterschiede zwischen der racemischen und enantiomerenangereicherten Form zu erkennen sind. Betrachtet man die Gesamtheit der Messungen ergeben sich folgende Trends: (i) mit zunehmender Temperatur verschiebt sich der Sprung beim Enantiomer zu kleineren Flächenwerten (von 0,61 bei 288 K über 0,44 bei 293 K hinzu 0,34 nm²/Molekül bei 298 K); das Ausgangs- und Endniveau der Wellenzahl vor und nach dem Sprung wird dagegen nicht affiziert; (ii) diese Tendenz gilt mit Einschränkungen auch für den racemischen Film, wobei Sprung-Flächenwerte von etwa 0,45 nm²/Molekül eine obere Grenze darzustellen scheinen, weil Temperaturen unterhalb von 293 K zu keiner Erhöhung dieses Werts führen; im Gegensatz dazu reagiert der rac-Film aber anscheinend empfindlicher auf Temperaturerhöhungen: Eine Erhöhung um 5 K bewirkt gewissermaßen eine Verschiebung des Flächenwerts zu kleineren Werten über den meßbaren Bereich hinaus, oder anders ausgedrückt: der Sprung bleibt aus; (iii) beim rac-Film werden mit steigender Temperatur in den Kompressionsbereichen vor dem Sprung tendenziell höhere

Wellenzahlen gemessen, so daß für die Fälle, bei denen er stattfindet, die Sprunghöhe zunimmt, weil das Endniveau nicht beeinflußt wird.



Abb. 45: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für Filme von M-*rac-anti*-9,10- und M-9*S*,10*R*-DHO auf reinem Wasser (pH = 6) bei (a) T = 288 K (15 °C). und (b) 298 K (25 °C).

Konklusion

Das Vorliegen der bei 293 K auf thermodynamischer Ebene deutlich, aber im IR nur schwach in Erscheinung tretenden homochiralen Diskriminierung konnte somit durch die Temperatur-Variation als reales und zudem variables Phänomen bestätigt werden. Die Art und Weise, wie sich die Temperaturänderung auf den *rac*- und *ent*-Film und damit auch auf das Ausmaß der chiralen Diskriminierung auswirken, ist nicht einzigartig und zeigt eine auffällige Analogie zu dem Temperaturverhalten eines Methylesters ganz anderes Typs,

namentlich N-Hexadecanoylalaninmethylester.^[30] Anhand der Klasse der N-Acylaminosäuren konnte bereits die Determinante näher charakterisiert werden, nach der sich das Auftreten chiraler Effekte in Quasi-2D-Systemen bestimmt. Die notwendige, aber nicht hinreichende Bedingung dafür ist, daß innerhalb der isothermen Kompression ein Phasenübergang 1. Ordnung stattfindet. Damit sind prinzipiell auch die Temperaturgrenzen festgelegt, innerhalb derer mit derartigen Phänomenen zu rechnen ist. Dabei ist noch einmal zwischen dem thermodynamischen und spektroskopischen Erscheinungsbild zu unterscheiden, da die beiden verschiedenen Untersuchungsmethoden auch unterschiedliche Entitäten erfassen. Während durch die Aufnahme von Π /A-Isothermen das Kollektivverhalten der filmbildenden Moleküle studiert wird, in das enthalpische und entropische Terme mit einfließen, erfaßt die IRRAS-Methode nur sehr selektiv einige Strukturparameter. Deshalb ist es nicht verwunderlich, daß bei der Untersuchung des temperaturabhängigen Phasenverhaltens der M-anti-9,10-DHO-Filme mit Hilfe der Langmuir-Filmwaage^[96] ein etwas breiteres Temperaturintervall bestimmt wurde, in dem chirale Effekte auftraten, als es hier bei den IRRAS-Messungen der Fall zu sein scheint. Zum oberen Ende hin verschwanden chirale Diskriminierungseffekte erst bei 313 K, was gleichzeitig das Maximum des untersuchten Bereichs darstellt, wohingegen sich bei den IRRAS-Messungen abzeichnet, daß bei Temperaturen oberhalb von ~ 300 K die sprunghafte Zunahme der konformativen Ordnung auch beim Enantiomer ausbleibt, mithin ein gleichartiger Verlauf der Datenpunkte von rac- und ent-Film entsteht. Mit abnehmender Temperatur fielen die chiralen Effekte zwar geringer aus, blieben aber durch die unterschiedlichen Oberflächendrücke der Plateauregionen der Isothermen bis 278 K kenntlich, so daß die Tieftemperaturgrenze auch mit dieser Methode nicht bestimmt werden konnte.

Die chiralen Diskriminierungseffekte treten hier nicht nur durch eine während der Kompression früher oder später stattfindenden sprunghaften Zunahme der konformativen Ordnung in Erscheinung, sondern darüber hinaus auch durch die Güte der Packung innerhalb der Domänen in kondensierten Phasen, ausgedrückt durch die unterschiedlichen Niveaus der Wellenzahlen der vas(CH2)-Schwingung gegen Ende der Kompression. Der Unterschied zwischen dem rac- und ent-Film ist klein (ca. eine Wellenzahl), aber signifikant. Die Tatsache, daß sich die Wellenzahlen bis zum Kollapspunkt nicht angleichen und die des ent-Films niedriger liegen, spricht dafür, daß das Racemat eine weniger eng gepackte Struktur ausbildet. Daraus kann abgeleitet werden, daß nicht-segregierte, gemischte Domänen vorliegen und keine chirale Phasenseparation stattfindet, da man für enantiomerenseparierte Domänen identische Wellenzahlen erwarten würde. Dies konnte durch Röntgenbeugungsmessungen^[90] unter streifendem Einfall bestätigt werden, die ergaben, daß im Falle des racemischen Films eine achirale, hexagonale ($\gamma = 120^{\circ}$) Subzelle mit perfekt vertikal ausgerichteten (Neigungswinkel von Null Grad) Amphiphilen vorliegt. Dagegen wurde für den ent-Film das Vorliegen einer chiralen (schiefwinkligen, $\gamma = 112^{\circ}$) Elementarzelle mit geneigten Amphiphilen ($\theta = \sim 15^{\circ}$) abgeleitet. Ferner weist die Einheitszelle des *rac*-Films deutlich größere Dimensionen auf, als die des ent-Films, was mit der hier aus den IRRA-Messungen abgeleiteten weniger engen Packung gut korrespondiert.

Unter Einbeziehung aller Befunde können die Ergebnisse im Rahmen der Hypothese einer stereospezifischen Bildung intermolekularer H-Brücken erklärt werden: Der gegenüber dem ent-Film auf Null reduzierte Neigungswinkel der Amphiphile des racemischen Films könnte durch die intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den vicinalen Hydroxylgruppen hervorgerufen werden, die am stärksten sind, wenn sich aus je zwei Enantiomeren Dimere bilden. Die Hydroxylgruppen der an der Dimerbildung beteiligten Enantiomere kommen sich umso näher, je geringer die Amphiphile geneigt sind. Die Dimerisierung zweier optischer Antipoden bedeutet jedoch gleichzeitig die Einführung einer Symmetrieebene, so daß die Monoschicht des Racemats betrachtet werden kann, als sei sie praktisch aus achiralen, doppelkettigen Amphiphilen aufgebaut. Im Gegensatz dazu ist eine derartige Dimerbildung beim enantiomerenangereicherten Film nicht möglich, bei dem es wahrscheinlicher ist, daß sich ein asymmetrisches, zweidimensionales Netzwerk von Wasserstoffbrücken bildet, in dem jedes Amphiphil mit mehreren anderen benachbarten Molekülen wechselwirkt (s. Abb. 46), was zur Bildung von (homo-)chiralen Phasen und Morphologien führt, wie auch die begleitenden Münsteraner BAM-Studien ergaben. Diese zeigten, daß sich bei den einzeln untersuchten Enantiomeren dendrimere Domänen bildeten, deren Dendriten leicht gebogen waren und einen entgegengesetzten Drehsinn aufwiesen, daß aber im Racemat nur eine, achirale Domänenform (von sternenförmiger, dendritischer Gestalt) vorlag (s. Abb. 47)..



Abb. 46: (A) Blickrichtung zum Erhalt der in (B) und (C) verwendeten Newman-Projektionen sowie Darstellung der wahrscheinlichsten Packungsanordnung und Wasserstoffbrücken des (B) M-*rac-anti*-9,10-DHO-Films (hexagonale Subzelle) und (C) der des M-9*R*,10*S*-DHO-Films (schiefwinklige Subzelle) in der LC-Phase.



Abb. 47: BAM-Aufnahmen von (a) M-9*S*,10*R*-DHO- und (b) M-*rac-anti*-9,10-Filmen während des Hauptphasenübergangs, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

Bezüglich der chiralen Diskriminierung kann festgehalten werden, daß zwar in den Π/A -Isothermen und IRRAS-Messungen eine *homochirale Diskriminierung* zum Ausdruck kommt, das sich jedoch als *heterochirale Kennung* entpuppt, denn die individuellen Enantiomere bevorzugen im racemischen Gemisch Wechselwirkungen mit dem jeweils anderen (Dimerbildung aus optischen Antipoden) und nicht eine untereinander. Die spezifische Art und Weise, wie sie mit einander wechselwirken, führt allerdings dazu, daß im racemischen Film eine weniger gut gepackte Struktur vorliegt, weniger dichte Domänen in der kondensierten Phase gebildet werden, weshalb das Niveau der Plateauregion der Isotherme bei höheren Oberflächendrücken liegt und im IR etwas höhere Wellenzahlen der v_{as}(CH₂)-Bande zum Ende der Kompression gemessen werden. In diesem Sinne muß die vicinale Hydroxylgruppierung einerseits als Element aufgefaßt werden, über das eine enantiospezifische Attraktion vermittelt wird und andererseits als eines, das als Störelement wirkt und ggf. die Bildung engest möglicher Packungen verhindert.

Das Temperaturverhalten gibt weitere wichtige Aufschlüsse darüber, welche Übergänge und Umorientierungen während der Kompression stattfinden und zu welchen Zeitpunkten. Da es bei einem Flächenwert von 0,34 nm²/Molekül, das entspricht dem Punkt, bei dem beim *ent*-Film bei 298 K der Ordnungsprozeß im wesentlichen abgeschlossen ist, nicht mehr möglich ist, daß eine Orientierung vorliegt, bei dem beide polaren Gruppen in die Wasserphase tauchen, kann die in den meisten Fällen zu beobachtende sprunghafte Zunahme der konformativen Ordnung nicht mit einem simultanen Flip-Vorgang korreliert werden. Es ist davon auszugehen, daß die Ablösung der vicinalen Hydroxylgruppierung von der Subphase bereits vorher geschehen ist. Es spricht einiges dafür, daß die Sprungmarke stattdessen dem Kompressionspunkt entspricht, an dem die Wasserstoffbrücken konstituiert werden, und daß mit der Etablierung der H-Brücken eine konzertierte Aufrichtung der vormals einen noch recht großen Neigungswinkel aufweisenden Amphiphile stattfindet, in dessen Folge die Banden-intensität stark zunimmt.

Ein ähnliches Verhalten beobachteten Sakai und Umemura^[80] bei Langmuir-Filmen der 12-Hydroxyoctadecansäure, die wie M-9,10-DHO eine weitere mittenständige polare Gruppe

aufweist. Sie untersuchten dieses System mit Hilfe polarisierter IRRA-Spektroskopie, die es erlaubt, aus den Bandenintensitäten der v(CH₂)-Schwingungen den Neigungswinkel zu quantifizieren. Die zugehörige Isotherme zeigte eine Plateauregion im Bereich 1,0 – 0,2 nm²/Molekül. Dabei wurde bei 0,4 nm²/Molekül, d.h. in einem bereits sehr fortgeschrittenen Stadium des Kondensationsvorgangs, ein erstaunlich hoher Neigungswinkel von 55° bestimmt. Bei weiterer Kompression (bis 0,2 nm²/Molekül) reduzierte er sich dann sehr rasch auf 28°, gleichzeitig nahm die Bandenintensität um den Faktor 3-4 zu.

Da im *rac-* und *ent-*Film unterschiedliche H-Brücken-Muster gebildet werden, erklären sich damit auch die unterschiedlichen Flächenwerte, an denen sie entstehen und ihre unterschiedliche Reaktion auf Temperaturänderungen. Zur Konstitution der H-Brücken müssen die Amphiphile eine gegenseitige "Vororientierung" einnehmen, bei der sich die Hydroxylgruppen dann so nahe kommen, daß sie sich schließlich gewissermaßen "die Hand reichen" können, um einmal eine dem chiralen Sachverhalt angemessene Terminologie zu verwenden.

Mit zunehmender Temperatur ist dies aufgrund der stärkeren Diffusion und Rotation der Moleküle sowie der höheren Dynamik der internen Rotationen der Methylensegmente zweifellos erschwert. Die Tatsache, daß der racemische Film empfindlicher auf Temperaturerhöhungen reagiert, könnte damit erklärt werden, daß der Vernetzungsgrad geringer ist. Betrachtet man im Sinne eines *reverse-engineering*-Gedankens den energetischen Aufwand, der für eine *Dekonnektion* aufgebracht werden müßte, wird deutlich, daß er im Falle der Dimeren geringer und in dem der kettenartigen Vernetzung beim *ent*-Film höher ausfällt.

Interessant ist ferner die Existenz eines maximalen Flächenwerts, bei dem die progressive Assoziation und Aufrichtung geschieht, und seine konkrete Größe, die mit 0,6 nm²/Molekül angegeben werden kann. Dieser Wert entspricht in etwa der Summe der Querschnittsfläche zweier über H-Brücken verbundener Amphiphile! Weil hier stets Durchschnittswerte betrachtet werden, die vom IR-Spot erfaßte Fläche die Dimension der kondensierten Domänen um mindestens eine Größenordnung übersteigt und deshalb auch LE- oder solche Bereiche, in denen innerhalb der Domänen eine nur lose Assoziation vorherrscht registriert werden, ist nicht auszuschließen, daß sich die Dimere oder Netzwerke vereinzelt in lokal begrenzten Bereichen bereits bei größeren Flächenwerten bilden, jedoch scheint es immerhin gerechtfertigt, von einer *mittleren maximalen Kommunikationsdistanz* zu sprechen. Da in den beiden untersuchten Filmen quasi die Syntax der Kommunikation differiert, ist es demgemäß nicht überraschend, daß sich ihre Reichweiten in Abhängigkeit von der durch die Temperatur hervorgerufenen Störung unterscheiden, die, um im Bild zu bleiben, als erhöhter Rauschpegel aufgefaßt werden kann.

3.2.3. Methyl-2,3-dihydroxyoctadecanoat (M-2,3-DHO)

Von den beiden Enantiomerenpaaren wurde im Rahmen dieser Arbeit nur das *syn*-Diastereomer vermessen. Wiederum wurde die reine Enantiomerenform (M-2S,3R-DHO; ee = 100 %) mit der des racemischen Gemischs (1: 1 Mischung aus M-2*S*,3*R*- und M-2*R*,3*S*-DHO = M-*rac-syn*-2,3-DHO) miteinander verglichen.⁶

Da die beiden polaren Gruppierungen direkt benachbart sind, entspricht die Struktur der eines monopolaren, gewöhnlichen Amphiphils und die beiden polaren Gruppen sind als eine einzelne große Kopfgruppe aufzufassen. Inwieweit und in welcher Weise sich dies auf das Phasenverhalten und hinsichtlich der Entwicklung der konformativen Ordnung im Verlauf der isothermen Kompression auswirkt und ob sich chirale Diskriminierungseffekte zeigen, wenn die vicinale Diolgruppierung *per se* in die Subphase taucht, sollte erneut durch die Aufnahme von Π/A -Isothermen und IRRA-Spektren ermittelt werden.

Π/A-Isothermen

Wie aus Abb. 48 hervorgeht, deuten die Π /A-Isothermen bei 293 K auf eine homochirale Diskriminierung hin, die Isotherme des *ent*-Films verläuft innerhalb der LE-Phase leicht, in der LE/LC-Koexistenzregion deutlich unterhalb der des Racemats, die Oberflächendrücke der Plateauregionen betragen 13 (*rac*) bzw. 7 mN/m (*ent*).



Abb. 48: Π /*A*-Isothermen von M-*rac-syn*-2,3-DHO und M-2*S*,3*R*-DHO-Filmen, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

Insgesamt sind die Isothermen von verhältnismäßig kondensiertem Charakter; sie weisen im Vergleich mit allen anderen Isomeren die kleinsten Flächenwerte auf, an denen der Oberflächendruckanstieg beginnt (~ 0,7 nm²/Molekül). Die LE-Phase geht bei ca. 0,5 nm²/Molekül

⁶ Anders als bei den M-9,10-DHO entspricht die *syn*-Form aufgrund der gemäß den CIP-Regeln höheren Priorität der Estergruppierung im vorliegenden Fall einer, in der die beiden stereogenen Zentren nach der *R*,*S*-Nomenklatur entgegengesetzte Deskriptoren erhalten.

in eine LE/LC-Koexistenzregion über und der Kollapspunkt ist bei ungefähr 0,2 nm²/Molekül erreicht. Sie zeigen damit das kürzeste Plateau aller untersuchten M-DHO-Monoschichten.

Bei den parallel durchgeführten BAM-Untersuchungen konnten beim racemischen Film keine eindeutigen Indizien für eine chirale Phasenseparation beobachtet werden. Jedoch unterschieden sich die Domänenformen deutlich von denen des *ent*-Films. Während das Racemat kleine (~ 50 μ m), runde Domänen bildet, entstehen beim *ent*-Film sowohl lineare als auch gekrümmte faser- und bandartige Strukturen, die bei einer Breite von nur 20 μ m Längen bis zu mehreren Millimetern erreichten (s. Abb. 49).



Abb. 49: BAM-Aufnahmen von (a) M-*rac-syn*-2,3-DHO- und (b) M-2*S*,3*R*-DHO-Filmen während des Hauptphasenübergangs, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

Die linearen Strukturen des *ent*-Films weisen darüber hinaus eine auf einem um eine Größenordnung reduzierten Maßstab innere Feinstruktur auf: Nach der Übertragung auf einen festen Glimmer-Träger durch die Langmuir-Blodgett-Technik wurden von Chi *et al.*^[97] mit Hilfe der AFM nahezu perfekt lineare und parallel angeordnete Bandstrukturen sichtbar gemacht, mit quer zur Bandrichtungen verlaufenden, alternierenden hellen und dunkleren Bereichen und einer Periodizität von etwa 30 nm, deren Zustandekommen durch das in Abb. 50 dargestellte Modell erklärt wird. Dieses Phänomen zeigten auch andere untersuchte enantiomerenangereicherten M-2,3-dihydroxyalkanoate, wobei festgestellt wurde, daß die Periodizität mit wachsender Kettenlänge zunimmt. Die auf Glimmer übertragenen Filme der entsprechenden Racemate zeigten diese Strukturen nicht in dieser Ausprägung. In den AFM-Bildern konnten jedoch innerhalb sehr kleiner Bereiche ebenfalls Subdomänen linearer Strukturierung ausgemacht werden, was ein Hinweis auf eine eventuelle Teil-Entmischung sein könnte.



Abb. 50: Modell zur Erklärung der Feinstruktur der Domänen von M-*ent-syn*-2,3-DHO-LB-Filmen (Zeichnung nicht maßstabsgerecht).

IRRAS-Messungen

In Abb. 51 ist je ein für kleine Flächenwerte repräsentatives IRRA-Spektrum eines *rac*-und *ent*-Films dargestellt.



Abb. 51: IRRA-Spektren eines (a) M-*rac-syn*-2,3-DHO- ($A = 0,226 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$) und (b) M-2S,3*R*-DHO-Films ($A = 0,288 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ im Bereich 3000 – 2700 und 2000 – 1200 cm⁻¹, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C).

Neben den sehr intensiven Banden der asymmetrischen und symmetrischen v(CH₂)-Schwingung bei 2916 bzw. 2850 Wellenzahlen, die anzeigen, daß die Ketten in diesem Status in einer *all-trans*-Konformation vorliegen, ist die Bande der v(C=O)-Schwingung bei 1724 cm⁻¹ zu erkennen, die eine Schulter bei 1740 cm⁻¹ aufweist, sowie die der δ (CH2)-Schwingung bei 1467 (*rac*) bzw. 1469 cm⁻¹ (*ent*). Die letztgenannte Bande, bzw. die Tatsache, daß ihre Positionen differieren, unterstützt die Annahme des Vorliegens verschiedener Subzelltypen; die IRRA-Messungen sprechen beim *rac*-Film am ehesten für eine hexagonale, beim *ent*-Film für eine trikline Subzelle.

Vor allem im Bereich der LE-Phase bestanden z.T. aufgrund eines mitunter relativ hohen Rauschniveaus Schwierigkeiten, die exakten Bandenpositionen im Bereich von 1800-1400 cm⁻¹ zu bestimmen. Mit Eintritt des Kondensationsvorgangs besserte sich jedoch die spektroskopische Lage. Die Gesamtheit aller Spektren betrachtend fällt eine Modifikation der Esterbande auf, die während der Reduktion der Flächenwerte auftritt. Bei großen Flächenwerten sind häufig gesplittete Banden zu sehen, mit Komponenten bei 1734, 1720 und 1704 cm⁻¹, die das Vorliegen von un-, mono- und diprotonierten Carbonylgruppen nahelegt, wobei die Komponente bei 1735 cm⁻¹ die intensivste und die bei 1704 die schwächste ist. Mit zunehmender Kompression gleichen sich die Bandenanteile von 1734 und 1720 cm⁻¹ einander an, um kurz vor dem Kollapspunkt das in Abb. 51 gezeigte Erscheinungsbild anzunehmen. Eine mögliche Interpretation bestünde darin, anzunehmen, daß – wie im Falle der M-17,18-DHO - die Esterfunktion bei kleinen Flächen/Molekül vollständig in der Z-Konformation vorliegt, die Carbonylgruppe durch die Methoxygruppe und die benachbarten Moleküle weitgehend von einer Solvatation abgeschirmt ist, was die Schulter bei 1740 cm⁻¹ erklärt, daß sich aber teilweise intramolekulare H-Brücke zwischen dem Wasserstoffatom der Hydroxylgruppe am C₂- und/oder C₃-Atom und dem Sauerstoffatom der Carbonylgruppe ausbildet (und eventuell auch zum Sauerstoffatom der Methoxygruppe), so daß sich fünf- und/oder sechsgliedrige Ringe konstituieren. (s. nachstehende Abb. 52).



Abb. 52: Modell intramolekularer H-Brücken bei M-2,3-DHO-Amphiphilen zur Erklärung der Form und Position der Esterbande im IRRA-Spektrum.

Aufgrund der gegebenen Geometrie würde es sich allerdings nicht um eine klassische H-Brücke handeln (der Winkel zwischen den beteiligten Atomen der H-Brücke beträgt lediglich $\sim 110^{\circ}$ bzw. 150°), dennoch kann angenommen werden, daß durch die Kompression der Monoschicht, eine räumliche Nähe erzwungen wird, die dazu führt, daß Elektronendichte vom Sauerstoffatom auf das Proton der OH-Gruppe übertragen wird. Weitere Unterschiede zwischen dem *rac-* und *ent-*Film ergeben sich in bezug auf die kompressionsabhängigen Werte der Wellenzahlen der asymmetrischen Methylenvalenz-schwingung, die in Abb. 53 wiedergegeben sind.



Abb. 53: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für Filme von M-*rac-syn*-2,3- und M-2*S*,3*R*-DHO auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 293 K (20 °C). Mittelwerte aus 9 (*rac*) bzw. 10 (*ent*) Einzelmessungen

Im Gegensatz zu allen anderen vermessenen M-DHO-Isomeren fällt hier eine nahezu perfekte Korrelation mit den thermodynamischen Merkmalen auf, und zwar in doppelter Hinsicht.

Zum einen in bezug auf die Entwicklung der Datenpunkte, die der entspricht, die das Durchlaufen der verschiedenen Phasen erwarten lassen würde. Zu Beginn der Kompression liegen die Wellenzahlen bei ~ 2924 cm⁻¹ (deutlich niedrigere Werte als bei den anderen Regioisomeren im entsprechenden Kompressionszustand), sinken dann langsam bis zu einem Flächenwert von ca. 0,45 nm²/Molekül, der mit dem des in den Isothermen gefundenen Phasenübergangspunkt gut übereinstimmt, auf 2923 cm⁻¹ ab, um dann anschließend innerhalb des LC/LE-Koexistenzbereichs sehr viel rascher bis zum Kollapspunkt auf ~ 2917 Wellenzahlen abzufallen.

Zum anderen stimmt auch das Vorzeichen der chiralen Diskriminierung überein. Man ist geneigt, dies auch vom Ausmaß zu sagen, doch ist bei solchen Aussagen generell Vorsicht geboten, wenn sie im exakt quantitativen Sinne gemeint sind; der Entwicklungsstand der Theorie erlaubt es bisher nicht, aus Differenzen von Oberflächendrücken, die in Π/A -Isothermen für racemische und enantiomerenangereicherte Filme registriert werden, entsprechende Unterschiede der Wellenzahlniveaus abzuleiten bzw. vorherzusagen. Dennoch ist

auffällig, daß sich sowohl die schwache homochirale Diskriminierung innerhalb der LE-Phase als auch die stärker ausgeprägte, die innerhalb der Plateauregion zum Ausdruck kommt, auch in den IRRAS-Messungen als geringe und größere Differenz der Wellenzahlen manifestiert.

Ob es beim racemischen Film zu einem chiralen Symmetriebruch kommt (Bildung enantiomerenreiner Domänen), kann nicht eindeutig beantwortet werden. Die Angleichung der Wellenzahlen zum Ende der Kompression spricht dafür, ist jedoch kein zwingendes Indiz. Die GIXD-Untersuchungen^[90] zeigen dagegen Hinweise auf die Bildung von Antipoden-Dimeren, ähnlich wie im Fall der M-*rac-anti*-9,10-DHO-Monoschicht aber im Unterschied zu ihr können sich hier zwischen den beiden beteiligten Enantiomeren zwei H-Brücken ausbilden, so daß hier ebenfalls eine heterochirale Kennung vorläge. Ein Modell der Subzelle, das die aus den Röntgenmessungen abgeleiteten Strukturparameter berücksichtigt, ist in Abb. 54 dargestellt.



Abb. 54: (A) Blickrichtung zum Erhalt der in (B) verwendeten Newman-Projektionen, sowie Darstellung der Subzelle und Antipoden-Dimeren des (B) M-*rac-syn*-2,3-DHO-Films in der LC-Phase.

Weitere Aufmerksamkeit verdient darüber hinaus der Wiederanstieg der Wellenzahlen beim *ent*-Film für Flächen $< 0.25 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$, der hochsignifikant ist (die Fehlerschranken sind in diesem Bereich kleiner als der Durchmesser der Datenpunkte) und dazu führt, daß sich die Werte der beiden Filme kurz vor dem Kollapspunkt wieder angleichen. Nicht auszuschließen ist, daß es sich hier um ein Phänomen handelt, das bisweilen bei bereits vor dem Kollapspunkt beginnenden 3D-Nukleationsprozessen beobachtet wird. Andererseits sprechen sowohl die BAM-Studien als auch der fast senkrecht verlaufende Oberflächendruckanstieg kurz vor dem Kollapspunkt dagegen; es ist eher davon auszugehen, daß sich ein distinkter, abrupter Kollapsprozess gemäß des "Fraktur-Mechanismus" vollzieht. Dies eröffnet statt dessen die Möglichkeit, einen Zusammenhang zu den oben geschilderten, im AFM beobachteten Strukturen herzustellen. Denkbar wäre, daß die Amphiphile der *ent*-Monoschicht entweder von einem Zustand kollektiv gleichgerichteter oder einem solchen ohne Neigung, in einen Zustand übergehen, der in Abb. 50 illustriert ist, in dem weder eine Positions- noch eine Orientierungsfernordnung gegeben ist und somit eine weniger eng und regelmäßig gepackte Struktur der Alkylketten reflektiert, die im IR entsprechend höhere Werte der Signale der v_{as}(CH₂)-Schwingung hervorruft. Damit wäre auch zu erklären, warum Fix *et al.*^[90] in GIXD-Experimenten bei der enantiomerenangereicherten Monoschicht selbst bei sehr hohen Oberflächendrücken keine Beugungsreflexe detektieren konnten. Dies ist gleichzeitig ein Hinweis darauf, daß die im AFM beobachteten Strukturen nicht erst durch den Transfer auf den festen Träger induziert werden, sondern bereits vorher auf der wäßrigen Subphase vorliegen.⁷

In der Literatur findet sich neben den bereits in diesem Abschnitt zitierten Arbeiten nur eine weitere, in der das Grenzflächenverhalten racemischer und enantiomerenreiner Amphiphile verwandten Typs miteinander verglichen wurden. Bei der Untersuchung von Langmuir-Filmen von 2-Hydroxyhexadecansäure durch Neumann et al.^[83] wurde auf thermodvnamischer Ebene eine leicht homochirale und mit Hilfe der IRRA-Spektroskopie in bezug auf den Grad der konformativen Ordnung eine schwach heterochirale Diskriminierung diagnostiziert, wobei letztere allerdings aufgrund der geringen Anzahl von Wiederholungsmessungen nicht als signifikant eingestuft werden konnte. Davon abgesehen weisen die Π/A -Isothermen und der Verlauf der Datenpunkte der vas(CH2)-Schwingung, vom Gesamtcharakter her betrachtet, für den Fall der reinen wäßrigen Subphase eine sehr große Ähnlichkeit zu den hier präsentierten Ergebnissen auf. Bemerkenswerterweise gelang es bei der 2-Hydroxyhexadecansäure, das Vorzeichen der chiralen Diskriminierung über die Wahl der Zusammensetzung der Subphase zu steuern: Bei IRRAS-Messungen im Bereich kleiner Flächen pro Molekül wurde auf bleikationenhaltiger Subphase eine signifikante heterochirale und bei Anwesenheit von Zn²⁺-Ionen eine signifikante homochirale Diskriminierung festgestellt. Zurückgeführt wurde dieses Phänomen auf eine offenbar stereospezifische Komplex-

⁷ Die Vorbehalte, die gegenüber vergleichenden Untersuchungen von Langmuir- und Langmuir-Blodgett-Filmen geltend gemacht werden, sind generell berechtigt, weil die unterschiedlichen Substrate und in der Folge Wechselwirkungen mit der Kopfgruppe häufig einen entscheidenden Einfluß auf die Organisation der Monoschicht insgesamt haben. Dies ist insbesondere bei den sogenannten sich selbst-anordnenden Monolagen (*self assembled monolayer*, SAM) der Fall, in deren Zusammenhang gerne das Fundamentalprinzip der Selbstorganisation der Materie zitiert wird. Der Autor hält die Verwendung des Terminus der Selbstorganisation in diesem Zusammenhang für nicht angebracht. Ebenso würde wohl niemand auf die Idee kommen, hinter einem Ensemble von Eiern in einer vorgeformten Eierschale das Wirken eines solchen Prinzips zu vermuten. Milder ausgedrückt, soll hier der Hinweis darauf gegeben werden, daß der *templatdirigierende* Effekt des Substrats häufig enorm unterschätzt wird. Dies gilt ganz besonders für die am intensivsten untersuchte Gruppe der Thiole auf Goldträgern.

bildung zwischen der Hydroxyl- und/oder Säurefunktion mit den im Sinne des Pearsonschen HSAB-Konzepts unterschiedlich harten Metallkationen.

Der Grund für die, wenn überhaupt nur schwachen, chiralen Wechselwirkungen bei den Monoschichten der 2-Hydroxyhexadecansäure im Gegensatz zu den deutlich ausgeprägteren bei den Filmen der M-2,3-DHO kann vielerlei Ursprungs sein; der auffälligste Unterschied zwischen diesen Verbindungen ist in dieser Hinsicht jedoch die unterschiedliche Zahl stereogener Zentren – ein Gedanke, der im folgenden Unterkapitel wieder aufgegriffen wird.

3.3. Zusammenfassende Diskussion

In diesem Kapitel wurden drei verschiedene Regioisomere vicinal dihydroxylierter Methyloctadecanoate untersucht. Die Lage der Diolgruppierung wurde so variiert, daß prinzipiell unterschiedliche Topologien resultieren: Ein klassisches Bolaamphiphil beim endständigen M-17,18-DHO, ein bipolares Amphiphil beim mittenständigen M-9,10-DHO und ein gewöhnliches monopolares beim M-2,3-DHO, bei dem die zweite polare Gruppierung direkt zur Estergruppe benachbart ist, die zusammen als eine einzelne, vergrößerte Kopfgruppe aufgefaßt werden müssen.

Erwartungsgemäß zeigte sich, daß die Variation der Lage der zweiten polaren Gruppierung, oder anders ausgedrückt die Länge des hydrophoben Spacers zwischen ihnen, einen entscheidenden Einfluß auf das Grenzflächenverhalten dieser Amphiphile hat. Ein Vergleich zwischen den Diastereomeren gleicher Regioisomere (M-*syn*- und M-*anti*-9,10-DHO) und der Vergleich zwischen racemischen Mischungen und den jeweiligen enantiomerenangereicherten Verbindungen macht das Wirken weiterer stereochemischer Einflußfaktoren deutlich. Zusammengenommen liegt ein hochgradig komplexes Wechselspiel von Bestimmungselementen vor, die die Affinität unterschiedlicher Teile der Amphiphile zur Subphase steuern, die das Verhältnis von attraktiven van-der-Waals-Kräften und H-Brücken einerseits und sterischer Repulsion von Hydroxylgruppen, die als Packungsstörelemente wirken andererseits, vermitteln und die die chiralen Wechselwirkungsmöglichkeiten durch die gegenseitige Orientierung der stereogenen Zentren zueinander determinieren.

(a) Von den untersuchten Verbindungen nimmt M-*syn*-9,10-DHO eine Sonderstellung ein: Im Gegensatz zu den 2,3- und 17,18-Isomeren konnten weder auf thermodynamischer Ebene noch im Rahmen der IRRAS-Messungen chirale Diskriminierungseffekte festgestellt werden und die Monoschichten sind von deutlich expandierterem Charakter, mit einer ausgeprägten, bei sehr großen Flächenwerten beginnenden LE-Phase und einem relativ hochliegendem Plateau in der Π/A-Isotherme. Dies ist vermutlich auf eine höhere Affinität der vicinalen Hydroxylgruppen zur Subphase zurückzuführen, die eine Orientierung der Amphiphile bedingt, in der sie eine große Fläche pro Molekül okkupieren, so daß sie bereits zu einem frühen Zeitpunkt der Kompression miteinander in Wechselwirkung treten. Unter der Annahme, daß sich die OH-Gruppen auch im weiteren Verlauf nicht von der Subphase ablösen, erklärt sich der relativ große Energieaufwand, der für das Zusammenschieben des Films nötig ist. Im Unterschied dazu wird bei den anderen Diastereomeren entweder von einem Flip-Prozeß ausgegangen, oder es liegt von vornherein ein monopolares Amphiphil vor, so daß sich Möglichkeiten ergeben, dem äußeren lateralen Druck länger auszuweichen, was zu vergleichsweise niedrigen Oberflächendrücken der Plateauregionen führt.

