



FUNDACION BBV

**BIOMEMBRANAS Y NUEVOS BIOMATERIALES:  
CIENCIA E INVENCION  
BIOMEMBRANES AND NEW BIOMATERIALS:  
SCIENCE AND INVENTION**

**D. Chapman, FRS**

Departamento de Biología Molecular & Proteínas  
Royal Free Hospital School of Medicine  
Rowland Hill Street, London NW3 2PF

Marzo 1993

**CATEDRA**



**BIOMEMBRANAS Y NUEVOS BIOMATERIALES:  
CIENCIA E INVENCION  
BIOMEMBRANES AND NEW BIOMATERIALS:  
SCIENCE AND INVENTION**

D. Chapman, FRS

Departamento de Biología Molecular & Proteínas  
Royal Free Hospital School of Medicine  
Rowland Hill Street, London NW3 2PF

Marzo 1993



## DENNIS CHAPMAN

Nacido en 1927, es profesor de Biofísica Química de la "Royal Free Hospital School of Medicine", de la Universidad de Londres, habiendo pertenecido también a las Universidades de Cambridge y Sheffield y como profesor visitante, a las de California, Pennsylvania, Newfoundland (Canadá) y Bolonia, siempre en los departamentos de Biofísica, Fisiología y Bioquímica.

En 1986 creó una empresa de Biotecnología, la "Biocompatibles Ltd." Ha presidido y formó parte de numerosos Comités de Investigación en distintas Universidades y ha participado como miembro de Tribunal en la concesión de títulos y premios.

Su labor divulgativa se cifra en la publicación de 12 libros y alrededor de 320 documentos científicos centrados en el estudio físico-químico de biomembranas y liposomas de una serie de sistemas biológicos.

El "US Citation Index", publicación que analiza la labor de los autores científicos más importantes, coloca al Profesor Chapman a la cabeza de una relación de los 300 científicos más citados en el período 1965-1978.

La Cátedra Fundación BBV tiene como objetivo básico la difusión y el fomento de la investigación en España, con la íntima aspiración de sensibilizar a la opinión pública, mediante la incorporación periódica de personalidades científicas internacionales, la estancia de destacados profesores españoles en centros extranjeros y el desarrollo de un programa anual de Lecciones Magistrales.

La colección de Conferencias de la Cátedra Fundación BBV pretende presentar, ante una amplia audiencia, aportaciones científicas originales y proporcionar a la sociedad en su conjunto, material de reflexión extraído de los resultados de investigación punta.



# BIOMEMBRANAS Y NUEVOS BIOMATERIALES: CIENCIA E INVENCION

D. Chapman, FRS

Sr. Rector, profesor Aguirre, señoras y señores, buenas tardes. En primer lugar, quiero agradecer a la Fundación Banco Bilbao Vizcaya el darme la oportunidad de estar con Uds. esta tarde. También quiero dar las gracias a la Universidad del País Vasco, Euskal Herriko Unibertsitatea. He disfrutado de mi visita al Departamento de Bioquímica y estoy particularmente impresionado por el arduo empeño de los jóvenes científicos que trabajan en dicho laboratorio.

Esta tarde me gustaría mostrarles cómo Ciencia e Invención discurren conjuntamente, en unas ocasiones siendo la ciencia básica quien ayuda a la invención, y en otras un invento quien facilita el desarrollo de la ciencia básica.

En nuestro departamento en Londres llevamos a cabo tanto estudios básicos como aplicados. Creemos que esto es de gran utilidad y que cada tipo de estudio enriquece y estimula al otro. De esta forma nos aseguramos de que nuestro trabajo tecnológico esté fundado en sólidos conocimientos básicos. En esta conferencia presentaré alguno de nuestros recientes estudios básicos sobre la estructura de las biomembranas. Posteriormente mostraré cómo nuestros estudios técnicos, que parten de la mimetización de la estructura de estas biomembranas, nos han llevado a la producción de nuevos biomateriales.

## Estudios básicos

Nuestros estudios *básicos* se refieren a la estructura de las biomembranas (ver figura 1, que muestra un diagrama de la estructura de una biomembrana). Nuestros primeros estudios sobre las transiciones de fase de los lípidos, los estudios con monocapas y la influencia del colesterol, nos permitieron desarrollar el concepto de fluidez en las biomembranas (1). En la figura 2 mostramos la estructura de algunas moléculas de fosfolípidos presentes en biomembranas. Nuestro trabajo con fosfolípidos puso de relieve la naturaleza dinámica de las membranas.

