

- [14] Läßt man THF in die Cucurbituril/Rb₂SO₄-Lösung diffundieren, entstehen zunächst nadelförmige Kristalle, die dieselbe Honigwabenstruktur wie **1** aufweisen, die Morphologie der Kristalle ändert sich aber allmählich, und es bilden sich Blöcke, die andere Zellparameter aufweisen: monoklin, Raumgruppe *C2/m*, *a* = 22.8361(4), *b* = 10.4759(2), *c* = 19.8560(4) Å, β = 113.483(1)°, *V* = 4356.7(1) Å³. Eine Röntgenstrukturanalyse wird derzeit durchgeführt.
- [15] Alternativ läßt sich Cucurbituril auch als Pseudokugel beschreiben. Bei der Bildung des Koordinationspolymers mit den Rubidiumionen werden diese Pseudokugeln in eine vertikale lineare Anordnung gezwungen, die die Bildung klassischer hexagonaler oder kubisch dichter Packungen verhindert und zur hier vorliegenden „hexagonalen offenen Packung“ führt.

Durch Phospholipase A₂ ausgelöste Farbänderung von Vesikeln aus konjugierten Polymeren**

Sheldon Yoshio Okada, Raz Jelinek und Deborah Charych*

Konjugierte Polymere wie Polydiacetylen (PDA), Polythiophen und Polypyrrol weisen ein bemerkenswertes Spektrum an Farbänderungen auf, die durch Temperaturänderungen (Thermochromie),^[1] mechanische Belastung (Mechanochromie)^[2] oder Ionenbindung (Ionochromie)^[1, 3] ausgelöst werden können. Die Farbänderungen können einer Änderung der Größe des delokalisierten Elektronensystems des π -konjugierten Polymergerüsts zugeschrieben werden.^[4] Die Verwendung dieser „intelligenten“ Materialien für Nachweise in der Biologie (Biochromie)^[5–11] steckt noch in den Kinderschuhen.

Die Katalyse an Membrangrenzflächen spielt in extra- und intrazellulären Prozessen eine zentrale Rolle, und sie umfaßt viele Enzymklassen, wie lipolytische Enzyme, Acyl-Transferasen, Proteinkinasen und Glycosidasen. So sind lipolytische

Enzyme an wichtigen biochemischen Vorgängen wie Fettabbau und Signaltransduktion beteiligt. Der Grund für das derzeitige Interesse an einem dieser Enzyme, Phospholipase A₂ (PLA₂),^[12, 13] ist dessen Rolle bei der Freisetzung von Arachidonat und Lysophospholipiden aus Membranen. Diese Verbindungen sind die Vorstufen für die Biosynthese von Icosanoiden (z. B. Prostaglandinen und Leukotrienen), die bei einer Reihe von entzündlichen Erkrankungen, wie Asthma, Ischämie und rheumatoide Arthritis, beteiligt sind.^[14–16] Dem entsprechend wird an der Identifizierung von PLA₂-Inhibitoren zur Zeit intensiv gearbeitet. Daraus könnten sich neue Therapeutika und neue Erkenntnisse über die biochemischen Mechanismen der Enzymaktivität ergeben.^[16–18]

PLA₂ katalysiert die Hydrolyse einer Acylesterbindung ausschließlich an der 2-Acyl-Position in Glycerophospholipiden; Produkte sind die freie Fettsäure und ein Lysophospholipid. Typische Verfahren zur Messung der PLA₂-Aktivität schließen diskontinuierliche radiochemische,^[19] Fluoreszenz-^[20] und spektrophotometrische Techniken^[21] ein. Dabei werden markierte Acylphospholipide als Substrate verwendet, und die Enzymaktivität wird über die Radioaktivität, Fluoreszenz bzw. Absorption der abgespaltenen Fettsäuren bestimmt. Bei einigen Verfahren (vor allem den radiochemischen) kann es erforderlich sein, die abgespaltenen Fettsäuren durch Dünnschichtchromatographie oder HPLC vom nicht umgesetzten Substrat zu trennen. Der Extraktionsschritt und die Notwendigkeit, mit markierten Substraten zu arbeiten, erweisen sich im Hinblick auf eine schnelle Analyse der Enzymaktivität, beispielsweise in Assays zum schnellen Screening potentieller Enzyminhibitoren, als Nachteil. Außerdem reagiert die Phospholipasekatalyse empfindlich auf die chemische Struktur des Phospholipidsubstrats,^[22, 23] so daß die Verwendung nichtmarkierter, natürlich vorkommender Substrate sehr erwünscht ist. Die im folgenden beschriebenen biochromen Vesikel ermöglichen es, die Enzymaktivität durch Detektion einer Farbänderung von PDA als „Signal“lipid, das das natürliche Enzymsubstrat umgibt, in einem einzigen Schritt zu messen. Die Methode erfordert keine zusätzlichen chemischen Reagentien oder analytischen Verfahren nach der Hydrolyse. Ferner ist eine schnelle Identifizierung von Enzyminhibitoren möglich, indem einfach die Farbänderungen von wäßrigen Vesikelsuspensionen in einer Standard-Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen verfolgt werden.

