

# Synthese, biophysikalische und computer- gestützte Untersuchungen von amphiphilen Zuckerkonjugaten zur Erforschung der Glycokalyx



**Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Jörn Schmidt-Lassen**

aus Kiel

Kiel 2013



1. Gutachter: Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst
2. Gutachter: Prof. Dr. Frank D. Sönnichsen

Tag der mündlichen Prüfung: 07.10.2013

Zum Druck genehmigt: 07.10.2013

gez. Prof. Dr. Wolfgang J. Duschl, Dekan



Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von  
Frau Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst  
am Otto Diels-Institut für Organische Chemie  
der Christian-Albrechts-  
Universität zu Kiel  
im Zeitraum von Oktober 2008 bis Juli 2013 angefertigt.

Teile dieser Arbeit wurden publiziert:

A. Schierholt, H. A. Shaikh, J. Schmidt-Lassen, T. K. Lindhorst, *“Utilizing Staudinger Ligation for the Synthesis of Glycoamino Acid Building Blocks and Other Glycomimetics”*, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3783-3789.

C. Grabosch, M. Hartmann, J. Schmidt-Lassen, T. K. Lindhorst, *“Squaric acid monoamide mannosides as ligands for the bacterial lectin FimH: covalent inhibition or not?”* *ChemBioChem* **2011**, *12*, 1066-1074.



## Kurzfassung

Die molekulare Funktion der Glycokalyx wird durch Wechselwirkungen von Glycokonjugaten untereinander bestimmt, die für die Initialisierung von biologischen Funktionskaskaden vieler biologischer Prozesse mit verantwortlich sind. Diese komplexen und teils amphiphilen Saccharidstrukturen zeichnen sich durch ihre sehr hohe Kohlenhydratdiversität, konformationelle Flexibilität und besondere molekulare Dynamik aus, wonach sich ein komplexes Szenario molekularer Interaktionen innerhalb der Glycokalyx ergibt. Zur näheren Aufklärung der supramolekularen Zusammenhänge unter Berücksichtigung der wässrigen Umgebung kommen vereinfachte Modellsysteme zum Einsatz, wie die sogenannten Glycomimetika und die darin enthaltenen Glycomizellen. Da sowohl Mizellen als auch die Glycokalyx ein dynamisches Verhalten auszeichnet, kommt den Glycomizellen als Modellsystem eine besondere Attraktivität zu.

Die vorliegende Dissertation befasst sich daher mit der experimentellen und theoretischen Untersuchung der Selbstaggregation amphiphiler Glycokonjugate in wässriger Umgebung.

Im ersten Teil der Arbeit wurden amphiphile Glycosylamide und amphiphile *O*-Glycoside der *manno*-, *gluco*- und *galacto*-Reihe synthetisiert, wobei einerseits 1,2-*trans*- und andererseits 1,2-*cis*-verknüpfte Octylglycoside unter Anwendung verschiedener Methoden erhalten wurden.

Anschließend wurden im zweiten Teil biophysikalischen Messmethoden eingesetzt, um die Selbstaggregation dieser amphiphilen Glycoside zu untersuchen. Unter Verwendung von Isothermer Titrationskalorimetrie (ITC) konnten physikochemischen Eigenschaften der Mizellbildung von reinen und gemischten Glycomizellen bestimmt werden. Die Bedeutung sowohl der anomeren Konfiguration als auch der Zuckerkonfiguration auf den Mizellbildungsprozess wurden dezidiert und verglichen. Darüber hinaus wurden jeweils spektroskopische NMR-Diffusionsmessungen mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -Mannosid-Mizellen durchgeführt und so die über ITC erhaltenen Ergebnisse verifiziert.

Im dritten Teil dieser Arbeit wurden mannosidische Mizellsysteme durch klassische Moleküldynamik-Simulationen in wässriger Umgebung vorgenommen. Im Fokus stand hier der Einfluss der anomeren Konfiguration auf die Mizellstruktur. Anhand der Simulationen wurden mit Hilfe von verschiedenen Verfahren vor allem die Solvatisierungseigenschaften der Monomere als Ursache der unterschiedlichen Aggregationseigenschaften der beiden anomeren Mannoside identifiziert.