Esto contrastaba con otras visiones estáticas postuladas con anterioridad, como las obtenidas con los estudios de microscopía electrónica. Últimamente estamos interesados en el estudio de proteínas de membrana. La información de la estructura secundaria de dichas proteínas la obtenemos por diversos métodos espectroscópicos, como dicroísmo circular, y principalmente por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). (Las proteínas de membrana presentan dificultades para su estudio, debido a que necesitan de un entorno hidrofóbico, y son muy difíciles de cristalizar.) Nuestros estudios más recientes se han centrado en varias proteínas de membrana, como, por ejemplo, las proteínas del fago filamentoso Pfl, las proteínas del canal ióni-

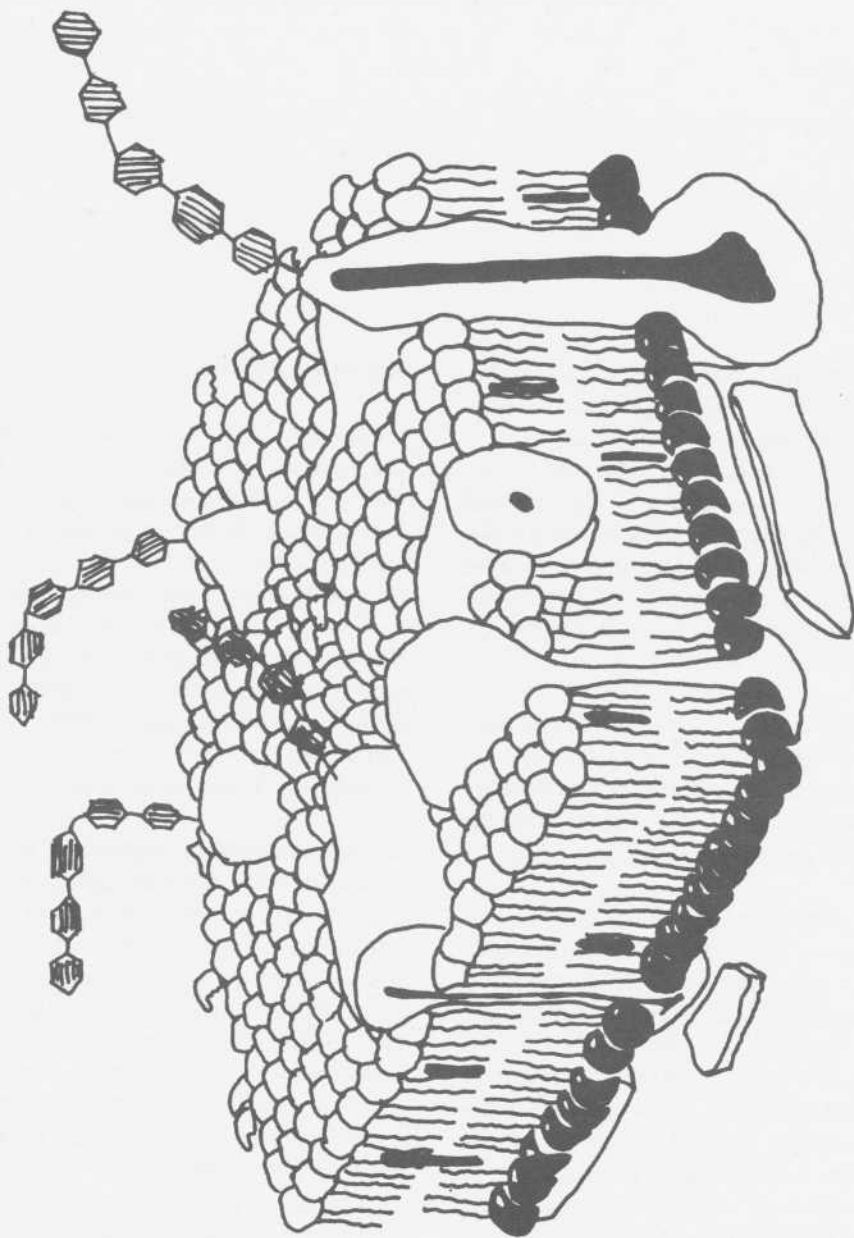
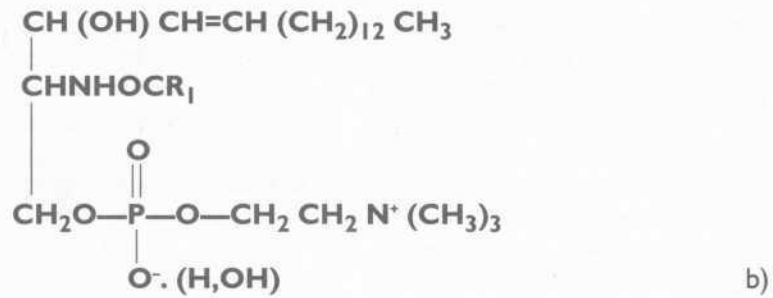
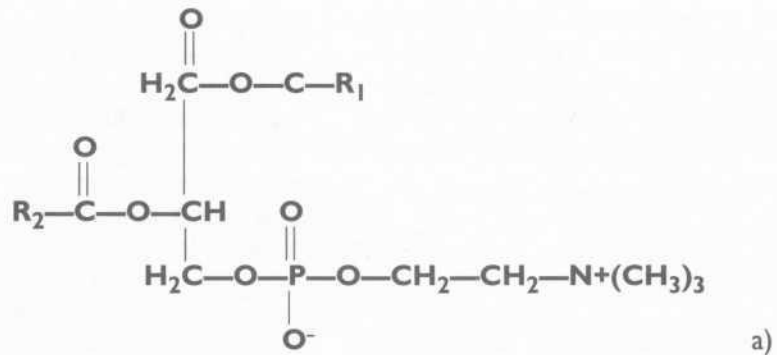


Fig. 1. Dibujo esquemático de una membrana biológica. Se muestra la matriz de la bicapa lipídica, con las proteínas y carbohidratos asociados.