(b) Die Lage der Diolgruppierung hat auch in den Fällen weitere Auswirkungen, in denen bei kleinen Flächenwerten eine im wesentlichen vertikale Orientierung vorliegt. Die kleinsten Wellenzahlen der vas(CH2)-Schwingung wurden beim M-anti-9,10-DHO gemessen, etwas höhere weisen die Filme von M-syn-2,3- und M-17,18-DHO auf. Gleichzeitig wurde bei den GIXD-Messungen festgestellt, daß die M-anti-9,10-Amphiphile keine, die M-syn-2,3- und M-17,18-DHO-Amphiphile dagegen eine Neigung von ca. 25° aufweisen. Dieser Sachverhalt kann wie folgt gedeutet werden: Die van-der-Waals-Kräfte zwischen den hydrophoben Segmenten der Alkylketten sind umso wirksamer, je näher sie sich kommen. Die Querschnittsfläche des die vic-OH-Gruppen tragenden Segments ist etwas größer als die einer Methylengruppe, so daß sie zunächst eine Annäherung unter einen bestimmten Schwellenwert verhindern. Dies kann jedoch im Fall der Extreme (2,3- und 17,18-Isomere) umgangen werden, in dem sich die Moleküle neigen, ohne daß sich an den H-Brücken-Verhältnissen entscheidendes ändert. Bei dem mittenständigen Isomer ist dies nicht so ohne weiteres möglich, es liegen ausgeglichene Verhältnisse vor zwischen der summarischen Stärke der vdW-Kräfte und den attraktiven Wechselwirkungen, die über die H-Brücken vermittelt werden. Der Unterschied zwischen den 2,3- und 17,18-Isomeren besteht nun darin, daß durch die Stellung beim 2,3-Isomer - unabhängig vom Neigungswinkel - eine insgesamt größere Kopfgruppe resultiert, die einen entsprechend größeren Flächenbedarf bewirkt, was sich insbesondere in der Endphase der Kompression auswirken müßte. Das könnte evtl. der Grund für das bei höheren Oberflächendrücken verlaufende Plateau sein.

(c) Sieht man zunächst von konkreten Größenskalen ab, auf denen sich chirale Diskriminierungseffekte offenbaren, so ist festzustellen, daß die Lage der OH-Gruppen entlang der Kette für die Frage, ob sie überhaupt auftreten, irrelevant ist. Zieht man alle angewandten Untersuchungsmethoden in die Betrachtung mit ein, bildet M-17,18-DHO eine Ausnahme. Es ist das einzige Isomer, bei dem der rac- und ent-Film ein absolut identisches Phasenverhalten, d.h. auf thermodynamischer Ebene kein chirales Verhalten zeigen. Dabei konnten mit Hilfe der anderen Methoden (BAM, IRRAS, GIXD) z.T. beträchtliche chirale Effekte beobachtet werden, beispielsweise unterscheiden sich die Domänenformen stark voneinander. Das 17,18-Isomer unterscheidet sich von den anderen dadurch, daß es nur ein stereogenes Zentrum enthält; die OH-Gruppe am C18-Atom bzw. deren Wechselwirkungen zu anderen OH-Gruppen tragen nichts zu chiralen Wechselwirkungen bei. Es ist daher denkbar, daß die schwächeren chiralen Kräfte, hervorgerufen durch nur ein stereogenes Zentrum, zwar ausreichen. um auf molekularer (Konformationsordnung) und struktureller Ebene (Packungsanordnung, Subzelle) und auch in bezug auf die Morphologien (Domänenform) Unterschiede hervorzurufen, daß sie aber nicht stark genug sind, um das Phasenverhalten zu beeinflussen.

(d) Bei den Verbindungen, die chirale Effekte zeigen, wurden Anhaltspunkte dafür gefunden, daß bei den racemischen Filmen eine einheitliche Tendenz zur Bildung von Antipoden-Dimeren vorherrscht und somit die chirale Diskriminierung als heterochirale Kennung einzuordnen ist (die sich gleichwohl unterschiedlich äußern kann). Des weiteren wurde als Triebkraft dafür die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen erkannt. Dies wurde durch Untersuchungen an ausgewählten Vertretern entsprechender dimethoxylierter bzw. diacetoxylierter Verbindungen an der Luft/Wasser-Grenzfläche untermauert, bei denen sie chiralen Effekte entweder völlig verschwunden oder auf ein sehr kleines Ausmaß geschrumpft sind.^[84]

Damit hat sich im Grunde auch erneut, d.h. bei einer weiteren Klasse von Amphiphilen, die These bestätigt, nach der die Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen eine wesentliche Voraussetzung für das Auftreten chiraler Diskriminierungseffekte in zweidimensionalen Systemen ist. Umgekehrt ausgedrückt, scheint es häufig nicht auszureichen, daß überhaupt stereogene Zentren, sprich Zentren, die eine komplett asymmetrische Räumlichkeit erzeugen, zugegen sind, solange sich dies nicht auch in entsprechenden asymmetrischen Kräften widerspiegelt, die darüber hinaus anscheinend eine bestimmte minimale Reichweite und Stärke haben müssen.

4. Biomimetische Systeme – Wechselwirkungen von Modellmembranen mit Peptiden

Die Eignung von Langmuir-Filmen für die Untersuchung von bestimmten Fragestellungen im Bereich der Biomembranforschung wurde in der Vergangenheit in zahlreichen Arbeiten belegt. Ahlers *et al.*^[98] fassen in einem Übersichtsartikel die Aufsätze bis zum Jahr 1990 zusammen. Ein eindrucksvolles Beispiel aus jüngerer Vergangenheit, ist das Studium der enzymatischen Hydrolyse von Phospholipiden durch Phospholipase, die mit Hilfe der IR-Spektroskopie,^[99-101] der Röntgenbeugung unter streifendem Einfall (*grazing incident X-ray diffraction*, GIXD),^[102] sowie der Fluoreszenz-^[103,104] und Brewster-Winkel-Mikroskopie^[105] beobachtet wurde. Dies verdeutlicht auch die Vielfalt der potentiell zum Einsatz kommenden Untersuchungsmethoden. Die beiden wichtigsten anderen biomimetischen Methoden sind Studien anhand von uni- oder multilamellaren Vesikeln oder von multilamellaren Lipid-Doppelschicht-Dispersionen. Ungeachtet der zweifellosen Erfolge, die mit diesen Systemen in bezug auf eine ganze Reihe verschiedener Fragestellungen errungen wurden, weisen sie doch gegenüber Langmuir-Filmen einige inhärente Nachteile auf:

- Der Bereich, in dem die Lipidzusammensetzung variiert werden kann, ohne damit auch die Oberflächenkrümmung und den Phasenzustand der Modellmembran zu beeinflussen, ist beschränkt.
- Es ist kaum möglich, unabhängig voneinander die laterale Packung der Lipide einerseits und die Lipidzusammensetzung andererseits zu regulieren.
- Es ist generell schwierig auch bei gegebener Lipidzusammensetzung den physikalischen Zustand (z.B. die Größe der Vesikel bzw. ihre Größenverteilung) solcher Dispersionen zu reproduzieren, da er in hohem Maße von der Präparationsmethode beeinflußt wird.
- Die Zugabe der Peptide oder Proteine erfolgt häufig bereits beim Präparieren dieser Phasen. Dies stellt, insbesondere bei multilamellaren Systemen, insofern ein Manko dar, als die Peptide einem im Vergleich zur extrazellulären Sphäre natürlicher Zellmembranen artifiziellen Medium ausgesetzt werden, das bereits zu strukturellen Veränderungen oder zur Bildung von Assoziaten führen kann.

Der Gerechtigkeit halber, soll auch ein wesentlicher Nachteil von Langmuir-Filmen nicht unerwähnt bleiben, der gewissermaßen in der Natur der Sache liegt: Ein Langmuir-Film repräsentiert nur eine Hälfte einer Lipid-Doppelschicht einer Membran, so daß beispielsweise Studien von transmembranen Proteinen im Prinzip nicht durchgeführt werden können. Eine Übersicht über die generellen Möglichkeiten und Vorzüge des Einsatzes von Monoschichten als Modellmembranen und die zur Anwendung kommenden Methoden findet sich in [106].

Im folgenden wird zunächst eine generelle Einführung in das unübersichtliche Feld des Gegenstandes dieses Kapitels gegeben: Antimikrobielle Peptide. Sodann erfolgt eine kurze Charakterisierung des konkreten Vertreters dieser Substanzklasse, der im Rahmen dieser Arbeit näher untersucht wurde, nämlich das Surfactin.

4.1. Antimikrobielle Peptide

Ein aktuelles Problem im Feld der Biomembranforschung ist die Aufklärung des Wirkmechanismus von natürlich vorkommenden, antimikrobiell wirksamen Peptiden – häufig auch als Peptid-Antibiotika bezeichnet. Sie machen den zur effektiven und pathogen-spezifischen aber im Vergleich zur Proliferationsrate von Mikroben relativ langsam reagierenden Immunabwehr komplementären Teil des Immunsystems einer ganzen Reihe verschiedenster Lebewesen bzw. Organismen aus, darunter Bakterien, Protozoen, Pflanzen, Insekten, Fische, Amphibien und Säugetiere, einschließlich des Menschen.^[107]

Der Grund für das wachsende Interesse, das den antimikrobiellen Peptiden (AP) entgegengebracht wird, ist v.a. in der allgemeinen Zunahme schwerer Pilzinfektionen sowie dem vermehrten Auftreten von Multiresistenzbildungen bei Bakterien gegenüber konventionellen Antibiotika zu suchen, die nicht zuletzt durch ihren weltweiten und häufig überreichlichen und unsachgemäßen Einsatz (z.B. als sog. Leistungsförderer in Mastbetrieben der Landwirtschaft) hervorgerufen werden. Es ist daher eine vordringliche Aufgabe der medizinischen Forschung, dieser Herausforderung durch die Entwicklung neuartiger Antibiotika zu begegnen. Des weiteren besitzen einige AP auch antivirale Wirkung. So wurde kürzlich gezeigt, daß der Hauptbestandteil des Bienengiftes, Melittin, die Vermehrung von Humane Immunschwäche-(HI)-Viren *in vitro* hemmt.^[108] Auch bei der Bekämpfung anderer gefährlicher Infektionskrankheiten, für die bisher nur mäßig wirksame Therapeutika zur Verfügung stehen, wie z.B. die durch *Plasmodium falciparum* hervorgerufene Malaria tropica, an der bis heute jährlich ca. 1 Mio. Menschen sterben, sind AP – natürliche oder synthetisch modifizierte Derivate – aussichtsreiche Kandidaten für hochpotente neue Wirkstoffe.^[109]

Historischer Überblick und aktuelle Entwicklungen

Schon seit über 50 Jahren ist bekannt, daß beispielsweise die *Thionine* der Pflanzen *in vitro* das Wachstum von Bakterien und Pilzen hemmen, und bereits in der Zeit nach dem ersten Weltkrieg konnte gezeigt werden, daß die Injektion von Bakterienkulturen in Insekten die Bildung von Substanzen induzierte, die die Bakterien auflösen. Dennoch ist der Forschungszweig der endogenen AP eukaryontischen Ursprungs noch recht jung. Vor allem zwei Ereignisse markieren Meilensteine auf diesem sich von nun an stürmisch entwickelnden Sektor.⁸ Zum einen die Entdeckung und Aufklärung der Struktur des ersten natürlich vorkommenden AP in der Seidenraupe (*Hyalophora cecropia*; danach *Cecropin* genannt) im Jahre 1980 durch H.G. Boman;^[110] im folgenden Jahrzehnt wurde eine ganze Reihe weiterer AP bei Insekten gefunden. Und zum anderen beobachtete M. Zasloff 1987, daß Frösche nach unsterilen chirurgischen Eingriffen keiner Antibiotika zur Wundheilung bedurften, woraufhin es ihm gelang, aus der Haut des afrikanischen Klauenfroschs (*Xenopus laevis*) zwei AP

⁸ Zur Illustration dieses Sachverhalts mag die Entwicklung der Zahl der Einträge von sequenzaufgeklärten AP in der "Antimicrobial Sequences Database" von A. Tossi (<u>http://www.bbcm.univ.tieste.it/~tossi/pag1.htm</u>) dienen (die lediglich eukaryontische AP berücksichtigt): wies sie zum Ende des Jahres 1980 erst 10 Einträge auf, waren es 1990 bereits 120, und wuchs schließlich bis zum Ende des Jahres 2001 auf über 700 an.

(*Magainin* 1 und 2) zu isolieren.^[111] Bei Insekten und Amphibien stellen AP den Hauptschutz gegen eindringende Bakterien, Protozoen und Viren sowie gegen Pilzbefall dar.

Im Gegensatz zum adaptiven Zweig des Immunsystems werden AP bei einer Infektion sehr schnell mobilisiert, oder sie konstituieren und kontrollieren - insbesondere bei höheren Organismen – als Teil der natürlichen Flora auf Epithelzellen (auf denen der Haut, aber auch der Luftröhre und Bronchien und des Darms) eine erste Schutzbarriere gegen eine Vielzahl von Eindringlingen. Neben den drei bisher bekannten Klassen humaner antimikrobieller Peptide von Epithelzellen (die Cathelicidine, Defensine und Protegrine) ist vor nur wenigen Monaten eine vierte Klasse entdeckt worden. Das Dermatologen-Team unter der Leitung von Birgit Schittek von der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen konnte aus den Schweißdrüsen ein AP isolieren, das mit dem Schweiß an die Hautoberfläche tritt und sich dort ausbreitet. Das Dermcidin genannte Peptid besteht aus 47 Aminosäuren, weist bemerkenswerterweise keine Homologie zu anderen AP auf und zeigt ein breites Wirkspektrum gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien sowie gegen Pilze.^[112] Im Unterschied zu den Defensinen und Cathelicidinen, die erst bei Verletzungen oder Infektionen, die bereits eingetreten sind, freigesetzt werden, ist Dermcidin dauerhaft vorhanden. Die Wirksamkeit bleibt unter den leicht sauren pH-Bedingungen des Schweißes erhalten und wird auch durch die hohen Salzkonzentrationen im Schweiß nicht beeinträchtigt. Die Entdeckung von Dermcidin trägt auch zur Erklärung der von Dermatologen immer wieder gemachten Beobachtung bei, daß Hautinfektionen und Ekzeme gehäuft bei Personen auftreten, die sich sehr häufig waschen - und zwar auch, wenn sie pH-neutrale Seifen verwenden. Hatte man bisher geglaubt, daß vor allem der saure pH-Wert an der Hautoberfläche der wichtigste Schutzmechanismus wäre, muß diese Ansicht nun korrigiert werden, da der Schutz offenbar hauptsächlich durch diese antimikrobielle Substanz bewirkt wird. Es ist vorstellbar, daß die Anwendung von Dermcidin längerfristig eine therapeutische Bedeutung bei Neigung zu vermehrten Hautinfektionen erlangen kann. Überdies wird auch über einen prophylaktischen Einsatz nachgedacht.

Eine andere aufsehenerregende Entdeckung wurde vor kurzem von einem Team gemacht, das die Lebensweise des australischen Salzwasserkrokodils (Leistenkrokodil, *Crocodylus porosus*), des größten Reptils der Erde, erforscht, das in brackigen, mit Bakterien hochgradig verseuchten Gewässern lebt. Der Biologe Anton Britton machte u.a. die Beobachtung, daß selbst tiefe und großflächige Wunden, die sich die Krokodile z.B. gegenseitig bei Revierkämpfen beibringen, rasch und vollständig abheilen. Daraufhin suchte G. Diamond im Blut dieser Tiere nach einem antibiotischen Wirkstoff. Der unter Verdacht stehende Kandidat ist ein isoliertes Peptid, dessen Struktur allerdings bisher nicht aufgeklärt werden konnte. Versuche, die mit Bakterienkulturen gemacht wurden, zeigten, daß es einem neuen "Super-Antibiotikum" gleicht: es wirkte bakterizid auch auf solche Kulturen, die gegen alle bekannten Antibiotika resistent sind.^[113] Interessant ist weiterhin, daß ein solcher Inhaltsstoff im Blut von Tieren, die in Gefangenschaft gehalten wurden, nicht gefunden werden konnte. Ergebnisse, die in eine ähnlich erfolgversprechende Richtung weisen, wurden zuvor bereits bei Untersuchungen des Bluts von Komodo-Waranen (*varanus komodensis*) erhalten.^[114] Bis ein neues Medikament zur Marktreife gebracht sein wird, bedarf es allerdings noch erheblichen Forschungsaufwands.

Struktur und unterschiedliche Wirkprinzipien

Ungeachtet ihrer Herkunft und ihres Wirkspektrums besitzen die AP einige gemeinsame Eigenschaften:

- sie sind selten aus mehr als 60 Aminosäuren aufgebaut,
- weisen hydrophoben und/oder amphiphilen Charakter auf,
- sie sind im allgemeinen.in der Lage, die Membranen der Pathogene zu permeabilisieren (s.u.), und
- sie tragen eine positive Nettoladung, welche das Anheften an die meist negativ geladenen Konstituenten von Bakterienmembranen fördert.

Demgegenüber weist das Dermcidin selbst eine negative Nettoladung auf, was auf einen wahrscheinlich anderen Wirkmechanismus schließen läßt. Ob es zu der (noch) sehr kleinen Gruppe der Peptide gehört, die nicht die Membranintegrität zerstören, sondern entweder die Zellwandsynthese hemmen (wie beispielsweise das Bacitracin oder auch das erste entdeckte Antibiotikum überhaupt, das Penicillin, welches allerdings kein Oligo-Peptid ist) oder verhindern, daß die Mikroben für sie lebenswichtige Nährstoffe aufnehmen können – zu dieser Gruppe gehört die neue Substanzklasse der *Echinocandine*, die sich bei ansonsten nur schwer zu therapierenden Pilzinfektionen als gut wirksam erwiesen haben – ist noch unklar, aber aufgrund der fehlenden Homologie unwahrscheinlich. Die Erforschung der – bisher noch unbekannten – Wirkweise von Dermcidin ist von grundlegender Bedeutung für das Verständnis der Abwehr von Infektionen der Haut als der wichtigsten Grenzfläche beim Menschen zur Umwelt

4.2. Membranpermeabilisierende Peptid-Antibiotika

Man unterteilt membranaktive AP (die im folgenden schwerpunktmäßig diskutiert werden) gemäß ihrer Biosynthese zunächst in zwei Unterklassen:

- die durch Multienzymkomplexe synthetisierten Antibiotika, die häufig nicht-proteinogene Aminosäuren enthalten; und
- ribosomal synthetisierte Antibiotika.

Bei den letztgenannten unterscheidet man gemäß ihres Ursprungs wiederum zwischen solchen, die von prokaryontischen Zellen (die allgemein als *Bacteriocidine* bezeichnet werden) und denen, die von eukaryontischen Zellen produziert werden, sowie danach, ob sie unmodifiziert auftreten oder posttranslational enzymatisch modifiziert werden (s. Tabelle 1).

Zu der letzteren Untergruppe gehören die von Gram-positiven Bakterien ausgeschiedenen *Lantibiotika*,^[115] die sich, wie die enzymatisch synthetisierten Antibiotika auch, durch die Anwesenheit nicht-proteinogener Aminosäuren auszeichnen, hier speziell der namensgebenden Thioetheraminosäure Lanthionin.

Biosynthese	Produzent	AP (z.T. Auswahl)				
Enzymatisch	Bacillus	Bacitracin, Gramicidin, Polymyxin B, Surfactin, Tyrocidin				
	Streptomyces	Bialaphos, Valinomycin				
	Trichoderma viride	Alamethicin				
Ribosomal (unmodifiziert)	Bakterien	allg. Bacteriocidine (z.B. Lactococcine, Pediocine)				
	Einkeimblättrige Pflanzen	Thionine				
	Insekten	Apidaecin, Cecropine, Hymenoptaecin				
	Krebse	Tachyplesine				
	Amphibien	Brevenine, Magainine				
	Säuger	Cathelidicine, Defensine, Dermcidine, Protegrine				
Ribosomal (posttranslational modifiziert)	Gram-negative Bakterien	Microcine				
	Gram-positive Bakterien	Lantibiotika (z.B. Actagardine, Mersacidin, Nisine)				

Tabelle 1: Klassifizierung von antimikrobiellen Peptiden (AP) nach ihrer Biosynthese, ihrer Herkunft und Überblick über einige wichtige Vertreter.

Wirkweise

Membranaktive AP entfalten ihre Wirkung auf eine andere Weise als konventionelle Antibiotika. Im Gegensatz zu diesen, nimmt man an, daß entlang ihres Wirkpfads keine Rezeptoren oder Enzyme involviert sind.⁹ Wegen dieses Umstands ist die Gefahr der Resistenzbildung von Bakterien durch Mutation sehr gering. AP wirken in einer viel direkteren Weise, indem sie auf unmittelbarem physikochemischen Wege die äußere Hülle der Mikroben entweder durchlöchern, Poren bzw. Kanäle bilden oder komplett zerstören (Lyse), was entweder zum Zusammenbruch physiologisch notwendiger Stoff- oder Potentialgradienten, zum Auslauf essentieller Nährstoffe oder anderer Zellbestandteile oder zur völligen Auflösung der Membran führt.

⁹ Es sind vor allem zwei Befunde, die diese Annahme rechtfertigen: Zum einen, daß alle bis heute untersuchten Peptid-Antibiotika unabhängig von ihrer Aminosäure-Sequenz, Größe, Ladung, Zusammensetzung aus D- oder L-Aminosäuren und ihrer Sekundär- wie Tertiärstruktur eine minimale Inhibitionskonzentration (*minimum inhibitory concentration*; MIC) im mikromolaren Bereich aufweisen; und zum anderen die Tatsache, daß die *all*-D-Enantiomere des Melittins, Cecropins, Magainins und Androctonins, deren natürliche Vertreter ausschließlich aus den entsprechenden L-Aminosäuren aufgebaut sind, dieselbe antimikrobielle Aktivität aufweisen.

Dieser im Hinblick auf die Entwicklung neuer Medikamente als Vorteil zu wertende Mechanismus stellt zugleich einen Nachteil dar, nämlich das im Vergleich zu anderen antibiotischen Substanzen geringere Differenzierungsvermögen zwischen den Zellen der Pathogene und denen ihrer Wirte. Viele von den bisher mehr als 700 entdeckten AP töten nicht nur Mikroorganismen sondern haben auch cytotoxische Eigenschaften gegenüber Säugetier- bzw. humanen Zellen (z.B. Erythrocyten). Dies macht es um so nötiger, die grundlegenden Prinzipien des molekularen Mechanismus von AP zu erforschen, um schließlich auch im Rahmen eines potentiellen *de novo*-Designs neuer zellspezifischerer Derivate auf die Parameter Einfluß nehmen zu können, die ihre Selektivität steuern.

4.2.1. Strukturelle Diversizität und Wirkspektrum

Gleichwohl ihrer gemeinsamen Wirkweise, zeigen membranaktive AP eine bemerkenswerte strukturelle Vielfalt. Auch die Beziehung zwischen ihrer Struktur und ihres Spektrums antimikrobieller Aktivität ist komplexer Natur, da selbst AP des gleichen strukturellen Subtyps eine unterschiedliche Wirkung auf Gram-positive (G^+), Gram-negative (G^-) Bakterien, auf Hefen, Pilze und Viren sowie auf eukaryontische bzw. Säugetier-Zellen haben können. Bezüglich ihrer Struktur teilt man AP in folgende Klassen ein:^[115-117]

(a) Kurze (≤ 40 Aminosäuren), lineare AP;

Sie besitzen eine hohe Neigung zur Ausbildung einer amphiphilen α -Helix und tragen eine positive Nettoladung; sie machen mit mehr als 150 bekannten Vertretern die größte Klasse aus. Aufgrund ihrer weiten Verbreitung sind sie die am besten untersuchten AP, für die auch bereits Struktur-Wirkungsbeziehungen (*structure activity relationships*, SAR) existieren. Giangaspero *et al.*^[118] konnten zeigen, daß mindestens 7 physikochemische Parameter ihre biologische Aktivität bzw. Selektivität steuern: die Größe und Sequenz, das Ausmaß der Ladung, Hydrophobizität, der Amphipatizität und Helizität sowie der Winkel, der zwischen der hydrophoben und hydrophilen Seite der α -Helix aufgespannt wird. Innerhalb dieser Familie gibt es AP, die

- nur gegen G⁺-Bakterien wirken, wie das Cecropin A;
- aktiv gegenüber G⁺- und G⁻-Spezies sind und darüber hinaus eine fungizide Wirkung haben, wie die Magainine und Dermaseptine, und solche die
- gleichermaßen prokaryontische wie Säugetierzellen attackieren, z.B. Melittin, Pardaxin und das humane cecropinähnliche LL-37.
- (b) AP, die D-AS enthalten;

Aufgrund dieses Umstands zeigen sie in einigen Fällen ungewöhnliche Sekundärstrukturmotive. Gramicidin A weist beispielsweise eine alternierende Sequenz aus D- und L-Aminosäuren auf und bildet eine rechtshändige β -Helix¹⁰ aus. Alamethicin hingegen bildet eine rechtsgängige α -Helix; zudem gehört es gleichzeitig zu der Klasse der Peptaibole [siehe (e)]. Andere wiederum, wie Gramicidin S, Tyrocidin A und das Lipopeptid Surfactin (s. Kap. 4.3.), haben ein makrocyclisches Rückgrat. Diese Klasse zeigt ein breites Wirkspektrum (G^+, G^- und antiviral) und ist in hohem Maße toxisch für Säugetierzellen. Alamethicin und Surfactin gehören darüber hinaus zu den ganz wenigen Vertretern negativ geladener AP, was im Hinblick auf ihren Wirkmechanismus relevant ist, weil Bakterienmembranen durch eine hohen Gehalt acidischer (und damit negativ geladener) Phospholipide charakterisiert sind, so daß hier ein in erster Linie durch elektrostatische Kräfte gesteuerter Mechanismus ausgeschlossen werden kann (s. Kap. 4.2.3.). Ebenso ist unklar, inwieweit die Ringbildung der makrocyclischen AP für ihre biologische Aktivität erforderlich ist. Im Falle des Gramicidins S, dessen Ring eine β -faltblattähnliche Struktur hat, zeigte sich, daß jeder Aminosäureaustausch, der dieses Strukturmotiv stört, zu einem fast kompletten Verlust jeglicher antimikrobiellen Aktivität führt.^[119] Umgekehrt gibt es aber auch Hinweise darauf, daß cyclisierte Analoga von in der Natur vorkommenden linearen AP eine unverminderte Wirkung entfalten.^[120]

(c) AP, die eine oder mehrere Disulfidbrücken enthalten;

In Abhängigkeit von der Anzahl der Disulfidbrücken findet man unterschiedliche Strukturmotive. Die Familie mit einer Disulfidbrücke, zu der bspw. die Brevenine und das Bactenecin gehören, besitzen am C-terminalen Ende typischerweise eine β -Haarnadelstruktur oder weisen eine cyclische β -Schleifenstruktur auf. Sie üben hauptsächlich eine Wirkung auf G⁻-Bakterien. Zu den AP mit zwei Disulfidbrücken gehören die Tachyplesine und Protegrine, die eine bicyclische, antiparallele β -Faltblattstruktur annehmen und zu den Breitband-Peptid-Antibiotika zu zählen sind; außerdem besitzen sie Anti-HIV-Wirkung. Die Defensine sind aus ca. 50 Aminosäuren aufgebaut, bilden 3 oder 4 Disulfid-Brücken und ebenfalls eine β -Faltblattstruktur aus. Die Defensine der Pflanzen und Insekten besitzen zusätzlich eine α -Helix. Die Defensin-Familie ist gegenüber G⁺-, G⁻-Bakterien und verschiedenen Pilzen wirksam. Und schließlich wurde vor kurzem eine weitere Familie mit 3 Disulfidbrücken entdeckt, deren Vertreter eine makrocyclische *Knotenstruktur* besitzen, die dadurch entsteht, daß eine der Disulfid-Brücken durch die beiden anderen hindurch verläuft.

(d) AP, die Thioetherringe enthalten;

Zu ihnen gehören die oben bereits angesprochenen Lantibiotika, die genaugenommen nicht einheitlich strukturiert sind, sondern ihrerseits wiederum in zwei Strukturtypen unterteilt

¹⁰ Die Helix des Gramicidins A ist zwar rechtsgewunden, weist aber einen ungewöhnlich großen Durchmesser auf und enthält Wasserstoffbrückenbindungen, die denen einer β -Faltblattstruktur ähneln, weshalb hier – aller Verwirrung zum Trotz – von einer β -Helix gesprochen wird.

werden (Typ A – längliche Gestalt, positive Nettoladung, Leitmolekül: Nisin; Typ B – globuläre Gestalt, keine oder negative Nettoladung, Leitmoleküle: Cinnamycin, Mersacidin) wobei ihnen gemein ist, daß sie drei 3-10-gliedrige Thioetherringstrukturen aufweisen. Nur die Lantibiotika vom Typ A sind membranpermeabilisierend und im allgemeinen nur gegen G^+ -Bakterien wirksam.

(e) Peptaibole;

Sie zeichnen sich durch einen hohen Gehalt der α -Aminoisobuttersäure aus und gehören gleichzeitig zu den Lipopeptiden, da sie einen *N*-Acylrest am N-terminalen Ende tragen. Ihren Namen haben sie aufgrund der Tatsache erhalten, daß sie am C-terminalen Ende einen 1,2-Aminoalkohol aufweisen, z.B. L-Leucinol. Peptaibole bilden eine α -helicale Struktur vom Typ 3₁₀ aus und zeichnen sich durch eine antimycoplasmatische und antivirale Wirkung aus.

Diese Auflistung beansprucht keine Vollständigkeit, und sie ist wegen der Zugehörigkeit einiger AP zu mehreren Klassen auch nicht eindeutig. Ferner ist anzumerken, daß in verschiedenen Übersichtsartikeln bei Vorliegen mehrerer Merkmale unterschiedliche Klassifizierungen getroffen werden, je nach Betonung des strukturellen Leitmotivs aus Sicht der jeweiligen Autoren. Eine andere gängige Einteilung erfolgt lediglich nach dem Gehalt der am häufigsten auftretenden Aminosäure innerhalb der Peptidsequenz – Tryptophan-, Prolin-, Glycin-, Valin-, Cystein-reich usw.

4.2.2. Die Rolle der Lipidzusammensetzung der Membran

Zur Erklärung der Selektivität der AP bzw. ihres unterschiedlichen Wirkspektrums müssen der unterschiedliche Aufbau der äußeren Hülle der entsprechenden Spezies, ihre Zellwandprofile, und die variierende Zusammensetzung der Lipide der Plasmamembran berücksichtigt werden (s. Tabelle 2).

Tabelle 2: Zellwandprofile und Phospholipidzusammensetzung der Plasmamembranen ausgewählter Organismen nach [121,122]; PG = Phosphatidylglycerol, PS = Phosphatidylserin, PC = Phosphatidylcholin, PE = Phosphatidylethanolamin, CL = Cardiolipin, LPS = Lipopolysaccharid, SM = Sphingomyelin; + = vorhanden, - = nicht vorhanden

Spozios/Zolltyp	Phospholipid-Zusammensetzung [Gew%]						Cholostarol	I DS
Spezies/Zentyp	PG	PS	PC	PE	CL	Andere	Cholesteror	LIS
Fungi								
C. albicans	0	11	4	70	0	15^{a}	-	_
C. neoformans	0	16	51	29	4	0	_	_
Gram-positive B.								
S. aureas	57	0	0	0	5	38 ^b	-	_
S. epidermis	90	0	0	0	1	9	-	-
B. megaterium	40	0	0	40	5	15	-	-
B. subtilis	29	0	0	10	47	14	_	-
Gram-negative B.								
E. coli	6	0	0	82	12	0	-	+
Sal.typhimurium	33	0	0	60	7	0	-	+
Ps. cepacia	18	0	0	82	0	0	_	+
Erythrocyten	0	14	31	30	0	25 ^c	+	_

^a SM ^b lyso-PG ^c SM: 24, Phosphatidylinositol (PI): 1

Die Hülle der G⁻-Bakterien besteht aus einer inneren und einer äußeren Membran. Die äußere Membran kann ebenfalls als Doppelschicht aufgefaßt werden, ist jedoch asymmetrisch aufgebaut, mit einem hohen Anteil stark negativ geladener Lipopolysaccharide (LPS), die sich ausschließlich in der äußeren Monoschicht befinden und einer inneren Monoschicht, die nur aus Phospholipiden zusammengesetzt ist. Unterhalb der äußeren Membran schließt sich eine dünne Peptidoglycan-Schicht (Murein) an, die sie von der inneren Membran trennt und den größten Teil des periplasmatischen Raums ausmacht. Die innere (cytoplasmatische) Membran ist eine reine Phospholipiddoppelschicht und entspricht damit der Cytoplasmatembran von G⁺-Bakterien, die keine äußere Membran besitzen, dafür jedoch eine im Vergleich sehr viel dickere Murein-Schicht, die sie nach außen schützt. In Abb. 55 findet sich eine schematische Wiedergabe der Zellwandprofile von G⁺- und G⁻-Bakterien.



Abb. 55: Schematische Darstellung des Aufbaus der Membran von (A) Gram-negativen und (B) Gram-positiven Bakterien; LPS = Lipopolysaccharid

Obwohl die Lipidzusammensetzung der inneren Membran in Abhängigkeit von der Lebensumgebung der Bakterien variieren kann und auch die Lipid- und Glycolipid-Zusammensetzung innerhalb der Gruppe der G⁺-Bakterien von Stamm zu Stamm stärker variiert, als dies bei den G⁻-Bakterien der Fall ist, gibt es sowohl charakteristische Gemeinsamkeiten gegenüber humanen Erythrocyten (die als repräsentativ für Säugetierzellen betrachtet werden können) als auch typische Unterschiede zwischen G⁺- und G⁻-Bakterien.