Die PLA₂-Aktivität wurde bereits an einer Vielzahl von Modell-Membransystemen untersucht, z. B. an polymerisierten Vesikeln,^[24, 27] Micellen^[21] und Monoschichten.^[22, 25] Die von uns verwendeten biochromen Vesikel^[5, 6, 8] wurden durch Ultraschallung eines Gemisches aus dem polymerisierbaren Matrixlipid 10,12-Tricosandiinsäure und Dimyristoylphosphatidylcholin (DMPC, 0–40 Mol-%) in entionisiertem Wasser (1 mM) und anschließende Polymerisation durch Bestrahlung mit UV-Licht (254 nm, 1.6 mJ cm⁻²) hergestellt (Abbildung 1). Transmissionselektronenmikroskopisch ergab sich eine durchschnittliche Vesikelgröße von 100 nm. Die Vesikel sind mit einer Maximalabsorption bei etwa 620 nm tiefblau (Abbildung 2 a, durchgezogene Linie); ihre Farbe ist auf das en-in-konjugierte System zurückzuführen, das das Gerüst der polymerisierten Lipid/PDA-Matrix bildet.^[26] Nach Zugabe von PLA₂ wird die Suspension schnell (innerhalb von

[*] Dr. D. Charych^[+]
Principal Investigator, Center for Advanced Materials
Materials Sciences Division
Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720 (USA)
S. Y. Okada^[++]
Center for Advanced Materials, Materials Sciences Division
Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720 (USA)
Prof. R. Jelinek
Department of Chemistry, Ben Gurion University of the Negev
Beer-Sheva 84105 (Israel)

[+] Neue Adresse:
Chiron Technologies, 4560 Horton Avenue
Emeryville, CA 94607 (USA)
Fax: (+1) 510-923-3360
E-mail: deb_charych@cc.chiron.com

[++] Neue Adresse:
Department of Chemistry, Caltech University, Pasadena, CA (USA)

[**] Diese Arbeit wurde vom Office of Naval Research, Vertrag N0001497F0181, und vom Direktor des Office of Energy Research, Office of Basic Energy Sciences, Division of Materials Sciences, und von der Division of Energy Bio-Sciences des US Department of Energy, Vertrag DE-AC03-76SF0098, gefördert. Wir danken Prof. Mahendra Jain für die Überlassung des Inhibitors MJ33 und seine hilfreichen Vorschläge. D.C. dankt Dr. Mark Alper, Projektleiter des Biomolecular Materials Program, für seine Unterstützung.