$(\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{ácidos grasos de cadena larga})$

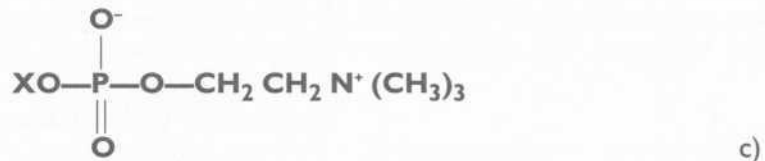


Fig. 2. Estructura de las moléculas lipídicas más comunes:

- a) Fosfatidil colina (lecitina).
- b) Esfigomielina.
- c) El grupo polar fosforilcolina.

co de  $K^+$  y las proteínas del transporte de glucosa. Hemos desarrollado y puesto a punto métodos para obtener información tanto cualitativa como cuantitativa de dichas proteínas de membrana, mediante el análisis de las bandas amida I y amida II de sus respectivos espectros de infrarrojo (2).

## Estudios tecnológicos

Nuestros estudios *tecnológicos*, basados en nuestro conocimiento de la estructura de las membranas, están relacionados con el desarrollo de nuevos biomateriales y, en particular, de materiales hemocompatibles. La aplicación clínica de dispositivos o materiales que están en contacto con la sangre es de vital importancia en la medicina moderna. Las reacciones adversas entre superficies prostéticas o extrañas y los componentes de la sangre son los factores preeminentes que restringen el uso de ciertos biomateriales. Ejemplos típicos son: la incapacidad para utilizar en la sangre biosensores que actúen adecuadamente durante largos períodos de tiempo, y la necesidad de usar anticoagulantes durante los procesos extracorporales, tales como la diálisis y las operaciones de *bypass* de corazón y pulmón. En 1863, Lister apuntó que “la causa real de la coagulación de la sangre cuando ésta es extraída del cuerpo, es la influencia ejercida por materiales ordinarios, el contacto con los cuales induce la coagulación”.

Se han realizado múltiples intentos para esclarecer las razones por las que ciertos materiales provocan la coagulación de la sangre, lo que ha dado origen a diversas sugerencias sobre cómo solucionar el problema. Andrade (3) ha comentado: “prácticamente todas las características físicas y químicas de los materiales han sido consideradas de suma importancia en la coagulación sanguínea y la trombosis”.

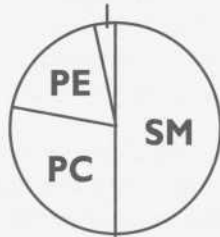
Durante las últimas décadas, se ha dedicado un gran esfuerzo científico y mucho dinero al desarrollo de materiales que no produjeran la formación de trombos cuando entraran en contacto con la sangre, pero debido a la complejidad e interdependencia de muchos de los parámetros que gobiernan la activación plaquetaria y la coagulación, se han descrito de forma satisfactoria muy pocos, si acaso alguno, materiales tromboresistentes.

Algunos investigadores han sugerido que la clave para la producción de materiales biocompatibles es la presencia de una superficie cargada de forma *negativa*. Otros han indicado la necesidad de una adecuada *energía libre interfacial*, o la utilidad de *superficies hidrofóbicas*, o lo adecuado de una *superficie cubierta de albúmina* para solucionar el problema (4). También se ha propuesto la preadsorción de sustancias antitrombos, tales como la heparina (un anticoagulante) o su inclusión en una matriz de copolímeros (5).

*Nuestra original aproximación al tema.* Nuestra aproximación a este problema consiste en mimetizar la superficie lipídica externa de los glóbulos rojos y de las plaquetas (6). Sabemos que la matriz lipídica de los eritrocitos y de las plaquetas presentan asimetría —esto es, la monocapa interna contiene lípidos que pueden provocar la coagulación si se encuentran en contacto con la sangre, mientras que los lípidos que constituyen la monocapa externa no la inducen (ver figura 3)—. Los lípidos mayoritarios de la monocapa externa son (7) la lecitina (PC) y la esfingomielina (SM) (90%). Estos dos lípidos poseen el mismo grupo polar, el grupo fosforilcolina. En nuestros primeros experimentos cubríamos plásticos con uno de estos lípidos, la lecitina. Posteriormente introdujimos grupos diacetilénicos en las cadenas lipídicas, de forma que tras irradiarlos con luz ultravioleta o con irradiación  $\gamma$ , los fosfolípidos polimerizaban. En ciertos casos utilizábamos balanzas de Langmuir-Blodgett para cubrir las superficies plásticas (8) y en otros,