Gemeinsam ist ihren inneren Membranen, daß sie – neben einem schwankenden Gehalt an Cardiolipin (CL) – aus einem hohen Anteil negativ geladener Phospholipide (hauptsächlich Phosphatidylglycerol [PG]) und Phosphatidylethanolamin (PE) bestehen. Der Unterschied zwischen ihnen besteht im Verhältnis dieser beiden Lipide: im allgemeinen findet man in G⁻-Bakterien einen weitaus höheren Anteil an PE, das bei ihnen ca. 60-80 % der gesamten Phospholipide ausmacht. Im Gegensatz zu den prokaryontischen Membranen ist für die Säugetierzellen nun charakteristisch, daß ihre äußere Monoschicht der Plasmamembran ausschließlich aus neutralen, bzw. zwitterionischen Phospholipden aufgebaut ist (im wesentlichen Phosphatidylcholin (PC) und Sphingomyelin (SM)). Die innere Monoschicht enthält zu größten Teilen PE und Phosphatidylserin (PS). Daneben zeichnet sich die Doppelschicht durch die Anwesenheit von Cholesterol (in beiden Hälften der Doppelschicht) aus, dem eine membranstabilisierende Funktion zugeprochen wird und als Bestandteil erkannt wurde, der Erythrocyten beispielsweise vor Attacken von Magainin 2 zu schützen vermag.^[123]

Zusammenfassend ergibt sich damit folgendes vorläufiges Selektivitätsmuster:

- Kationische AP sollten über Coulomb-Wechselwirkungen bevorzugt an anionische Bakterienmembranen binden und in einem schwächeren Maß an zwitterionische Säugetierzellen.
- Mit zunehmender positiver Ladung sollte diese Selektivität ausgeprägter sein.
- Mit Zunahme der Zahl hydrophober Seitenkettenreste in der Aminosäuresequenz bzw. mit zunehmendem amphipatischen Charakter sollten auch geladene AP über hydrophobe Wechselwirkungen in stärkerem Maße in der Lage sein, Erythrocytenmembranen zu attackieren.
- Als diskriminierende Faktoren der unterschiedlichen Affinität gegenüber G⁺- und G⁻-Bakterien kommen die Bestandteile LPS und PE in Frage. Während das differenzierende Moment beim LPS elektrostatischer Natur sein dürfte, gibt es Hinweise darauf, daß es beim PE Packungseffekte sind: Zum einen ist die Kopfgruppenfläche des PE kleiner als die Querschnittsfläche der Alkylketten und zum anderen ist es in besonderem Maße dazu befähigt, intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden, was zusammengenommen zu Phasen führt, die durch eine sehr enge Packung der Alkylketten charakterisiert sind.^[124]
- Cholesterol als Komponente in Säugetiermembranen steigert ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber bestimmten AP, wobei auch hier – ähnlich wie beim PE – Aspekte der Membrantopologie und die laterale Organisation ihrer Elemente eine Rolle spielen könnten, so wie ganz generell davon auszugehen ist, daß z.B. die unterschiedliche Neigung der verschiedenen Membranlipide, gekrümmte Oberflächen zu bilden, was insbesondere beim Insertionsvorgang der AP in die Membran von Bedeutung ist, zu einem gewissen Grad die Selektivität steuern. Diese Überlegungen werden im Ergebnis-Teil wieder aufgegriffen.

Als komplizierender Umstand kommt hinzu, daß die AP während des Permeabilisierungsprozesses mit verschieden polaren Fragmenten (geladene Kopfgruppen und innerer hydrophober Alkylkettenkörper) der Membran Kontakt haben, so daß die Bindungsaffinität zur Membranoberfläche nicht einfach mit dem Durchdringungsvermögen gleichgesetzt werden kann. Aus dieser Vielzahl von Faktoren und der Variabilität sowohl in bezug auf die Eigenschaften und Strukturen der AP als auch hinsichtlich des Spektrums der Zusammensetzung der Membranen ergibt sich ein feines Wechselspiel mit einem jeweils spezifischen Optimum der Parameter für die Aktivität der AP gegenüber den verschiedenen Spezies.

4.2.3. Mechanismen der Membranpermeabilisierung

Wenn in den Abschnitten zuvor von einer gemeinsamen Wirkweise der AP gesprochen wurde, so bezog sich dies lediglich auf ihre membranpermeabilisierenden Eigenschaften. Davon zu unterscheiden ist der konkrete Wirkmechanismus auf molekularer Ebene (im Englischen meist: *mode of action*, seltener: *mode of mechanism*; in der Toxikologie ist hingegen mit *mode of action* die Wirkweise und mit *mechanism of action* der Wirkmechanismus gemeint). Sechs verschiedene Modelle sind bisher entwickelt und vorgeschlagen worden,^[120,125] die im folgenden kurz vorgestellt werden sollen.¹¹ Es wird sich zeigen, ob sich der Wirkmechanismus des Surfactins mit einem dieser Modelle vereinbaren läßt, ob sie in abgewandelter Form zutreffen oder ob evtl. gänzlich neue Vorstellungen formuliert werden müssen.

(a) Transmembranes Helixbündel-Modell ("barrel-stave")

Dieses gilt als klassisches Modell und beschreibt die Bildung einer Pore durch ein aggregiertes Bündel membrandurchspannender AP-Moleküle mit α -helicaler Konformation, deren Helixachse senkrecht zur Membranoberfläche gerichtet ist (s. Abb. 56).



Abb. 56: Transmembranes Helixbündel-Modell (*,,barrel-stave*") der Porenbildung in Lipiddoppelschichten durch α-helicale AP

¹¹ Anm.: Da inzwischen fast ausschließlich in englischer Sprache publiziert wird, so daß deutsche Bezeichnungen für Fachtermini z.T. nicht existieren, geschweige denn, daß sie gebräuchlich wären, wird hier weitestgehend auf die Entwicklung deutschsprachiger Ausdrücke verzichtet oder die englische Bezeichnung in Klammern angegeben, um die Verständigung innerhalb der Forschungsgemeinde nicht unnötig zu erschweren.

Die Helixkonformation wird bei einigen AP, die in wäßriger Lösung als strukturloses Knäuel vorliegen, erst in der Umgebung der Lipidmembrane bzw. während des Assoziationsprozesses mit der Membran ausgebildet. Bevorzugt werden diese Helixbündel von stark hydrophoben und nur schwach geladenen AP geformt. Anderenfalls wäre die elektrostatische Abstoßung zwischen den Helices innerhalb eines solchen Assoziats zu groß. Als gesichert gilt, daß Alamethicin auf diese Weise Ionenkanäle bildet, wobei die Zahl der involvierten Helices zwischen 3 und 11 schwanken kann.^[126]

(b) Homodimer-Helixkanal-Modell

In zweierlei Hinsicht stellt das Gramicidin A einen Sonderfall dar. Zum einen wird hier die Pore durch nur eine Helix gebildet, dessen Öffnung im Inneren der Helix entlang verläuft, während im Bündelmodell der Kanal durch die gemeinsam nach innen gerichteten Außenseiten des Helix-Assoziats geformt wird. Und zum anderen besteht die membrandurchspannende β -Helix aus einem Kopf-an-Kopf orientierten Homodimer, weil die Helixlänge eines Gramicidin A-Moleküls aufgrund der kurzen Sequenz (15 Aminosäuren) lediglich der einer Lipidmonoschicht entspricht (s. Abb. 57).



Abb. 57: Darstellung der Porenbildung in einer Lipiddoppelschicht durch zwei Monomere des Gramicidin A mit β -Helixstrukur, die zunächst unabhängig voneinander in den beiden Hälften des Membrankörpers diffundieren und durch eine Kopf-an-Kopf orientierte Dimerenbildung einen durchgängigen Kanal bilden. Man beachte, daß es in der unmittelbaren Nachbarschaft des Kanals zu einer Längenanpassung der Lipide kommt.

(c) Toroidales "Wurmloch"-Modell ("wormhole")

Um die Tatsache erklären zu können, daß auch hochgeladene positive AP transmembrane Helixbündel-Poren ausbilden, die zudem kationenselektive Ionenkanäle sein können, wurde das *barrel-stave*-Modell modifiziert und zum sog. Wurmloch-Modell weiterentwickelt. In diesem Modell formen die negativen Lipidmembranmoleküle, die die positiven Ladungen der AP-Moleküle kompensieren, zusammen mit den Peptid-Molekülen eine toroidale Öffnung der Membran (s. Abb. 58).


Abb. 58: Schematische Darstellung der Bildung einer Pore in Lipiddoppelschichten durch AP gemäß des Wurmloch-Modells.

Dieser Vorgang, der mit einer Reorientierung der Lipidmoleküle an der Grenzfläche zum Helixbündel einhergeht, kann auch eine Vorstufe einer Micellisierung der Membranen sein, die eintritt, wenn die Peptid-Konzentration erhöht wird. Festkörper-NMR- und IR-Untersuchungen sowie Experimente mit Fluoreszenz-markierten Peptiden ergaben, daß Dermaseptine und Protegrine auf diese Weise mit der Membran interagieren.

(d) "Teppich"-Modell ("*carpet*")

Dieses Modell wurde aufgrund experimenteller Befunde entwickelt, die zeigten, daß viele amphiphile AP, die zu kurz sind, um in α -helicaler Konformation die Membran der vollen Schichtdicke nach zu durchdringen, eine in bezug auf die Membranoberfläche parallele Orientierung aufweisen. Zudem vermögen auch AP mit anderen Sekundärstrukturmotiven die Membran zu durchdringen.

Der Vorstellung zufolge verläuft die Membranpermeabilisierung in folgenden Schritten: (i) Anlagerung der zumeist positiven Peptide (wobei die Ladungen häufig entlang der gesamten Oberfläche des Moleküls verteilt sind) an die negative Membranoberfläche, (ii) Ausrichtung der Peptide in der Weise, daß die hydrophobe Oberfläche zu den Kopfgruppen der Phospholipid-Moleküle und die hydrophile in Richtung des äußeren Mediums (Solvent) weist, (iii) Selbstassoziation der Peptide auf der Oberfläche, so daß eine teppichartige Bedeckung der Oberfläche entsteht. Bei der Überschreitung einer bestimmten Peptid-Konzentration kommt es dann zu einer Rotation der Peptide, die eine Reorientierung der hydrophoben AS-Reste in Richtung des hydrophoben Inneren der Lipiddoppelschicht einschließt, und schließlich zu einer weitgehenden Zerstörung der Membranintegrität. Im Gegensatz zum barrel-stave-Modell werden hier keine lokalen AP-Bündel gebildet, und die Peptide durchdringen auch nicht ihrer Länge nach den hydrophoben Körper der Doppelschicht. Es ist vielmehr so, daß die Peptide über den gesamten Prozeß der Permeabilisierung hindurch Kontakt mit den Lipidkopfgruppen behalten. Deshalb bedarf es zur Durchlöcherung der Membran nach diesem Mechanismus einer hohen lokalen Peptid-Konzentration. Ob es in einer Vorstufe dieses Prozesses auch zu einer definierten Porenbildung kommt (im Unterschied zur unspezifischeren Löcherbildung/Permeabilisierung) ist noch unklar, aber nach den Angaben der Autoren dieses Modells eher unwahrscheinlich.^[127]



Abb. 59: Permeabilisierung von Membranen durch AP gemäß des Teppich-Modells. (A) Anlagerung der α -helicalen und positiv geladenen AP an die Membranoberfläche bis eine teppichartige Bedeckung entstanden ist, (B) Bicellenbildung, die eine Vorstufe der (C) Micellisierung ist.

(e) Detergenzeffekt-Modell ("detergent-like")

In diesem Modell eines unspezifischen Wirkmechanismus wird die herbeigeführte Instabilität der Membran schlicht durch den oberflächenaktiven Effekt derjenigen AP erklärt, die Micellen bilden können. Bei kleinen Peptid-Konzentrationen wird lediglich ein leichter Krümmungsdruck (engl.: *curvature strain*) auf die Membran ausgeübt, der nur zu einer lokal begrenzten Störung führt, jedoch nicht zur Aufhebung ihrer Gesamtintegrität. Höhere Konzentrationen bewirken dann zunächst die Bildung von Bicellen (kleine abgegrenzte Stücke der Lipiddoppelschicht, die von den Detergenzmolekülen umschlossen sind) und führen schließlich zur kompletten Micellisierung der Plasmamembran. Zur Durchlöcherung der Membran muß auch hier eine relativ hohe lokale Konzentration von AP-Molekülen vorliegen. Aus jüngsten Modellstudien mit Phospholipid-Vesikeln geht hervor, daß Surfactin seine antimikrobielle Aktivität aufgrund dieses Tensideffekts entfalten könnte.^[128]

(f) In-plane Diffusionsmodell

Verschiedene elektrophysiologische Experimente, bei denen die Leitfähigkeit quer zur Membran in Gegenwart von AP in mittelhohen Konzentrationen gemessen wurde, zeigten, daß einige AP keine definierten Ionenkanäle an distinkten Orten der Membran bilden, sondern es nur zu kurzzeitigen Öffnungen der Membran kommt und die Orte sowie die Leitfähigkeitswerte dieser Poren beständig wechseln. Um diese Befunde erklären zu können, hat Bechinger das *in-plane* Diffusionsmodell entwickelt.^[129] Danach diffundieren die einzelnen, meist positiv geladenen und amphipatischen Peptid-Moleküle unabhängig voneinander entlang der Membranoberfläche und üben nur lokal eine kleine Störung auf die Membran aus, was einem metastabilen Zustand entsprechen soll. Jedoch ändern sie permanent den Abstand und die Orientierung zu den jeweils anderen AP-Molekülen. Sobald nun eine gewisse ,kritische Distanz' zwischen zwei oder mehreren Peptiden unterschritten wird, summieren sich die lokalen Störungen in einer Weise, daß es zur Bildung von durchgehenden aber nur kurzlebigen Öffnungen kommt. Die unterschiedliche Höhe der Leitfähigkeitswerte erklärt sich dann aus dem Wechsel der Anzahl und Winkelverteilung der lokal zusammentreffenden ,Diffusionseinheiten'.

Während für einige gut untersuchte AP eine unzweifelhafte Zuordnung zu einem dieser Modelle vorgenommen werden kann, ist es doch für die Mehrzahl der bekannten AP schwierig, eindeutige Aussagen zu treffen, was einerseits an sich widersprechenden Resultaten liegt, die mit verschiedenen Untersuchungsmethoden gewonnen wurden, andererseits aber auch, weil es sich bei diesen Modellen z.T. um Alternativvorstellungen handelt. Denkbar ist auch, daß die Peptide in Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration und anderer experimenteller Randbedingungen auf unterschiedliche Weise mit der Membran interagieren. So geht man z.B. davon aus, daß alle amphipatischen AP bei hinreichend hohen Konzentrationen einen Detergenzeffekt ausüben. Bei geladenen und bipolaren AP kann zudem erwartet werden, daß der transmembrane elektrische Potentialgradient eine Rolle bei der Assoziation, Ausrichtung und Insertion der Peptide spielt – ein Faktor, der bisher nur ungenügend in die existierenden mechanistischen Modelle integriert wurde.

Die Aufklärung eines konkreten Mechanismus umfaßt in jedem Fall die Beantwortung einer Reihe zu klärender Fragen:

- Ist die Bindung an die Membranoberfläche elektrostatisch gesteuert oder resultiert sie aus hydrophoben Wechselwirkungen?
- Erreichen die AP die Oberfläche als Monomer oder Oligomer?
- Welche Strukturmotivänderungen gehen möglicherweise mit der Bindung an die Oberfläche einher? Kommt es an der Oberfläche zu einer Selbstassoziation der AP,

und wie groß muß die lokale Konzentration sein, die nachfolgend die Permeabilisierung bewirkt?

- Wie sind die AP orientiert, durchdringen sie der Länge nach senkrecht die Membran oder liegen sie flach auf der Oberfläche?
- Induziert die Peptidinsertion eine Phasenänderung der Membranlipide, kommt es evtl. vor und während des Durchdringungsvorgangs zu Entmischungsphänomenen in Peptid-reiche und -arme Lipid-Domänen?
- Mit welchen Bestandteilen der Lipidmoleküle haben die AP während des Penetrationsprozesses Kontakt?

Im Rahmen dieser Arbeit sollte versucht werden, wenigstens einige dieser Fragen für das Surfactin zu beantworten, das im folgenden Abschnitt kurz charakterisiert werden soll.

4.3. Surfactin

Surfactin ist ein Lipopeptid, das von Stämmen des *Bacillus subtilis* produziert wird und seinen Namen aufgrund seiner außergewöhnlich hohen Oberflächenaktivität erhalten hat. Es reduziert beim Gleichgewichtsspreitungsdruck die Oberflächenspannung des Wassers von 72 auf 27 mN/m und ist damit eines der wirkungsvollsten Biodetergenzien, die man kennt. Über die kritische Micellbildungskonzentration (*critical micellar concentration*, CMC) werden unterschiedliche Angaben gemacht; man findet Werte zwischen $3,0 \times 10^{-4}$ ^[130] und $7,5 \times 10^{-6}$ M.^[128]

Arima *et al.*^[131] gelang es 1968 erstmals, es zu isolieren und strukturell zu charakterisieren. Es ist ein cyclisches Heptapeptid, wobei zwei der Aminosäuren die in der Natur sehr seltene D-Konfiguration aufweisen, das über eine Esterbindung mit einer β -Hydroxyfettsäure verknüpft ist, so daß eine Lactonringstruktur resultiert. Genaugenommen handelt es sich beim Surfactin nicht um eine einzelne Verbindung, sondern um ein Gemisch leicht unterschiedlicher Konstitution: die Kettenlänge variiert zwischen 13 und 15 C-Atomen, und sie kann unverzweigt, *iso-* oder *anteiso-*verzweigt sein. In dieser Arbeit wurde nur das *iso-*C₁₅-Surfactin untersucht (s. Abb. 60). Im folgenden wird der Einfachheit halber dennoch nur von *dem* Surfactin gesprochen.



Abb. 60: Konstitutionsformel des *iso*-C₁₅-Surfactins (MG = 1036,36 g/mol)

Surfactin besitzt antivirale^[132,133] – darunter anti-HIV^[134] – und antibakterielle Aktivität, es vermag Tumorzellen zu attackieren^[135] und die Blutgerinnung zu inhibieren,^[131] und es ist fähig, Erythrocyten zu lysieren.^[136] Bezüglich der Biogenese, Produktion und der vielfältigen biotechnologischen Anwendbarkeit des Surfactins sowie seiner Struktur und Struktur-Aktivitätsbeziehungen ist kürzlich ein Übersichtsartikel erschienen, der den Kenntnisstand zusammenfaßt.^[137]

Die antibakterielle Wirksamkeit des Surfactins beruht auf der Wechselwirkung mit den Phospholipiden der Zellmembran und ist konzentrationsabhängig. Bei sehr geringen Konzentrationen ist das Lipopeptid mit den Phospholipidmolekülen vollkommen mischbar. Bei leicht erhöhten Konzentrationen (ca. 1 Molprozent) wird eine Phasenseparation in Surfactin-arme und -reiche Phospholipid-Domänen bewirkt, und bei hohen Konzentrationen (ab ca. 3 Molprozent) wird schließlich die Membranstruktur in erheblichem Maße gestört: zunächst kommt es zur Bildung von Poren bzw. Kanälen durch die Membran, die für Calciumionen frei passierbar sind, so daß der entsprechende Gradient nicht mehr aufrechterhalten werden kann, und schließlich wird die Membran komplett zerstört, indem die Phospholipide micellisiert werden.

Über den konkreten Mechanismus, wie das Surfactin diese Vorgänge *en detail* bewirkt, z.B. ob und welche Rolle die Konformation des Fettsäurerestes für die Verankerung in der Phospholipidschicht spielt oder welche Atomgruppierungen miteinander in Wechselwirkung treten, ist bis heute nur wenig bekannt. Abhilfe können biomimetische Ansätze liefern, von denen Untersuchungen an Monolayern möglich und vielversprechend sind, und es konnten auch bereits einige sehr aufschlußreiche Einsichten anhand solcher künstlichen, die belebte Natur nachahmenden Systeme gewonnen werden.^[138,139] Doch auch derartige Untersuchungen konnten aufgrund der limitierenden Methoden, die zum Einsatz kamen, (Langmuir-Filmwaage, AFM, Röntgen-Photoelektronenspektroskopie) die molekularen Details der Wechselwirkungen nicht zutage fördern.

Darlegung des Untersuchungskonzepts

Die Anwendung der IRRA-Spektroskopie könnte zusammen mit der Langmuir-Filmwaage einen wertvollen Beitrag zur Beantwortung dieser Fragen leisten. Deshalb wurden in dieser Arbeit Mischsysteme aus Langmuir-Filmen von Phospholipiden und Surfactin mit Hilfe dieser Methode untersucht. Um näheren Aufschluß darüber zu erhalten, welche Wechselwirkungen dominieren, wurden verschiedenartige Phospholipide mit unterschiedlichen (neutralen, an- und kationischen) Kopfgruppen eingesetzt. Um den Einfluß der Geometrie des Lipidmoleküls und den der Alkylkettenpackung zu studieren, wurde zusätzlich ein System mit einer *cis*-konfigurierten Doppelbindung innerhalb der hydrophoben Kette untersucht, nämlich Palmitoyloleoylphosphatidylcholin (POPC), das eine konische Gestalt hat (zur Struktur der untersuchten Phospholipide s. Abb. 61).



Abb. 61: Konstitutionsformeln der Phospholipide, die in diesem Abschnitt als Modellmembranen verwendet wurden; DPPC = Dipalmitoylphosphatidylcholin, DPPS = Dipalmitoylphosphatidylserin, DPPG = Dipalmitoylphosphatidylglycerol, POPC = Palmitoyloleoylphosphatidylcholine.

Da die Wirkung des Surfactins auf Membranen konzentrationsabhängig ist, wurden bei Experimenten mit gemischten Monoschichten (Phospholipid/Surfactin) konsequenterweise die Mischungsverhältnisse variiert. Bei der Nachahmung eines Angriffs vom Surfactin auf die äußere Hälfte einer Membran, bei dem das Surfactin unter den Langmuir-Film eines Phospholipids in die Subphase injiziert wird, wurden in ausgesuchten Systemen verschieden hohe Subphasenkonzentrationen eingesetzt. Zudem sind äußerliche physikalische Bedingungen zu schaffen, die die Verhältnisse der Zelle bzw. diejenigen innerhalb der Zellmembran einigermaßen realistisch widerspiegeln. Wichtig ist dies insbesondere in bezug auf den Oberflächendruck, für den nur ein grober Schätzwert bekannt ist und der etwa zwischen 20 und 50 mN/m liegt. Daher wurden die Experimente bei unterschiedlichen Kompressionsstadien des Langmuir-Films ausgeführt, der den Bereich des Schätzwertes umfaßt. In Abb. 62 sind die beiden experimentellen Ansätze noch einmal schematisch vergleichend gegenübergestellt.



Abb. 62: Schematische Darstellung der beiden experimentellen Ansätze. A) Beide Komponenten werden vorher vermischt und gemeinsam gespreitet, und anschließend wird die gemischte Monoschicht in Abhängigkeit von der mittleren Fläche/Molekül mit Hilfe der Langmuir-Filmwaage und/oder der IRRAS-Methode charakterisiert. B) Zunächst wird eine Phospholipid-Monoschicht gespreitet, um anschließend bei konstantem Flächenwert eine Surfactin-Lösung unter die Monoschicht in die wäßrige Subphase zu injizieren, um die zeitliche Entwicklung des Grads konformativer Ordnung zu beobachten.

4.4. Ergebnisse und Diskussion

4.4.1. DPPC

Als Vorbemerkung sei gesagt, daß DPPC das hier am intensivsten untersuchte System ist, weil es quasi einem Präzedenzfall gleichkommt, an dem das Gesamtkonzept und die adäquate experimentelle Handhabe erst entwickelt wurden. Daraus wurden dann die machbaren und notwendigen Versuche für die anderen Phospholipide abgeleitet. Weil es das erste System ist, das hier besprochen wird, werden zudem bestimmte Aspekte ausführlicher behandelt als in den folgenden Abschnitten. Bei Vorliegen analoger Resultate wird dann gegebenenfalls auf das in diesem Unterabschnitt Angemerkte rekurriert.

A) Gemischte Monoschichten

Π/A-Isothermen

Zunächst wurden Π/A -Isothermen für einen reinen DPPC-Film, einen reinen Surfactin-Film sowie für Mischfilme verschiedener Zusammensetzung (Molenbruch Surfactin Xs = 0,25, 0,5 und 0,75) bei 295 K aufgenommen. Die Ergebnisse sind in Abb. 63 dargestellt. Neben der Charakterisierung der Langmuir-Filme der reinen Substanzen als solcher sollten damit zwei weitere Zwecke verfolgt werden: zum einen bilden sie die Basis für die Interpretation der IRRAS-Messungen in bezug auf die Zuordnung der ausgewählten Indikator-Wellenzahlen zu bestimmten Phasenzuständen, und zum anderen erlaubt die thermodynamische Analyse der Mischfilme, wenigstens partiell, Aussagen über die Mischbarkeit der beiden Komponenten zu treffen.

Die Isotherme der reinen DPPC-Monoschicht (Molenbruch Surfactin Xs = 0) stimmt qualitativ mit bisher publizierten überein,^[140] ist allerdings zu etwas größeren Flächenwerten verschoben, wofür die leicht unterschiedlichen pH-Wertbedingungen verantwortlich sein könnten. Der Film durchläuft während der Kompression bei dieser Temperatur mindestens drei Phasen. Bis zu einem Flächenwert von 1,20 nm²/Molekül ist kein Oberflächendruck zu registrieren. Von diesem Wert an liegt eine LE-Phase vor, die beim Phasenübergang 1. Ordnung bei 0,96 nm²/Molekül und 5 mN/m in ein 2-Phasen-Koexistenzgebiet übergeht (LE/LC). Der Wendepunkt zu einer dichtgepackten, kondensierten Phase, in der die Alkylketten der Phospholipidmoleküle ungefähr einen Winkel von 30 Grad relativ zur Oberflächennormalen aufweisen,^[102] liegt bei ca. 0,68 nm²/Molekül. Bei fortschreitender Kompression zeigt die Isotherme einen steilen Anstieg, entsprechend einer sehr niedrigen Kompressibilität. Mit zunehmendem Oberflächendruck verringert sich die Neigung der Ketten, nimmt jedoch aufgrund der Größe der (hydratisierten) Kopfgruppe nicht den Wert Null an.^[141] Bei 0,451 nm²/Molekül und einem Oberflächendruck von 62 mN/m ist schließlich der Kollapspunkt erreicht.



Abb. 63: Π /A-Isothermen von DPPC (Xs = 0), Surfactin (Xs = 1) sowie von gemischten Langmuir-Filmen dieser Komponenten mit Xs = 0.25, 0.5 und 0.75 (pH = 6, T = 295 K). Die mit I-III bezeichneten Abschnitte der Isothermen sind im Text erläutert.

Die Zuordnung zu bestimmten Phasenzuständen beim reinen Surfactin-Film (Xs = 1) aus der Isotherme allein ist mit großen Unsicherheiten behaftet, weil begleitende Untersuchungen, die dies eindeutig erlauben würden (z.B. GIXD), bisher nicht veröffentlicht wurden. Ein Vergleich mit literaturbekannten Isothermen ist hier zudem erschwert, da uneinheitliche Subphasenzusammensetzungen (pH-Wert, Puffer- und Kationengehalt) angewandt und unterschiedliche Surfactin-Isoformen eingesetzt wurden, so daß die charakteristischen Punkte von Isotherme zu Isotherme variieren. Jedoch stimmt die generelle Form der Kurven überein und sie weisen Kennzeichen auf, die sich auch hier wiederfinden: Den mit I bezeichneten Teil der Isotherme eines im wesentlichen linearen, raschen Anstiegs des Oberflächendrucks, einen Umkehrpunkt (entspricht dem Schnittpunkt der Tangente I und II bei $A_t = 1,21 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ und $\Pi_t = 31,5$ mN/m) und den Übergang zum dem mit II bezeichneten Teil, der annähernd ein Plateau bildet. Der Schnittpunkt der Tangente des Parts I mit der x-Achse liefert einen sog. limitierenden molekularen Grenzflächenwert A_0 von 1,50 nm²; dieser Wert kann als einer aufgefaßt werden, bei dem die Moleküle beginnen, eine reguläre Orientierung einzunehmen und miteinander in Wechselwirkung zu treten, ohne jedoch schon dicht gepackt zu sein. Damit stellt er in vielen Fällen eine gute Abschätzung für den Querschnittsflächenbedarf eines einzelnen Moleküls in diesem Zustand dar. Die Tatsache, daß der Umkehrpunkt der Isotherme kein Unstetigkeitspunkt ist und sich auch kein perfekt horizontales Plateau anschließt, spricht dafür, daß es sich nicht um einen Phasenübergang 1. Ordnung handelt. Des weiteren ist auffällig, daß kein ausgezeichneter Kollapspunkt vorhanden ist.

Üblicherweise wird der Kurvenverlauf in Übereinstimmung mit kürzlich erschienenen theoretischen Resultaten aus Computersimulationen^[142] wie folgt interpretiert:^[138,139] Zunächst sind die Surfactin-Moleküle so orientiert, daß der Peptid-Ring horizontal in der Ebene liegt und die Fettsäurereste konformativ ungeordnet aus dem Wasser ragen. Im Part I der Isotherme bilden sich erste Cluster, wobei das *trans/gauche*-Verhältnis der Alkylkette durch intermolekulare hydrophobe Wechselwirkungen zunimmt. Nachdem eine dichteste Packung dieser Orientierung erreicht ist (Umkehrpunkt), kommt es im Part II der Isotherme zu einer kontinuierlichen Reorientierung, bis alle Peptid-Gerüste der Surfactin-Moleküle vertikal ausgerichtet sind. Schließlich wird eine Phase dichtester Packung dieser Orientierung ausgebildet, ohne daß sich ein distinkter Kollapsprozeß anschließen würde; wahrscheinlich schieben sich die Surfactin-Moleküle undefiniert übereinander. Über die Orientierung und den Grad konformativer Ordnung des Fettsäurerestes werden keine eindeutigen Aussagen getroffen.

Die "Mischisothermen" für Xs = 0,25, 0,5 und 0,75 liegen alle zwischen denen der jeweils reinen Komponente, die Phasenübergänge sind entsprechend "verwischter", und die Abweichung von der Horizontalen im Part II ist um so ausgeprägter je gleichanteiliger die Mischung zusammengesetzt ist. Im Gegensatz zur Isotherme des reinen Surfactins weisen sie im Bereich kleiner Flächenwerte einen dritten Ast (in der Abb. 63 mit III bezeichnet) mit einem steilen Anstieg auf. Auffällig ist ferner, daß alle 5 Isothermen einen gemeinsamen Schnittpunkt bei A = 0,553 nm²/Molekül und $\Pi = 41,2$ mN/m haben, dessen tiefere Bedeutung jedoch vorerst verborgen bleibt.

Mischbarkeit des binären Gemisches DPPC/Surfactin

Um erste Hinweise auf die Mischbarkeit der beiden Komponenten zu gewinnen, können die mittleren Werte der Fläche pro Molekül gegen die Zusammensetzung der gemischten Filme bei verschiedenen Oberflächendrücken aufgetragen werden, um dann eine eventuelle Abweichung von oder auch die Bestätigung der Additivitätsregel^[143] festzustellen. Im vorliegenden Fall ergeben sich für $\Pi = 10$, 20 und 30 mN/m kleine positive Abweichungen gegenüber der linearen Additivität, die im Idealfall der kompletten Mischbarkeit gegeben wäre (s. Abb. 64), was für eine unvollständige Mischbarkeit spricht. Die Abweichungen sind bei kleinen Oberflächendrücken stärker ausgeprägt.



Abb. 64: Mittlere Fläche pro Molekül von DPPC/Surfactin-Filmen in Abhängigkeit vom Molenbruch des Surfactins für Π = 10, 20 und 30 mN/m.

Weitere Einsichten in das Mischungsverhalten bzw. bezüglich der Tendenz zur Phasenseparation können erhalten werden, indem unter Zuhilfenahme der Goodrich-Gleichung,^[143] die freie Exzess-Mischungsenthalpie ΔG_M^{ex} berechnet wird:

;

(1)
$$\Delta G_M^{ex} = \int_0^{\Pi} A_M d\Pi - X_{Surf} \int_0^{\Pi} A_{Surf} d\Pi - X_{DPPC} \int_0^{\Pi} A_{DPPC} d\Pi$$

mit A = mittlere Fläche pro Molekül, Π = Oberflächendruck, X = Molenbruch der entsprechenden Komponente des Mischfilms. Positive Werte zeigen an, daß die Wechselwirkung zwischen dem Surfactin und dem DPPC schwächer ist als die der reinen Komponenten untereinander (sog. Unteranziehung); entsprechend Umgekehrtes gilt für negative Werte (Überanziehung). Wie dem Ergebnis in Abb. 65 entnommen werden kann, in der die Werte von ΔG_M^{ex} in Abhängigkeit von dem Molenbruch des Surfactins aufgetragen sind, herrscht bei diesem System die Tendenz zur Entmischung vor. Sie nimmt in der Reihenfolge $Xs = 0.25 \approx 0.5 > 0.75$ ab und steigt bei gleichen Mischungsverhältnissen mit zunehmendem Oberflächendruck. Bis zu einem Oberflächendruck von 10 mN/m ergibt sich die freie Exzess-Mischungsenthalpie unabhängig vom Molenbruch in etwa zu Null, entsprechend einem idealen Mischverhalten. Zur Einschätzung, wie groß das Ausmaß der Phasenseparation beim dynamischen Vorgang der Aufnahme einer Isotherme ist, ob es also zu einer vollständigen Entmischung kommt oder sie unvollständig bleibt, müssen neben der thermodynamischen Datenlage auch kinetische Aspekte berücksichtigt werden. Da insbesondere bei sehr hohen Oberflächendrücken das laterale Diffusionsvermögen der filmbildenden Moleküle häufig stark eingeschränkt ist, ist ein "Einfrieren" eines einmal gebildeten Zustands eher wahrscheinlich.



Abb. 65: Freie Exzess-Mischungsenthalpie des Systems DPPC/Surfactin in Abhängigkeit vom Molenbruch des Surfactins für $\Pi = 10, 20$ und 30 mN/m.

Die hier festgestellte Tendenz zur Phasenseparation steht in Einklang mit den Ergebnissen die Deleu *et al.*^[139] bei der Untersuchung von LB-Filmen dieses Systems, die bei einem konstanten Oberflächendruck von 20 mN/m präpariert wurden, mit Hilfe der AFM erhalten haben. Sie beobachteten eine Topographie, die sie als komplett entmischte, aber im wesentlichen bikontinuierliche Phase interpretierten, wobei die Dimensionen benachbarter Phasengrenzen in einer Größenordnung zwischen 0,05 (bei Xs = 0,1) und 0,5 nm (bei Xs = 0,5) lagen.