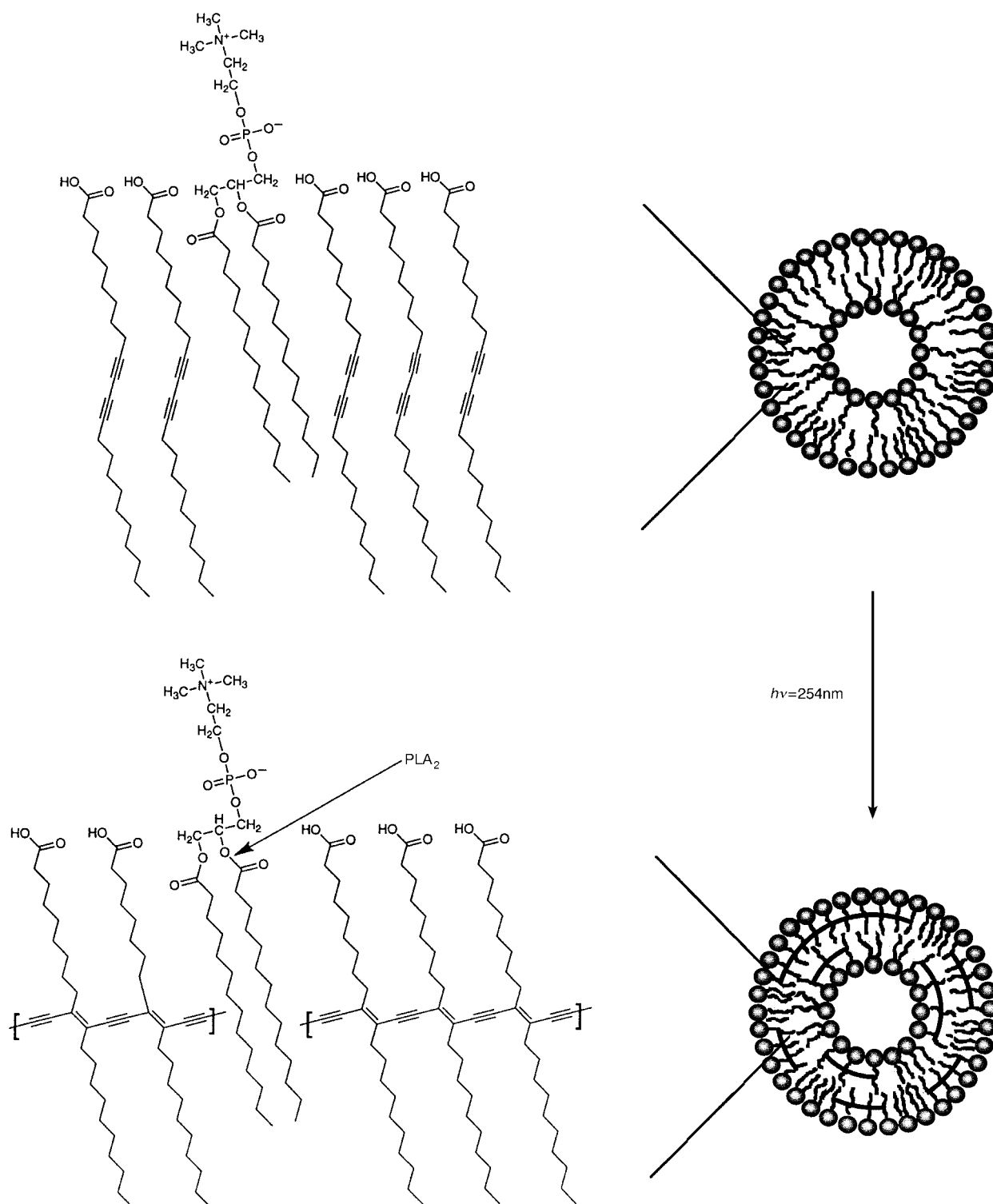


Abbildung 1. Herstellung von biochromen Vesikeln aus einem polymerisierbaren Signallipid und dem natürlichen Lipid DMPC. Unten ist die Angriffsstelle für PLA_2 gekennzeichnet. Für Einzelheiten siehe Text.

Minuten) rot; die maximale Absorption liegt nun bei etwa 540 nm (Abbildung 2a, gestrichelte Linie). Eine relative Farbänderung von mindestens 10 % ist mit bloßem Auge deutlich zu erkennen. Durch Variation des Anteils an natürlichem Lipid DMPC in den Vesikeln läßt sich die Farbänderung modulieren, und Vesikel, die kein DMPC enthalten, bleiben bei Zugabe von PLA_2 blau (Abbildung 2b).

Als Erklärung für die biochromen Umwandlungen von PDA-Vesikeln und -Filmen wurden Störungen der ausgedehnten π -Überlappung des konjugierten Polymergerüsts angenommen. Solche strukturellen Umordnungen, die in früheren Untersuchungen durch Binden eines multivalenten Rezeptors oder Eindringen von Peptid-Domänen in die PDA-Matrix hervorgerufen wurden, führen zu einer Absorption bei