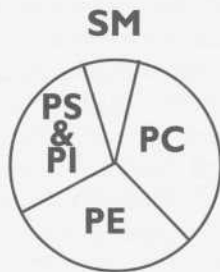
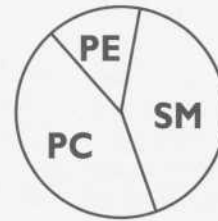
### Membrana de plaqueta

PS & PI



Monocapa externa

### Membrana de eritrocito



Monocapa interna

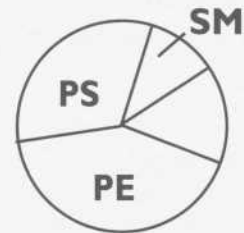


Fig. 3. Representación esquemática de la distribución asimétrica de los principales fosfolípidos en las membranas plasmáticas de plaquetas y eritrocitos humanos. (PC-fosfatidil colina, SM-esfingomielina, PE-fosfatidil etanolamina, PS-fosfatidil serina, PI-fosfatidil inositol).

las introducíamos en la disolución adecuada. Los estudios sobre las características de la coagulación sanguínea inducida por dichas superficies cubiertas mostraron excelentes resultados sobre la activación plaquetaria, activación de la adhesión del complemento a plaquetas, etc. (9).

Más recientemente hemos demostrado que no toda la estructura de la fosfatidilcolina es esencial para la biocompatibilidad, sino que sólo el grupo fosforilcolina es necesario. Los grupos de fosforilcolina se han pegado de diferentes formas a una gran variedad de superficies, lo que ha producido una considerable mejora en su biocompatibilidad. Por ejemplo, se han sintetizado películas de polímeros cubiertas con fosforilcolina, para tapizar superficies hidrofóbicas tales como PVC, polietileno, polipropileno (10), etc. Esos polímeros, basados en la química del metacrilato, tienen pesos moleculares elevados, por lo que debido a sus múltiples sitios de unión, forman cubiertas muy estables. Asimismo, se ha utilizado una amplia variedad de modificaciones de superficie, como la descarga plasmática y diversos procedimientos químicos, para transformar superficies.

También se han sintetizado derivados de fosforilcolina funcionalmente activos, bien como cabezas individuales funcionalmente activas (11) o como polímeros derivados del metacrilato. Dichas moléculas se han unido químicamente a diversas superficies hidrofílicas. Por diferentes modificaciones en superficie se han introducido grupos funcionales donde no se encontraban presentes. Así, se han introducido grupos ácidos en acero inoxidable para las subsiguientes reacciones con derivados de aminofosforilcolina.

Se han fabricado nuevos materiales, bien introduciendo derivados de fosforilcolina como plastificadores en polímeros del tipo de PVC y poliuretano (12), o bien por copolimerización de monómeros de fosforilcolina en el esqueleto de polímeros de poliuretanos y poliésteres (13, 14).

Los tratamientos con fosforilcolina están siendo aplicados de forma satisfactoria a un amplio rango de biomateriales. Instrumentos médicos como catéteres intravasculares, catéteres de drenaje, biosensores, circuitos extracorpóreos, kits de diagnóstico clínico y membranas de filtración han sido tratados con gran éxito. El análisis de varios de esos tratamientos con fosforilcolina ha demostrado que no son citotóxicos. Los resultados preliminares obtenidos recientemente en tests clínicos sobre humanos y animales han corroborado las observaciones *in vitro*. Por esta razón, diferentes instrumentos de uso en medicina están siendo sometidos a la tecnología de la fosforilcolina.

Seguimos haciéndonos preguntas sobre nuestra nueva técnica. ¿Por qué el grupo fosforilcolina es tan efectivo para producir superficies hemocompatibles? ¿Se debe a su estructura de zwitter-ion, es decir, a la presencia de una carga positiva y otra negativa en el grupo polar, o es la gran cantidad de agua fuertemente unida a ese grupo polar la responsable? Hemos demostrado que el grupo fosforilcolina no se une realmente a las proteínas de la sangre, ni siquiera a otras proteínas como puede ser la lisozima. Esto nos ha llevado a otras aplicaciones técnicas (Biocompatibles Ltd.) como ha sido el sintetizar nuevos polímeros de hidrogel, que pueden ser utilizados para fabricar lentes de contacto. Dichas lentes no presentan deposición de proteínas y no se resecan fuera del ojo.

Continuamos con nuestros estudios básicos y aplicados. Seguiremos explorando problemas básicos relacionados con la interacción de las células con superficies, y continuaremos nuestros estudios sobre aplicaciones de la mimetización de las biomembranas. Creemos que una combinación de ciencia básica con invención puede producir nuevas y muy útiles aplicaciones.

PREGUNTA: ¿Puede hacer algún comentario sobre la interacción de lípidos y proteínas?

RESPUESTA: Sí. Hace quince años se sugirió que todas las proteínas integrales de membranas no existían en la bicapa lipídica como proteínas separadas, sino que se presentaban como complejos proteína-lípido en los que el lípido permanecía unido a la proteína con un tiempo de vida de 1/5 de segundo y que se movía como un complejo de larga vida en el entorno lipídico. Dicha hipótesis fue apoyada principalmente por científicos de Cambridge. Esta visión confundió a muchos bioquímicos y además es incorrecta. En general, las moléculas fosfolipídicas no forman complejos de larga vida. Estudios con  $^2\text{H-NMR}$  muestran que no hay dos tipos de lípidos como lípidos libres y lípidos inmovilizados.