Maget-Dana *et al.*^[138] hatten 1995 für das System Dimyristoylphosphatidylcholin/Surfactin, das sie mit der Langmuir-Filmwaage untersuchten, keine Abweichung von der Additivitätsregel gefunden und leiteten daraus ein thermodynamisch ideales Mischverhalten der beiden Komponenten ab. Das wirft die Frage auf, welche Rolle die Länge der Acylketten der Lipidmoleküle bei der hydrophoben Wechselwirkung mit den Fettsäureketten des Surfactins spielt bzw. ob es diesbezüglich ein Optimum gibt. Dies ist bei der Entwicklung von Modellvorstellungen zur Anordnung der Moleküle eventuell gebildeter gemischter Cluster zu berücksichtigen (s. unten).

IRRAS-Messungen

Im folgenden sollte der Ordnungszustand des DPPC in Abhängigkeit von der Fläche pro Molekül näher untersucht werden und in welcher Weise er durch die Anwesenheit von Surfactin in gemischten Monofilmen beeinflußt wird. Hierzu wurden IRRAS-Messungen an diesen Filmen durchgeführt und beobachtet, wie sich die Wellenzahl der asymmetrischen Methylenvalenzschwingung ("Indikator-Bande") der Alkylketten des Acylrestes der Lipidmoleküle, die den Grad der konformativen Ordnung widerspiegelt, mit dem Kompressionszustand verändert.

Zuvor soll jedoch kurz auf das Gesamtbild eines charakteristischen Spektrums eines Phospholipids an der Luft/Wasser-Grenzfläche (s. Abb. 66) eingegangen, sowie eine Bandenzuordnung vorgenommen werden.



Abb. 66: Charakteristisches IRRA-Spektrum eines komprimierten DPPC-Films (pH = 6, T = 295 K, $A = 0.55 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$)

Bei 2919 und 2850 Wellenzahlen sind die Banden der antisymmetrischen bzw. symmetrischen C-H-Valenzschwingung der Methylengruppen zu sehen $[\nu(CH_2)_{as}$ und $\nu(CH_2)_s]$. Die C=O-Streckschwingung der Estergruppierung ergibt eine Bande bei 1735 cm⁻¹ und die der Deformationsmoden der Methylenscherenschwingungen $[\delta(CH_2)]$ eine bei 1475, die als gesplittetes Dublett vorliegt. Des weiteren erkennt man zwei Moden der Phosphatgruppe: die antisymmetrische und symmetrische $\nu(PO_2^-)$ -Streckschwingung, deren Wellenzahlen bei 1231 bzw. 1090 cm⁻¹ liegen.

Abb. 67 zeigt nun die Ergebnisse in bezug auf den Grad der konformativen Ordnung für den reinen DPPC-Film sowie die für 6 Mischfilme mit Zusammensetzungen zwischen Xs =0,01 und 0,75. Der Verlauf der Wellenzahl der Indikator-Bande für den reinen DPPC-Film stimmt sehr gut mit bekannten Resultaten^[140] überein und korreliert mit der Isotherme Zu Beginn der Kompression in der LE-Phase liegen die Wellenzahlen bei ungefähr 2924 cm⁻¹, entsprechend einem hohen Grad konformativer Unordnung, sinken während des Kondensationsvorgang (LE \rightarrow LC) zwischen 1,0 und 0,6 nm²/Molekül auf ~2918,5 cm⁻¹ ab und verbleiben dann bis zum Kollapspunkt auf diesem niedrigen Niveau, das für das Vorliegen eines weitgehend konformativ geordneten Zustands spricht.



Abb. 67: Abhängigkeit der Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung von der Fläche/Molekül für einen reinen DPPC-Film sowie für DPPC/Surfactin-Mischfilme verschiedener Zusammensetzung (Xs = 0, 0,01, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 und 0,75) auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C).

Bis zu einem Mischungsanteil von Xs = 0,1 bleibt der Charakter des Verlaufs der Datenpunkte in etwa erhalten, jedoch sind die Wellenzahlen leicht zu niedrigeren Werten verschoben. Dabei sind zwei Kompressionsbereiche zu unterscheiden, die der "Kreuzungsbereich" der Datenpunkt-Serien trennt und etwa zwischen 0,65 und 0,6 nm²/Molekül liegt. Auffällig ist dabei, daß dieser Kreuzungsbereich annähernd mit dem gemeinsamen Schnittpunkt der Isothermen übereinstimmt. Vorbehaltlich der geringen statistischen Signifikanz für große Flächenwerte kann man vorsichtig folgende Tendenz ableiten: Oberhalb dieses Flächenwerts nimmt das Ausmaß der Absenkung der Wellenzahl mit steigendem Xs zu, während es für Flächen < 0,60 nm²/Molekül umgekehrt ist.

Die Datenpunkte der Serien für Xs = 0,25 und 0,5 verlaufen nahezu identisch. Die Wellenzahlen liegen bei großen Flächen pro Molekül bei ~2920,5 cm⁻¹, sinken kontinuierlich bis 0,9 nm²/Molekül auf 2919 cm⁻¹ ab und sind von diesem Kompressionszustand an konstant. Unterhalb des im vorigen Absatz beschriebenen Kreuzungsbereichs liegen die Werte nicht nur über denjenigen der Serien für Xs = 0,01, 0,05 und 0,1 sondern sogar höher als die Werte für den reinen DPPC-Film.

Eine weitere Zunahme des Mischungsanteils auf Xs = 0,75 führt zu einem weiteren Absinken der Wellenzahl im Bereich großer Flächen pro Molekül auf knapp unter 2919 cm⁻¹. Dieser Wert ist über den gesamten Kompressionsbereich nahezu konstant. Dies bedeutet, daß die Lipidmoleküle bereits zu Beginn der Kompression weitgehend konformativ geordnet vorliegen und dieser Grad der Ordnung bis zum Kollapspunkt aufrechterhalten bleibt.

Konklusion

Zusammen mit der thermodynamischen Analyse der Π/A-Isothermen können die Resultate wie folgt gedeutet werden: Im Bereich großer Flächenwerte ist der Oberflächendruck bei einer gegebenen Fläche pro Molekül um so größer, je höher der Molenbruch Xs. Der Ordnungszustand des DPPC in einem gemischten Film könnte daher mit dem eines reinen DPPC-Films bei entsprechendem Oberflächendruck korrespondieren. Unter der Annahme, daß eine eventuelle Phasenseparation in diesem Kompressionsstatus noch nicht sehr weit fortgeschritten ist, erklärt sich die Abnahme der Wellenzahl mit zunehmendem Xs allein aus diesem Umstand. Da die Tendenz zur Entmischung insbesondere bei kleinen bis mittleren Xs ausgeprägt ist, könnten sich die im Vergleich zum reinen DPPC-Film kleineren Wellenzahlen für Flächen < 0,6 nm²/Molekül für diese Mischfilme dadurch erklären, daß eine Phasenseparation stattfindet, in deren Folge, verbunden mit dem höheren Oberflächendruck, in den Lipid-Domänen ein hohes Ordnungsmaß erreicht wird. Bei hohen Xs und Π ist die Entmischungsneigung weit geringer ausgeprägt. Nimmt man an, daß unter diesen Bedingungen allenfalls mikrosegregierte Mischfilme vorliegen, bedeutet dies in der Konsequenz, daß die DPPC-Moleküle durch die zwischen ihnen liegenden Surfactin-Moleküle daran gehindert werden, eine dem reinen DPPC-Film vergleichbare enge Packung auszubilden, weshalb die Wellenzahlen bei kleinen Flächen pro Molekül etwas höher liegen.

B) Permeabilisierungsversuche

Nach den vorbereitenden Versuchen in Teil A) wurden Permeabilisierungsexperimente durchgeführt. Dazu wurde der DPPC-Film zunächst bei einem definierten Flächenwert gespreitet. Dann wurden in verschiedenen Zeitreihen IRRA-Spektren des reinen DPPC-Films aufgenommen, nach verschieden langen Perioden eine definierte Menge einer Surfactin-Lösung vorsichtig und gleichmäßig verteilend unter die Monoschicht in die Subphase injiziert, um dann wiederum in gewissen Abständen zu diskreten Zeitpunkten IRRA-Spektren aufzunehmen und eventuelle Änderungen zu registrieren, die mit der Adsorption des Surfactins an oder Penetration durch die Phospholipid-Monoschicht einhergehen. Die Fläche pro Molekül wird für die gesamte Zeitdauer des Experiments konstant gehalten. Auf Grundlage der potentiellen Änderungen der Position der Bande der Methylenvalenzschwingung sollten Aussagen darüber getroffen werden, welchen Einfluß das Surfactin auf die Ordnung der Moleküle innerhalb des DPPC-Films ausübt. Aufgrund des sehr niedrigen Signal-Rausch-Verhältnisses in anderen spektralen Regionen konnten darüber hinausgehend leider keine Informationen gewonnen werden, ob noch weitere strukturelle Änderungen der Phospholipide bewirkt wurden. Aus Vorversuchen ging ebenfalls hervor, daß sich im RA-Modus vom Surfactin an der Luft/Wasser-Grenzfläche keine IR-Signale detektieren lassen.

Für alle hier vorgestellten Zeitreihen wurde ein Flächenwert von 1,036 nm²/Molekül (~ 5 mN/m) gewählt. Dieser verhältnismäßig hohe Wert sollte gewährleisten, daß das Ausmaß einer durch das Surfactin bewirkten Absenkung der Wellenzahl der Indikatorbande hinreichend groß sein kann, um als statistisch signifikant eingestuft zu werden. Denn der Bereich der Wellenzahl ist durch den Wert, der eine maximal enge Packung der DPPC-Moleküle repräsentiert, nach unten begrenzt (~2918 cm⁻¹). Eine Erhöhung der Wellenzahl bei diesem Flächenwert ist aus drei Gründen nicht zu erwarten: Erstens liegt die Wellenzahl in diesem Kompressionsstatus bei ~2923,5 cm⁻¹, was bereits ein sehr hohes Maß konformativer Unordnung anzeigt. Zweitens geht aus den IRRAS-Messungen der gemischten Monoschichten (die mit einem Zustand zu vergleichen sind, in dem Surfactin-Moleküle zwischen die DPPC-Moleküle getreten sind) hervor, daß bei diesem Flächenwert das Surfactin einen ordnenden Effekt auf die DPPC-Moleküle ausübt. Drittens wurde in einem Probeversuch, der bei einem Flächenwert von 0,726 nm²/Molekül (entspricht in etwa dem Ende des LE \rightarrow LC Kondensationsvorgangs) durchgeführt wurde, eine geringe Abnahme und keine Erhöhung der Wellenzahl beobachtet.

Die injizierte Surfactin-Menge wurde so gewählt, daß sich eine Subphasenkonzentration von $9,29 \times 10^{-6}$ M ergab, d.h. ein Wert, der einerseits in jedem Fall deutlich unter der CMC, aber andererseits oberhalb desjenigen Werts liegt, bei dem in Adsorptionsexperimenten an einer filmfreien Luft/Wasser-Grenzfläche nach der Injektion in die wäßrige Phase eine Abnahme des Oberflächendrucks des Wassers beobachtet wurde – ca. $1,0 \times 10^{-7}$ M^[144] – was eine Diffusion aus der Volumenphase an die Grenzfläche nazeigt.

In den Abb. 68 a-c sind drei Zeitreihen für DPPC-Filme dargestellt, die die Entwicklung der Bandenposition der Indikatorbande zeigen, wobei jeweils der Zeitpunkt der Surfactin-Injektion variiert wurde (nach 45, 120 und 180 min). Damit wurde dem Umstand Rechnung getragen, daß erwartungsgemäß Relaxationseffekte zu berücksichtigen sind. Das bedeutet, daß die Effekte, die das Surfactin bewirkt, in jedem Fall von der gewissermaßen natürlichen Alterung der Langmuir-Filme überlagert sind und diese mit einzubeziehen ist; diese Alterung geschieht aufgrund thermodynamisch bedingter Reorganisationsphänomene in den "über-komprimierten" DPPC-Domänen und ist mit einer Abnahme der Wellenzahl verbunden.



Abb. 68: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Zeit für einen DPPC-Film bei $A = 1,036 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ vor und nach der Injektion einer Surfactin-Lösung (140 µL der Konz. 4,4 mg/mL) in reines Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C). Der senkrechte Strich markiert den Zeitpunkt der Surfactin-Injektion und erfolgte in (a) nach 45, (b) 120 und (c) nach 180 min.

Die Zeitreihen zeigen folgende Merkmale: (i) Das Ausgangsniveau der Wellenzahl der Indikatorbande liegt zwischen 2922,5 und 2923,5 cm⁻¹. (ii) Bis zum Zeitpunkt der Surfactin-Injektion ist eine leichte Abnahme der Wellenzahl zu erkennen. (iii) Diese Abnahme ist mit zunehmendem Alter der Filme stärker ausgeprägt, d.h. es spiegeln sich die oben angesprochenen Relaxationseffekte wider, die näherungsweise mit einer 1/*e*-Zeitfunktion angesetzt werden können. (iv) Unmittelbar nach der Surfactin-Injektion ist eine weitere, instantane Abnahme der Wellenzahl zu beobachten. Diese fällt um so markanter aus, je früher der Zeitpunkt der Surfactin-Injektion gewählt wurde. (v) Direkt nach der Injektion streuen die Werte, nähern sich dann aber im weiteren zeitlichen Verlauf einem nahezu konstanten Niveau an, das in allen drei Fällen etwas über 2919 cm⁻¹ liegt.

Das entspricht einem Absinken der Wellenzahl von wenigstens einem und höchstens vier reziproken Zentimetern. Relaxationsversuche mit reinen DPPC-Filmen ergaben eine Abnahme der Wellenzahl auf ca. 2921 cm⁻¹ nach 400 und 2919,5 cm⁻¹ nach erst 1500 min (Ergebnisse nicht gezeigt). Auch wenn zunächst keine konkreten Aussagen darüber getroffen werden können, ob oder welche spezifischen Wechselwirkungen vorliegen, so steht zweifelsfrei fest, daß Surfactin auf die DPPC-Moleküle einen ordnenden Effekt ausübt. Damit ist davon auszugehen, daß eine Diffusion von der Subphase an die Oberfläche oder zumindest in die Nähe der Grenzfläche stattfindet. Geringstenfalls kann ein Hindurchtreten der Fettsäure-Alkylkette der Surfactin-Moleküle durch die Grenzfläche in die Gasphase als wahrscheinlich angenommen werden, so daß am Ende der Versuche gemischte Monoschichten vorliegen. Dafür spricht auch, daß der DPPC-Film zu Beginn in einem nur gering komprimierten Zustand vorliegt, die Lipidmoleküle nur schwach assoziiert sind, so daß der Vorgang der Penetration durch den DPPC-Film bzw. des Zwischentretens zwischen die DPPC-Domänen mit keinem besonders hohen energetischen Aufwand verbunden sein dürfte.

Ausgehend vom Vorliegen gemischter Monoschichten sind nun in bezug auf die laterale Organisation der beiden Komponenten zwei Interpretationen möglich, die nachfolgend als Fall (a) unspezifischer und (b) spezifischer Wechselwirkung unterschieden werden.

(a) Durch die an die Oberfläche getretenen Surfactin-Moleküle reduziert sich die Fläche, die den DDPC-Molekülen zur Verfügung steht. Damit steigt nicht nur der Oberflächendruck insgesamt, sondern auch der laterale Druck, der auf die DPPC-Moleküle bzw. -Domänen ausgeübt wird. In der Folge nehmen die hydrophoben Wechselwirkungen der Acylketten der Lipide zu und die Zahl ihrer *gauche*-Defekte ab. Mit einfachen Worten: es handelt sich um ein einfaches "Verdrängungsphänomen", die Surfactin-Moleküle verdrängen beim "Auftauchen" partiell die DPPC-Moleküle und schieben sie zusammen.

(b) Die Surfactin-Moleküle haben die Tendenz, an die Oberfläche zu diffundieren, die Fettsäure-Alkylketten ragen teilweise oder ganz in die Luft, die Peptidringe verbleiben aber gerade unterhalb der Grenzfläche vollständig in die wäßrige Phase getaucht und üben dort auf benachbarte Phospholipid-Kopfgruppen eine anziehende Wechselwirkung aus, so daß gemischte und relativ enggepackte Surfactin/DPPC-Cluster entstehen.

Ob es im Fall (a) als begleitendes Phänomen zu einer Phasenseparation kommt – wie weitgehend sie auch sein mag – ist unklar, jedoch spricht einiges dafür. Ein einfacher Ver-

gleich mit den IRRAS-Messungen der gemischten Monoschichten ergibt für den hier vorliegenden End-Wellenzahlwert von 2919 cm⁻¹ und einem Flächenwert von 1,036 nm²/Molekül einen korrespondierenden Molenbruch Xs von 0,25 bis 0,5. Die thermodynamische Analyse der Π/A -Isothermen ergab, daß in diesem Mischungsbereich eine Tendenz zur Entmischung vorliegt. Darüber hinaus ist es möglich, aus dem Ausmaß der Absenkung der Wellenzahl eine Abschätzung der Gleichgewichtskonstanten vorzunehmen, die die Verteilung des Surfactins auf die Subphase und Grenzfläche beschreibt, indem von dem reduzierten Flächenbedarf der Gesamtheit aller DPPC-Moleküle auf die Zahl der Surfactin-Moleküle geschlossen wird, die zum Ende des Versuchs die frei gewordene Fläche okkupieren dürften. Im folgenden wird exemplarisch der Gang einer solchen Rechnung gezeigt:

- Eine Absenkung der Wellenzahl von 2923 auf 2919,5 cm⁻¹ entspricht einer Abnahme des durchschnittlichen Flächenbedarfs eines DPPC-Moleküls von 1,036 auf ca. 0,7 nm²/Molekül (vgl. Abb. 67); eine Differenz von ca. 0,3 nm²/Molekül (ΔA).
- Die Gesamtzahl der gespreiteten DPPC-Moleküle N_{DPPC} beträgt 4,96 × 10¹⁷. Ihr Flächenbedarf sinkt damit um 0,3 nm² × 4,96 × 10¹⁷ = 1,49 × 10¹⁷ nm².
- Bei einer minimalen Querschnittsfläche von 1,26 nm² pro Surfactin-Molekül (bei horizontal ausgerichtetem Peptidring)^[142] können auf dieser Fläche 1,49 × 10¹⁷ nm² / 1,26 nm² = 1,18 × 10¹⁷ Surfactin-Moleküle [$N_{Surf.}(mono)$] untergebracht werden.
- Die Gesamtzahl der injizierten Surfactin-Moleküle $N_{Surf.}(ges)$ beträgt 2,59 × 10¹⁷. Damit ergibt sich ein Verteilungsgleichgewichtswert *Ks* von:

;

(2)
$$Ks = \frac{N_{Surf.}(mono)}{N_{Surf.}(ges) - N_{Surf.}(mono)} = \frac{N_{Surf.}(mono)}{N_{Surf.}(sub)} = 0.84$$

- Der Molenbruch Xs der gemischten Monoschicht nach der Adsorption des Surfactins ergibt sich zu $Xs = N_{Surf.}(mono) / [N_{Surf.}(mono) + N_{DPPC}] = 0,19$, in akzeptabler Übereinstimmung mit dem Wert der durch den einfachen Vergleich mit den IRRAS-Messungen erhalten wurde.

Es sei darauf hingewiesen, daß diese so abgeschätzte Zahl ein Obermaß darstellt. Eine geeignete Methode, die es erlauben würde, die tatsächlich vorliegenden Verhältnisse zu evaluieren, ist die sog. Masse-Erhaltungsauftragung (engl.: *mass conservation plot*), die 1995 von Schwarz und Taylor eingeführt wurde.^[145] Aufgrund der nur sehr begrenzt zur Verfügung stehenden Surfactin-Menge konnte diese Methode hier jedoch nicht angewandt werden.

Interessant ist weiterhin, daß sich die Wirkung des Surfactins auf einer Zeitskala manifestiert – innerhalb von Minuten –, die mit der in realen biologischen Systemen übereinstimmt.

4.4.2. DPPS

Die Serinkomponente der Kopfgruppe dieses Phospholipids, anstelle der Cholinkomponente beim DPPC, d.h. das Vorliegen einer weiteren acidischen funktionellen Gruppe, sollte zwei Konsequenzen haben. Infolge der durch die gleichnamige negative Nettoladung hervorgerufenen elektrostatischen Abstoßungen zwischen den Lipidmolekülen untereinander, wird in Langmuir-Filmen von DPPS die Ausbildung enger Alkylkettenpackungen erschwert. Dieser Umstand könnte eine Durchdringung von Surfactin durch DPPS-Filme erleichtern. Andererseits besitzt Surfactin selbst zwei acidische AS-Reste, auch wenn die Säurestärke nicht sehr groß ist (der pK_s -Wert wurde von Maget-Dana und Ptak^[144] zu 5,5 - 6,0 bestimmt). Dennoch ist eine reduzierte Affinität zu einer DPPS-Modellmembran zu erwarten. Welche der beiden genannten Faktoren überwiegen, ob weitere zu berücksichtigen sind, ob überhaupt Effekte auftreten – davon ist im folgenden Unterkapitel zu lesen.

A) Monoschichten

Π/A-Isotherme

Die Π /A-Isotherme für einen reinen DPPS-Film, aufgenommen bei 295 K, ist in Abb. 69 gezeigt. Auf eine thermodynamische Charakterisierung von gemischten DPPS/Surfactin-Monoschichten wurde verzichtet.



Abb. 69: Π /*A*-Isotherme eines DPPS-Films, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C)

Die Isotherme zeigt im Gegensatz zu der vom DPPC-Film kein Vorliegen einer kondensierten Phase an, statt dessen wird während der Kompression nur eine ausgeprägte LE-Phase durchlaufen, die bei 0,9 nm²/Molekül beginnt und mit dem Kollapspunkt bei A = 0,38 $nm^2/Molekül und \Pi = 47 mN/m endet$. Dies steht im Einklang mit der oben gemachten Überlegung, nach der die Repulsion zwischen den (deprotonierten) Kopfgruppen zu einem Langmuir-Film mit expandierterem Charakter führt.

IRRAS-Messungen

Der expandierte Charakter des DPPS-Films spiegelt sich auch in den IRRAS-Messungen wider, wie aus der Auftragung der Indikatorbande gegen die Fläche pro Molekül hervorgeht (s. Abb. 70).



Abb. 70: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für einen reinen DPPS-Film (Xs = 0,0) sowie für einen DPPS/Surfactin-Mischfilm (Xs = 0,1) auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C)

Zu Beginn der Kompression liegen die Wellenzahlen auf einem sehr hohen Niveau zwischen 2924 und 2925 cm⁻¹, entsprechend einem hohen Maß konformativer Unordnung. Während der Kompression ist lediglich ein leichter Abwärtstrend zu verzeichnen, der Wert beim Kollapspunkt liegt nur geringfügig unterhalb von 2924 Wellenzahlen. Die starke Abnahme für Flächen < 0,4 nm²/Molekül läßt sich durch die Bildung 3-dimensionaler kristalliner Strukturen erklären.

Zusätzlich wurde ein gemischter DPPS/Surfactin-Film mit einem Surfactin-Mischungsanteil von Xs = 0,1 vermessen. Die Werte streuen etwas stärker als beim reinen DPPS-Film, liegen aber im Mittel bei gleichen Kompressionsstadien bei großen bis mittleren Flächen pro Molekül um etwa 1,5 Wellenzahlen, in der Nähe des Kollapspunkts um eine Wellenzahl niedriger. Danach gleichen sich die Werte an. Bemerkenswert an diesem Ergebnis ist nicht nur die Tatsache, daß überhaupt eine Absenkung der Wellenzahl zu beobachten ist, aus der ein ordnungsinduzierender Effekt des Surfactins abgeleitet werden kann, sondern daß die Wellenzahlen innerhalb des größten Teils des Kompressionsbereichs unter dem Wert liegen, der in einem reinen DPPS-Film überhaupt erreicht werden kann – und dies bereits bei einem vergleichsweise niedrigen Mischungsanteil *Xs.* Dieser Effekt kann folglich nicht einfach damit erklärt werden, daß bei gleichen Flächenwerten in dem gemischten Langmuir-Film ein im Vergleich zum reinen DPPS-Film höherer Oberflächendruck herrscht. Das Surfactin scheint darüber hinaus in der Lage zu sein, spezifisch auf die Packungsanordnung der Lipidmoleküle Einfluß zu nehmen. Das bedeutet im Prinzip gleichfalls, daß unter diesen Bedingungen eine Phasenseparation auszuschließen ist.

B) Permeabilisierungsversuche

Der Wellenzahl-Verlauf des reinen DPPS-Films erlaubt es, Permeabilisierungsversuche in verschiedenen Kompressionszuständen vorzunehmen, ohne daß der Spielraum für eine potentielle Absenkung der Wellenzahl zu klein ausfallen würde. Es wurde entschieden, ein Experiment mit einem gänzlich unkomprimierten Film bei 1,029 nm²/Molekül durchzuführen, d.h. kurz vor dem Punkt, an dem in der Isotherme ein Oberflächendruckanstieg registriert wird, und eines bei einem weitgehend komprimierten Filmzustand bei 0,495 nm²/Molekül, nahe des Kollapspunktes.

Expandierte Monoschicht

In Abb. 71 ist die Zeitreihe für einen expandierten DPPS-Film zu sehen, bei dem nach 100 Minuten die Injektion der Surfactinlösung in die Subphase erfolgte.



Abb. 71: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Zeit für einen DPPS-Film bei $A = 1,029 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ vor und nach der Injektion einer Surfactin-Lösung (140 µL der Konz. 4,4 mg/mL) in reines Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C). Der senkrechte Strich markiert den Zeitpunkt der Surfactin-Injektion

Die Werte der Indikatorbande der Monoschicht vor der Injektion liegen etwa zwischen 2925 und 2923 Wellenzahlen. Diese Streuung im unkomprimierten Zustand ist für Filme, die in der Isotherme eine expandierte Charakteristik zeigen, nicht untypisch. Sie kommt hier stärker zum Vorschein als bei den Daten, die unter A) präsentiert wurden, weil es sich hier um eine Einzelmessung handelt, während im anderen Fall eine Mittelwertbildung aus 3 Einzelmessungen vorgenommen wurde.¹² In den ersten 100 min nach der Surfactin-Injektion beobachtet man zunächst extrem schwankende Werte, die einen Bereich von 2921,5 bis 2926,5 Wellenzahlen umspannen, und damit sowohl größere als auch kleinere Werte mit einschließt, die vor dem Zeitpunkt der Injektion gefunden wurden. In der Folgezeit "stabilisiert" sich das System, die Werte werden einheitlicher, und zum Ende liegen sie nahezu konstant bei 2924,5 cm⁻¹ und damit etwa auf dem Ausgangsniveau zu Beginn des Experiments. Wiederholungsmessungen (Daten nicht gezeigt) ergaben ein vergleichbares Bild.

Konklusion

Auf den ersten Blick scheint die Situation vor und nach der Surfactin-Injektion unverändert, was die Annahme rechtfertigen würde, daß das Surfactin entweder in der Subphase verbleibt und nicht an die Oberfläche tritt oder aber sich sehr wohl an der Grenzfläche anreichert, dort aber keinen nennenswerten Einfluß auf den Zustand des Lipidfilms hat. Für eine korrekte Interpretation müssen jedoch auch die Relaxationseffekte berücksichtigt werden. Diesbezügliche Messungen ergaben für den hier gewählten Flächenwert ein Absinken der Wellenzahl der Indikatorbande auf 2922,5 cm⁻¹ innerhalb eines Zeitraums von 200 Minuten. Unter Einbeziehung dieses Resultats und des Umstands, daß die Lipidmoleküle in diesem Kompressionszustand nur sehr lose assoziiert sind, scheint folgende Erklärung plausibler: Die Surfactin-Moleküle diffundieren an die Oberfläche, treten zwischen die DPPS-Moleküle und verhindern damit ihre Umorganisation, die sonst im Rahmen des Relaxationsprozesses stattfindet. In diesem Sinne sind die an der Oberfläche adsorbierten Surfactin-Moleküle als Störelemente aufzufassen, die die Ausbildung einer regelmäßigeren Packung, das Erreichen eines höheren Maßes konformativer Ordnung der Alkylketten stark behindert. Diese Hypothese impliziert, daß nach der Adsorption des Surfactins eine auch auf molekularer Ebene gemischte Monoschicht vorliegt, eine Segregation ist mit ihr nicht vereinbar.

Komprimierte Monoschicht

Ein anderes Erscheinungsbild ergibt sich, wenn die Surfactin-Lösung unter eine komprimierte Monoschicht injiziert wird, wie aus der nachstehenden Abb. 72 hervorgeht. Auch hier erfolgte die Injektion wiederum nach 100 Minuten.

¹² Für eine Mittelwertbildung aus mehreren Zeitreihen müßte gewährleistet sein, daß die Aufnahme der IRRA-Spektren in jeder einzelnen Reihe zu exakt gleichen Zeitpunkten erfolgt. Dies ist apparatebedingt nicht zu leisten. Ferner kommt es nicht nur zu Streuungen der Werte der Bandenposition innerhalb einer Zeitreihe von Spektrum zu Spektrum, sondern darüber hinaus kann auch das Ausgangsniveau der Wellenzahlen von einem Experiment zum anderen leicht variieren, so daß keine exakte Vergleichbarkeit gegeben wäre.



Abb. 72: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Zeit für einen DPPS-Film bei $A = 0,495 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ vor und nach der Injektion einer Surfactin-Lösung (140 µL der Konz. 4,4 mg/mL) in reines Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C). Der senkrechte Strich markiert den Zeitpunkt der Surfactin-Injektion.

Wie im Fall der expandierten Monoschicht liegen die Wellenzahlen vor der Injektion zwischen 2924 und 2925 cm⁻¹, unterliegen allerdings einer geringeren Streuung. Nach der Injektion wird die Streuung zunächst größer, jedoch ist eine überlagerte drastische Abnahme unverkennbar. Nach 200 Minuten werden Werte unterhalb von 2922 cm⁻¹ gefunden, die auch nach 350 Minuten nicht wieder angestiegen sind. Dies entspricht einer Absenkung von ca. 2,5 Wellenzahlen. Daß es sich hier um keinen Zufallsbefund handelt, wurde durch wiederholte Experimente unter gleichen Bedingungen sichergestellt, in denen ebenfalls eine vergleichbare signifikante Abnahme der Wellenzahl der Indikatorbande beobachtet wurde. Bemerkenswert ist, daß DPPS-Filme im komprimierten Zustand kaum relaxieren. Entsprechende Messungen ergaben, daß die Wellenzahl der Bande der asymmetrischen C-H-Valenzschwingung selbst innerhalb eines Zeitraums von mehr als 1000 Minuten nie unter 2924 cm⁻¹ fiel, womit die Abnahme nach der Surfactin-Injektion im Prinzip noch etwas deutlicher ausfällt als bei relaxierenden Systemen.

Konklusion

Offenbar hat das Surfactin einen hohen ordnenden Effekt auf DPPS-Filme im komprimierten Zustand. Nach der Injektion des Surfactins wird in bezug auf die konformative Ordnung der Alkylketten ein Maß induziert, das in reinen DPPS-Filmen nicht erreicht wird. Trotz des spekulativen und contraintuitiven Charakters – aufgrund der elektrostatischen Repulsion würde man eher eine geringe Affinität zwischen beiden Komponenten erwarten – legt dies den Schluß nahe, daß hier gemischte Monoschichten vorliegen, in denen das Surfactin auf spezifische Weise mit den Phospholipidkopfgruppen interagiert, so daß ein dicht assoziiertes Konglomerat gemischt-molekulare Cluster entsteht, in denen sich die Alkylketten der Lipide und des Surfactins – als kooperatives Begleit- oder auch zeitlich nachgelagertes Phänomen – zueinander ausrichten und so, über hydrophobe Wechselwirkungen, *gauche*-Defekte reduziert werden. Der Wert von ca. 2922 Wellenzahlen, der hier erreicht wird, stimmt in etwa mit dem überein, der unter A) bei der gemischten Monoschicht mit Xs = 0,1 bei entsprechendem Flächenwert beobachtet wurde (vgl. Abb. 70). Es ist daher möglich, daß in beiden Fällen eine ähnliche Situation vorliegt, obwohl genaue Angaben über die adsorbierte Surfactin-Menge nicht gemacht werden können. Derselben Argumentation wie in Abschnitt A) folgend, ist hier eine Phasenseparation unwahrscheinlich.

4.4.3. DPPG

Dipalmitoylphosphatidylglycerol ist zwar wie DPPS ein negativ geladenes Phospholipid, jedoch ist es durch ein besonderes Merkmal in bezug auf das Verhältnis der Kopfgruppengröße zum Querschnitt der Alkylketten charakterisiert – sie entsprechen einander. Der Grund dafür ist, daß der effektive Flächenbedarf durch repulsive Coulomb-Wechselwirkungen zwischen benachbarten Lipidkopfgruppen etwas größer ist, als würden allein die geometrischen Daten zugrunde gelegt.^[146] Somit kann die Form dieses Phospholipids unter der Bedingung, daß die Alkylketten eine all-trans-Konformation annehmen, als zylindrisches Stäbchen approximiert werden. Dies birgt Konsequenzen für die Packungsanordnung in sich birgt und drückt sich z.B. in der Tendenz des DPPG aus, in Lipiddoppelschichten im Gegensatz zum DPPS bevorzugt nicht-gekrümmte, relativ eng gepackte Aggregate auszubilden. Die Rolle der Membrankrümmung und auf welche Weise AP fähig sind, darauf einzuwirken und so Instabilitäten herbeizuführen, die eine weitere Adsorption und schließlich die Durchdringung durch die Membran erleichtern, ist Gegenstand der aktuellen Forschung.^[147] Es hat sich herausgestellt, daß viele membranaktive Peptide einen großen, destabilisierenden Krümmungsdruck auf die Membranen ausüben und z.B. in der Lage sind, Übergänge von lamellaren lipidischen Phasen in invers-hexagonale oder kubische Phasen zu bewirken. Demnach sollten Phospholipide, die von sich aus wenig gekrümmte Strukturen bilden, eine wirksamere Barriere gegen AP darstellen, als solche, die z.B. aufgrund ihrer konischen Gestalt (wie PE) spontan Aggregate hoher Krümmung ausbilden.

Neben solchen topologischen Gesichtspunkten – die in der zusammenfassenden Diskussion noch einmal aufgegriffen werden – könnten beim DPPG intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Kopfgruppen ein zu berücksichtigender Faktor sein, der die Stabilität von Membranen beeinflußt.

A) Monoschichten

Π/A-Isothermen

Die Π/A -Isothermen für einen reinen DPPG-Film, sowie für Mischfilme mit verschiedener Zusammensetzung (Xs = 0.25, 0.5 und 0.75), wiederum bei 295 K aufgenommen, sind in Abb. 73 dargestellt. Zum Vergleich ist auch die Isotherme des reinen Surfactins gezeigt.