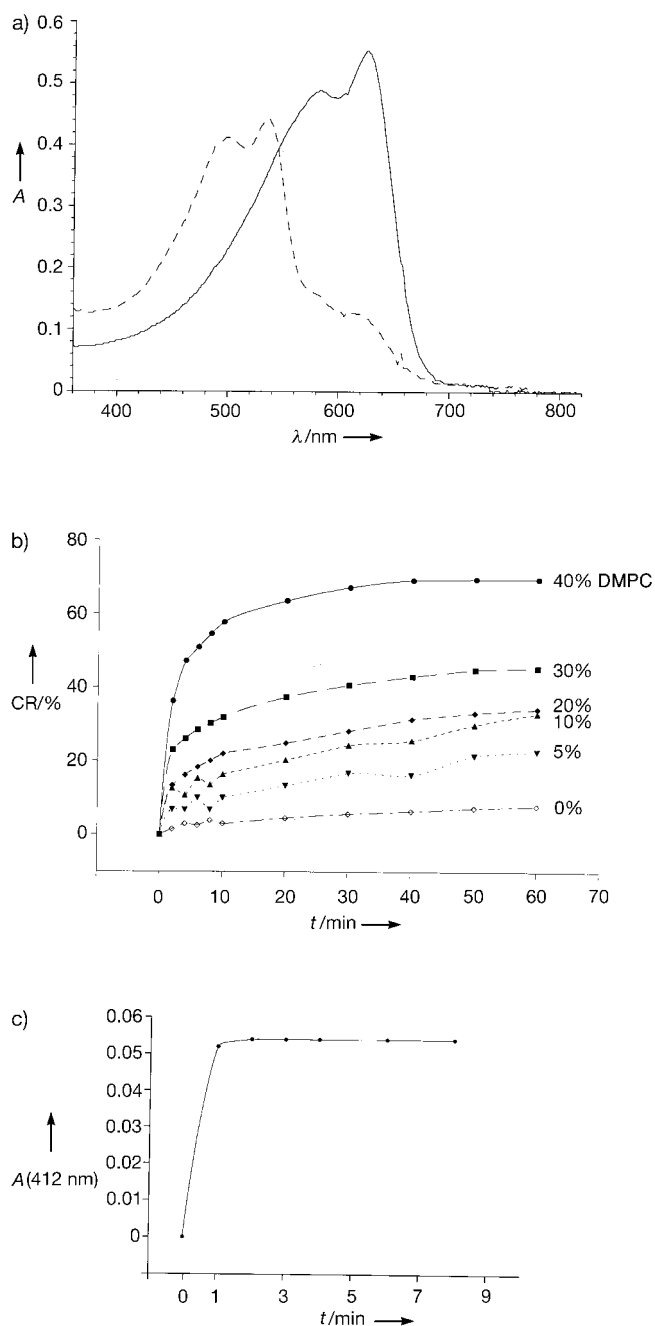


Abbildung 2. a) Absorption der DMPC/PDA-Vesikel im sichtbaren Bereich vor (durchgezogene Linie) und nach Zugabe von PLA_2 (gestrichelte Linie); b) Einfluß der Vesikelzusammensetzung auf die Farbbänderung bei der Zugabe von PLA_2 ; c) Verifizierung der Hydrolyse durch PLA_2 mit Hilfe von DTPC und DTNB. Für Einzelheiten siehe *Experimentelles*.

kürzeren Wellenlängen (490–540 nm).^[5, 8, 10] Die bei der Wechselwirkung zwischen dem Enzym PLA_2 und den DMPC/PDA-Mischvesikeln beobachtete intensive Farbbänderung belegt, daß hier die chemische Veränderung der Vesikel durch Grenzflächenkatalyse ein alternativer Weg zum Auflösen biochromer Umwandlungen ist.

Schon früher wurde gezeigt, daß die Aktivität von PLA_2 bei polymerisierten Mischvesikeln aus Poly(dienoyl)lecithin und Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) erhalten bleibt.^[22, 27] Da die PDA-Matrix für das Enzymsubstrat eine neue Umgebung darstellt, wurde die PLA_2 -Aktivität unabhängig gemes-

sen, indem ein in die PDA-Matrix eingelagertes markiertes Lipid-Analogon verwendet wurde, so daß gleichzeitig die Produktbildung und die kolorimetrische Antwort (CR) der Vesikel verfolgt werden konnten. Als Analogon wurde der Thioester 1,2-Bis(*S*-decanoyl)-1,2-dithio-*sn*-glycero-3-phosphocholin (DTPC) verwendet. Die Spaltung von DTPC durch PLA_2 erzeugt ein lösliches, mit einer Thioleinheit modifiziertes Lipid, das mit 5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoesäure (DTNB) schnell zu einem farbigen Produkt reagiert, das eine charakteristische Absorption bei 412 nm aufweist.^[21] Bei der Zugabe von PLA_2 zu Mischvesikeln aus DTPC/PDA 2/3 führten die mit DTNB reagierenden Hydrolyseprodukte tatsächlich zu einer deutlichen Absorption bei 412 nm (Abbildung 2c). Gleichzeitig änderten die PDA-Vesikel ihre Farbe, und die Suspension zeigte eine kolorimetrische Antwort, die derjenigen der DMPC enthaltenden Vesikel (Abbildung 2b) ähnlich war. Die unterschiedlichen Antwortgeschwindigkeiten der beiden Verfahren folgen höchstwahrscheinlich aus der Verzögerungszeit beim Ansprechen der umgebenden Polymermatrix. Die Ergebnisse bestätigen, daß es sich bei der Katalyse durch PLA_2 um eine Grenzflächenkatalyse an den polymerisierten Mischvesikeln handelt.