Insgesamt wurden detaillierte Zusammenhänge zwischen der Struktur amphiphiler Glycokonjugate und ihrer Selbstaggregation zu Glycomizellen gewonnen und verstanden.



## Abstract

The molecular function of the glycocalyx is determined by inter- and intramolecular interactions of glycoconjugates which are often responsible for the initiation of a cascade of biological events. These highly complex and partly amphiphilic saccharide structures are characterised by their high structural diversity, their special conformational flexibility and molecular dynamics adding up to a rather complex scenario of molecular interactions within the glycocalyx. For the investigation of the supramolecular chemistry of the glycocalyx various glycomimetics are used such as multivalent glycoconjugates or glycomicelles, respectively. In both - glycomicelles and the glycocalyx - dynamic processes play an important role. In consequence investigation of glycomicelles is a way for understanding some dynamic interactions occurring on the cell surface.

Therefore this thesis deals with experimental and theoretical studies of the self-assembly of amphiphilic glycoconjugates in aqueous solution.

In the first part the synthesis of a series of amphiphilic glycosyl amides and amphiphilic *O*-glycosides is explained. Here 1,2-*trans*-linked as well as 1,2-*cis*-linked octyl glycosides were synthesised following various strategies. In the second part biophysical methods - namely ITC and diffusion NMR - were used to investigate the self-assembly properties of the prepared amphiphilic glycosides. By ITC physicochemical properties of micelle formation of pure and mixed glycomicelles were determined. The impact of the anomeric linkage as well as of the glycone part on micelle formation was analysed. Additionally diffusion NMR experiments of the  $\alpha$ - and  $\beta$ -anomeric mannoside micelles were explored. These experiments verified and extended the results obtained by ITC.

In the third part of the thesis mannosidic micelle systems were studied in classic molecular dynamics (MD) simulations in aqueous solution. Here the investigation was focused on the influence of the glycosidic linkage regarding the micelle structure on the atomic level. Based on these simulations which were analysed by different methods the solvation properties of the amphiphilic glycosides were determined as main reason for the different self-assembly behaviour of mannosidic micelles.

In summary relationships between the structure of amphiphilic glycosides and their self-aggregation properties could be described and glycomicelle formation was understood in detail.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Glycokalyx und Zellkommunikation .....	1
1.1.2	Glykokonjugate der Glycokalyx.....	3
1.2	Lektine, Multivalenz und multivalente Glycomimetika .....	5
1.3	Selbstaggregation von Glycomizellen .....	10
1.4	Bioinformatik und Molecular Modelling in der Glycobiologie.....	13
<b>2</b>	<b>Zielsetzung und konzeptioneller Aufbau</b> .....	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b> .....	<b>18</b>
3.1	Amphiphile Glycosylamide .....	18
3.1.1	Synthese der Glycosylamide .....	20
3.1.2	Versuche zur ITC-Messung amphiphiler Glycosylamide.....	23
3.1.3	Versuche zur bakteriellen Adhäsion Typ-1-fimbriierter Bakterien von Glycolipiden auf Polystroloberflächen.....	25
3.1.4	Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel .....	30
3.2	Amphiphile Glucoside und Galactoside .....	32
3.2.1	Synthesekonzepte für Glykokonjugate unterschiedlicher anomerer Konfiguration .....	34
3.2.2	Synthese von Alkyl-1,2- <i>trans</i> -Glycosiden .....	36
3.2.3	Synthese von sterisch gehinderten Alkyl-1,2- <i>cis</i> -Glycosiden .....	37
3.2.4	Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel .....	42
3.3	Amphiphile Mannoside .....	44
3.3.1	Synthese der Octyl-1,2- <i>trans</i> -Mannoside und -1,2- <i>cis</i> -Mannoside.....	45
3.3.2	Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel .....	50
3.4	Biophysikalische Untersuchung der Selbstaggregation von amphiphilen Glycosiden in reinen und gemischten Mizellen .....	52