Abb. 73: Π/A -Isothermen von DPPG (Xs = 0), Surfactin (Xs = 1) sowie von gemischten Langmuir-Filmen dieser Komponenten mit Xs = 0.25, 0.5 und 0.75, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C)

Die Π/A-Isotherme des reinen DPPG-Films ist zu kleineren Flächen/Molekül verschoben, stimmt aber qualitativ mit bisher publizierten überein.^[148] Der Verlauf zeigt eine stark kondensierte Charakteristik, der Oberflächendruck beginnt erst bei 0,5 nm²/Molekül zu steigen, sodann folgt ein schmaler Kompressionsbereich mittlerer Kompressibilität, die bei Flächen < 0,42 nm²/Molekül kontinuierlich abnimmt, entsprechend einem steiler werdenden Anstieg des Oberflächendrucks, der deutlich über-exponentiell verläuft, was dafür spricht, daß hier keine LE- sondern bereits eine kondensierte Phase vorliegt. Kurz vor dem Kollapspunkt bei 0,35 nm²/Molekül und 42 mN/m ist ein leichter Knick mit einem nachfolgend fast senkrechten Oberflächendruckanstieg zu erkennen, der einen Übergang anzeigt, von einer Phase kollektiver Neigung in eine andere Phase, in der die Alkylketten senkrecht zur Oberflächen nur von solchen Amphiphilen eingenommen werden, bei denen die im vorigen Abschnitt dargelegten speziellen geometrischen Verhältnisse (der Flächenbedarf der Kopfgruppe entspricht in etwas dem Flächenbedarf der hydrophoben Ketten) vorliegen; das Ergebnis bestätigt, daß dies beim DPPG tatsächlich der Fall ist.

Die "Mischisothermen" für Xs = 0,25, 0,5 und 0,75 liegen alle zwischen denen der jeweils reinen Komponente, die Phasenübergänge sind entsprechend "verwischter", und, wie auch in den gemischten Monoschichten von DPPC/Surfactin, ist die Abweichung von der Horizontalen im Part II um so ausgeprägter je gleichanteiliger die Mischung zusammengesetzt ist. Zudem beobachtet man in diesem Part der Isotherme, daß der Oberflächendruck mit steigendem Xs zunimmt. Eine weitere Tendenz wird im Part III der Isothermen offenkundig: je größer der Anteil des Surfactins, desto stärker ist dieser Ast zu kleineren Flächen/Molekül verschoben; die Werte sind allerdings absolut betrachtet so klein, daß angenommen werden muß, daß sich bereits teilweise 3-dimensionale Aggregate gebildet haben.

Mischbarkeit des binären Gemisches DPPG/Surfactin

Die Ergebnisse der thermodynamischen Analyse der "Mischisothermen", die Aufschluß über die Mischbarkeit der beiden Komponenten geben, sind in Abb. 74 und Abb. 75 dargestellt. In der Auftragung der mittleren Fläche/Molekül deutet sich bei Xs = 0,5 eine negative Abweichung von der Additivitätsregel an, also eine stärkere Wechselwirkung zwischen DPPG und Surfactin, als es in den reinen Komponenten der Fall ist. Eine eindeutige Aussage kann jedoch nicht gemacht werden, da zuwenig Datenpunkte vorliegen, um eine unzweideutige Gerade hindurchlegen zu können. Deshalb wurde auch hier zusätzlich die freie Exzess-Mischungsenthalpie berechnet, deren Auftragung gegen den Molenbruch ein interessantes Muster zum Vorschein kommen läßt. Er ergeben sich Kurven, die vom Erscheinungsbild doppelten Verteilungskurven gleichen, mit Schwerpunkten bei Xs = 0,25 und 0,75 und einem sie trennenden Minimum bei Xs = 0,5. Zwar herrscht auch bei diesem System eine Tendenz zur Phasenseparation vor (es werden nur positive Werte gefunden), die mit steigendem Oberflächendruck zunimmt, aber sie ist geringer als im Falle des DPPC/Surfactin-Systems, und im Gegensatz zu diesem ist sie bei Xs = 0,5 am niedrigsten.



Abb. 74: Mittlere Fläche pro Molekül von DPPG/Surfactin-Filmen in Abhängigkeit vom Molenbruch des Surfactins für $\Pi = 10, 20$ und 30 mN/m



Abb. 75: Freie Exzess-Mischungsenthalpie des Systems DPPG/Surfactin in Abhängigkeit vom Molenbruch des Surfactins für $\Pi = 10$, 20 und 30 mN/m.

IRRAS-Messungen

Ob sich der kondensierte Charakter des DPPG-Films auch auf molekularer Ebene in bezug auf die Alkylkettenpackung und ihre konformative Ordnung widerspiegelt, sollte durch IRRAS-Messungen ermittelt werden, deren Ergebnisse in Abb. 76 gezeigt sind.



Abb. 76: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für einen DPPG-Film auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C)

Für Flächen > 0,5 nm²/Molekül unterliegt die Bandenposition der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung einer gewissen Streuung und schwankt zwischen 2919,5 und 2918 cm⁻¹. In exakter Übereinstimmung mit dem Punkt, bei dem in der Isotherme ein Anstieg des Oberflächendrucks registriert wird (0,5 nm²/Molekül), verschwindet die Streuung und die Meßpunkte der Einzelmessungen werden sehr einheitlich. Im weiteren Verlauf der Kompression sinken die Werte bis zum Kollapspunkt annähernd linear auf ein für Phospholipide außerordentlich niedriges Niveau von 2916,5 Wellenzahlen ab und verbleiben von dort an konstant. Gleichzeitig wird in den IRRA-Spektren eine starke Zunahme der Intensität der Indikatorbande beobachtet (s. Abb. 77). Das letztgenannte Merkmal spricht neben der Erhöhung des *trans/gauche*-Verhältnisses der Konformationen für eine Abnahme des Neigungswinkels der Alkylketten, der Endwert von 2916,5 cm⁻¹ dafür, daß die Ketten in einem Höchstmaß konformativ geordnet sind (weitgehend all-*trans*). Die Tatsache, daß die Werte für Flächen > 0,5 nm²/Molekül streuen, wird so gedeutet, daß der Film bereits in einem 2-Phasen-Koexistenzgebiet vorliegt und der IR-Strahl wechselnd auf Domänen höherer und niedriger Ordnung trifft.



Abb. 77: Vergleich der IRRA-Spektren eines DPPG-Films im Bereich von 3000-2800 cm⁻¹ bei zwei verschiedenen Kompressionstadien (s. Beschriftung). Innerhalb eines recht kleinen Intervalls wird eine starke Zunahme der Intensität der $v(CH_2)$ -Banden registriert.

Im Vergleich mit den anderen untersuchten Phospholipiden werden beim DPPG die niedrigsten Wellenzahlen überhaupt gefunden, und zwar liegen selbst die höchsten Werte zu Beginn der Kompression unterhalb der niedrigsten der anderen Serien. Damit bestätigen sich alle Überlegungen, die in bezug auf die besondere Kompaktheit dieser Modellmembran angestellt wurden.

B) Permeabilisierungsversuche

Die Ergebnisse der Π/A - und IRRAS-Messungen geben aufgrund der Kompaktheit des Films, die in dem kondensierten Verlauf der Isotherme sowie den niedrigen Wellenzahlen der Indikatorbande auch bei größeren Flächen pro Molekül zum Ausdruck kommt, Anlaß zu der Erwartung, daß eine Durchdringung oder eine Destabilisierung von DPPG-Filmen von Surfactin in Permeabilisierungsversuchen erschwert sein könnte. Hinzu kommt, daß Surfactin und DPPG gleichnamige negative Ladungen tragen, weshalb zunächst mit einer geringen Affinität zu rechnen ist. Aus diesen beiden Gründen wurde in den Versuchen eine etwas höhere Surfactin-Menge injiziert als bei den übrigen Phospholipiden (140 μ L einer Lösung der Konzentration 5,3 mg/mL), deren Ergebnisse in Abb. 78 und Abb. 79 dargestellt sind und leicht unterschiedlich ausfallen bzw. bezüglich des Injektionszeitpunktes variieren, weshalb beide präsentiert werden. Um einen genügenden Spielraum für eine potentielle Absenkung der Wellenzahl der Indikatorbande zu gewährleisten, wurden die Versuche bei einem Flächenwert von 0,604 nm²/Molekül durchgeführt.



Abb. 78: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Zeit für einen DPPG-Film bei $A = 0,604 \text{ nm}^2/\text{Molekül vor und nach der Injektion}$ einer Surfactin-Lösung (140 µL der Konz. 5,3 mg/mL) in reines Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C). Der senkrechte Strich markiert den Zeitpunkt der Surfactin-Injektion.

Im ersten Versuch (Abb. 78) erfolgte die Injektion nach 100 Minuten. Während in den 75 Minuten vor der Injektion Werte zwischen 2918,5 und 2919 cm⁻¹ gefunden werden, liegen die beiden Werte unmittelbar vor der Injektion bei niedrigeren Wellenzahlen um 2917,5 cm⁻¹, wofür Relaxationseffekte verantwortlich sein dürften. Unmittelbar nach der Injektion wird innerhalb eines Zeitraums von 20 Minuten eine weitere Abnahme um etwa eine Wellenzahl beobachtet. In der Folgezeit ist keine weitere Änderung des konformativen Status der Alkylketten zu erkennen, und die Meßpunkte liegen konstant bei ca. 2916,7 cm⁻¹. Auffällig

ist, daß dieser Wert sehr gut mit dem Niveau übereinstimmt, das kurz vor dem Kollapspunkt bei der reinen DPPG-Schicht erreicht wird.

Um zu evaluieren, inwieweit sich hier eine Überlagerung potentieller Relaxationseffekte manifestiert, wurde die zeitliche Entwicklung der Position der Indikatorbande eines reinen DPPG-Films bei einem konstanten Flächenwert von 0,604 nm²/Molekül verfolgt. Diese Messungen ergaben, ausgehend von 2918,5 Wellenzahlen zu Beginn des Experiments, Werte, die nach 100 Minuten bei etwa 2917,5 und nach 250 Minuten nicht unterhalb von 2917 cm⁻¹ lagen. Dieses Niveau ist nicht sehr weit von dem Endwert entfernt, der beim Permeabilisierungsversuch gemessen wurde, weshalb durch die hier vorliegende Datenlage sich ein ordnender Effekt des Surfactins zwar andeutet, aber nicht zweifelsfrei belegt werden kann.

Daher wurde in einem zweiten Versuch (Abb. 79) die Zeitspanne verkürzt, nach der die Surfactin-Injektion erfolgte (nach 45 min), um beide fraglichen Phänomene stärker voneinander zu entkoppeln.



Abb. 79: Die Angaben entsprechen mit Ausnahme des Zeitpunkts der Surfactin-Injektion (hier nach 45 min) der aus **Abb. 78**.

Wie aus der Auftragung der Zeitreihe hervorgeht, tritt der Effekt, den das Surfactin auf den Grad der konformativen Ordnung vom DPPG hat, nun deutlich hervor: Die Absenkung der Wellenzahl der Indikatorbande von ~2918,5 auf ~2917 cm⁻¹ erfolgt nahezu augenblicklich nach der Surfactin-Injektion. Allerdings liegen die Meßpunkte zum Ende des Versuchs um etwa 0,3 cm⁻¹ höher als bei der späteren Surfactin-Injektion.

Konklusion

Augenscheinlich ist das Surfactin in der Lage, eine unkomprimierte DPPG-Monoschicht in einen Zustand zu überführen, in dem die Alkylketten eine weitgehende all-*trans*-Konformation einnehmen. Es ist davon auszugehen, daß Surfactin-Moleküle von der Subphase an die Oberfläche diffundieren, zwischen die DPPG-Domänen bzw. Moleküle treten und sie aufgrund des Platzbedarfs verdrängen und zusammenschieben. Dieser Vorgang vollzieht sich auf einer sehr kurzen Zeitskala. Unter Bezugnahme auf die in Abschnitt 4.4.1. getroffene Klassifizierung wird angenommen, daß hier eine unspezifische Wechselwirkung vorliegt. Ob es nachfolgend in der dann vorliegenden gemischten Monoschicht zu einer Phasenseparation kommt, kann hier nicht entschieden werden. Aus dem Ausmaß der Absenkung der Wellenzahl läßt sich wiederum eine Abschätzung der Verteilungsgleichgewichtskonstanten vornehmen. Mit $\Delta A = 0,22 \text{ nm}^2/\text{Molekül}, N_{DPPG} = 5,92 \times 10^{15}, N_{Surf.}(ges) = 4,31 \times 10^{17} \text{ und}$ $N_{Surf.}(mono) = 1,05 \times 10^{15} \text{ ergibt sie sich zu:}$

(3)
$$Ks = \frac{N_{Surf.}(mono)}{N_{Surf.}(ges) - N_{Surf.}(mono)} = \frac{N_{Surf.}(mono)}{N_{Surf.}(sub)} = 2,45 \times 10^{-3}$$

Der Molenbruch *Xs* der gemischten Monoschicht nach der Adsorption des Surfactins ergibt sich zu $Xs = N_{Surf.}(mono) / [N_{Surf.}(mono) + N_{DPPG}] = 0,15$. Dieser Wert ist dem für den Fall des DPPC sehr ähnlich und scheint insofern nicht unrealistisch. Er macht zudem deutlich, daß kein einfacher Zusammenhang zwischen der insgesamt injizierten Surfactin-Menge einerseits, dem an der Grenzfläche angereicherten Anteil andererseits und dem durch ihn bewirkten Effekt besteht.

4.4.4. POPC

Neben der Ladung der Kopfgruppen und der geometrischen Verhältnisse von Kopfgruppe zum hydrophoben Rest der Lipidmoleküle beeinflußt ein weiterer Faktor die Stabilität von Membranen bzw. die Fähigkeit der Lipide, in schichtartigen Anordnungen dichtgepackte Strukturen und damit effektive Schutzbarrieren gegenüber Attacken von membranaktiven Peptiden zu bilden: Die potentielle Stärke der Summe der hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Alkylketten des Acylrestes benachbarter Lipidmoleküle. Abgesehen vom äußeren lateralen Druck bestimmt sich diese wiederum durch 3 Parameter: (i) durch die absolute Länge der Alkylketten, (ii) durch die Einheitlichkeit ihrer Längen bei Vorliegen gemischter Schichten verschiedener Lipide, und (iii) durch ihre stereochemischen Merkmale, z.B. ob die Ketten gesättigt sind oder Doppelbindungen enthalten und welche Konfiguration die Doppelbindungen (E/Z) aufweisen.

Die Δ^9 -cis-Doppelbindung der Z-9-Octadecenoylkette des POPC kann in diesem Kontext als Strukturdefekt aufgefaßt werden, der eine erhebliche Störung der konformativen Ordnung in der Nähe der Position der Doppelbindung entfaltet. Dies hat entsprechende Konsequenzen für die Packungsdichte insgesamt in Assoziaten, die nicht nur wegen der geringeren van-der-Waals-Kräfte im hydrophoben Kompartiment, sondern auch aufgrund der resultierenden konischen Gestalt des Gesamtmoleküls, die eine Annäherung der Kopfgruppen erschwert, reduziert ist.

Beide Aspekte könnten im Hinblick auf den Mechanismus der Destabilisierung oder Permeabilisierung von Membranen durch Surfactin von Bedeutung sein. So dürfte der Durchtritt des hydrophoben Fettsäurerestes durch die polare Schicht, die durch die polaren Kopfgruppen gebildet wird, der erste Schritt in diesem Prozeß sein, der bei einer weniger dichten Assoziation erleichtert ist. Betrachtet man den Fettsäurerest als eine Art Anker, der sich nach dem Durchtritt durch die polare Grenzfläche an die hydrophoben Alkylketten der Phospholipide heftet und evtl. auf diese Weise die laterale Organisation der Lipide beeinflußt, wird deutlich, daß die Packungsdichte des hydrophoben Körpers der Lipidschicht eine wichtige Rolle spielt.

A) Monoschichten

П/A-Isotherme

Die Konsequenzen der stereochemischen Merkmale des POPC spiegeln sich auch in der thermodynamischen Charakterisierung der Monoschicht wider (s. Abb. 80). Der als sehr expandiert zu bezeichnende Charakter der Π/A -Isotherme drückt sich darin aus, daß bereits bei sehr großen Flächen pro Molekül (1,3 nm²/Molekül) ein Anstieg des Oberflächendrucks registriert wird, während der Kompression nur eine ausgeprägte LE-Phase durchlaufen wird und darin, daß der Kollapspunkt schon bei einem Flächenwert von 0,6 nm²/Molekül erreicht ist. Vom Erscheinungsbild ähnelt sie stark der Π/A -Isotherme des DPPS, ist jedoch zu deutlich höheren Flächenwerten verschoben. Anders als beim DPPS, bei dem die Größe der Kopfgruppe und die elektrostatische Abstoßung zwischen ihnen für die Verhinderung des Erreichens stärker kondensierter Phasen verantwortlich sein dürfte, behindert hier die Gestalt des hydrophoben Teils der Lipide bzw. ihre räumliche Ausdehnung eine weitergehende Annäherung benachbarter Amphiphile, so daß eine engere Packung innerhalb der Monoschicht nicht erreicht werden kann.



Abb. 80: Π/A -Isotherme eines POPC-Films, aufgenommen auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C)

Vergegenwärtigt man sich, daß der Querschnittsflächenbedarf einer Cholin-Kopfgruppe bei geschätzten 0,45 nm²/Molekül liegt, wird deutlich, daß selbst in der Nähe des Kollapspunktes und hohen Oberflächendrücken nur ein recht loses Netzwerk vorliegt, in dem die Lipidkopfgruppen verhältnismäßig weit von ihren jeweiligen Nachbarn entfernt sind. Es bietet sich einem aus der nachempfundenen extrazellulären Perspektive gleichsam ein Bild einer mit vielen Mulden oder Furchen versehenen Oberfläche dar, deren Resistenz gegenüber membranaktiven AP wahrscheinlich gering ist.

IRRAS-Messungen

Daß in Monoschichten von POPC nur ein relativ geringer Assoziationsgrad niedriger Dichte vorliegt, kommt auch durch die IRRAS-Messungen zum Ausdruck (s. Abb. 81). Der Verlauf der Wellenzahlen der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung macht deutlich, daß ein bestimmtes Maß konformativer Ordnung nicht überschritten werden kann und daß dieses Maß im Vergleich zum DPPC oder gar DPPG sehr niedrig ist. Die Meßpunkte liegen zu Beginn der Kompression bei sehr hohen ~2925 cm⁻¹ (zudem streuen die Werte in den Einzelmessungen relativ stark), sinken dann bis zu einem Flächenwert von ~0,8 nm²/Molekül in etwa linear auf ~2922,5 cm⁻¹ ab und verbleiben von diesem Punkt an konstant auf diesem Niveau.



Abb. 81: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Fläche/Molekül für einen POPC-Film auf reinem Wasser (pH = 6) bei T = 295 K ($22 \degree$ C)

Hier wird offenkundig, daß (i) die *cis*-Doppelbindung ein gehöriges Maß an konformativer Unordnung stiftet und (ii) die Sperrigkeit der Z-9-Octadecenoylketten eine Annäherung der Moleküle insoweit verhindert, daß zwischen den Alk(en)ylketten benachbarter Moleküle Dispersionskräfte effektiv wirksam werden könnten, mit der Folge, daß das *trans/gauche-* Verhältnis für Flächen $< 0.8 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ unabhängig vom Kompressionszustand bis zum Kollapspunkt relativ niedrig bleibt.

B) Permeabilisierungsversuche

Für die Evaluierung des Durchdringungsvermögens wurden zwei Versuche mit POPC-Monoschichten durchgeführt: Einer in einem expandierten (1,041 nm²/Molekül) und einer in einem komprimierten (0,669 nm²/Molekül) Zustand kurz vor dem Kollapspunkt.

Expandierte Monoschicht

In Abb. 82 ist die Zeitreihe für einen expandierten POPC-Film zu sehen, bei dem nach 110 Minuten die Injektion der Surfactinlösung in die Subphase erfolgte. Vor dem Zeitpunkt der Injektion werden für die Indikatorbande Werte zwischen 2924 und 2922 cm⁻¹ gefunden. Genaugenommen hat es den Anschein, als würde der Film aus zwei Komponenten bestehen oder in zwei diskreten Zuständen vorliegen, die entweder Werte von 2924 *oder* 2922 Wellenzahlen liefern. Dies konnte jedoch in Wiederholungsmessungen nicht reproduziert werden, bei ihnen werden auch Werte gemessen, die zwischen diesem Intervall liegen. Alle Messungen zusammengenommen, ergibt sich ein mittlerer Wert von etwa 2923 cm⁻¹, der mit dem Wert der unter A) "IRRAS-Messung" bei diesem Kompressionszustand gemessen wurde gut übereinstimmt.



Abb. 82: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Zeit für einen POPC-Film bei $A = 1,041 \text{ nm}^2/\text{Molekül vor und nach der Injektion einer Surfactin-Lösung}$ (200 µL der Konz. 3,1 mg/mL) in reines Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C). Der senkrechte Strich markiert den Zeitpunkt der Surfactin-Injektion.

Für die Zeit nach der Surfactin-Injektion in die Subphase ergeben sich ebenfalls Werte zwischen ~2925 und 2922 Wellenzahlen, gegenüber dem Zeitpunkt vor der Injektion kann keine signifikante Änderung des Grads konformativer Ordnung festgestellt werden. Ob sich dieser Umstand – ähnlich wie im Fall des DPPS – im Rahmen einer angenommenen Verhinderung des Relaxationsprozesses deuten läßt, in dem die zwischen die Lipidmoleküle getretenen Surfactin-Moleküle eine Umorganisation der Lipidpackung in Richtung des thermodynamischen Gleichgewichts verzögern/unterbinden, ist aufgrund des Verlaufs der Relaxationsexperimente unklar: sie ergaben nach einem Zeitraum von 270 Minuten Wellenzahlen der Indikatorbande zwischen 2923 und 2922 cm⁻¹. Überhaupt ist dieser äußerst gering ausgeprägte Relaxationseffekt – falls davon überhaupt gesprochen werden kann – bemerkenswert.

Komprimierte Monoschicht

Wie aus Abb. 83 hervorgeht, streuen die Wellenzahlen vor der Surfactin-Injektion in einem ähnlichen Maße wie im Falle der expandierten Monoschicht, sie liegen zwischen 2924 und 2921,5 cm⁻¹. Unmittelbar nach der Injektion der Surfactin-Lösung, die nach 100 Minuten erfolgte, wird jedoch zunächst eine beträchtliche Erhöhung der Wellenzahl beobachtet, die bis zu einem Zeitpunkt von ~175 Minuten in etwa konstant ist und nachfolgend jedoch stark abfällt, so daß die Werte nach ca. 250 Minuten sogar unterhalb des Ausgangsniveaus zu Beginn des Experiments liegen.



Abb. 83: Wellenzahl der antisymmetrischen Methylenvalenzschwingung in Abhängigkeit von der Zeit für einen POPC-Film bei $A = 0,669 \text{ nm}^2/\text{Molekül}$ vor und nach der Injektion einer Surfactin-Lösung (117 µL der Konz. 5,3 mg/mL) in reines Wasser (pH = 6) bei T = 295 K (22 °C). Der senkrechte Strich markiert den Zeitpunkt der Surfactin-Injektion
In Wiederholungsversuchen wurde ein vergleichbarer Verlauf der Datenpunkte registriert. Es ist damit das einzige Experiment, in dem das Surfactin, zumindest für eine gewisse Zeitspanne, eine nennenswerte Erhöhung des Grads konformativer Unordnung induzieren konnte. Interessant ist, daß es nach dieser zwischenzeitlichen Störung der Packungsanordnung anscheinend zu einer Reorganisation der dann vermutlich gemischten Monoschicht kommt, die zu einer ähnlich dichten Packung führt, wie vor dem Zeitpunkt der Surfactin-Injektion. Eine mögliche Erklärung des unterschiedlichen Verlaufs der Versuche mit der expandierten und komprimierten POPC-Monoschicht besteht darin, daß es zwar in beiden Situationen zu einer Inkorporation des Surfactins kommt, sich diese bei der expandierten Monoschicht aber nicht bemerkbar macht, weil sich die POPC-Moleküle in einem gasanalogen Zustand befinden, in dem sie von den zwischen sie getretenen Surfactin-Molekülen kaum beeinflußt werden. Im komprimierten Zustand (LE-Phase) jedoch, in der die POPC-Moleküle bereits in Wechselwirkung miteinander getreten sind, ruft der Einbau des Surfactins in die Monoschicht während dieses Prozesses eine temporäre Störung hervor. Aufgrund der umgekehrt-konischen Gestalt der POPC-Moleküle beschränkt sich der Vorgang nicht einfach darauf, daß sie zusammengeschoben werden, sondern die Z-9-Octadecenoylkette könnte als Strukturdefekt in erster Linie dazu führen, daß gewissermaßen der Störungseinfluß auf die Nachbarmoleküle übertragen werden. Mit zunehmendem Einbau von Surfactin-Molekülen könnte aufgrund der komplementären Gestalt beider Molekülsorten schließlich eine topologisch günstigere Anordnung resultieren. Dieser Gedanke wird in der nachfolgenden zusammenfassenden Diskussion noch einmal präzisiert.

4.4.5. Zusammenfassende Diskussion

Die wesentlichen Ergebnisse sind in ihrer Gesamtheit noch einmal überblicksweise in komprimierter Form in Tabelle 3 dargestellt, aus der hervorgeht, getrennt nach den zu unterscheidenden Ebenen (thermodynamische vs. molekulare), in welchen Zuständen die reinen Monoschichten der verschiedenen Phospholipide vorliegen, welche Wechselwirkungen zwischen den Komponenten vorherrschen und unter welchen Bedingungen Surfactin welche Effekte auf sie ausübt.

Tabelle 3: Zusammenfassung der Ergebnisse für die verschiedenen Phospholipide, getrennt nach thermodynamischen (Filmwaage-Messungen) und molekularen (IRRAS-Messungen) Charakteristika. WW = Wechselwirkung; unter / über = Unteranziehung / Überanziehung; bezieht sich auf die gemischten Monoschichten mit Surfactin. Relax. = Relaxation; - /o /+ = sehr schwach / mittelstark / stark ausgeprägt. PV = Permeabilisierungsversuch; exp. = expandierte, komp. = komprimierte Monoschicht; $\downarrow / \rightarrow / \uparrow / - =$ Absenkung / Gleichbleiben / Erhöhung der Wellenzahl der Indikatorbande nach Surfactin-Injektion beobachtet / kein entsprechendes Experiment durchgeführt.

		Thermodynamik		Molekulare Charakterisierung		
Lipid	Ladung	Π/A	WW	IRRAS	Relax.	PV
DPPC	+/-	LE/LC	unter	2924,0 - 2919,0	0	exp./komp. \downarrow / -
DPPS	+/	LE	?	2925,0-2923,5	_	exp./komp. \rightarrow / \downarrow
DPPG	_	LC/LS	unter	2919,5 – 2916,5	+	exp./komp. \downarrow / -
POPC	+/-	LE	?	2924,5 - 2922,0	0	exp./komp. \rightarrow / \uparrow

Auf den ersten Blick fällt es schwer, die Parameter zu entdecken, die es erlauben würden, in bezug auf die Wirkweise des Surfactins ein in sich logisches und schlüssiges Bild zu entwerfen. Ein einheitliches Muster ist nicht zu erkennen: So übt Surfactin einen ordnenden Effekt auf Filme aus, die durch zwitterionische oder negativ geladene Lipide konstituiert sind, auf solche, die Π/A -Isothermen expandierten oder kondensierten Charakters ergeben, die der Relaxation in stärkerem oder schwächeren Maße unterliegen, und es ist in der Lage, den Grad konformativer Ordnung in Filmen zu erhöhen, die in einem expandierten oder komprimierten Zustand vorliegen. Auffällig ist, daß – evtl. mit der Ausnahme der komprimierten POPC-Monoschicht – in keinem weiteren Fall ein *höheres* Maß an konformativer *Unordnung* in der Alkylkettenpackung des Acylrestes der Lipide induziert, allenfalls ein Erreichen einer dichteren Packung verhindert wurde.

Daraus kann vorsichtig geschlossen werden, daß im Prinzip einer der denkbaren bzw. vorgestellten Wirkmechanismen auszuschließen ist. Es scheint nicht so zu sein, daß durch das Surfactin Lipidmoleküle – in welcher Weise auch immer – solubilisiert bzw. in die Subphase transferiert werden und die an der Grenzfläche verbleibenden Konstituenten eine größere Fläche/Molekül zur Verfügung haben, was sich entsprechend auch in der Wellenzahl der Indikatorbande bemerkbar machen sollte. Angenommen ein solcher Prozeß fände doch statt, müßte ein Teil der injizierten Surfactin-Menge an die Stelle der dann nicht mehr an der Grenzfläche verweilenden Lipidmoleküle getreten sein. Schlüssiger ist jedoch die Annahme, daß das Surfactin zwischen die Lipidmoleküle tritt, ohne daß sie in die Subphase transferiert werden. Mag es zunächst der Vorstellung entgegenstehen, Surfactin bilde Löcher oder Poren in Membranen, so muß andererseits der hier verwendete experimentelle Ansatz berücksichtigt werden. Die Inkorporation des Surfactins in eine *Monoschicht* müßte dann als erster Schritt der Permeabilisierung aufgefaßt werden. Es ist denkbar, daß alle weiteren Schritte mit dieser Monoschicht-Technik gar nicht erfaßt werden können. In diesem Sinne wäre eine Detektion der Zunahme des Ordnungsgrads der Alkylketten bereits identisch mit einer bzw. so gut wie

eine Lochbildung. Die zwischenzeitliche Abnahme des Ordnungsgrad im Fall der komprimierten POPC-Monoschicht kann wegen der Besonderheit der geometrischen Merkmale in dieses Konzept integriert werden, wie weiter unten erläutert werden wird.

Dennoch harren die mechanistischen Details an dieser Stelle noch einer Erklärung. Es sollen daher im folgenden unter Einbeziehung der molekularen Wechselwirkungsmöglichkeiten (seien sie elektrostatischer oder hydrophober Natur oder seien es Wasserstoffbrücken) zwischen den beteiligten Komponenten, ihren geometrischen Merkmalen und topologischen Gesichtspunkten, Überlegungen angestellt werden, welche Prinzipien hier zur Geltung kommen könnten und es erlauben, die gefundenen Phänomene zu erklären. Wahrscheinlich wird es nicht ein, nicht *das* übergeordnete Prinzip geben, aus dem sich alles ableiten läßt; vielmehr ist anzunehmen, daß in Abhängigkeit vom eingesetzten Lipid eine Summe verschiedener Faktoren eine Rolle spielt.

Der Packungsparameter g und die Rolle des Membrankrümmungsdrucks

Der Packungsparameter g von Amphiphilen hat einen grundlegenden Einfluß auf den fundamentalen Prozeß ihrer Selbstorganisation und bestimmt auch die Stabilität der resultierenden Ensembles. Dieser Parameter wurde 1976 von Israelachvili et al.^[149] eingeführt und setzt die geometrischen Verhältnisse (Volumen - Querschnittsfläche - Länge) des Amphiphils miteinander in Beziehung. Er ist definiert als $g = V/(a \times l)$, wobei V das Volumen der Kohlenwasserstoffkette(n), *a* die "optimale"¹³ Querschnittsfläche der Kopfgruppe pro Molekül und l die Länge der Kohlenwasserstoffkette bedeuten. Für sehr kleine g haben die Amphiphile die Tendenz, sphärische Micellen, bei etwas größeren g-Werten zylindrische Micellen, bei mittelgroßen g nahezu planare Schichtstrukturen (Doppelschichten oder große Vesikel) und schließlich bei Vorliegen sehr großer g-Werte inverse Micellen auszubilden. Etwas einfacher betrachtet, kann man auch die Größe der Kopfgruppe zu der des Volumens der Alkylketten ins Verhältnis setzen und die Differenz als ausgeprägte oder weniger ausgeprägte resultierende konische Gestalt des Moleküls definieren. Dann ergibt sich aus einfachen geometrischen Überlegungen ganz anschaulich der Zusammenhang, daß Amphiphile mit sehr kleinen Kopfgruppen dazu neigen, inverse Micellen zu bilden, Amphiphile zylindrischer Gestalt (bei denen die Kopfgruppe in etwa dieselben Ausmaße hat, wie die Ketten) stabile krümmungslose Doppelschichten formen und Amphiphile mit sehr großen Kopfgruppen die Bildung von normalen Micellen anstreben. In Mono- oder Doppelschichten sind die Amphiphile jedoch in eine planare Geometrie gezwungen – daraus resultiert entsprechend ein negativer Krümmungsdruck für Amphiphile mit kleinen Kopfgruppen und ein positiver für solche mit großen Kopfgruppen. Zur Veranschaulichung des Gesagten dient Abb. 84.

¹³ Der Ausdruck "optimal" bedeutet in diesem Zusammenhang, daß über den Raumbedarf (basierend auf den van-der-Waals-Radien) der Kopfgruppen hinaus eventuelle elektrostatische oder sterische Wechselwirkungen in den Wert mit hinein berechnet sind; insofern ist auch die Sprechweise von einem "geometrischen" Parameter zumindest ungenau.



Abb. 84: Veranschaulichung des Zusammenhangs zwischen dem Packungsparameter g von Amphiphilen und dem daraus abgeleiteten Krümmungsdruck, der in schichtartigen Anordnungen herrscht, sowie die Darstellung der daraus resultierenden Aggregate, in denen kein Druck zugegen ist, einer minimalen freien Enthalpie entsprechend, für (A) Amphiphile mit sehr großen, (B) mittleren und (C) sehr kleinen g-Werten.

Basierend auf der Durchsicht der in der Literatur beschriebenen Befunde ganz unterschiedlicher AP und der Anwendung topologischer Stabilitätskriterien, hat R.M. Epand^[150] die Hypothese aufgestellt, daß Peptide, die entweder eine positive oder negative Krümmung in Membranen induzieren oder verstärken, (hämo)lytische Eigenschaften haben können, wobei diejenigen, die einen negativen Krümmungsdruck verstärken, in dieser Hinsicht etwas wirksamer zu sein scheinen.

Der Querschnittsflächenbedarf zweier Palmitoylketten beträgt etwa 0,40 nm². Die Kopfgruppe des DPPC ist etwas größer und wird mit 0,45 nm² angegeben,^[141] woraus sich eine leicht konische Gestalt ergibt (entspricht in eingeschränktem Maße dem Fall A in Abb. 84). Aufgrund der Carboxylgruppe innerhalb der Kopfgruppe dürfte die kegelförmige Gestalt beim DPPS noch ausgeprägter sein, und diese wird vom Surfactin mit nur einer Alkylkette und dem sterisch sehr anspruchsvollen Peptidring als Kopfgruppe noch übertroffen (Fall A in Abb. 84, während DPPG eine nahezu zylindrische Form aufweist (Fall B in Abb. 84). Bedingt durch die *cis*-Doppelbindung innerhalb der *Z*-9-Octadecenoylkette des POPC gleicht es hingegen einem Kegel, der auf die Spitze gestellt ist (Fall C in Abb. 84). Wie sich die Inkorporation von Surfactin auf die Monoschichten der verschiedenen Phospholipide möglicherweise auswirkt, ist schematisch in Abb. 85 gezeigt; dem Autoren ist dabei bewußt, daß Bilder auf das "Augentier Mensch" eine besonders starke Illusionskraft haben. Dessen ungeachtet, sei der/die Leser/in eingeladen, sich auf die Beschreibung folgender 4 Szenarien einzulassen.