Zum gleichen Ergebnis kommt man bei der Interpretation von NMR-Experimenten, die zudem Informationen über den Verbleib der enzymatischen Reaktionsprodukte lieferten. In Abbildung 3 sind die ^{31}P -NMR-Spektren der DMPC/PDA-Vesikel vor der PLA_2 -Zugabe und nach der enzymatischen

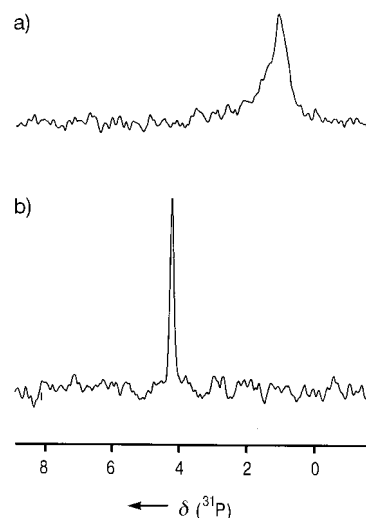


Abbildung 3. ^{31}P -NMR-Spektren von DMPC/PDA-Vesikeln (0.1 mM Gesamtlipidkonzentration) vor (a) und nach PLA_2 -Zugabe (b). Aufnahmeparameter: Magnetfeld 11.7 Tesla, Bruker DMX500, Block-Verzögerungspulssequenz mit 2048 Meßpunkten, 20000 FIDs in jedem Experiment, Verzögerung von 2 s nach jedem Cyclis, 0.1 M Phosphorsäure als externer Standard.

Reaktion gezeigt. Das relativ breite, anisotrope ^{31}P -Signal der intakten Vesikel (Abbildung 3a) ist der Cholin-Kopfgruppe des in die PDA-Vesikel eingelagerten DMPC zuzuordnen. Die ^{31}P -Anisotropie weist darauf hin, daß die Moleküle in der Vesikelmatrix immobilisiert sind. Durch Zugabe von PLA_2 wird das ^{31}P -Signal zu tieferem Feld verschoben (Abbildung 3b); die neue Signallage stimmt mit der überein, die für

das in Wasser gelöste Lyso-myristoylphosphatidylcholin, das Hydrolyseprodukt von DMPC, beobachtet wird. Das Signal ist zudem deutlich schmäler als das der ursprünglichen DMPC/PDA-Vesikel, was auf eine höhere Mobilität der Phosphatgruppen nach der PLA₂-Katalyse hinweist.^[28] Dieses Ergebnis läßt auf ein Herauslösen der Lysolipid-Reaktionsprodukte aus den Vesikeln schließen. ¹H-NMR-Daten, die das Vorkommen gelöster Lipidspezies im Anschluß an die Reaktion mit PLA₂ belegen, stützen diese Beschreibung.^[29]

Die Farbänderung der DMPC/PDA-Vesikel kann durch Verwendung bekannter PLA₂-Inhibitoren unterdrückt werden. In Gegenwart des Inhibitors 1-Hexadecyl-3-trifluor-ethylglycero-2-phosphomethanol (MJ33)^[17, 30] bleibt die Farbe der Vesikel bei Zugabe von PLA₂ blau. Abbildung 4a zeigt PLA₂/Vesikel-Suspensionen mit (blau) und ohne MJ33 (rot) in einer Mikrotiterplatte. Die gemessenen Absorptionen bestätigen die Unterdrückung der kolorimetrischen Antwort (Abbildung 4b). Die Verhinderung des Blau-Rot-Farbumschlags durch MJ33 zeigt, daß eine nichtspezifische Adhäsion

für das biochrome Verhalten keine Rolle spielt und daß die PLA₂-Aktivität direkt für die Farbänderung verantwortlich ist. PLA₂ wird auch dadurch deaktiviert, daß seine Cofaktoren Ca²⁺^[17, 31] aus der Pufferlösung entfernt werden: PLA₂, das in einem Puffer mit Zn²⁺ anstelle von Ca²⁺-Ionen hergestellt wurde, bewirkt keinen Farbumschlag der Vesikel von Blau nach Rot (Abbildung 4b, ♦). Die Ergebnisse legen auch nahe, daß das Ausmaß der Hemmung der Farbänderung von der hinzugefügten Zn²⁺-Ionenmenge abhängt, was mit den Ergebnissen früherer viraler Inhibierungsexperimente an mit Sialinsäure modifizierten PDA-Vesikeln^[7] übereinstimmt. Wir untersuchten darüber hinaus auch den Einfluß von nichtspezifischer Adsorption auf die Farbänderung. Dabei ergab sich beispielsweise, daß die Vesikel ihre Farbe in Gegenwart anderer Enzyme wie Lysozym und Glucose-Oxidase nicht ändern; beide erzeugen nach mehr als einer Stunde Inkubation mit Vesikeln aus DMPC/PDA 2/3 nur ein kolorimetrisches Signal kleiner 5 %.