3.4.1	ITC-Messungen reiner Glycomizellen .....	52
3.4.2	ITC-Messungen gemischter Glycomizellen.....	62
3.4.3	NMR-Diffusionsexperimente von Octylmannosid-Mizellen.....	65
3.4.4	Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel.....	70
3.5	Moleküldynamik-Simulationen von Octylmannosid-Mizellen in Wasser.....	72
3.5.1	Aufbau von Startkonformationen und Simulationsprotokoll von Mannosid-Mizellen .....	73
3.5.2	Stabilität, Größe und Form der Mannosid-Mizellen.....	75
3.5.3	Kohlenhydrat-Wasser-Wechselwirkungen .....	79
3.5.4	Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel.....	87
3.6	Docking von Quadratsäure-Mannosiden als Liganden für das bakterielle Lektin FimH .....	88
3.6.1	Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel.....	97
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>99</b>
<b>5</b>	<b>Experimenteller Teil.....</b>	<b>104</b>
5.1	Allgemeine Arbeitsmethoden .....	104
5.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften .....	107
5.3	Einzelvorschriften .....	109
5.4	Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC) .....	150
5.5	Diffusions-NMR-Experimente .....	152
5.6	Moleküldynamik-Simulationen.....	153
5.6.1	Erstellung der Mizell-Startstrukturen .....	153
5.6.2	Simulationsprotokoll.....	153
5.6.3	Auswertung der Moleküldynamik-Simulationen.....	154
5.7	Flexibles Docking mit FlexX .....	155
5.8	Biologische Tests .....	156
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>157</b>

---

<b>7</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>169</b>
7.1	ITC-Messungen reiner und gemischter Glycomizellen .....	169
7.1.1	ITC-Messkurven reiner Glycomizellen .....	169
7.1.2	ITC-Messkurven gemischter Glycomizellen .....	172
7.2	Anhang zu den Moleküldynamik-Simulationen .....	176
7.2.1	Startkoordinaten und Input-Dateien zur Erstellung der Mizellstartstrukturen .....	177
7.2.2	Input-Dateien und Skripte für die MD-Simulationen.....	180
7.3	Docking-Ergebnisse von FlexX.....	184
7.4	Inhalt der beiliegenden CD.....	199
	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>200</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung .....</b>	<b>202</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>203</b>
	<b>Curriculum Vitae .....</b>	<b>204</b>



# 1 Einleitung

Natürliche wie unnatürliche Strukturen können sich selbstständig organisieren: Aus dem Chaos entsteht Ordnung. Für die spontane Selbstorganisation geordneter Strukturen in offenen Systemen - mit hinreichend intensiver Beeinflussung durch ihre Umgebung - führte HAKEN den Begriff „Synergetik“ ein.<sup>[1,2]</sup> Die Synergetik beschreibt das Zusammenspiel von Teilchen oder Gruppen, die untereinander interagieren können, innerhalb eines dynamischen und komplexen Systems. Dieses Prinzip kann auf alle Bereiche der Wissenschaft, sei es in den Natur- oder in den Geisteswissenschaften angewandt werden.<sup>[2]</sup>

Beispielsweise ist bei der Bildung von Seifenblasen ein synergetischer Effekt zu beobachten, der in diesem Fall auf amphiphilen Molekülen beruht, die mit Wasser auf spezielle Weise interagieren. Der Begriff „Amphiphil“ leitet sich von den griechischen Wörtern für „beide“ (amphis) und „liebend“ (philia) ab. Ein amphiphiles Molekül ist somit aus zwei Teilen aufgebaut. Ein Molekülteil, die „Kopfgruppe“, hat hydrophilen Charakter, der andere Teil weist hydrophoben Charakter auf und ist häufig aus unpolaren Kohlenwasserstoffketten aufgebaut. Amphiphile organisieren sich in spezieller Form, wobei einerseits die hydrophilen Kopfgruppen mit sich selbst und dem umgebenen Wasser interagieren, andererseits üben die hydrophoben Lipidteile attraktive Kräfte aufeinander aus und treten miteinander in Wechselwirkung. Das Wasser wird bei der Bildung von Seifenblasen durch sogenannte Doppelschichten von Amphiphilen eingeschlossen, sodass ein sichtbarer Wasserfilm als Begrenzung der Seifenblase entsteht.