Abb. 85: Schematische und hypothetische Darstellung der Konsequenzen der Inkorporation von Surfactin in Monoschichten von (A) DPPC, (B) DPPS, (C) DPPG und (D) POPC in bezug auf den Grad der konformativen Ordnung der Alkylketten der Acylreste und Stabilität der Modellmembran.

Der Einbau von Surfactin in Monoschichten von DPPC (Fall A in obiger Abb.) führt zu einer Verstärkung des positiven Krümmungsdrucks. Es ist denkbar, daß sich infolge des Durchtritts von Surfactin-Molekülen an die Grenzfläche und des damit verbundenen Zusammenschiebens der Lipidmoleküle Cluster von vulkanähnlicher Struktur dadurch bilden, indem die involvierten Komponenten eine Konstellation einnehmen, in der a) das *freie Volumen* minimiert ist und b) die van-der-Waals-Wechselwirkungen maximiert sind. Aufgrund der damit einhergehenden Deformationen entstehen nun an der Grenze zweier solcher benachbarter supramolekularer Gebilde aber Stellen minderer Dichte und herabgesetzter Stabilität (in der Abb. durch Pfeile markiert). Diese Defektstrukturen könnten mögliche weitere Angriffspunkte für weitere aus der Subphase an die Grenzfläche diffundierenden Surfactin-Moleküle sein, womit gleichfalls eine Erklärung dafür gefunden sein könnte, daß es bei vielen AP bei Überschreiten einer Grenzkonzentration zu einem sich selbst verstärkenden Fluß in den intrazellulären Raum kommt (engl.: *self promoting uptake*). Es könnte darüber hinaus angenommen werden, daß diese Schwachstellen diejenigen sind, an denen die Integrität der Membran als solche, etwa im Rahmen eines Micellisierungsprozesses, aufgehoben wird, es also die Stellen sind, an denen die Membran auseinanderbricht. Dieselben Überlegungen auf den Fall des DPPS angewandt, ergeben ein ganz ähnliches Bild; der bereits vorhandene, relativ große positive Krümmungsdruck bzw. die starke Micellenbildungstendenz wird durch die Anwesenheit des Surfactins noch verstärkt, mit vergleichbaren negativen Konsequenzen für die Membranstabilität.

Davon unterschieden sind die Verhältnisse beim DPPG, in dessen Monoschichten keine Tendenz zur Krümmung herrscht. Die Einführung von kegelförmigen Surfactin-Molekülen in eine DPPG-Schicht induziert zwar auch hier einen positiven Krümmungsdruck, von dem aber angenommen wird, daß er in bezug auf die Stabilität der Membran konsequenzlos bleibt, weil es aufgrund der günstigen Packungseigenschaften der Lipidmoleküle nicht zur Bildung von (gemischten) "Vulkan-Clustern" kommt (dies soll durch die Doppelpfeile im Schema C angedeutet sein), so daß sich der Vorgang auf das Zusammenschieben der Lipidmoleküle beschränkt und darüber hinaus keine weiteren Schwachstellen in der Modellmembran entstehen.

In gemischten POPC/Surfactin-Monoschichten liegt eine Konstellation vor, die im Prinzip als Umdrehung des Falls B beim DPPS aufgefaßt werden kann. Der stark negative Krümmungsdruck in der POPC-Monoschicht wird durch den Einbau von Surfactin-Molekülen, die eine zu den POPC-Molekülen komplementäre Gestalt aufweisen, zum Teil kompensiert. Und zwar zunächst in demselben Maße wie der Surfactin-Anteil zunimmt, bis der Krümmungsdruck null wird und die Stabilität der gemischten Schicht ein Maximum erreicht und eine weitere Aufnahme von Surfactin-Molekülen wenigstens gemäß topologischer Kriterien ungünstig ist. Somit liegt auch eine Umkehrung des oben geschilderten Prozesses vor: Wenn man so will, könnte man von einem *self-inhibiting uptake* sprechen.

Einen eindeutigen Bezug zu den Ergebnissen der IRRAS-Messungen und Permeabilisierungsversuchen herzustellen, ist aus den schon angesprochenen Gründen nur eingeschränkt möglich. Aber immerhin stehen die Tatsachen, daß beim DPPC (im expandierten Zustand), beim DPPS (im komprimierten Zustand) und DPPG eine Absenkung der Wellenzahl der Indikatorbande nach der Surfactin-Injektion in die Subphase beobachtet wurde, während eine solche im Falle des POPC (im expandierten Zustand) ausblieb, auch nicht im Widerspruch zu den präsentierten Überlegungen.

Physikochemische Wechselwirkungen

Zwischen den Phospholipiden und dem Surfactin ergeben sich, neben den hydrophoben Kräften zwischen den Alkylketten des Acylrestes, aufgrund der zahlreichen Heterostrukturelemente eine Fülle weiterer Wechselwirkungsmöglichkeiten, die zudem in Abhängigkeit vom Ionisierungsgrad der acidischen Gruppen (der seinerseits eine Funktion des pH-Wertes des umgebenen Mediums ist) variieren. In Frage kommen Coulomb-Wechselwirkungen, sofern der Asparagin- bzw. Glutaminsäurerest des Surfactins ionisiert vorliegt, und Wasserstoffbrückenbindungen. Das Peptidgerüst des Surfactins besteht sowohl aus H-Brücken-Akzeptoren als auch -Donatoren. Die Sauerstoffatome der Fettsäure- bzw. Phosphorsäuregruppierung aller Phospholipide sind potentielle H-Brücken-Akzeptoren, die Serin- bzw. Glycerol-Kopfgruppen des DPPS bzw. DPPG stellen auch Donatorstellen bereit.

Bei der Beurteilung des Verhältnisses der Kräfte zwischen den reinen Komponenten einerseits und denen zwischen dem Surfactin und den Phospholipiden andererseits, das Einfluß auf die Entmischungstendenz bzw. umgekehrt auf die Neigung zur Bildung von Mischphasen hat, müssen außer H-Brücken zwei weitere Faktoren berücksichtigt werden. Zum einen die Coulomb-Kräfte: Bei einer sterisch günstigen Konstellation der entgegengesetzt geladenen Atome in zwitterionischen Konstituenten kann eine dem Ionenkristall ähnliche stabile Anordnung eingenommen werden. Dies könnte beim DPPC und POPC der Fall sein, insbesondere in komprimierten Monoschichten, während in expandierten Schichten die Hydrathüllen mit ihrer hohen Dielektrizitätskonstante die Ladungen weitgehend abschirmen. Beim DPPS verkomplizieren sich die Verhältnisse wegen der zusätzlichen acidischen Serinkomponente innerhalb der Kopfgruppe. Die negativ geladene Kopfgruppe des DPPG führt in komprimierten Monoschichten zu repulsiven Wechselwirkungen. Da Surfactin seinerseits – zumindest in gewissem Ausmaß – negativ geladen vorliegt, könnte in gemischten Monoschichten von Surfactin/DPPS und Surfactin/DPPG eine Tendenz zur Phasenseparation vorliegen und in denen von Surfactin/DPPC und Surfactin/POPC eine zur Bildung von Mischphasen. Der zweite zu berücksichtigende Faktor ist der Grad der Übereinstimmung bzw. das Mißverhältnis der Kettenlängen der unterschiedlichen Amphiphile. Es ist bekannt, daß es in planaren Schichtanordnungen nach der Einführung von Komponenten, deren Kettenlänge entweder sehr viel kürzer oder länger als die der membranbildenden Matrix sind (hydrophobic mismatch), zu zwei Phänomenen kommen kann:^[151] Eine Kompression oder Elongation der Schichtdicke der Lipide in unmittelbarer Nachbarschaft durch Anpassung ihrer Länge an die Störelemente durch Erniedrigung oder Erhöhung des trans/gauche-Verhältnisses der Konformationen (dies ist häufig der Fall, wenn die Längenunterschiede nicht sehr groß sind), oder aber das Mißverhältnis ist so groß, daß die jeweiligen Komponenten Wechselwirkungen zu ihresgleichen bevorzugen, was eine Phasenseparation nach sich zieht, sofern die Dispersionskräfte die dominierenden sind.

Drei Dinge sprechen dagegen, daß in den vorliegenden Fällen das hydrophobe Mißverhältnis das dominierende Moment ist. (i) Der Längenunterschied zwischen einer *iso*-C₁₅und einer *n*-C₁₆-Kette ist nicht besonders markant. (ii) Computersimulationen von Gallet *et* $al.^{[142]}$ konnten die auf Oberflächeneigenschaften und massenspektrometrischen Messungen beruhende Annahme von Ishigami *et al.*^[152] nicht bestätigen, nach der Surfactin an der Luft/Wasser-Grenzfläche aufgrund ausgeprägter Wechselwirkungen zwischen den aliphatischen Ketten Dimere bildet. (iii) Mit Ausnahme von POPC (im komprimierten Zustand), bei dem innerhalb einer gewissen Zeitspanne nach der Surfactin-Injektion eine Erhöhung der Wellenzahl der Indikatorbande auftrat, konnte dies in keinem weiteren IRRAS-Experiment beobachtet werden, so daß ein Rückschluß auf das Stattfinden eines Längen-Anpassungsprozesses nicht gerechtfertigt scheint.

Ergänzende Computersimulationen

Aus dem bisher Gesagten dürfte hervorgegangen sein, daß durch Betrachtung der Konstitutionsformeln der Komponenten allein keine umfassenden Aussagen über die real vorliegenden Verhältnisse gemacht werden können. Deshalb wurde zusätzlich versucht, wenigstens anhand eines Beispiels – DPPC – mit Hilfe von Kraftfeldberechnungen ein wenig Licht ins Dunkel zu bringen.

Alle Berechnungen erfolgten unter Verwendung des MM(+)-Kraftfeldes (proprietäre Variante des MM2-Kraftfeldes des Softwarepakets Hyperchem rel. 3 der Firma Hypercube, USA). Die wegen der begrenzten *cpu*-Ressourcen verfolgte Simulationsstrategie ist, vergegenwärtigt man sich die Komplexität des realen natürlichen Systems, als minimalistisch einzustufen und bestand im folgenden Vorgehen.

Zunächst wurden getrennt voneinander je ein einzelnes DPPC- und ein Surfactin-Molekül (unter "Vakuumbedingungen") geometrieoptimiert. Sodann wurde einem manuell vororientierten Verband, bestehend aus je einem Surfactin- und zwei benachbarten DPPC-Molekülen, 500 Wassermoleküle so hinzugefügt, daß eine Vakuum/Wasser-Grenzschicht nachempfunden wurde. Die Amphiphile wurden so plaziert, daß die hydrophoben Ketten in die Vakuum-Phase ragen. Anschließend erfolgte erneut eine Energieminimierungsrechnung des Gesamtverbands, nun jedoch unter periodischen Randbedingungen (*periodic boundary conditions*, PBC). Um einen Eindruck des resultierenden Ensembles zu gewinnen, betrachte man Abb. 86.



Abb. 86: CPK-Darstellung (*Corey-Pauling-Kultin*, CPK) des Ergebnisses der Energieminimierungsrechnung (MM(+)-Kraftfeld) eines manuell vororientierten Ensembles aus 2 DPPC-Molekülen (links und rechts) und einem Surfactin-Molekül (Mitte) an der Luft/Wasser-Grenzfläche. Nähere Erläuterungen s. Text.

Im nächsten Schritt wurden die Wasser-Moleküle entfernt und eine Moleküldynamik (*molecular dynamics*, MD) durchgeführt (Eine entsprechende Simulation unter Einbeziehung des Wassermolekülverbands war auf dem zur Verfügung stehenden Rechner, Pentium III-Prozessor, 500 MHz Taktfrequenz, nicht mehr zu handhaben). Die Starttemperatur betrug 0 K. Über eine Zeitspanne von 10 Pikosekunden wurde das System auf 300 K aufgeheizt, mit einem sehr kleinen Temperaturschritt-Programm, um möglichst nahe am Gleichgewicht zu bleiben. Die nachfolgende, eigentliche Simulationszeit, bei dann konstanten 300 K, betrug weitere 5 Pikosekunden. Der Zeitschritt betrug eine Femtosekunde. Schließlich wurde das resultierende Ensemble noch einmal energieminimiert. Die finale Konfiguration ist in Abb. 87 wiedergegeben.



Abb. 87: CPK-Darstellung der finalen Konfiguration des DPPC/Surfactin-Clusters nach der MD-Simulation.

Obgleich es während der Simulationszeit zu einer merklichen Translation und Rotation des Gesamtverbands kam, blieb er nicht nur über die gesamte Zeit über als solcher erhalten, auch im Hinblick auf die gegenseitige Orientierung der Kopfgruppen und hydrophoben Ketten der Moleküle zueinander, er war auch wesentlich dichter gepackt. Während der Simulation zeigte sich deutlich die durch die van-der-Waals-Kräfte vermittelte Attraktion zwischen den Alkylketten. Dabei scheint es so zu sein, daß sie bevorzugt zwischen den längeren Ketten der DPPC-Moleküle untereinander, als zwischen der längeren des DPPC und kürzeren des Surfactins wirkt, was sich aus der Tatsache ergibt, daß sich die Moleküle nach Ende der Simulation so angeordnet hatten, daß die DPPC-Moleküle nun direkt benachbart waren, im Gegensatz zur Ausgangskonfiguration, in der sie auf den beiden gegenüberliegenden Seiten des dazwischen liegenden Surfactins positioniert waren. Die Fettsäurekette des Surfactins liegt gewissermaßen eingebettet zwischen zwei DPPC-Acylketten, je eine zu einem der DPPC-Moleküle gehörend. Obgleich ein Rückschluß auf das Phasenverhalten im realen System unzulässig ist, könnte sich darin dennoch die Tendenz zur Phasenseparation widerspiegeln.

Ein weiteres interessantes Ergebnis ist die Anzahl und die Verteilung der *gauche*-Defekte entlang der hydrophoben Ketten. Die des Surfactins liegt sowohl vor als auch nach Ende der Simulation in der all-*trans*-Konformation vor. Innerhalb der vier Ketten der beiden DPPC-Moleküle fanden, ebenfalls ausgehend von einer all-*trans*-Konformation, drei (Molekül 1) und fünf (Molekül 2) Umwandlungen in *gauche*-Konformationen statt. Fünf der insgesamt acht *gauche*-Defekte sind "oberhalb" des oberen Kettenendes des Surfactins lokalisiert und nur drei befinden sich im Bereich, den die Kette des Surfactins aufspannt.

Anders als in der Ausgangskonfiguration liegt der Peptidring nun nicht horizontal entlang der gedachten Luft/Wasser-Grenzfläche, sondern hat eine eher vertikale Orientierung inne. Dies könnte zweifellos ein Resultat der Nicht-Berücksichtigung der wäßrigen Subphase sein. Wie von anderen Autoren^[142] auch berichtet, weist der Peptidring eine an einen Pferdesattel erinnernde Topologie auf, die durch intramolekulare Wasserstoffbrücken hervorgerufen wird. Abweichend von bisher beobachteten Konstellationen, bildet sie sich hier allerdings zwischen den Gruppierungen [Leu7-N(H)-C(O)-Leu2] aus.

Trotz des gewählten Ansatzes, der nicht im entferntesten an die Komplexität eines realen Systems heranreicht – so wären beispielsweise allein für die korrekte Erfassung der Wechselwirkung mit den angrenzenden Wasserschichten pro Amphiphil ca. 10^5 Wassermoleküle notwendig, und die Formation von zufallsverteilten Molekülen zu Micellen oder Monoschichten benötigt Simulationszeiten von mindestens einer Millisekunde – ermöglichen solche Simulationen erste interessante Einsichten in das Verhalten der beteiligten Komponenten.

Berücksichtigt man den vergangenen und gegenwärtig sich noch beschleunigenden Fortschritt auf dem Gebiet der Computertechnik und Algorithmenentwicklung dürfte es nur noch eine Frage der Zeit sein, bis sich auch solche komplexen Vielteilchensysteme relativ realitätsnah abbilden lassen.

5. Zusammenfassung

Diese Arbeit besteht aus drei Teilen. Im ersten Teil wurden Langmuir-Filme von chiralen *N*-Acylaminosäurederivate untersucht, im zweiten Bolaamphiphile und im dritten wurden Langmuir-Filme von Phospholipide als biomimetisches System eingesetzt, um einen Beitrag zur Aufklärung der Wirkweise des antibiotischen Peptids Surfactin zu leisten.

Im ersten Teil werden Untersuchungen zur Morphologie von Langmuir-Filmen von *N*-Acylaminosäurederivaten beschrieben, die mit Hilfe der Brewster-Winkel-Mikroskopie erfolgten. Sie knüpften an vorhergehende Arbeiten an, in denen diese Klasse chiraler Amphiphile an der Luft/Wasser-Grenzfläche hinsichtlich ihrer thermodynamischen bzw. Kollektiveigenschaften sowie struktureller Eigenschaften auf der Ebene des einzelnen Moleküls charakterisiert wurde.

Neben dem Ziel, die noch offenen Erklärungslücken, die zwischen diesen verschiedenen Ebenen bestanden, zu schließen und generell mehr in Erfahrung darüber zu bringen, welche Parameter die Filmmorphologie in welcher Weise beeinflussen, standen drei weitere Fragestellungen im Vordergrund:

- Treten die chiralen Diskriminierungseffekte, die durch die Aufnahme von Π/A-Isothermen und IRRAS-Messungen zuvor detektiert wurden, auch auf der Ebene der Domänen in Erscheinung und welche Rolle spielen dabei interamphiphile Wasserstoffbrückenbindungen?
- Kommt es beim Einsatz der racemischen Monoschichten im Verlauf der isothermen Kompression zu dem Phänomen der chiralen Phasenseparation?
- Spiegelt sich die Chiralität der filmkonstituierenden Moleküle in einer entsprechenden 2-dimensional chiralen Gestalt der Domänen wider und können die beobachteten Morphologien mit bestimmten Strukturen der zugrundeliegenden Subzelle bzw. mit konkreten Gitteranordnungen korreliert werden?

Wesentliche Ergebnisse waren:

 Die Morphologien der Langmuir-Filme der enantiomerenreinen und racemischen Form von N-Hexadecanoylalanin auf wäßriger Subphase unterscheiden sich bei 298 K deutlich voneinander. Während das L-Enantiomer kristalline Plättchen bildet, ist die irregulär-fraktale Gestalt der Domänen des Racemats durch einen DLA-Mechanismus zu erklären. Es konnten keine Hinweise auf eine chirale Phasenseparation gewonnen werden. Bei erhöhten Temperaturen (303 K) kommt auch beim L-Enantiomer ein dendritisches Wachstumsmuster zum Vorschein, das zu explizit chiralen Domänenformen führt, in denen sich die Chiralität der filmkonstituierenden Moleküle widerspiegelt. Die Gestalt der Domänen kann auf der Grundlage einer schiefwinkligen Subzelle abgeleitet werden. Sie ist bestimmt durch das Wirksamwerden gerichteter attraktiver Kräfte, wofür H-Brücken verantwortlich gemacht werden.

- Auf zinkionenhaltiger Subphase vollzieht sich beim L-Enantiomer von N-Hexadecanoylalanin während des Kondensationsvorgangs eine bemerkenswerte Metamorphose: Anfangs dominierten torusartigen Domänen, die sich bei fortschreitendem Wachstum in stark gewundene, S-förmige Domänen umwandelten, bis sie schließlich eine seepferdchenähnliche Gestalt annahmen. Dabei handelt es sich ebenfalls um 2-dimensional chirale Strukturen; entsprechend spiegelbildliche Domänenformen wurden nicht beobachtet, so daß eine Entsprechung von molekularer Chiralität und der Form der kondensierten Vielteilchenaggregate vorliegt. Ihre Entstehung läßt sich im Rahmen eines elektrostatischen Wachstumsmodell verstehen.
- N-Hexadecanoylalaninmethylester bildet in enantiomerenreiner Form auf wäßriger Subphase drei verschiedene dendritische Muster, wobei zwei davon auf dieselbe zugrundeliegende schiefwinklige Subzelle zurückgeführt werden können. Das Auftreten verschiedener Gittertypen, die sich auf den Winkel und die Zahl der Dendriten auswirken, kann durch lokal unterschiedlich hohe Wachstumsraten der Domänen erklärt werden. Das Racemat bildet hingegen sehr regelmäßige, symmetrische Dendritenmuster mit einer auffallend niedrigen Verzweigungsdichte. Anzeichen einer chiralen Phasenseparation liegen auch hier nicht vor.
- Auf wäßriger Subphase bildet das L-Enantiomer von N-Octadecanoylvalin ebenfalls dendritische Domänen. Sie liegen einem schiefwinkligen Gitter zugrunde; ihre äußere Gestalt ist jedoch nicht explizit chiral. Bemerkenswert ist, daß die Domänenbildung vollständig reversibel ist und daß sie sich in einem Kompressionszustand vollzieht, der anhand der Π/A-Isotherme eigentlich als LE-Phase identifiziert wurde. Beim Racemat sind im BAM erst kurz vor dem Kollapspunkt kondensierte Strukturen auszumachen, die teilweise eine gebogene Gestalt aufweisen. Jedoch lagen auch hier keine eindeutigen Indizien für einen chiralen Symmetriebruch vor.

Im zweiten Teil wurde eine weitere Klasse chiraler Amphiphile behandelt, nämlich Methyldihydroxyoctadecanoate, die den Bolaamphiphilen zuzurechnen sind. Bolaamphiphile sind dadurch gekennzeichnet sind, daß sie zusätzlich zur polaren Kopfgruppe eine zweite polare Gruppierung entlang der hydrophoben Alkylkette tragen; im vorliegenden Fall handelte es sich um eine vicinale Diolgruppierung, deren Position entlang der hydrophoben Alkylkette variierte. Durch die OH-Gruppen sind, wie bei den *N*-Acylaminosäurederivaten, Möglichkeiten zur Ausbildung von intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen gegeben, deren Rolle für chirale Diskriminierungseffekte in 2-dimensionalen Systemen mit Hilfe der IRRA-Spektroskopie studiert wurden. Im Unterschied zu den Aminosäurederivaten ist das stereogene Zentrum jedoch nicht notwendigerweise in der Kopfgruppe lokalisiert, die in die Subphase taucht. Ferner sollte untersucht werden, welchen Einfluß die Einführung eines zweiten polaren Restes auf das Grenzflächenverhalten dieser Amphiphile hat und welche

Konsequenzen mit der Variation der Position dieses Restes verbunden sind. Die zentralen Erkenntnisse können wie folgt zusammengefaßt werden:

- Beim Methyl-17,18-dihydroxyoctadecanoat (das nur ein stereogenes Zentrum besitzt) treten, obwohl die Π /A-Isothermen von Racemat und reinem Enantiomer identisch verlaufen, auf struktureller Ebene, den Grad der konformativen Ordnung betreffend, deutliche chirale Diskriminierungseffekte zutage. Es findet während der isothermen Kompression ein Wechsel von hetero- zu homochiraler Diskriminierung statt. Bezüglich der Orientierung wurde erkannt, daß zu Beginn der Kompression beide polaren Kopfgruppen in die Subphase tauchen, sich dann aber die *vic*-OH-Gruppe aus dem Wasser hebt (",Flipprozeß") und sich daraufhin ein Aggregationsprozeß der Amphiphile untereinander vollzieht, der beim Enantiomer sprunghaft und beim Racemat eher schleppend geschieht. Mit dem Assoziationsprozeß geht ein "squeezeout-Vorgang" und ein Konfigurationswechsel der Estergruppierung von E nach Zeinher.
- Methyl-syn-9,10-dihydroxyoctadecanoat, eines der beiden untersuchten Diastereomere dieses Regioisomers, zeigte ein gänzlich anderes Verhalten. Vermutlich verbleiben beide polare Gruppen den gesamten Kompressionsvorgang über in die wäßrige Phase getaucht. Diese Orientierung könnte erklären, warum das gemessene Signal-Rausch-Verhältnis bei den IRRAS-Untersuchungen so klein war. Unterschiede zwischen dem enantiomerenreinen und racemischen Film konnten nicht evaluiert werden.
- Im Unterschied zum syn-Diastereomer muß beim entsprechenden Methyl-anti-9,10dihydroxyoctadecanoat davon ausgegangen werden, daß sich im Verlauf der Kompression die vicinale Diolgruppierung aus dem Wasser hebt. Sowohl das Enantiomer als auch das Racemat zeigen in einem sehr begrenzten Kompressionsintervall eine sprunghafte Zunahme der konformativen Ordnung und eine drastische Signalintensitätssteigerung der Banden im *Reflexions-Absorptions-Spektrum.* Differenzen zwischen dem Enantiomer und Racemat ergaben sich hinsichtlich der konkreten Sprungstelle (Flächenwert pro Molekül) und Sprungtiefe/-höhe. Der Vergleich mit dem syn-Diastereomer macht deutlich: Durch die Konfigurationsumkehr an nur einem der beiden stereogenen Zentren kann ein komplett anderes Grenzflächenverhalten dieser Amphiphile bewirkt werden. Ferner konnte durch Messungen bei unterschiedlichen Temperaturen eine auffallende Analogie zum temperaturabhängigen Verhalten von N-Acylaminosäurederivaten festgestellt werden.
- Die Struktur des Methyl-2,3-dihydroxyoctadecanoats (vermessen wurde nur das syn-Diastereomer) entspricht aufgrund der direkt benachbarten polaren Gruppen der eines gewöhnlichen Amphiphils mit einer einzigen vergrößerten Kopfgruppe. Erwartungsgemäß spiegelte sich dies auch bei den IRRA-spektroskopischen Messungen wider, die eine typische Entwicklung des Grads der konformativen Ordnung während der Kompression anzeigten. Im Gegensatz zu allen anderen vermessenen Methyldihydroxyoctadecaonat-Isomeren fiel hier eine nahezu perfekte

Korrelation mit den thermodynamischen Merkmalen auf. Übereinstimmend konnte mit beiden Meßmethoden eine leichte Tendenz zur homochiralen Diskriminierung festgestellt werden.

Der dritte und letzte Teil handelt von einem Versuch, Langmuir-Filme als biomimetisches System einzusetzen. Konkret wurden Monoschichten von verschiedenen Phospholipiden als Modellmembrane dafür genutzt, einen Beitrag zur Aufklärung der Wirkweise des antibiotischen Lipopeptids Surfactin zu leisten, das in der Lage ist, Zellmembranen von Bakterien aufzulösen. Dazu wurden zum einem gemischte Phospholipid/Surfactin-Monoschichten mit Hilfe der Langmuir-Filmwaage ("Mischisothermen") und IRRA-Spektroskopie untersucht. Zum anderen wurde ein Angriff von Surfactin-Molekülen auf Zellmembranen dadurch nachgeahmt, daß Surfactin-Lösungen in die Subphase von Phospholipid-Monoschichten injiziert und die strukturellen Veränderungen sowie die ihres Organisationsgrades IR-spektroskopisch beobachtet wurden (Permeabilisierungsversuche). Die Kurzfassung der gewonnenen Einsichten liest sich folgendermaßen:

- Die "Mischisothermen" ergaben für das binäre Gemisch DPPC/Surfactin eine unvollständige Mischbarkeit, die um so ausgeprägter war, je gleichanteiliger die Mischung zusammengesetzt und je niedriger der Oberflächendruck war.
- Die IRRAS-Messungen der DPPC/Surfactin Mischmonolagen zeigen an, daß bereits kleine Surfactin-Anteile einen ausgeprägt ordnenden Effekt auf die konformative Ordnung der DPPC-Alkylketten haben.
- Die Injektion von Surfactin in die Subphase von expandierten DPPC-Filmen führt zu einem stark ordnenden Effekt.
- DPPS-Filme im expandierten Zustand wurden von anwesendem Surfactin in der Subphase hinsichtlich ihres Ordnungsgrads nicht beeinflußt. Bei komprimierten DPPS-Filmen, konnte hingegen ein ordnungsinduzierender Effekt durch IRRA-spektroskopische Messungen nachgewiesen werden.
- Analysen der Mischbarkeit des binären DPPG/Surfactin-Gemischs förderten eine unvollständige Mischbarkeit zutage. Diese Tendenz zur Phasenseparation war bei Surfactin-Molanteilen von Xs = 0,25 und 0,75 am stärksten.
- Eine Injektion von Surfactin unter die Monoschicht eines expandierten DPPG-Films führte instantan zu einer bemerkenswerten Zunahme des *trans/gauche*-Verhältnisses der Konformationen der Methylensegmente der Alkylketten.
- Im Unterschied zu allen anderen vermessenen Phospholipiden vermag Surfactin in der Subphase von POPC-Filmen die konformative Ordnung der Alkylketten, zumindest zeitweilig, zu stören. Nachdem Surfactin in die Monoschicht inkorporiert wurde, kommt es anscheinend zu einer Reorganisation der dann gemischten Monoschicht, so daß schließlich ein ähnliches Maß konformativer Ordnung erreicht wird, wie vor dem Zeitpunkt der Surfactin-Injektion.

Ein denkbarer Mechanismus der Permeabilisierung von Membranen durch Surfactin ist, daß es lokal dichtere Lipid- oder gemischte Lipid/Surfactin-Domänen induziert und so in der nächsten Umgebung lokal ausgedünnte Bereiche entstehen, die eine weitere Aufnahme von Surfactin begünstigen, bis schließlich die Konzentration so groß ist, daß eine Bicellisierung oder Micellisierung eintritt.

6. Summary

This work comprises three parts: In part one Langmuir films of *N*-acyl amino acid derivatives were under investigation, part two focuses upon bolaamphiphiles at the air/water interface, and part three deals with the influence of the antibiotic peptid surfactin on phospholipid monolayers.

In the first part investigations on the morphology of Langmuir films of *N*-acyl amino acid derivatives are described, which were studied with the help of Brewster angle microscopy. This class of chiral amphiphiles had been characterized in a previous work at the air/water interface regarding their thermodynamic and/or collective properties as well as structural features on the level of the individual molecule. One aim was to engraft another piece into the remaining puzzles and to get a deeper insight into the driving forces of morphology determining parameters. An additional objective was to answer the following questions:

- Do chiral discrimination effects, which were detected by means of Π/A-isotherms and IRRA spectroscopy, occur on the level of the domains, too, and which role do H-bridges play?
- Does a chiral phase separation process take place during the compression of racemic monolayers?
- Do chiral domains appear and do they reflect the corresponding chirality of the film constituting molecules, and is it possible to correlate the observed morphologies with certain structures of the underlying subcell?

The results can be summarized as follows:

- The morphologies of the enantiomeric and racemic films of *N*-hexadecanoyl alanine on an aqueous subphase at 298 K differ substantially from each other. While the enantiomer forms crystal platelets, the irregular fractal-like shape of the domains of the racemic mixture can be explained by a DLA growth mechanism. There were no hints pointing to a chiral phase separation process. At increased temperature (303 K) the enantiomer shows a dendritic growth pattern, which leads to explicitly chiral domain shapes, which correspond with the chirality of the film constituting molecules. The shape of the domains can be derived from an oblique subcell and is determined by directed attractive forces, for which H-bridges can be made responsible.
- The compression of the L-enantiomer of *N*-hexadecanoyl alanine on subphases containing zinc ions is accompanied with a remarkable metamorphosis of the condensed structures: At first torus-like domains dominated, which were converted with progressive growth into strongly wound, S-shaped domains, until finally they

turned into a seahorse-like appearance. The origin of these chiral shapes can be explained on the basis of an electrostatic growth model.

- The enantiomer of *N*-hexadecanoyl alanine methyl ester shows three different dendritic growth patterns. Two of them can be constructed on the basis of a single oblique subcell. The occurrence of different types of unit cells, which influence the angle and numbers of the dendritic arms, can be explained by locally different growth rates of the domains. The condensed structures of the racemic mixture are dendritic too, but in contrast to the enantiomeric compound they are symmetric and have a notably low branching density.
- On aqueous subphase the L-enantiomer of *N*-octadecanoyl valine shows dendritic domains, too. They can also be constructed on the basis of an oblique subcell but the overall outer shape is not explicitly chiral. As a remarkable result, it was found, that the formation of the dendritic domains are fully reversible. Furthermore, the condensation process took place at a compression state, which was formerly, by means of the Π/A -isotherm, identified as a LE phase. As in the other cases no chiral symmetry breaking process could be detected.

In part two investigations on another class of chiral amphiphiles, methyl dihydroxyoctadecanoates are described. They are bipolar amphiphiles (or so-called bolaamphiles) and carry a second polar group along the hydrophobic tail; in this case it is a vicinal diol group, which raise the possibility to form intermolecular H-bridges. It was the aim to study their role concerning chiral discrimination effects with the help of IRRA spectroscopy. Furthermore, the influence of introducing a second polar group on the behavior at the air/water interface and the consequences of varying the position of this polar moiety along the hydrophobic part of the amphiphile was studied. The central conclusions can be summarized as follows:

- Despite their identical behavior regarding the thermodynamic properties (Π/A isotherms) the enantiomeric and racemic mixture of methyl 17,18-dihydroxyoctadecanoate, differences concerning the conformational order of the hydrophobic backbones were detected. During the compression course a change from a slightly heterochiral to a slightly homochiral preference occurred. Concerning the orientation there is evidence that at the beginning of the compression both polar groups dip into the subphase and that the diol group is forced out of the water into the air at intermediate area per molecule values ("flip process"). After this flip process the amphiphiles aggregate into domains. These two consecutive processes take place suddenly in the case of the enantiomeric compound and more smoothly for the racemic mixture. The aggregation is accompanied with a "squeeze-out-effect" and a change from the *E* to the *Z* configuration of the ester group.
 - Methyl *syn*-9,10-dhydroxyoctadecanoate, one of the investigated diasteromers of this regioisomer, shows a completely different behavior. It is assumed, that both polar groups remain in the subphase during the whole compression course. This orientation

could explain the low spectroscopic signal-to-noise ratio. No differences between the enantiomeric and racemic film could be evaluated.