Die Vesikel-Farbänderung wird einer Lipid-Umordnung und einer Destabilisierung der Vesikel durch die Hydrolyse des DMPC, das in die PDA-Signalmatrix eingebettet ist, zugeschrieben. Allgemein gilt, daß die Farbänderungen von PDA-Materialien (z.B. Einkristallen, Filmen) durch Änderungen der Konformation, Packung und Anordnung der Alkyl-Seitenketten bewirkt werden.^[4, 32, 33] Tomioka et al.^[34, 35] zeigten, daß bei reinen amphiphilen PDA-Monoschichten, die in einem Langmuir-Trog hergestellt werden, der Blau-Rot-Farbumschlag direkt durch Änderungen des lateralen Oberflächendrucks oder der Lipidpackung bewirkt werden kann. Man nimmt an, daß es dabei durch eine Deformation der Alkyl-Seitenketten zu einer Abnahme der effektiven Länge des konjugierten en-in-Gerüsts kommt. Eine ähnliche Störung könnte in den DMPC/PDA-Vesikeln die Veränderung der Lipid-Lipid-Packung verursachen, die durch die Hydrolyse des DMPC ausgelöst wird. Diese Überlegung wird durch frühere Untersuchungen gestützt, nach denen die Hydrolyse durch PLA₂ bei DMPC enthaltenden Langmuir-Schichten eine bedeutende Flächenkontraktion bewirkt,^[22] deren Ausmaß der quantitativen Entfernung der Hydrolyseprodukte aus der Monoschicht entspricht. Nach Fluoreszenz-Untersuchungen destabilisiert die Hydrolyse durch PLA₂ auch andere DMPC enthaltende Vesikel.^[36]

Polymerisierte Mischvesikel sind gegenüber chemischem und physikalischem Abbau sehr stabil und damit eine bequeme und ökonomische Alternative zu Enzymassays mit radiomarkierten Substraten. Die hier beschriebenen Vesikel-Stammlösungen wurden länger als sechs Monate aufbewahrt, ohne daß die Ergebnisse der Assays beeinflusst wurden. Der kolorimetrische Nachweis einer Grenzflächenkatalyse gelang auch bei anderen Enzymen, wie Phospholipase C (PLC) und Phospholipase D (PLD), unter Verwendung von substratmodifizierten PDA-Vesikeln.^[29] Dies legt nahe, daß die hier beschriebene Methode allgemein anwendbar ist. Beide Enzyme spalten an der hydrophilen Kopfgruppe (Phosphatester) von DMPC. Die Bedeutung des beschriebenen Systems liegt darin, daß es sowohl die natürliche Membrangrenzfläche nachahmt als auch eine visuell erfassbare Komponente (das konjugierte Polymer) für eine schnelle Biokatalyse-Detektion liefert.

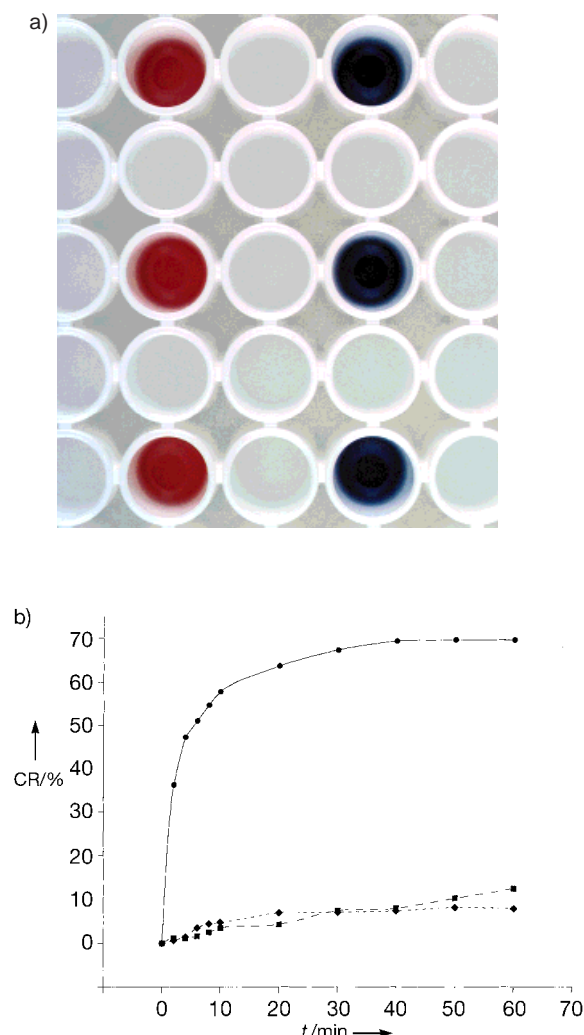


Abbildung 4. Inhibition der Farbänderung durch einen bekannten PLA₂-Inhibitor. a) Eine Mikrotiterplatte mit PLA₂/Vesikel-Suspensionen mit (blau) und ohne MJ33 (rot) (Vesikel: DMPC/PDA 2/3); b) Farbänderung von DMPC/PDA-Vesikeln bei aktivem (●, max. Fehler 1.9%) und gehemmtem Enzym (■ MJ33, max. Fehler 6.9%; ♦ ZnCl₂, max. Fehler 6.5%). Für Einzelheiten siehe *Experimentelles*.