#### **Prof. Ciriaco Aguirre:**

Agradecemos todos al profesor Chapman por la exposición que nos ha hecho sobre los lípidos y sus aplicaciones, la aplicación tecnológica de su conocimiento en cuanto a su estructuración en las membranas biológicas, y hemos terminado este acto. Parece que ya no hay lugar para más preguntas al profesor Chapman, que tiene tanto que contarnos. Agradezco de nuevo a la Fundación Banco Bilbao Vizcaya, y a la Cátedra Bilbao Vizcaya por esta oportunidad. Gracias también a la Universidad del País Vasco y, en fin, muchas gracias a todos por su presencia. Buenas tardes.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. CHAPMAN, D. (1968): En *Biomembranes* vol. 1, Academic Press, London.
2. LEE, D.C., HARIS, P. I., CHAPMAN, D. y MITCHELL, R. C. (1990): *Biochemistry* 29, 9185-9193.
3. ANDRADE, J. D. y HLADY, V. (1986): *Adv. Polym. Sci.* 79, 1.
4. ANDRADE, J. D. (1985): En *Surface and interfacial properties of biomedical polymers* vol. 1, Plenum Press, Nueva York.
5. BOFFA, M. C. y colaboradores (1979): *Tromb. Haemostas*, 41, 346.
6. HAYWARD, J. A. y CHAPMAN, D. (1984): *Biomaterials* 5, 135.
7. ZWAAL, R. F. A. y BEAVERS, E. M. (1983): En *Haemostasis Subcellular Biochemistry* (Roodyn, D. B., ed.) Plenum Press, Nueva York, pág. 299.
8. ALBRECHT, O., JOHNSTON, D. S., VILLAVARDE, C. y CHAPMAN, D. (1982): *Biochem. Biophys. Acta* 687, 165-169.
9. BIRD, R., HALL, B., CHAPMAN, D. y HOBBS, K. E. F. (1988): *Thrombosis Research* 51, 471-483.
10. CHAPMAN, D. y CHARLES, S. A. (1992): *Chemistry in Britain*, 28.
11. CHAPMAN, D. y DURRANI, A. A. (1984): *European patent*, 157469.
12. VALENCIA, G. P. (1985): *European patent* 247114.
13. CHAPMAN, D. y VALENCIA, G. P. (1984): *European patent*, 199790.
14. DURRANI, A. A. (1986): *European patent*, 275293.



# BIOMEMBRANES AND NEW BIOMATERIALS: SCIENCE AND INVENTION

D. Chapman, FRS

Sr. Rector, Professor Aguirre, ladies and gentlemen, good evening. First I wish to thank the Fundación Banco Bilbao Vizcaya for making it possible for me to be with you this evening. I also thank the Universidad del País Vasco, Euskal Herriko Unibertsitatea. I have already enjoyed visiting the Department of Biochemistry. I am particularly impressed already with the hard working determination of the young scientists who are in this laboratory.

What I would like to do this evening is to show how science and invention essentially go together, sometimes the basic science helping the invention, sometimes an invention helping the development of basic science.

In our Department in London we have both basic and applied studies in progress. We believe that this is useful and that each type of study enriches and stimulates the other. In this way we also ensure that our technological work is based upon sound basic information. In this lecture I will cover some of our recent *basic* studies of Biomembrane structures. I will next show how our *technological* studies arise from the mimicry of these biomembrane structures leading to the production of new biomaterials.

## Basic Studies

Our *basic* studies are concerned with Biomembrane Structures (see Fig. 1 showing a schematic diagram of a biomembrane structure). Our first studies were of lipid phase transitions, monolayer studies, the influence of cholesterol leading to the development of the concept of the fluidity of biomembranes (1). In Fig. 2 we show the structure of some phospholipid molecules present in biomembranes. Our work on phospholipids emphasized the dynamic nature of biomembranes. This was in contrast with the earlier static picture of biomembranes as represented by electron microscope studies. Our recent basic studies are now concerned with membrane proteins. We are obtaining information on membrane protein secondary structure using various spectroscopic methods including CD, and in particular, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). (Membrane proteins are difficult to study because the proteins need to be retained in a hydrophobic environment and they are very difficult to crystallize.) Our recent studies are concerned with various membrane proteins e. g. filamentous phage Pfl proteins, K<sup>+</sup> ion-channel proteins and glucose transport proteins. We have developed methods to obtain qualitative