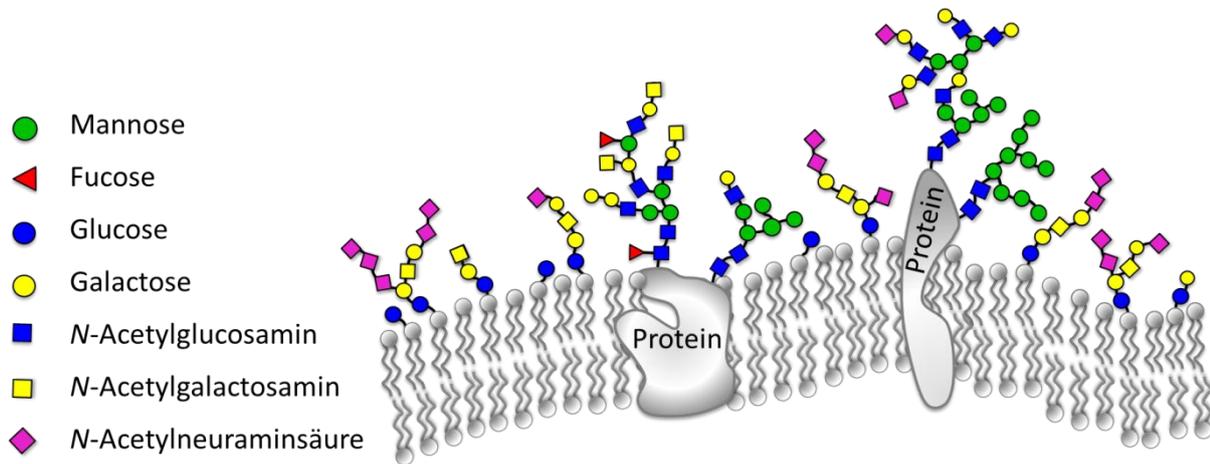
## 1.1 Glycokalyx und Zellkommunikation

In der Natur haben amphiphile Moleküle in Zellen große Bedeutung, wo sie am Aufbau von der Lipiddoppelschicht von Zellmembranen beteiligt sind, die das Zellinnere vom extrazellulären Raum abgrenzen. Membranen sind die prominentesten selbstangeordneten Strukturen, sowohl in der Pflanzen- als auch der Tierwelt. Sie sind für nahezu alle Prozesse der zellulären Aktivität grundlegend, angefangen bei einfachen mechanischen Funktionen wie etwa dem Transport von Stoffen durch die Zellmembran bis hin zu hoch spezifischen biochemischen Prozessen wie etwa der immunologischen Erkennung und Weiterleitung von Reizen und Signalen.<sup>[3]</sup>

## 1 Einleitung

---

Eukaryontische Zellen sind von einer besonderen Plasmamembran umgeben, welche aus einer Phospholipiddoppelschicht aufgebaut ist, die eine Schichtdicke von ca. 3 bis 5 nm hat.<sup>[4,5]</sup>