Das einfache, einstufige Nachweisverfahren für die Enzymkatalyse und -hemmung läßt sich leicht für das schnelle Screening einer großen Zahl potentieller Katalyse-Inhibitoren modifizieren. Außerdem kann es angewendet werden, um lebensbedrohende Neurotoxine mit enzymähnlicher Aktivität (z. B. β -Bungarotoxin) aufzuspüren. Die nächsten Arbeiten werden sich der Untersuchung von Faktoren, die die Enzymerkennung und -aktivität beeinflussen, Parametern, die für die Umordnung der Membran aus konjugiertem Polymer eine Rolle spielen, und der Anpassung des kolorimetrischen Verfahrens an andere Enzymsysteme widmen.

Experimentelles

Abbildung 2a: Die polymerisierten Vesikel aus DMPC/PDA 2/3 (1 mm Gesamtlipidkonzentration) wurden in einer Standardküvette mit 50 mm Tris-Puffer (pH 7.0) auf ein Volumen von 0.5 mL verdünnt. Zur Spektrenaufnahme diente ein Hewlett-Packard-Spektrophotometer 9153C. Bienen-gift-Phospholipase A₂ (Sigma) wurde in einem Puffer aus 10 mm Tris, 150 mm NaCl und 5 mm CaCl₂ (pH 8.9) gelöst (Konzentration 1.4 mg mL⁻¹). 60 min nach der Zugabe von 50 μ L dieser Lösung zur Küvette wurde das Spektrum aufgenommen.

Abbildung 2b: 5 μ L der PLA₂-Lösung wurden zu 50 μ L der DMPC/DPA-Vesikelsuspension (0.1 mm Gesamtlipidkonzentration) gegeben. Die Experimente wurden in einer Standard-Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen mit einem kinetischen UV_{max}-Mikrotiterplatten-Leser (Molecular Devices) durchgeführt. Die zeitliche Änderung der Absorptionen bei 620 und 490 nm wurde als kolorimetrische Antwort (CR) gegen die Zeit aufgetragen, um so die Farbantwortkurven zu erhalten. CR ist hier definiert als die Änderung (in Prozent) der Absorption bei 620 nm relativ zur Summe aller Absorptionsmaxima.^[6]

Abbildung 2c: 5 μ L DTPC/PDA-Vesikel (2/3), verdünnt mit 45 μ L 50 mm Tris (pH 7.0), und 5 μ L 6 mm DTNB wurden mit 10 μ L PLA₂-Lösung inkubiert, und die zeitliche Änderung der Absorption bei 412 nm wurde verfolgt.

Abbildung 4b: Der Inhibitor MJ33 wurde zu 5 μ L nichtpolymerisierten DMPC/PDA(2/3)-Vesikeln (0.015 Mol-% in der Substratgrenzschicht) in 40 μ L 50 mm Tris (pH 7.0) und 5 μ L einer Lösung aus 50 mm Tris, 150 mm NaCl und 5 mm CaCl₂ (pH 8.9) gegeben. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur 20 min inkubiert, polymerisiert und anschließend ihre Absorptionen bei 490 und 620 nm gemessen. Danach wurden 5 μ L PLA₂-Lösung zugegeben und die kolorimetrische Antwort wie oben beschrieben bestimmt. Zur Untersuchung der Inhibierung durch Zn²⁺ wurde PLA₂ in 10 mm Tris, 150 mm NaCl und 0.1 mm ZnCl₂ bei pH 8.9 gelöst.

Eingegangen am 14. Juli 1998 [Z12143]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 655–659

Stichwörter: Biosensoren • Enzymkatalyse • Enzyminhibitoren • Konjugation • Vesikel

- [1] I. Levesque, M. Leclerc, *Chem. Mater.* **1996**, 8, 2843–2849.
- [2] C. Galiotis, R. J. Young, D. N. Batchelder, *J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed.* **1983**, 21, 2483–2494.
- [3] M. J. Marsella, R. J. Newland, P. J. Carroll, T. M. Swager, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 9842–9848.
- [4] H. Tanaka, M. A. Gomez, A. E. Tonelli, M. Thakur, *Macromolecules* **1989**, 22, 1208–1215.
- [5] D. Charych, Q. Cheng, A. Reichert, G. Kuziemko, M. Stroh, J. O. Nagy, W. Spevak, R. C. Stevens, *Chem. Biol.* **1996**, 3, 113–120.
- [6] A. Reichert, J. O. Nagy, W. Spevak, D. Charych, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 829–830.
- [7] D. H. Charych, J. O. Nagy, W. Spevak, M. D. Bednarski, *Science* **1993**, 261, 585–588.
- [8] J. Pan, D. Charych, *Langmuir* **1997**, 13, 1365–1367.
- [9] Q. Cheng, R. C. Stevens, *Chem. Phys. Lipids* **1997**, 87, 41–53.