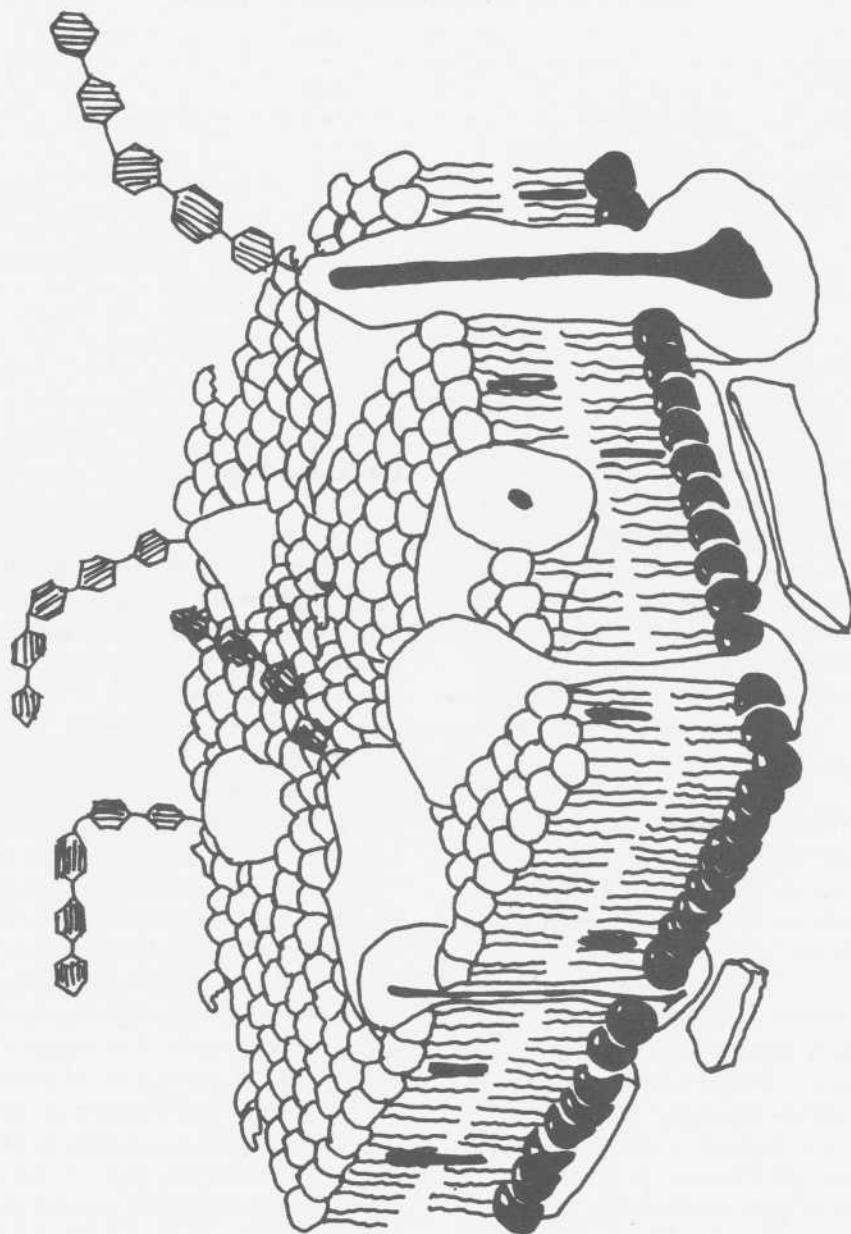
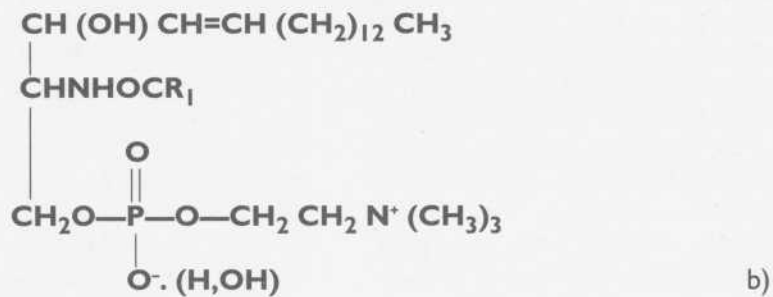
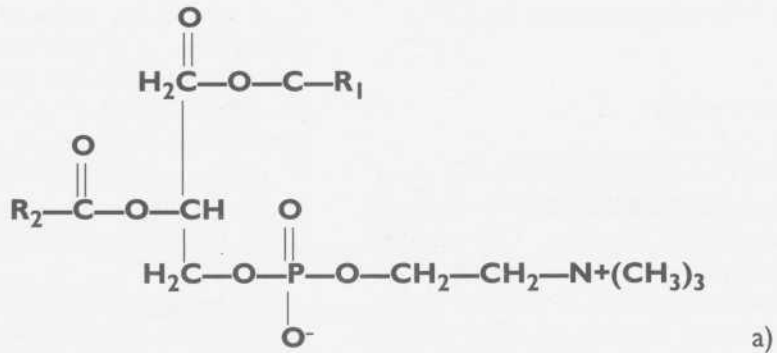


Fig. 1. A schematic diagram of a biological membrane showing the lipid bilayer matrix with associated proteins and carbohydrates.