- In contrast to the *syn* diastereomer, one has to assume, that the vicinal diol group of the corresponding methyl *anti*-9,10-dihydroxyoctadecanoate is forced out of the air during the compression. Studying both films, the enantiomeric and racemic, a sharp increase in conformational order and a dramatic increase in the band signals were detected at a different but specific area per molecule value. Measurements at different temperatures reveal a conspicuous analogy to the temperature-dependent behavior of *N*-acyl amino acid amphiphiles.
- The structure of the methyl 2,3-dihydroxyoctadecanoate (only the *syn* diasteromer was investigated) is similar to a normal amphiphile because the two different polar groups are close together and at the end of the chain. As expected, the conformational order of the hydrophobic backbones shows a typical development during the compression. In contrast to all other investigated compounds there was an almost perfect correlation to the thermodynamic features. With both methods a slightly homochiral discrimination was detected.

In part three an attempt is described, to use Lanmguir films as a model membrane system. To be more precise, phospholipid monolayers were used to study interactions of the antibiotic peptid surfactin with membrane lipids. For this purpose mixed phospholipid/surfactin monolayers were studied with the help of a Langmuir film balance ("mixed isotherms") and with IRRA spectroscopy. Additionally, the membrane burden attack of surfactin was mimicked by injection of a solution of surfactin under phospholipid monolayers into the subphase. The structural changes and the conformational order of the lipid molecules were spectroscopically observed. The main results are as follows:

- Mixed monolayers of surfactin and DPPC were not fully miscible, especially at low surface pressures and at compositions with equal amounts of both components.
- Even small amounts of surfactin in mixed DPPC/surfactin monolayers induced an increasing conformational ordering effect on the alkyl chains of the DPPC molecules.
- The injection of surfactin into the subphase of an expanded DPPC monolayer had the same consequences.
- The injection of surfactin under expanded monolayers of DPPC had no influence on the conformational order of the alkyl chains, but surprisingly this is the case for condensed DPPS monolayers: an increase in the degree of conformational order could be detected.
- The binary DPPG/surfactin mixture showed an uncompleted miscibility. The tendency of phase separation is highest for mol fractions of surfactin of Xs = 0.25 and 0.75.

- The injection of surfactin under monolayers of expanded DPPG monolayers leads to a remarkable increase in the *trans/gauche* ratio of the methylen segments of the alkyl chains of the lipid molecules.
- In contrast to all other investigated lipids the conformational order of POPC decreases when surfactin is injected under this kind of monolayer.
- A possible mechanism of the membrane permabilization is as follows: surfactin is inducing lipid or mixed lipid/surfactin domains with a higher local density so that in the vicinity of these high-density domains regions with lower density originate, which assist a further incorporation of surfactin molecules into the monolayer. Finally, the local density could be high enough allowing subsequent micellisation.

7. Ausblick

7.1. Bifunktionelle Amphiphile

Bolaamphiphile

Die Klasse der M-DHO-Amphiphile wurde im Rahmen dieser und anderer Arbeiten mit verschiedensten Methoden und in bezug auf unterschiedliche Größenmaßstäbe ausgiebig untersucht, so daß sie inzwischen als gut charakterisiert gelten können. Gleiches gilt auch für einige ihrer Derivate, so daß de Aussage allgemein auf bifunktionelle Alkylalkanoate vom Bolatyp ausgeweitet werden kann. So wurde beispielsweise der Einfluß der Kettenlänge untersucht, ferner die Unterschiede, die sich ergeben, wenn statt der Methyl- die entsprechenden Ethylester zum Einsatz kommen und die Auswirkungen, die sich ergeben, wenn die vicinale Dihydroxygrupppierung durch eine vicinale Methoxy- oder Acetoxygruppe substituiert wird.^[84] Die letztgenannten Modifikationen sind wichtig für die Klärung der Frage, inwieweit H-Brücken für die chiralen Diskriminierungseffekte verantwortlich sind (s. Kap. 3.3.). Diese funktionellen Gruppen haben jedoch den Nachteil, daß sie im Vergleich zur Hydroxylgruppe relativ sterisch anspruchsvolle Gruppen darstellen. Insofern erscheint es lohnenswert, solche bifunktionellen Amphiphile zu untersuchen, deren zweite Gruppe von ähnlicher Polarität und Größe ist. Dies könnte geschehen, indem man z.B. statt der Hydroxyentsprechend chlorierte oder bromierte Verbindungen einsetzt. Derartige Ansätze wurden in der Vergangenheit bereits mit monofunktionellen Carbonsäuren und -derivaten verfolgt.^[153]

Geminitenside

Dimere Tenside, die auch *Geminitenside* genannt werden, bestehen aus zwei hydrophoben Alkylketten mit zwei, meist ionischen, polaren Kopfgruppen, die über einen hydrophoben Spacer unterschiedlicher Länge miteinander verbunden sind. Bestand die Systematik bei den Bolaamphiphilen darin, die Position der polaren Gruppe entlang der hydrophoben Alkylkette zu variieren, ist es bei den Geminitensiden möglich, *beide* polare Gruppen in bezug auf die Kettenposition zu verändern, weshalb Untersuchungen von Geminitensiden die Studien an bifunktionellen Amphiphilen gewissermaßen komplementieren könnten.

Gegenüber den monomeren Tensiden zeichnen sie sich durch einige außergewöhnliche Eigenschaften aus: sie weisen eine extrem kleine *cmc* auf, reduzieren die Oberflächenspannung des Wassers auf ein sehr niedriges Niveau und zeigen in wäßriger Lösung ein komplexes rheologisches sowie ein außerordentlich vielfältiges Phasenverhalten.^[154] Die Größe und Form der Micellen beispielsweise hängt dabei nicht nur empfindlich von der Länge des Spacers ab, wie auch durch moleküldynamische (MD)-Studien gezeigt werden konnte,^[155] sondern auch von der Dissymmetrie, ausgedrückt durch die Differenz der Längen der beiden hydrophoben Alkylketten.^[156]

Zwei Gründe erklären das stetig steigende Interesse, das dieser Tensidklasse entgegengebracht wird: (i) sie erlaubt grundlegende Untersuchungen zum fundamentalen Prozeß der Selbstorganisation der Materie und zum Einfluß des Packungsparameters g der Amphiphile auf diesen Prozeß, da es bei Geminitensiden möglich ist, diesen Parameter in definierter und nahezu kontinuierlicher Weise zu modifizieren; (ii) Geminitenside wurden erfolgreich in der tensid-basierten Templatsynthese mesoporöser anorganischer Festkörper eingesetzt,^[157] die als Anwärter einer Generation hochselektiver und effizienter Katalysatoren neuen Typs gelten, womit sie nicht nur einen Gegenstand universitärer Forschung bilden, sondern darüber hinaus einen hohen Anwendungsbezug besitzen.

Daß die beiden Punkte in einem engen Zusammenhang stehen, ergibt sich z.B. daraus, daß bei der Verfolgung des Ziels, die Porenform und -größe maßschneidern zu können, das Verständnis der Selbstaggregationsprozesse der zum Einsatz kommenden Geminitenside von grundlegender Bedeutung ist.

Die bisher am intensivsten untersuchten Geminitenside sind bis-quaternäre Alkylammoniumbromide. Bei Einsatz hinreichend langer Alkylketten sollten sie auch in der Lage sein, Langmuir-Filme auszubilden. Interessant wäre es, Langmuir-Filme von Geminitensiden unterschiedlicher Topologie – indem die Länge des Spacers variiert wird – und Dissymmetrie einzusetzen, um den Einfluß, den der Packungsparameter g auf das thermodynamische Kollektivverhalten, auf die Morphologie der Filme sowie auf die Packungsordnung innerhalb der Domänen und auf die Ordnung und Orientierung der einzelnen Tensidmolekülteile hat, zu studieren. Über einen Vergleich der Ergebnisse von symmetrischen und dissymetrischen Tensiden könnten ferner Informationen darüber gewonnen werden, wie sich eine Symmetriereduktion auswirkt, womit ein Brückenschlag zu den chiralen Bolaamphiphilen erreicht wäre.

Da es Oda *et al.*^[158] jüngst in einer aufsehenerregenden Arbeit gelungen ist, durch Austausch der Bromidanionen mit chiralen Gegenionen (Tartrate, Malate u.a.), in Aggregaten von bis-quaternären Alkylammoniumtensiden eine suprastrukurelle Chiralität zu erzeugen und diese zu steuern, wären darüber hinaus Experimente zur "chiralen Induktion" attraktiv (s. folgender Abschnitt).

7.2. Chirale Induktion

Der Terminus der *chiralen Induktion* bezeichnet Vorgänge, bei denen ein chirales Molekül seine strukturelle Information auf eine vormals achirale Phase eines Kollektivs überträgt und in ihr eine suprastrukturelle Chiralität erzeugt. Das bekannteste Beispiel dafür findet sich im Bereich der Flüssigkristalle (*Liquid Crystals, LC*): Die Dotierung einer nematischen LC-Phase mit chiralen Mesogenen (*Dopants*) kann zur Ausbildung einer verdrillten, helicalen cholesterischen Phase führen. Bemerkenswert ist dabei die Tatsache, daß sich die Längenskalen der Chiralitätsinformation, die die beteiligten Spezies charakterisieren, um etliche Größenordnungen unterscheiden. Betragen sie im einzelnen Molekül einige 10^{-10} m, liegt die Ganghöhe (*Pitch*) der Helix einer cholesterischen Phase typischerweise im Bereich von 10^{-6} Metern. Insofern scheint es gerechtfertigt, nicht nur von einem einfachen Chiralitätstransfer, sondern von einer *chiralen Amplifizierung* zu sprechen.

Das Vorzeichen und die Größe der Ganghöhe einer durch ein chirales Molekül induzierten cholesterischen Phase sind sowohl für die chirale Substanz als auch für die Zusammensetzung der Phase charakteristisch. Die Stärke dieser Induktion, die *Helical Twisting Power* (HTP), kann durch die auf eine Konzentrationseinheit bezogene reziproke Ganghöhe erfaßt werden. Interessant ist, daß sowohl das Vorzeichen als auch die reziproke Ganghöhe von der Orientierung der chiralen Moleküle in der Phase und damit von deren Orientierung zur Vorzugsrichtung aller Moleküle abhängig ist. Winzige Strukturänderungen des Dopant können daher große Änderungen der HTP bewirken. Es gibt zwar einige Ansätze, diese Zusammenhänge theoretisch nachzuvollziehen,^[159,160] doch ist es bis heute unmöglich, für ein gegebenes chirales Dopant Vorhersagen über die Richtung und die Stärke der Verdrillung, die es in der induzierten cholesterischen Phase bewirkt, zu treffen. Die Entwicklung von Struktur-Wirkungsbeziehungen auf diesem Sektor steckt noch in den Kinderschuhen und basiert im wesentlichen auch lediglich auf einer systematisierten Phänomenologie.

Der Anknüpfungspunkt, der es lohnend erscheinen läßt, den Vorgang der chiralen Induktion auch anhand von Monoschichtsystemen zu studieren, ist durch eine auffällige Analogie zu den LCs gegeben: die der eingeschränkten Zahl der Freiheitsgrade des Kollektivs. Wie oben schon angedeutet, scheinen chirale Effekte tendenziell umso ausgeprägter zu sein, je stärker v.a. die Rotationsfreiheitsgrade im 3-dimensionalen Raum eingeschränkt sind. Amphiphilen von Langmuir-Filmen an der Luft/Wasser-Grenzfläche ist es nicht möglich, um die Achse senkrecht zur Oberflächennormalen zu rotieren. Insofern stellen Monolayer strikt 2-dimensionale Systeme dar. Deshalb könnten sie gegenüber den LC-Phasen sogar als die noch etwas aussichtsreicheren Kandidaten gelten, das Vorkommnis der chiralen Induktion beobachten zu können. Darüber hinaus würde die geringere Zahl der Wechselwirkungsmöglichkeiten das Studium des Mechanismus des Chiralitätstransfers erleichtern.

Gemäß des Kenntnisstandes des Promovenden wurden bis dato noch keine Arbeiten auf dem Gebiet der Langmuir-Filme durchgeführt, die in diese Richtung weisen. Es könnte daher fruchtbar sein, Experimente mit achiralen Langmuir-Filmen, die mit chiralen Amphiphilen dotiert werden, zu realisieren. So könnte beispielsweise mit Hilfe des BAM untersucht werden, ob die symmetrischen, kreisförmigen Domänen von Filmen der Palmitinsäure durch die Einführung chiraler Amphiphile der *N*-Acylaminosäurederivate einer Formmodifikation unterliegen, ob sich also auf der mesoskopischen Ebene eine Chiralitätsübertragung nachweisen läßt, die sich in einer induzierten asymmetrischen Domänenform widerspiegeln könnte. Neben dem Einsatz von *N*-Acylaminosäuren könnten auch Langmuir-Filme von bisquaternären Alkylammoniumtensiden mit chiralen Gegenionen aussichtsreiche Kandidaten für die Untersuchung der erwähnten Phänomene sein. Das Hauptaugenmerk würde sich dann darauf richten, ob suprastrukurelle Asymmetrien in 2-dimensionalen Systemen erzeugt werden können und ob und in welchem Ausmaß die Filme chirale Diskriminierungseffekte zeigen, wenn man verschiedene Enantiomerenüberschüsse der Gegenionen einsetzt.

7.3. Quantifizierung chiraler Diskriminierung

Eng verknüpft mit dem Komplex der chiralen Induktion ist auch das Problem der Quantifizierung der Chiralität und der der chiralen Diskriminierung. Auf der Ebene des Einzelmoleküls gibt es seit der Einführung des Konzepts des kontinuierlichen Symmetriemaßes (*Continuous Symmetry Measures*, CSM) von Zabrodsky *et al.*^[161] vielversprechende Ansätze, das Ausmaß der Asymmetrie von Einzelobjekten erfassen zu können, doch erhebt sich die Frage, inwieweit man dieses auch auf Phaseneigenschaften übertragen kann. Und daran anknüpfend: inwiefern ist es gerechtfertigt, pseudoskalare Meßgrößen eines Kollektivs (in cholesterischen LC-Phasen z.B. der Circulardichroismus) als Moleküleigenschaft aufzufassen, welche Beziehungen bestehen zwischen dem meßbaren Signal eines Verbands von Molekülen und den Eigenschaften eines Einzelmoleküls?

Diese Art von Fragen müßten konsequenterweise auch auf das Phänomen der chiralen Diskriminierung ausgeweitet werden. Die Maße, in denen die chirale Diskriminierung bei Langmuir-Filmen quantitativ erfaßt werden kann bzw. zum Ausdruck kommt, sind: a) die Differenz des Oberflächendrucks in einem definierten Kompressionszustand zwischen dem enantiomerenreinen und racemischen Film, b) die (induzierte) Asymmetrie der Domänenformen und c) die Differenz der Wellenzahlen der IR-Banden, die den Ordnungszustand bzw. die Packungsdichte der Moleküle innerhalb der Domänen reflektieren. Die ausgeprägtesten Effekte würde man naturgemäß beim Vergleich eines enantiomerenreinen Films mit dem eines racemischen erwarten. Doch unter der Bedingung, daß überhaupt chirale Diskriminierungseffekte auftreten, müßten sich diese auch nachweisen lassen, wenn Filme unterschiedlichen Enantiomerenreinheitsgrades bzw. mit verschiedenen Mischungsverhältnissen der beiden Enantiomere miteinander verglichen werden. Die Fragen, die sich nun stellen, sind: welche Beziehung besteht zwischen dem Enantiomerenüberschuß des einen Films (der stets mit dem racemisch zusammengesetzten verglichen wird) und dem Ausmaß der chiralen Kennung, ausgedrückt durch die drei eben beschriebenen Größen? Sind die beteiligten Größen linear mit der Zusammensetzung des Films verknüpft, oder ergeben sich andere, z.B. schwächer-logarithmische, oder stärker-exponentielle (wobei dann auch hier von einer chiralen Amplifizierung gesprochen werden könnte) Abhängigkeiten?

Zur Beantwortung dieser Fragen, die in ähnlicher Form, aber doch in quasi umgekehrter Richtung, bisher nur von zwei Gruppen untersucht worden sind,^[5,17] könnten deshalb Langmuir-Filme systematisch variierter Zusammensetzung aus D- und L-Enantiomeren der *N*-Acylaminosäurederivate mit Hilfe der drei zur Verfügung stehenden Methoden untersucht werden. Zu diesem Zweck müßten vorher allerdings die Synthese der D-Enantiomere durchgeführt werden.

Die auf Basis dieser Experimente gewonnenen Erkenntnissen könnten eventuell auch einen kleinen Beitrag zur Entscheidung des Wettstreits der beiden miteinander konkurrierenden Thesen leisten, nach denen sich der Chiralitätstransfer auf Grundlage entweder im wesentlichen *elektronischer* oder *sterischer* Effekte erklären läßt.

7.4. Biomimetische Systeme

Surfactin

Die in dieser Arbeit dargelegte Untersuchung zur Aufklärung der Wirkweise des antibiotischen Peptids Surfactin kann lediglich als ein erster Auftakt dazu gewertet werden. Im Vergleich zu realen Systemen war das Maß der gewählten Komplexizitätsreduktion beträchtlich. Auf der Basis der hier gewonnenen Erkenntnisse, sowohl theoretischer Natur als auch in bezug auf die praktische Handhabbarkeit der als biomimetisches System eingesetzten Langmuir-Filme, könnte jedoch künftig eine schrittweise Komplexizitätserweiterung vorgenommen werden, indem das Modellmembransystem der Membran einer realen Zelle angenähert wird. Dazu wäre es unter anderem erforderlich, die Zusammensetzung der Zellmembran zu berücksichtigen, die aus einer Mischung verschiedener Lipide und anderer Komponenten (z.B. Cholesterol) besteht und Bedingungen zu schaffen, die den physiologischen Gegebenheiten besser entsprechen (pH-Wert von 7,4 und 0,9%ige Kochsalzkonzentration). Mit der Variation der Lipidzusammensetzung könnte dann auch zielgerichteter der Frage nach der Selektivität nachgegangen werden.

Toxine

In Fortführung des hier vorgestellten biomimetischen Ansatzes, wäre es vorstellbar, daß Langmuir-Filme auch geeignete Systeme sein könnten, um dem narkotischen Effekt von Toxinen auf den Grund zu gehen. Die Wirkweise von Anästhetika ist noch immer nicht in allen Einzelheiten verstanden, jedoch existieren zahlreiche Hypothesen. Es ist beispielsweise denkbar, daß narkotische Substanzen einen negativen Einfluß auf die Fluidität der Membranlipide ausüben. Eine andere Hypothese geht davon aus, daß sie die Wechselwirkung zwischen den Lipiden und in die Membran eingebetteten Proteinen in einer Weise beeinflussen, daß die Proteine ihre Funktion nicht aufrechterhalten können. Andere Autoren wiederum gehen davon aus, daß es zu einer kompetitiven Bindung an die Membranproteine kommt, die deshalb ihre eigentliche Funktion nicht oder in nicht genügendem Maße aufrechterhalten können. Es bestünde mit Langmuir-Filmen insbesondere die Möglichkeit, die erstgenannte Hypothese zu überprüfen, indem man den Einfluß, den narkotisierende Verbindungen auf Monoschichten haben, mit Hilfe der beschriebenen Methoden studiert. Bei Einsatz von gemischten Lipid/Protein-Monoschichten könnten eventuell auch die anderen formulierten Hypothesen überprüft werden. Dies wäre jedoch bei transmembranen Proteinen nur eingeschränkt möglich.

8. Experimenteller Teil

8.1. Meßmethoden

8.1.1. Aufnahme von Π/A -Isothermen

Die Π /A-Isothermen wurden auf der Filmwaage FW-2 der Firma Lauda (Lauda-Königshofen, BRD) aufgenommen. Für die Aufnahme von BAM-Bildern wurde jedoch eine ältere Filmwaage vom Typ A eingesetzt, die eine Montage des BAMs erlaubte (s. 8.1.2.) Die jeweils angegebene Temperatur wurde durch einen Thermostaten bei einer Schwankung von höchstens ± 0,2 K konstant gehalten. Nach dem Einfüllen der Subphase wurde eine Wartezeit von mindestens 20 Minuten eingehalten, damit der Temperaturausgleich erfolgen und potentielle Verunreinigungen an der Subphasenoberfläche adsorbieren können. Diese wurden anschließend durch Zusammenfahren der Barriere und Absaugen der Oberfläche entfernt.

Die Spreitlösungen wurden mit einer 250 mL-HPLC-Spritze der Firma Unimetrics (Shorewood, USA) aufgetragen, indem die Lösung (70 - 120 mL) tropfenweise auf der Oberfläche "abgesetzt" wird. Nach ca. 20 weiteren Minuten, in denen das Lösungsmittel verdampft sein sollte, wurde mit der Kompression des Films begonnen. Die Kompressionszeit betrug, sofern nichts anderes angegeben ist, zwei Stunden. Die Π /A-Daten wurden mit einer vom Hersteller gelieferten Software registriert, die auf einem gewöhnlichen IBM-kompatiblen PC installiert war.

8.1.2. Brewster-Winkel-Mikroskopie

Bei der BAM wird p-polarisiertes Licht eines Lasers unter dem Brewster-Winkel des Wassers eingestrahlt und infolgedessen nicht von der Wasseroberfläche reflektiert. Der Film hingegen bildet ein drittes optisches Medium, das einen anderen Brechungsindex und deshalb eine gewisse Reflektivität aufweist, so daß sich die Domänen von dem nicht reflektierenden Untergrund abheben.

Konkret kam ein *MiniBAM* der Firma NFT (Göttingen, BRD) zum Einsatz, das an einem Langmuir-Trog (Filmwaage vom Typ A) der Firma Lauda (Lauda-Königshofen, BRD) installiert wurde. Der Langmuir-Trog wurde mit dem *MiniBAM* zur Unterdrückung von Staubkontaminationen und Luftströmungen in einer Glovebox installiert, nur die Öffnungen für Handschuhe blieben frei. Das *MiniBAM* hat eine laterale Auflösung von 20 µm und das Sichtfeld beträgt 6 × 4 mm. Es ist mit einem 688 nm-Laser ausgestattet (Leistungsaufnahme 30 mW). Eine integrierte CCD-Kamera lieferte über einen Standard-Videoausgang (CCIR/EIA) ein Bild an einen schwarz-weiß-Monitor bzw. an eine Videokarte (miroVIDEO D1) eines PC. Die *on-time* eingefangenen Bilder wurden anschließend mit einem Bildbearbeitungsprogramm bezüglich Kontrast, Helligkeit und Schärfe optimiert. Das Prinzip und der experimentelle Aufbau sind zusammengefaßt noch einmal in Abb. 88 dargestellt.



Abb. 88: Darstellung des Prinzips und des experimentellen Aufbaus des in dieser Arbeit zum Einsatz gekommenen BAMs.

8.1.3. Externe Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS)

Bei der Aufnahme der Spektren kam ein FTIR-Spektrometer IFS 66 der Firma. Bruker (Karlsruhe, BRD) zum Einsatz, das mit einem hochempfindlichen MCT-Detektor (Mercury-Cadmium-Tellurid) ausgestattet war und durch eine Reflexionseinheit P/N 19650 der Firma Specac (Orpington, Großbritannien) erweitert wurde. Durch einen miniaturisierten, thermostatisierten Langmuir-Trog, der wie die Filmwaage mit einer beweglichen Barriere versehen war, konnten Messungen der Reflexions-Absorption während der isothermen Kompression des Films vorgenommen werden, wodurch ein direkter Vergleich der Π/A-Isothermen mit den IRRA-Spektren ermöglicht wird.

Nach der Aufnahme des Referenzspektrums wurde die Spreitlösung mit einer 5 μ L- bzw. 10 μ L-Kapillarspritze der Firma SGE (Weiterstadt, BRD) aufgetragen und 20 Minuten gewartet, um das Lösungsmittel verdampfen zu lassen. Bei der Reihe sich anschließender Filmspektren einer Isotherme bzw. bei den Zeitreihen der Permeabilisierungsversuche wurde versucht, die Luftfeuchtigkeit durch einen zu variierenden, trockenen Stickstoffstrom, der durch die Meßkammer fließt, konstant zu halten; um Überlagerungen durch nichtkompensierten Wasserdampf zu reduzieren.

Die Barriere wurde von einem Schrittmotor angetrieben, wobei die Kompression diskontinuierlich in Schrittweiten zwischen 0,01 und 0,03 nm²/Molekül ausgeführt wurde. Nach jedem Kompressionsschritt konnte der Film zwei Minuten bis zur Aufnahme des Spektrums relaxieren.

Es wurde unpolarisierte Strahlung verwendet und ein Einfallswinkel von 30° gewählt. Die Spektren wurden mit einer relativ geringen Auflösung von 8 cm⁻¹ aufgenommen. Mit dem bereits erwähnten mathematischen Verfahren von Cameron *et al.*^[91] ("center of gravity") gelingt es trotzdem, die Lage des Schwerpunkts der Banden mit einer Genauigkeit von $\pm 0,1$ cm⁻¹ zu berechnen. Des weiteren kam eine Blackham-Harris-Apodisationsfunktion mit einem Zero-filling-factor von 2 zur Anwendung. Für ein Spektrum wurden 1024 scans aufaddiert.

Im Rahmen der Nachbearbeitung der Spektren wurde lediglich eine Basislinienkorrektur mit Hilfe der dem Spektrometer beiliegenden Software vorgenommen; auf eine Glättung wurde verzichtet.

8.2. Untersuchte Substanzen und verwendete Chemikalien

In Tabelle 4 sind die untersuchten Filmsubstanzen und ihre Herkunft aufgeführt (keine der Substanzen weist ein Gefahrensymbol auf).

Substanz	Herkunft ^{a)}
<i>N</i> -Hexadecanoylalanin	Stine <i>et al</i> .
N-Hexadecanoylalaninmethylester	Stine et al.
<i>N</i> -Octadecanoylvalin	Stine et al.
Methyl-17,18-dihydroxyoctadecanoat	Schäfer et al.
Methyl-9,10-dihydroxyoctadecanoat	Schäfer et al.
Methyl-2,3-dihydroxyoctadecanoat	Schäfer et al.
1,2-Dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin	Fluka
1,2-Dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoglycerol	Sigma
1,2-Dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoserin	Sigma
1-Hexadecanoyl-2-Z-9-octadecenyl-sn-glycero-3-phosphocholin	Sigma
Surfactin	Sigma

Tabelle 4: Verwendete grenzflächenaktive Substanzen und ihre Herkunft.

^{a)} Stine *et al.*, freundliche Überlassung durch den Arbeitskreis von Prof. K.J. Stine (University of Missouri at St. Louis [UMSL], USA); Schäfer *et al.*, freundliche Überlassung durch den Arbeitskreis von Prof. H.-J. Schäfer (Universität Münster, BRD); Fluka (Buchs, Schweiz); Sigma (München, BRD)

Für die Methyldihydroxyoctadecanoate und DPPC, DPPS sowie POPC wurde als Spreitmittel Trichlormethan p.a. der Firma Merck (Darmstadt, BRD; Gefahrenklasse: Xn, teratogen), für Surfactin eine Mischung aus Trichlormethan und Methanol (\geq 99%, Merck, Gefahrenklasse: T) im Verhältnis 2:1 (v/v) und für DPPG eine Mischung aus Trichlormethan und Methanol im Verhältnis 4:1 (v/v) verwendet. Die Konzentrationen der Spreitlösungen betrugen etwa 1,4 mmol/L für die Methyldihydroxyoctadecanoate und *N*-Acylaminosäurederivate sowie ca. 0,9 mmol/L für die Phospholipide.

Für die Aufnahme der "Mischisothermen" wurden die beiden Spreitlösungen der Komponenten des binären Gemischs vorher im jeweiligen angegebenen Verhältnis miteinander vermischt und dann gemeinsam gespreitet.

Für die Surfactin-Injektionsversuche wurde das Surfactin in Ethanol (über Natrium absolutiert) gelöst. Die Konzentrationen der verwendeten Lösungen sind bei den jeweiligen Versuchen angegeben.

Das Wasser für die Bereitung der wäßrigen bzw. metallionenhaltigen Subphasen wurde einer Reinstwasseranlage Seralpur Pro 90C der Firma. Seral (Ransbach, BRD) entnommen (Leitfähigkeitswert < 0,05 mS). Um bei den Untersuchungen der Amphiphile mit freien Säuregruppen zu gewährleisten, daß diese im undissoziierten Zustand vorliegen, wurde durch die Zugabe einer entsprechenden Menge 35-prozentiger Salzsäure p.a. (Merck; Gefahrenklasse: C) ein pH-Wert von 2 eingestellt. Damit ferner im Falle metallionenhaltiger Subphasen sichergestellt ist, daß alle filmbildenden Moleküle mit den zweiwertigen Kationen Wechselwirkungen eingehen können, wurden die Subphasen in einer Konzentration von 1 mmol/L angesetzt, wobei Calcium(II)-chlorid-Dihydrat (\geq 99%, Merck; Gefahrenklasse: -) und Zink(II)-chlorid (\geq 99%, Merck; Gefahrenklasse: C) verwendet wurden.

9. Literaturverzeichnis

- V. von Tscharner, H.M. McConnell: An alternative view of phospholipid phase behavior at the air-water interface. Microscope and film balance studies, *Biophys. J.*, 1981, *36*, 409-419
- [2] D. Hönig, D. Möbius: Direct visualization of monolayers at the air-water interface by Brewster angle microscopy, *J. Phys. Chem.*, **1991**, *95*, 4590-4592
- [3] S. Hénon, J. Meunier: Microscope at Brewster angle: direct observation of first order phase transitions in monolayers, *Rev. Sci. Instrum.*, **1991**, *62*, 936-939
- [4] J.G. Heath, E.M. Arnett: Chiral molecular recognition in monolayers of diastereomeric N-acylamino acid methyl esters at the air/water interface, J. Am. Chem. Soc., 1992, 114, 4501-4514
- [5] N.G. Harvey, E.M. Arnett: Effects of added achiral components on chiral recognition in monolayers of stearoylserine methyl ester, *Langmuir*, **1989**, *5*, 998-1005
- [6] N.G. Harvey, P.L. Rose, D. Mirajovsky, E.M. Arnett: Chiral molecular recognition in the thermodynamics of spreading and transition for racemic and enantiomeric stearoyltyrosine films, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 3547-3554
- [7] P.L. Rose, N.G. Harvey, E.M. Arnett: Chirality and molecular recognition in monolayers at the air-water interface, *Adv. Phys. Org. Chem.*, **1993**, *28*, 45-138
- [8] V. Melzer, G. Weidemann, D. Vollhardt, G. Brezesinski, R. Wagner, B. Struth, H. Möhwald: Structure features and phase behaviour of amphiphilic *N*-tetradecyl-β-propionic acid amide monolayers, *Supramolec. Sci.*, **1997**, *4*, 391-397
- [9] V. Melzer, G. Weidemann, D. Vollhardt, G. Brezesinski, R. Wagner, B. Struth, H. Möhwald: Brewster-angle microscopy and X-ray GID studies of morphology and crystal-structure in monolayers of *N*-tetradecyl-*γ*δ-dihydroxypentanoic acid amide, *J. Phys. Chem. B*, **1997**, *101*, 4752-4758
- [10] R. Rietz, W. Rettig, G. Brezesinksi, H. Möhwald: Stereochemical aspects in the monolayer behaviour of *N*-docosoyl-leucine at the air/water interface, *Pharmazie*, 1997, 52, 701-703
- [11] N.G. Harvey, D. Mirajovsky, P.L. Rose, R. Verbiar, E.M. Arnett: Molecular recognition in chiral monolayers of stearoylserine methyl ester, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 1115-1122
- [12] S. Akamatsu, O. Bouloussa, K. To, F. Rondelez: Two-dimensional dendritic growth in Langmuir monolayers of D-myristoyl alanine, *Phys. Rev. A*, **1992**, *46*, 4505-4507
- [13] P. Nassoy, M. Goldmann, O. Bouloussa, F. Rondelez: Spontaneous chiral segregation in bidimensional films, *Phys. Rev. Lett.*, **1995**, 75, 457-460
- [14] D.P. Parazak, J.Y.-J. Uang, B. Turner, K.J. Stine: Fluorescence microscopy study of chiral discrimination in Langmuir monolayers of *N*-acylvaline and *N*-acylalanine amphiphiles, *Langmuir*, **1994**, *10*, 3787-3793
- [15] K.J. Stine, J.Y.-J. Uang, S.D. Dingman: Comparison of enantiomeric and racemic monolayers of *N*-stearoylserine methyl ester by fluorescence microscopy, *Langmuir*, 1993, 9, 2112-2118

- [16] A. Gericke, H.Hühnerfuss: Infrared spectroscopic comparison of enantiomeric and racemic *N*-octadecanoylserine methyl ester monolayers at the air/water interface, *Langmuir*, **1994**, *10*, 3782-3786
- [17] D.P. Parazak, J.Y.-J. Uang, S.A. Whitt, K.J. Stine: Fluorescence microscopy observations of domain structures in Langmuir monolayers of *N*-stearoylserin methyl ester and *N*-stearoylvaline at intermediate enantiomeric compositions, *Chem. Phys.Lipids*, **1995**, *75*, 155-161
- [18] J. Y.-J. Uang, D.P. Parazak, K.J. Stine, Chiral discrimination in Langmuir monolayers of N-eicosanoylproline methyl ester, *Chem. Phys. Lipids*, **1995**, 75, 163-169
- [19] K.J. Stine, S.A. Whitt, J.Y.-J. Uang: Fluorescence microscopy study of Langmuir monolayers of racemic and enantiomeric N-stearoyltyrosin, *Chem. Phys. Lipids*, **1994**, 69, 41-50
- [20] K.J. Stine, A.R. Leventhal, D.P. Parazak, J.Y.-J. Uang: The role of amide-amide hydrogen-bonding in chiral recognition in Langmuir monolayers of N-stearoylvaline, *Enantiomer*, **1996**, *1*, 41-48
- [21] M. Shinitzky, R. Haimovitz: Chiral surfaces in micelles of enantiomeric *N*-palmitoyland *N*-stearoylserine, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 12545-12549
- [22] D.A. Frankel, D.F. O'Brien: Supramolecular assemblies of diacetylenic aldonamides, J. Am. Chem. Soc., 1994, 116, 10057-10069
- [23] H. Hühnerfuss, V. Neumann, K.J. Stine: Role of hydrogen bond and metal complex formation for chiral discrimination in amino acid monolayers studied by IRRAS, *Langmuir*, **1996**, *12*, 2561-2569
- [24] H. Hühnerfuss, A. Gericke, V. Neumann, K.J. Stine: The determination of the molecular order of chiral monolayers at the air-water interface by IRRAS - A bridge between physico- and biochemistry, *Thin Solid Films*, **1996**, 284/285, 694-697
- [25] Y.J. Zhang, Y. Song, Y. Zhao, T.J. Li, L. Jiang, D. Zhu: Chiral discrimination in Langmuir monolayers of N-acyl glutamic acids inferred from Π-A measurements and atomic force microscopy, *Langmuir*, **2001**, *17*, 1317-1320
- [26] J. Simon-Kutscher, A. Gericke, H. Hühnerfuss: Effect of bivalent Ba, Cu, Ni, and Zn cations on the structure of octadecanoic acid monolayers at the air-water interface as determined by IRRAS, *Langmuir*, **1996**, *12*, 1027-1034
- [27] X. Du, Y. Liang: Roles of metal complex and hydrogen bond in molecular structures and phase behaviors of metal *N*-octadecanoyl-L-alaninate Langmuir-Blodgett Films, *J. Phys. Chem. B*, 2000, 104, 10047-10052
- [28] L. Pasteur: Recherches sur les relations qui peuvent exister entre la forme cristalline et la composition chimique, et le sens de la polarisation rotatoire, *Ann. Chim. Phys.*, 1848, 24, 442-459
- [29] F. Hoffmann: Die Rolle von Wasserstoffbrücken- und Metallkomplexbildung für die chirale Kennung in racemischen und enantiomerenreinen Oberflächenfilmen unter besonderer Berücksichtigung von Alanin- und Valinderivaten, *Diplomarbeit*, **1997**, Univerität Hamburg
- [30] F. Hoffmann, H. Hühnerfuss, K.J. Stine: Temperature dependence of chiral discrimination in Langmuir monolayers of *N*-acyl amino acids as inferred from II/A measure-

ments and infrared reflection-absorption spectroscopy, *Langmuir*, **1998**, *14*, 4525-4534