- [10] Q. Cheng, R. C. Stevens, *Adv. Mater.* **1997**, 9, 481–483.
- [11] K. Faid, M. Leclerc, *Chem. Commun.* **1996**, 24, 2761–2762.
- [12] R. M. Kini, *Venom Phospholipase A₂ Enzymes*, Wiley, Chichester, **1997**.
- [13] M. Waite, *The Phospholipases*, Plenum Press, New York, **1987**.
- [14] J. S. Bomalaski, M. A. Clark, *Arthritis Rheum.* **1993**, 36, 190–198.
- [15] F. Ramirez, M. K. Jain, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1991**, 9, 229–239.
- [16] E. A. Dennis, P. Y. K. Wong, *Phospholipase A₂: Role and Function in Inflammation*, Plenum, New York, **1990**.
- [17] M. H. Gelb, M. K. Jain, O. G. Berg, *FASEB J.* **1994**, 8, 916–924.
- [18] H.-K. Lin, M. H. Gelb, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3932–3942.
- [19] C. Ehnholm, T. Kuusi, *Methods Enzymol.* **1986**, 129, 716–738.
- [20] T. Bayburt, B.-Z. Yu, I. Street, F. Ghomashchi, F. Laliberte, H. Perrier, Z. Wang, R. Homan, M. K. Jain, M. H. Gelb, *Anal. Biochem.* **1995**, 232, 7–23.
- [21] L. J. Reynolds, L. L. Hughes, E. A. Dennis, *Anal. Biochem.* **1992**, 204, 190–197.
- [22] D. W. Grainger, A. Reichert, H. Ringsdorf, C. Salesse, D. E. Davies, J. B. Lloyd, *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, 1022, 146–153.
- [23] S.-K. Wu, W. Cho, *Anal. Biochem.* **1994**, 221, 152–159.
- [24] R. Dua, S.-K. Wu, W. Cho, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 263–268.
- [25] V. M. Mirsky, C. Krause, K. D. Heckmann, *Thin Solid Films* **1996**, 284, 939–941.
- [26] G. Wegner, *J. Polym. Sci. Part B* **1971**, 9, 133–144.
- [27] H. Ringsdorf, B. Schlarb, J. Venzmer, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 117–162; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 113–158.
- [28] I. C. P. Smith, I. H. Ekiel, *Phosphorous-31 NMR. Principles and Applications*, Academic Press, Orlando, **1984**.
- [29] R. Jelinek, S. Y. Okada, S. Norvez, D. Charych, *Chem. Biol.* **1998**, 5, 619–629.
- [30] M. K. Jain, W. Tao, J. Rogers, C. Arenson, H. Eibl, B.-Z. Yu, *Biochemistry* **1991**, 30, 10256–10268.
- [31] M. Jain, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [32] M. F. Rubner, D. J. Sandman, C. Velazquez, *Macromolecules* **1987**, 20, 1296–1300.
- [33] M. Wenzel, G. H. Atkinson, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 6123–6127.
- [34] Y. Tomioka, N. Tanaka, S. Imazeki, *J. Chem. Phys.* **1989**, 91, 5694–5700.
- [35] Y. Tomioka, N. Tanaka, S. Imazeki, *Thin Solid Films* **1989**, 179, 27–31.
- [36] H. Kitano, N. Kato, N. Ise, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 6809–6813.

Ein Germanat mit offener Gerüststruktur und Polycuban-artiger Topologie**

Hailian Li, Mohamed Eddaoudi und Omar M. Yaghi*

Betrachtet man die Eigenschaft von Germanaten, ausgedehnte Strukturen mit GeO₄-Tetraedern, trigonalen GeO₅-Bipyramiden und GeO₆-Oktaedern zu bilden, sowie ihre Tendenz, einen kleineren minimalen M-O-M-Winkel (M = Ge) aufzuweisen als Feststoffe auf Silicatbasis, so kann man annehmen, daß eine große Zahl von Verbindungen mit der Topologie offener Gerüststrukturen zugänglich sein sollte.^[1–3] Trotzdem wurde bisher jedoch nur über wenige poröse

[*] Prof. O. M. Yaghi, H. Li, M. Eddaoudi
Supramolecular Design and Discovery Group
Department of Chemistry and Biochemistry
Arizona State University
Tempe, AZ 85287–1604 (USA)
Fax: (+1) 602-965-2747
E-mail: oyaghi@asu.edu

[**] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation gefördert (CHE-9702131). Wir danken Prof. M. O’Keeffe für wertvolle Diskussionen.