(R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> = long-chained fatty acids)

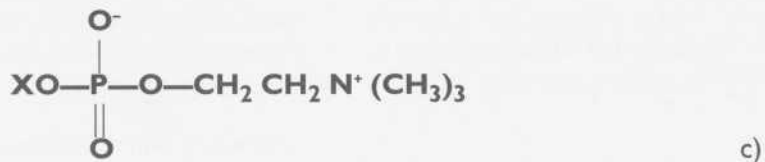


Fig. 2. The structures of common lipid molecules:  
 a) a phosphatidylcholine (lecithin)  
 b) sphingomyelin  
 c) the phosphorylcholine polar group.

and quantitative information on these biomembrane proteins using the amide I and amide II bands present in their infrared spectra (2).

## Technological Studies

Our *technological* studies concern the development of new biomaterials and in particular new haemocompatible materials. This is based upon our knowledge of biomembrane structures. The clinical application of devices or materials which contact blood is of major importance in modern medicine. Adverse reactions between foreign or prosthetic surfaces and blood components are the pre-eminent factors restricting the use of certain biomaterials. Typical examples of this are the inability to have biosensors to operate effectively for any length of time in blood and the need for anticoagulants to be used during extracorporeal procedures such as dialysis and heart-lung bypass operations. Lister pointed out in 1863, "the real cause of the coagulation of blood when shed from the body is the influence exerted on it by ordinary matter, the contact of which effects a disposition to coagulate".

There have been many attempts to understand why certain materials cause blood coagulation and many suggestions have been made as to how to overcome the problem. Andrade (3) has commented, "virtually every physical and chemical characteristic of materials has been suggested as being important in blood coagulation and thrombosis".

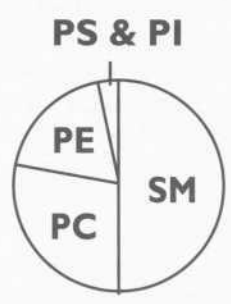
Over the past few decades, much research effort and capital has been directed towards developing materials that do not cause thrombus formation when exposed to blood. Because of the complexity and interdependence of the many parameters which govern platelet activation and coagulation, few, if any, satisfactory thromboresistant materials have been reported.

Some researchers suggested that the key to producing haemocompatible materials was to have a *negatively* charged surface. Others suggested that an appropriate *interfacial free energy* was necessary, or that *hydrophobic surface* would be useful, or that an *albumin coated surface* would solve the problem (4). The preabsorption of antithrombotic moieties, such as heparin (an anticoagulant) or their inclusion in a copolymer lattice has also been proposed (5).

*Our new approach.* Our new approach to this problem is to mimic the outer lipid surface of the red blood cells and platelet cells (6). We know that the lipid matrix of red blood cells and platelet cells have lipid class asymmetry—the inner lipid surface contain lipids which on contact with blood can cause blood coagulation to occur, whilst the outer surface contain lipid classes (see Fig. 3) which do not. The lipids of the outer surface are mainly (7) lecithin (PC) and sphingomyelin (SM) (90%). These two lipids possess the same polar group, a phosphorylcholine group. In our first experiments we coated plastics with one of these lipids (lecithin). We next introduced diacetylene groups into the lipids chains so that upon irradiation with u.v. light or  $\gamma$ -irradiation phospholipid polymers would be formed. In some cases we used Langmuir-Blodgett devices for coating the plastic surfaces (8) and in other cases used a solution dip-coating method. Studies of blood coagulation characteristics with these coated surfaces showed excellent results including examination of platelet activation, platelet adhesion complement activation, etc. (9).

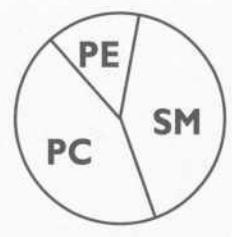
In more recent developments we have shown that the total phospholipid structure of phosphatidylcholine is not essential for biocompatibility, but rather it is the phosphorylcholine headgroup which is important. We have attached phosphoryl-choline headgroups in a number of different ways to a variety of surfaces and considerable improvement in haemocompatibility is observed. For example, film physisorbable

### Platelet membrane



Outside

### Erythrocyte membrane



Inside

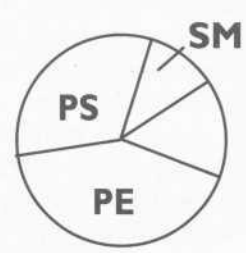
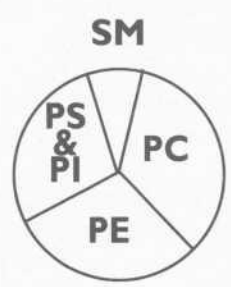


Fig. 3. A schematic representation of the asymmetry in the distribution of the major phospholipids in the plasma membranes of human platelets and erythrocytes (PC-phosphatidylcholine, SM-sphingomyelin, PE-phosphatidylethanolamine, PS-phosphatidylserine, PI-phosphatidylinositol).

phosphorylcholine containing polymers have been synthesized for coating hydrophobic surfaces such as PVC, polyethylene, polypropylene (10), etc. These polymers, based on methacrylate chemistry, have high molecular weights and therefore form very stable coatings owing to their multipoint attachment. In addition, a variety of surface modifications have been used, such as plasma discharge and chemical procedures, to make hydrophilic surfaces hydrophobic. Materials such as celluloses and stainless steel have been successfully coated.