- [31] J. Adam, W. Rettig, R.S. Duran, J. Naciri, R. Shashidhar: Langmuir films of liquid crystalline materials: The influence of molecular architecture on morphology and properties, *J. Phys. Chem.*, **1993**, *97*, 2021-2026
- [32] K. Miyano, K. Tamada: Capillary wave propagation on water nonuniformly covered with a solid film, *Langmuir*, **1993**, *9*, 508-514
- [33] R.M. Weis, H.M. McConnell: Two-dimensional chiral crystals of phospholipid, *Nature*, **1984**, *310*, 47-49
- [34] R.M. Weis: Fluorescence microscopy of phospholipid monolayer phase transitions, *Chem. Phys. Lipids*, **1991**, *57*, 227-239
- [35] T.A. Witten, L.M. Sander: Diffusion-limited aggregation, a kinetic critical phenomenon, *Phys. Rev. Lett.*, **1981**, *47*, 1400-1403
- [36] T.A. Witten, L.M. Sander: Diffusion-limited aggregation, *Phys. Rev. B*, **1983**, 27, 5686–5697
- [37] L. Niemeyer, L- Pietronero, H.J. Wiesmann: Fractal dimension of dielectric breakdown, *Phys. Rev. Lett.*, **1984**, *52*, 1033-1040
- [38] Random-Growth DLA, Version 1.1, Bar-Ilan University, 2000
- [39] P Meakin, Simulations of aggregation processes, *in:* D. Avnir (ed.), The fractal approach to heterogenous chemistry: Surfaces, colloids, polymers, John Wiley & Sons, Chichester, **1989**, 131-161
- [40] J.W. Lauher, Y.-L. Chang, F.W. Fowler: An approach to the design of molecular Solids. A symmetry analysis of the problem, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **1992**, 211, 99-109
- [41] G. Brezesinski, E. Scalas, B. Struth, H. Möhwald, F. Bringezu, U. Gehlert, G. Weidemann, D. Vollhardt: Relating lattice and domain structures of monoglyceride monolayers, J. Phys. Chem., 1995, 99, 8758-8762
- [42] V. Melzer, D. Vollhardt, G. Weidemann, G. Brezesinski, R. Wagner, H. Möhwald: Structure formation and phase transitions in Gibbs and Langmuir monolayers of amphiphilic acid amides, *Phys. Rev. E*, **1998**, *57*, 901-907
- [43] U. Gehlert, G. Weidemann, D. Vollhardt, G. Brezesinski, R. Wagner, H. Möhwald: Relating domain morphology and lattice structure in monolayers of glycerol amide lipids, *Langmuir*, **1998**, *14*, 2112-2118
- [44] S.P. Weinbach, D. Jacquemain, F. Leveiller, K. Kjær, J. Als-Nielsen, L. Leiserowitz: Effect of cosolvent on the lateral order of spontaneously formed amphiphilic amide 2dimensional crystallites at the air solution interface, J. Am. Chem. Soc., 1993, 115, 11110-11118
- [45] R. Rudert, Ch. André, R. Wagner, D. Vollhardt: A consideration of the hydrogenbonding schemes of the surfactant *N*-tetradecyl-(2,4-dihydroxy)-butanoic acid amide and some related amphiphilic compounds, *Z. Kristallogr.*, **1997**, *212*, 752-755
- [46] J. Simon-Kutscher, Strukturelle und oberflächenrheologische Untersuchungen von Langmuir-Filmen auf metallionenhaltigen Subphasen, Dissertation, **1997**, Universität Hamburg

- [47] A. Gericke, H. Hühnerfuss: The effect of cations on the order of saturated fatty acid monolayers at the air-water interface as determined by IRRAS, *Thin Solid Films*, 1994, 245, 74-82
- [48] H.M. McConnell: Structures and transitions in lipid monolayers at the air-water interface, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **1991**, *42*, 171-195
- [49] I.M. Sandler, G.S. Canright, Z. Zhang, H. Gao, Z. Xue, S. Pang: Spontaneous chiral symmetry breaking in two-dimensional aggregation, *Phys. Lett. A*, **1998**, *245*, 233-238
- [50] I.M. Sandler, G.S. Canright, H. Gao, S. Pang, Z. Xue, Z. Zhang: Chiral patterns arising from electrostatic growth models, *Phys. Rev. E*, **1998**, *58*, 6015-6026
- [51] R.C. Mehrotra, R. Bohra, Metal Carboxylates, Academic Press, London, 1983
- [52] K. Nakamoto, Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, John Wiley & Sons, New York, 1986
- [53] V. Melzer, D. Vollhardt, G. Weidemann, G. Brezesinski, R. Wagner, H. Möhwald: Structure formation and phase transitions in Gibbs and Langmuir monolayers of amphiphilic acid amides, *Phys. Rev. E*, **1998**, *57*, 901-907
- [54] N. Nandi and D. Vollhardt: Microscopic study of chiral interactions in Langmuir monolayer: monolayers of *N*-palmitoyl aspartic acid and *N*-stearoyl serine methyl ester, *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **2001**, *183-185*, 67-83
- [55] D. Vollhardt, U. Retter: Growth of preformed 3D nuclei in Langmuir monolayers below critical supersaturation, *Langmuir*, **1998**, *14*, 7250-7254
- [56] D. Vollhardt, T. Gutberlet, G. Emrich, J.H. Fuhrhop: Dendritic crystal growth in *N*dodecylgluconamide monolayers at the air-water interface, *Langmuir*, **1995**, *11*, 2661-2668
- [57] V.T. Moy, D.J. Keller, H.M. McConnell: Molecular order in finite two-dimensional crystals of lipid at the air-water interface, *J. Phys. Chem.*, **1988**, *92*, 5233-5238
- [58] zitiert nach: Brockhaus Enzyklopädie in 24 Bd., 19. völlig neu bearbeitete Auflage,F.A. Brockhaus, Mannheim, **1986**
- [59] R. Cavicchioli, T. Thomas: Extremophiles, in: J. Lederberg (Ed.), Encyclopedia of Microbiology, Second Edition, vol. 2, Academic Press, San Diego, 2000, 317-337
- [60] M. DeRosa, A. Gambacorta: The lipids of archaebacteria, *Prog. Lipid Res.*, **1988**, 27, 153-175
- [61] G.D. Sprott: Structures of archaebacterial membrane lipids. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **1992**, *24*, 555-566
- [62] J. Reizer, N. Grossowicz, Y. Barenholz: The effect of growth temperature on the thermotropic behavior of the membranes of a thermophilic *Bacillus*. Compositionstructure-function relationships. *Biochim. Biophys. Acta*, **1985**, *815*, 268-280
- [63] J.-H. Fuhrhop, D. Fritsch: Bolaamphiphiles form ultrathin porous and unsymmetric monolayer membranes. *Acc. Chem. Res.*, **1986**, *19*, 130-137
- [64] J.L. C. M. van de Vossenberg, A.J.M. Driessen, W.N. Konings: The essence of being extremophilic: the role of the unique archaeal membrane lipids. *Extremophiles*, 1998, 2, 163-170

- [65] G. Gregoriadis; Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems. *Trends Biotechnol.*, **1995**, *13*, 527-537
- [66] G.B. Patel, G.D. Sprott: Archaeobacterial ether lipid liposomes (archaeosomes) as novel vaccine and drug delivery systems, *Crit. Rev. Biotechnol.*, **1999**, *19*, 317-357
- [67] S. Bauer, K. Heckmann, L. Six, C. Strobl, D. Blšcher, B. Henkel, T. Garbe, K. Ring: Hyperfiltration through crosslinked monolayers II, *Desalination*, **1983**, *46*, 369-378
- [68] B.A. Cornell, V.L. Braach-Maksvytis, L.G. King, P.D. Osman, B. Raguse, L. Wieczorek, R.J. Pace: A biosensor that uses ion-channel switches, *Nature*, **1997**, *387*, 580-583
- [69] T. Shimizu: Formation of high-axial-ratio microstructures from sugar-, peptide-, and nucleobase-based bolaamphiphiles. J. Jpn. Oil Chem. Soc., **2000**, 49, 1261-1271
- [70] L.I. Jong, N.L. Abbott: Rate-dependent lowering of surface tension during transformation of water-soluble surfactants from bolaform to monomeric structures, *Langmuir*, 1998, 14, 2235-2237
- [71] A.P. Patwardhan, D.H. Thompson: Novel flexible and rigid tetraether acyclic and macrocyclic bisphosphocholines: Synthesis and monolayer properties, *Langmuir*, 2000, 16, 10340-10350
- [72] G.H. Escamilla, G.R. Newkome: Bolaamphiphile: von Golfbällen und Fasern, *Angew. Chem.*, **1994**, *106*, 2013-2016
- [73] J. Sirieix, N. Lauth-de Viguerie, M. Rivière, A. Lattes: From unsymmetrical bolaamphiphiles to supermolecules, *New J. Chem.*, **2000**, *24*, 1043-1048
- [74] D. Blunk, K. Präfcke, V. Vill, in: D. Dietrich (ed.), Handbook of Liquid Crystals, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, *3*, 305
- [75] M. Kölbel, T. Beyersdorf, I. Sletvold, C. Tschierske, J. Kain, S. Diele: Design flüssigkristalliner Blockmoleküle: columnare Mesophasen calamitischer Bolaamphiphile mit lateralen lipophilen Substituenten, *Angew. Chem.*, **1999**, *111*, 1146-1149
- [76] B.M.J. Kellner, D.A. Cadenhead: Monolayer studies of hydroxyhexadecanoic acids, J. Colloid Interface Sci., 1978, 63, 452-460
- [77] F.M. Menger, S.D. Richardson, M.G. Wood Jr., M.J. Sherrod: Chain-substituted lipids in monomolecular films. Effect of polar substituents on molecular packing, *Langmuir*, 1989, 5, 833-838
- [78] B. Asgharian, D.A. Cadenhead: Bipolar/monopolar conformational transitions of selected hydroxyoctadecanoic acids and esters: A fluorescence microscopy study, *Langmuir*, 2000, 16, 677-681
- [79] J. Majewski, R. Edgar, R. Popovitz-Biro, K. Kjaer; W.G. Bouwman, J. Als-Nielsen, M. Lahav, L. Leiserowitz: Strukturbestimmung im Grenzbereich zwischen Monoschichten und dreidimensionalen Kristallen; eine Untersuchung nanokristalliner Aggregate von α, ω-Docosandiol an der Grenzfläche Wasser-Luft mit Röntgenbeugung unter streifendem Einfall, Angew. Chem., 1995, 107, 707-711
- [80] H. Sakai, J. Umemura: Molecular orientation in Langmuir films of 12-hydroxystearic acid studied by infrared external-reflection spectroscopy, *Langmuir*, **1998**, *14*, 6249-6255

- [81] M. Overs, M. Fix, S. Jacobi, Li Feng Chi, M. Sieber, H.-J. Schäfer, H. Fuchs, H.-J. Galla: Assembly of new *vic*-dihydroxyoctadecanoic acid methyl esters at the air-water interface, *Langmuir*, 2000, *16*, 1141-1148
- [82] T. Tachibana, T. Yoshizumi, K. Hori: Monolayer studies of chiral and racemic 12hydroxyoctadecanoic acids, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*; 1979, 52, 34-41
- [83] V. Neumann, A. Gericke, H. Hühnerfuss: Comparison of enantiomeric and racemic monolayers of 2-hydroxyhexadecanoic acid by external infrared reflection-absorption spectroscopy, *Langmuir*, **1995**, *11*, 2206-2212
- [84] M. Overs: Synthese funktionalisierter Amphiphile auf Basis langkettiger Carbonsäuren und ihre Aggregation zu supramolekularen Strukturen an Grenzflächen, Dissertation, Universität Münster, 2001
- [85] A. Gericke, R. Mendelsohn: Partial chain deuteration as an IRRAS probe of conformational order of different regions in hexadecanoic acid monolayers at the air/water interface, *Langmuir*, **1996**, *12*, 756
- [86] H. Hühnerfuss, *The molecular structure of the system water/monomolecular surface film and its influence on water wave damping.*, Habilitationsschrift, Universität Hamburg, **1986** (und dort zitierte Literatur)
- [87] A. Gericke, H. Hühnerfuss: The conformational order and headgroup structure of long-chain alkanoic acid ester monolayers at the air/water interface, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, **1985**, *99*, 641-650
- [88] A. Gericke, J. Simon-Kutscher, H. Hühnerfuss: Comparison of different spreading techniques for monolayers at the air/water interface by external infrared reflection-absorption spectroscopy, *Langmuir*, **1993**, *9*, 3115-3121
- [89] R. Mendelsohn, J.W. Brauner, A. Gericke: External infrared reflection absorption spectrometry of monolayer films at the air-water interface, *Ann. Rev. Phys. Chem.*, 1995, 46, 305
- [90] M. Fix, R. Lauter, C. Löbbe, G. Brezesinski, H.-J. Galla, Hydrogen-bond-induced chiral discrimination in monolayers of bipolar methyl dihydroxyoctadecanoates, *Langmuir*, 2000, 16, 8937-8945
- [91] D.G. Cameron, J.K. Kauppinen, D.J. Moffatt, H.H. Mantsch: Precision in condensed phase vibrational spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, **1982**, *36*, 245-250
- [92] D.L. Elmore, R.A. Dluhy: Application of 2D IR correlation analysis to phase transitions in Langmuir monolayer films, *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2000, 171, 225-239
- [93] Th. Nagel, *Das letzte Wort*, Philipp Reclam jun., Stuttgart, 1999
- [94] C. Lautz, T.M. Fischer, J. Kildea: Hysteresis effects at the tilted to nontilted transition in octadecanol monolayers as observed with Brewster angle autocorrelation spectroscopy, J. Chem. Phys., 1997, 106, 7448-7453
- [95] F. Picard, Th. Buffeteau, B. Desbat, M. Auger, M. Pézolet: Quantitative orientation measurements in thin lipid films by attenuated total reflection infrared spectroscopy, Biophys. J., 1999, 76, 539-551
- [96] M. Fix, M. Sieber, M. Overs, H.J. Schäfer, H.-J. Galla: Temperature-dependent phase behaviour of dihydroxy octadecanoic acid methyl esters: Infuence of stereochemistry

and position of the second polar moiety, Phys. Chem. Chem. Phys., 2000, 2, 4515-4520

- [97] L. Chi, S. Jacobi, B. Anczykowski, M. Overs, H.-j. Schäfer, H.Fuchs: Supermolecular periodic structures in monolayers, *Advanced Materials*, 2000, *12*, 25-30
- [98] M. Ahlers, W. Müller, A. Reichert, H. Ringsdorf, J. Venzmer: Spezifische Wechselwirkung von Proteinen mit funktionellen Lipidmonoschichten - Wege zur Simulation von Biomembranprozessen. Angew. Chem., 1990, 102, 1310-1327
- [99] A. Gericke, H. Hühnerfuss: IR reflection absorption spectroscopy: a versatile tool for studying interfacial enzymatic processes. *Chem. Phys. Lipids*, **1994**, *74*, 205-210
- [100] M. Grandbois, B. Desbat, D. Blaudez, Ch. Salesse: Polarization-modulated infrared reflection absorption spectroscopy measurement of phospholipid monolayer hydrolysis by phospholipase C. *Langmuir*, **1999**, *15*, 6594-6597
- [101] (a) U. Dahmen-Levison, G. Brezesinski, H. Möhwald, J.Jakob, P. Nuhn: Untersuchungen von Lipid-Protein-Wechselwirkungen an Monoschichten kettensubstituierter Phosphatidylcholine. *Angew. Chem.*, 2000, *112*, 2889-2892 (b) I. Estrela-Lopis, G. Brezesinski, H. Möhwald: Dipalmitoylphosphatidylcholine/phospholipase D interactions investigated with polarization-modulated infrared reflection absorption spectroscopy. *Biophys. J.*, 2001, *80*, 749-754
- [102] U. Dahmen-Levison, G. Brezesinski, H. Möhwald: Specific adsorption of PLA₂ at monolayers. *Thin Solid Films*, **1998**, *327-329*, 616-620
- [103] T. Kondo, T. Kakiuchi, M. Shimomura: Fluorescence microscopic imaging of hydrolysis of phospholipid monolayer by phospholipase D at the air-water interface. *Thin Solid Films*, **1994**, 244, 887-889
- [104] K.M. Maloney, M. Grandbois, D.W. Grainger, C. Salesse, K.A. Lewis, M.F. Roberts: Phospholipase A2 domain formation in hydrolyzed asymmetric phospholipid monolayers at the air/water interface, *Biochim. Biophys. Acta*, **1995**, *1235*, 395-405
- [105] J. Li, Z. Chen, X.. Wang, G. Brezesinski, H. Möhwald: Dynamische Untersuchungen der durch Phospholipase A2 katalysierten Hydrolyse einer DPPC-Monoschicht an der Wasser-Luft-Grenzfläche. Angew. Chem., 2000, 112, 3187-3191
- [106] H. Brockman: Lipid monolayers: why use half a membrane to characterize proteinmembrane interactions? *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1999**, *9*, 438-443
- [107] B. Agerberth, H. Gunne, J. Odeberg, P. Kogner, H.G. Boman, G.H. Gudmundsson: FALL-39, a putative human peptide antibiotic, is cysteine-free and expressed in bone marrow and testis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1995**, *92*, 195-199
- [108] M. Wachinger, A. Kleinschmidt, D. Winder, N. von Pechmann, A. Ludvigsen, M. Neumann, R. Holle, B. Salmons, V. Erfle, R. Brack-Werner: Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression. J. Gen. Virol., 1998, 79, 731-740
- [109] M. Krugliak, R. Feder, V.Y. Zolotarev, L. Gaidukov, A. Dagan, H. Ginsburg, A. Mor: Antimalarial activities of dermaseptin S4 derivatives. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, 44, 2442-2451
- [110] D. Hultmark, H. Steiner, T. Rasmuson, H.G. Boman: Insect immunity. Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of Hyalophora cecropia. *Eur. J. Biochem.*, **1980**, *106*, 7-16

- [111] M. Zasloff: Magainins, a class of antimicrobial peptides from Xenopus skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, *84*, 5449-5453
- [112] B. Schittek, R. Hipfel, B. Sauer, J. Bauer, H. Kalbacher, S. Stevanovic, M. Schirle, K Schröder, N. Blin, F. Meier, G. Rassner, C. Garbe: Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands. *Nature Immunology*, **2001**, *2*, 1133-1137
- [113] D. Field: Crocodile concepts, *Today's Life Science*, **2001**, *13*, Web-Edition (http://www.vlifescience.com.au)
- [114] G. Diamond: Nature's antibiotics the potential of antimicrobial peptides as new drugs, *Biologist*, 2001, 48, 209-212
- [115] G. Bierbaum: Antibiotische Peptide Lantibiotika. Chemotherapie Journal, 1999, 8, 204-209
- [116] R.M. Epand, H.J. Vogel: Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, *1462*, 11-28
- [117] N. Sitaram, R. Nagaraj: Interaction of antimicrobial peptides with biological and model membranes: structural and charge requirements for activity. *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, *1462*, 29-54
- [118] A. Giangaspero, L. Sandri, A. Tossi: Amphipathic alpha helical antimicrobial peptides
 A systematic study of the effects of structural and physical properties on biological activity. *Eur. J. Biochem.*, 2001, 268, 5589-5600
- [119] E.J. Prenner, R.N.A.H. Lewis, R.N. McElhaney: The interaction of the antimicrobial peptide gramicidin S with lipid bilayer model and biological membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, *1462*, 201-222
- [120] Y. Shai, Z. Oren: From "carpet" mechanism to de-novo designed diastereomeric cellselective antimicrobial peptides. *Peptides*, 2001, 22, 1629-1641
- [121] (a) W.M. O'Leary, S.G. Wilkinson, *in*: C. Ratledge, S.G. Wilkinson (Eds.), Microbial Lipids, vol. 1, Academic Press, London, **1988**, 117-201 (b) S.G. Wilkinson, a.a.O., 299-488
- [122] M.A. Yorek, *in*: G. Ceve (Ed.), Phospholipid Handbook, Marcel Dekker, New York, 1993, 745-775
- [123] K. Matsuzaki, K. Sugishita, N. Fujii, K. Miyajima: Molecular basis for membrane selectivity of an antimicrobial peptide, magainin 2. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 3423-3429
- [124] J.M. Boggs: Lipid intermolecular hydrogen bonding: influence on structural organization and membrane function. *Biochim. Biophys. Acta*, **1987**, *906*, 353-404
- [125] B. Bechinger: The structure, dynamics and orientation of antimicrobial peptides in membranes by multidimensional solid-state NMR spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, *1462*, 157-183
- [126] M.S. Sansom: Alamethicin and related peptaibols-model ion channels. *Eur. Biophys.* J., 1993, 22, 105-124
- [127] Y. Pouny, D. Rapaport, A. Mor, P. Nicolas, Y. Shai: Interaction of antimicrobial dermaseptin and its fluorescently labeled analogues with phospholipid membranes. *Biochemistry*, **1992**, *31*, 12416-12423
- [128] H. Heerklotz, J. Seelig: Detergent-like action of the antibiotic peptide surfactin on lipid membranes. *Biophys. J.*, 2001, 81, 1547-1554
- [129] B. Bechinger: Structure and functions of channel-forming peptides: magainins, cecropins, melittin and alamethicin. J. Membr. Biol., **1997**, 156, 197-211
- [130] L. Thimon, F. Peypoux, R. Maget-Dana, B. Roux, G. Michel: Interactions of bioactive lipopeptides, iturin A and surfactin from Bacillus subtilis, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 1992, 16, 144-151
- [131] K. Arima, A. Kakinuma, G. Tamura: Surfactin, a crystalline peptidelipid surfactant produced by Bacillus subtilis: isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1968**, *31*, 488-494.
- [132] D. Vollenbroich, M. Özel, J. Vater, R.M. Kamp, G. Pauli: Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactant surfactin from Bacillus subtilis, *Biologicals*, **1997**, 25, 289-297
- [133] M. Kracht, H. Rokos, M. Ozel, M. Kowall, G. Pauli, J. Vater: Antiviral and hemolytic activities of surfactin isoforms and their methyl ester derivatives, *J. Antibiot.*, **1999**, 52, 613-619
- [134] H. Itokawa, T. Miyashita, H. Morita, K. Takeya, T. Hirano, M. Homma, K. Oka: Structural and conformational studies of [Ile7] and [Leu7] surfactins from Bacillus subtilis natto, *Chem. Pharm. Bull.*, **1994**, *42*, 604-607
- [135] Y. Kameda, S. Oira, K. Matsui, S. Kanatomo, T. Hase: Antitumor activity of bacillus natto. V. Isolation and characterization of surfactin in the culture medium of Bacillus natto KMD 2311, *Chem. Pharm. Bull.*, **1974**, *22*, 938-944
- [136] A. Bernheimer, L. Avigad: Nature and properties of a cytolitic agent produced by Bacillus subtilis, J. Gen. Microbiol., 1970, 61, 361-369
- [137] F. Peypoux, J.M. Bonmatin, J. Wallach: Recent trends in the biochemistry of surfactin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **1999**, *51*, 553-563
- [138] R. Maget-Dana, M. Ptak: Interactions of surfactin with membrane models, *Biophys. J.*, 1995, 68, 1937-1943
- [139] M. Deleu, M. Paquot, Ph. Jacques, Ph. Thonart, Y. Adriaensen, Y.F. Dufrêne: Nanometer scale organization of mixed surfactin/phophatidylcholine monolayers, *Biophys. J.*, **1999**, 77, 2304-2310
- [140] R.D. Hunt, M.L. Mitchell, R.A. Dluhy: The interfacial structure of phospholipid monolayer films: an infrared reflectance study. J. Mol. Struct., 1989, 214, 93-109
- [141] V.M. Kaganer, H. Möhwald, P. Dutta: Structure and phase transitions in Langmuir monolayers, *Rev. Mod. Phys.*, **1999**, *71*, 779-819
- [142] X. Gallet, M. Deleu, H. Razafindralambo, Ph. Jacques, Ph. Thonart, M. Paquot, R. Brasseur: Computer simulation of surfactin conformation at a hydrophobic/hydro-philic interface, *Langmuir*, **1999**, *15*, 2409-2413
- [143] G.L. Gaines, Mixed monolayers, *in:* I. Prigogine (ed.), Insoluble monolayers at liquidgas interfaces, Interscience, New York, **1966**, 281-300
- [144] R. Maget-Dana, M. Ptak: Interfacial properties of surfactin, J. Colloid Interface Sci., 1992, 153, 285-291

- [145] G. Schwarz, S.E. Taylor: Thermodynamic analysis of the surface activity exhibited by a largely hydrophobic peptide, *Langmuir*, **1995**, *11*, 4341-4346
- [146] R.M. Epand, S.W. Hui: Effect of electrostatic repulsion on the morphology and thermotropic transitions of anionic phospholipids, *FEBS Lett.*, **1986**, *209*, 257-260
- [147] K. Lohner, E.J. Prenner: Differential scanning calorimetry and X-ray diffraction studies of the specificity of the interaction of antimicrobial peptides with membranemimetic systems, *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, *1462*, 141-156
- [148] V. Vié, N. Van Mau, L. Chaloin, E. Lesniewska, Ch. Le Grimellec, F. Heitz: Detection of peptide-lipid interactions in mixed monolayers, using isotherms, atomic force microscopy, and fourier transform infrared analyses, *Biophys. J.*, 2000, 78, 846-856
- [149] J.N. Israelachvili, D.J. Mitchell, B.W. Ninham: Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers, J. Chem. Soc. Faraday Trans. II, 1976, 72, 1525-1568
- [150] R.M. Epand: Lipid polymorphism and protein-lipid interactions, *Biochim. Biophys.* Acta, 1998, 1376, 353-368
- [151] S. May, A, Ben-Shaul: Molecular theory of lipid-protein interaction and the L_{α} -H_{II} transition, *Biophys. J.*, **1999**, *76*, 751-767
- [152] Y. Ishigami, M. Osman, H. Nakahara, Y. Sano, R. Ishigaro, M. Matsumoto: Significance of beta-Sheet Formation for Micellization and Surface Adsorption of Surfactin, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **1995**, *4*, 341-348
- [153] V. Neumann, Analytik und physikochemische Charakterisierung chiraler grenzflächenaktiver organischer Verbindungen, Diplomarbeit, **1993**, Universität Hamburg
- [154] R. Oda, I. Huc, J.-C. Homo, B. Heinrich, M. Schmutz, S. Candau: Elongated aggregates formed by cationic gemini surfactants, *Langmuir*, 1999, 15, 2384-2390
- [155] S. Karaborni, K. Esselink, P.A.J. Hilbers, B. Smit, J. Karthäuser, N.M. van Os, R. Zana: Simulating the self-assembly of gemini (dimeric) surfactants, *Science*, 1994, 266, 254-256
- [156] R.Oda, I. Huc, S.J. Candau: Gemini surfactants, the effect of hydrophobic chain length and dissymetry, *Chem. Comm.*, **1997**, 2105
- [157] Q. Huo, R. Leon, P.M. Petroff, G.D. Stucky: Mesostructure design with gemini surfactants: supercage formation in a 3-D hexagonal array, *Science*, **1995**, *268*, 1324-1326
- [158] R. Oda, I. Huc, M. Schmutz, S.J. Candau, F.C. MacKintosh: Tuning bilayer twist using chiral counterions, *Nature*, **1999**, *399*, 566-569
- [159] H.-G. Kuball, H. Brüning: Helical twisting power and circular dichroism as chirality observations: The intramolecular and intermolecular chirality transfer, *Chirality*, 1997, 9, 407-423
- [160] A.B. Harris, R.D. Kamien, T.C. Lubensky: Molecular chirality and chiral parameters, *Rev. Mod. Phys.*, **1999**, *71*, 1745-1757
- [161] H. Zabrodsky, S. Peleg, D. Avnir: Continuous symmetry measures, J. Am. Chem. Soc., 1992, 114, 7843-7851

Danksagung

Zu allererst möchte ich mich bei Prof. Heinrich Hühnerfuß für seine engagierte Begleitung während meiner gesamten Zeit in seinem Arbeitskreis sowie für die (Narren-)Freiheiten bedanken, die er mir bei der Ausrichtung und Anfertigung meiner Arbeit gewährte.

Allen anderen aus dem Arbeitskreis und insbesonders Heike sei für die Schaffung und Wahrung eines überaus angenehmen Klimas, einer menschlichen (nicht nur Arbeits-)Atmosphäre gedankt.

Bei Michael Overs bedanke ich mich für die äußerst effektive und fruchtbare Zusammenarbeit.

In der Phase des Zusammenschreibens waren auch die Telefonate mit meinen Eltern sehr nett, "sagt mal, wißt ihr noch schöne Synonyme für ,überaus bemerkenswert"?"

Bei Ninja bedanke ich mich vor allem dafür, daß sie mir half, aus einer rohen, unstrukturierten Bleiwüste einen halbwegs lesbaren Text zu erstellen.

<u>Erklärung:</u>

Hiermit versichere ich Eidesstatt, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig durchgeführt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)

<u>Erklärung:</u>

Hiermit erkläre ich, daß ich bisher keine weiteren Promotionsversuche unternommen habe.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)

Johann-Sebastian-Bach-Str. 34 • 35392 Gießen • Tel. 0641 - 97 20 640

CURRICULUM VITAE

PERSÖNLICHE ANGABEN

Geburtsdatum:09.05.1969Geburtsort:HamburgStaatsangehörigkeit:deutschFamilienstand:ledig

SCHULLAUFBAHN

1975 – 1979: Grundschule Lutterothstraße, Hamburg

1979 - 1988: Albrecht-Thaer Gymnasium, Hamburg

Juni 1988: Allgemeine Hochschulreife

ZIVILDIENST

01.02.89 – 30.09.90 Tätigkeit als Hilfspfleger auf einer Inneren Station des Krankenhauses Alten Eichen, Hamburg

UNIVERSITÄT

WS 1990/91 – WS 1992/93 Grundstudium Chemie (Studienziel: Diplom) Universität Hamburg

16. Februar 1993 Diplomvorprüfung (Note: 1,0)

SS 1993 – WS 1996/97 Hauptstudium Chemie Universität Hamburg

Juli/August 1996 Schwerpunktpraktikum in Physikalischer Chemie: "Theoretische Untersuchungen zum Säure-Base-Charakter Alkalimetallkationausgetauschter Zeolithe vom Faujasittyp"

Februar 1997 Diplomhauptprüfung (Note 1,0)

SS 1997 Diplomarbeit im Arbeitskreis Hühnerfuss, Institut f. Organische Chemie, Universität Hamburg: "Die Rolle von Wasserstoffbrücken- und Metallkomplexbildung für die chirale Kennung in racemischen und enantiomerenreinen Oberflächenfilmen unter besonderer Berücksichtigung von Alanin- und Valinderivaten." (Note: 1,0)

WS 1997/98 – SS 2002

Promotion im Arbeitskreis Hühnerfuss, Institut f. Organische Chemie, Universität Hamburg

"Charakterisierung von chiralen Langmuir-Filmen mit Hilfe von IR-spektroskopischen, thermodynamischen und abbildenden Methoden sowie biomimetische Ansätze zur Aufklärung der Wirkweise des antibiotischen Peptids Surfactin" (Note: magna cum laude)

05.11.2002 Disputation (Note: magna cum laude)

WISSENSCHAFTLICHE PUBLIKATIONEN

F. Hoffmann, H. Hühnerfuss, K.J. Stine Temperature Dependence of Chiral Discrimination in Langmuir Monolayers of *N*-Acyl Amino Acids As Inferred from II/A Measurements and Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy. *Langmuir*, **1998**, *14*, 4525-4534

F. Hoffmann, H. Hühnerfuss, J. Simon-Kutscher, W. Alpers Morphology of Sea Slicks – Looking at the Sea Surface with the "Eye of a Chemist".

Proceedings of the IEEE 1999 International Geoscience and Remote Sensing Symposium (IGARSS '99), Volume III, **1999**, 1469-1471

M. Overs, F. Hoffmann, H.-J. Schäfer, H. Hühnerfuss Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy of Racemic and Enantioenriched Methyl 17,18-Dihydroxyoctadecanoate at the Air-Water Interface. *Langmuir*; **2000**, *16*, 6995-6998

TEILNAHME AN KONGRESSEN UND WORKSHOPS

International Workshop on Infrared Reflection Spectroscopy of Biological Films, Bad Kösen, 12. – 14. Juli 1998

IEEE 1999 International Geoscience and Remote Sensing Symposium (IGARSS '99), Hamburg, 28. Juni – 2. Juli 1999

Interactions of Biopolymers with Model Membranes (IBMM 2000), International Bunsen Discussion Meeting, Halle (Saale), 26. – 29. März 2000

14th International Symposium on Chirality (ISCD-14), Hamburg, 8.-12. September 2002; Posterpräsentation: "Chiral Discrimination and the Role of H-bonds: Amphiphiles of *N*-Acyl Amino Acids at the Air/Water Interface"

Molecular Modelling in Life Science and Materials Research, Workshop, DECHEMA e.V., Frankfurt/Main, 11. – 12. Dezember 2002

01.10.98 – 30.09.01 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am FB Chemie der Universität Hamburg Betreuung des Praktikums in Organischer Chemie für Nebenfächler

01.09.02 – 01.09.03 Wissenschaftlicher Mitarbeiter des FB 08 der Universität Gießen Betreuung des Anorganisch-chemischen Praktikums für Nebenfächler

FÖRDERUNGEN

01.10.2001 – 31.08.2002 Promotionsabschlußstipendium der Universität Hamburg