In addition, functionally active phosphorylcholine derivatives have been synthesised, either as individual functionally active headgroups (11) or as methacrylate based polymers, and these molecules have been chemically attached to a variety of hydrophilic surfaces. Various surface modifications have been made to introduce partner functional groups where these groups are not already present e.g. introducing acid groups into stainless steel for the subsequent reaction of aminophosphorylcholine derivatives.

Other new materials have been made either by introducing phosphorylcholine derivatives as plasticisers into polymers such as PVC and polyurethane (12) or by copolymerising phosphorylcholine monomers into the polymer backbone of polyurethanes and polyesters (13,14).

Phosphorylcholine treatments have now been successfully applied to a wide range of biomaterials. Medical devices, such as intravascular catheters, drainage catheters, indwelling biosensors, extracorporeal circuits, clinical diagnostic kits and filtration membranes have been treated successfully. A variety of phosphorylcholine treatments have been tested and shown to be noncytotoxic. Recently, these *in vitro* observations have been substantiated by results from early animal and human clinical tests. Phosphorylcholine technology has now become established in a wide range of medical devices.

We are continuing to ask basic fundamental questions about our new technology. Why is the phosphorylcholine group so effective at producing haemocompatible surfaces? Is it due to its zwitter-ion structure i.e. the presence of a positive and negative charge in the polar group, or the large amount of water which is tenaciously held by this polar group. We have shown that the phosphorylcholine group does not readily bind blood proteins or even proteins such as lysozyme. This has led us to a further technological application (Biocompatibles Ltd.) i.e. to synthesize new hydrogel polymers which can be used to construct contact lenses. These lenses show no protein deposition and no drying out of the lens.

We are continuing our basic and technological studies. We will be exploring basic problems relating to how cells interact with surfaces as well as studying other applications of biomembrane mimicry. We believe that a combination of basic science with invention can produce many new and useful applications.

**QUESTION:** Would you say a few words on the interaction of lipid and protein?

**ANSWER:** Yes. It was suggested some fifteen years ago that all integral proteins in the lipid bilayer do not exist as separate proteins but exist as protein-lipid complexes that the lipid remains attached to the protein with a lifetime one fifth of a second and moves as a long-lived complex in the bulk lipid. The idea to some extent, was encouraged by scientists particularly in Cambridge. The view confused many biochemists and it is incorrect. In general the phospholipid molecules do not form long-lived complexes. Deuterium nmr studies show that there are not two types of lipid i.e. free and immobilised lipid.

**Prof. Ciriaco Aguirre:**

We would all like to thank Professor Chapman for his presentation on lipids and their applica-

tions and for the technical application of his knowledge to the structure of biological membranes. It seems that there is no time left to ask Professor Chapman further questions, although he has much to tell us. I would like to thank once again the BBV Foundation and the Cátedra Bilbao Vizcaya for this opportunity. I would also like to thank the University of the Basque Country and finally to offer a big thanks to all those present. Good afternoon.

## BIBLIOGRAFIA

1. CHAPMAN, D. (1968): In *Biomembranes* Vol. I, Academic Press, London.
2. LEE, D.C. , HARIS, P. I. , CHAPMAN, D. and MITCHELL, R. C. (1990): *Biochemistry* 29, 9185-9193
3. ANDRADE, J. D. and HLADY V. (1986): *Adv. Polym. Sci.* 79, 1.
4. ANDRADE, J. D. (1985): *Surface and interfacial properties of biomedical polymers* Vol. 1, Plenum Press, New York.
5. BOFFA, M. C. et al. (1979): *Tromb. Haemostas* 41, 346.
6. HAYWARD, J. A. and CHAPMAN, D. (1984): *Bio-materials* 5, 135.
7. ZWAAL, R. F. A. and BEAVERS, E. M. (1983): In *Haemostasis Subcellular Biochemistry* (Rodyn, D. B., ed.) Plenum Press, New York, p. 299.
8. ALBRECHT, O., JOHNSTON, D. S. , VILLAYERDE, C. and CHAPMAN, D. (1982): *Biochem. Biophys. Acta* 687, 165-169.
9. BIRD, R., HALL, B., CHAPMAN, D. and HOBBS, K. E. F. (1988): *Thrombosis Research* 51, 471-483.
10. CHAPMAN, D. and CHARLES, S. A. (1992): *Chemistry in Britain* 28. N.º 3.
11. CHAPMAN, D. and DURRANI, A. A. (1984): *European patent* 157469.
12. VALENCIA G. P. (1985): *European patent* 247114.
13. CHAPMAN, D. and VALENCIA, G. P. (1984): *European patent* 199790.
14. DURRANI, A. A. (1986): *European patent* 275293.







**FUNDACION BBV**

Gran Vía, 12 - 48001 BILBAO  
Alcalá, 16 - 28014 MADRID