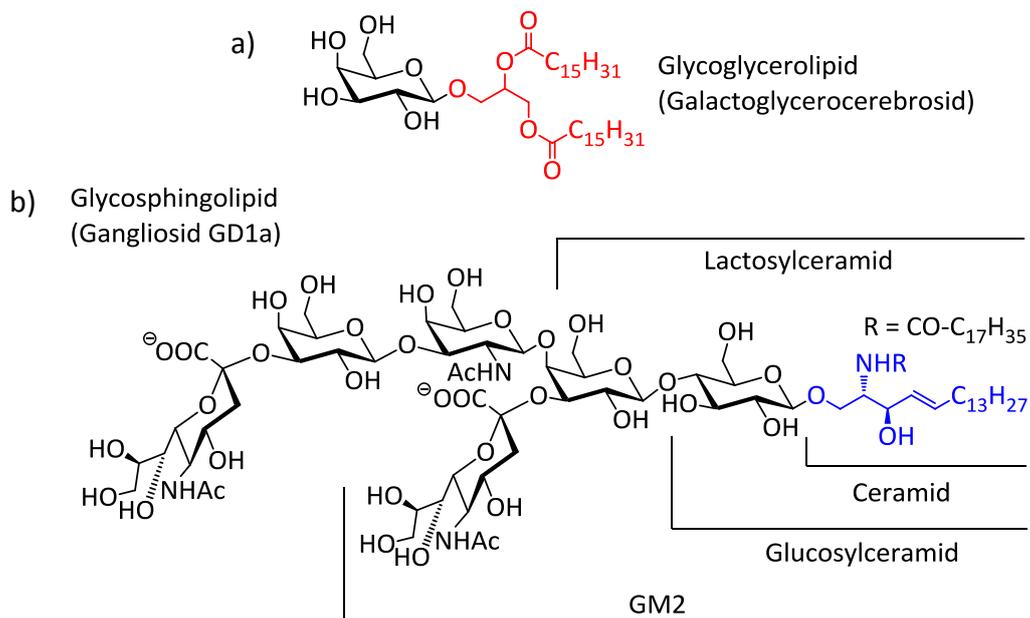
**Abbildung 1:** Vereinfachte schematische Darstellung der Zellmembran mit Glycokalix auf der Außenseite; Glycolipide sind über ihren Lipidteil in der Phospholipiddoppelschicht verankert. Glycoproteine sind über ihren Proteinbestandteil in der Doppelschicht gebunden. Die unterschiedlichen Monosaccharide der Glycokalix sind nach der Nomenklatur der CFG (Consortium of Functional Glycomics)<sup>[6]</sup> benannt.<sup>[7]</sup>

Auf der extrazellulären Seite dieser Lipiddoppelschicht befindet sich eine ca. 100 nm dicke Schicht aus komplexen Oligosaccharidstrukturen, die als Glycokalix (griechisch: „glycos“ = Zucker; „kalyx“ = Mantel) bezeichnet wird.<sup>[8,9]</sup> Details ihres Aufbaus und ihrer Struktur sind vom Zelltyp und Zellalter abhängig. Die Zusammensetzung der Glycokalix ist darüber hinaus ein Indiz für den physiologischen Charakter der Zelle.<sup>[10]</sup>

Im Gegensatz zu den anderen wichtigen Biomakromolekülen, den Proteinen und Nucleinsäuren, sind die biologisch wichtigen Oligosaccharidstrukturen häufig stark verzweigt, was eine besondere strukturelle Diversität zur Folge hat, die weit über die Vielfalt der Protein- und Nucleinsäure-Molekülwelt hinaus geht.<sup>[11]</sup> Außerdem lässt sich aufgrund der Mikroheterogenität kein einheitliches Muster von Glycosylierungen der Glycokalix eines bestimmten Zelltyps feststellen bzw. isolieren, was die Erforschung von Kohlenhydrat abhängigen Struktur-Wirkungs-Beziehungen an der Zelloberfläche erschwert. Es gibt jedoch typische Glykokonjugat-Strukturelemente, die in allen eukaryontischen Zellen wiederzufinden sind. Hierzu zählen spezielle Glycosylierungsmuster von Glycoproteinen und Glycolipiden.

## 1.1.2 Glykokonjugate der Glykokalyx

Glykokonjugate in Form von Glycolipiden und Glycoproteinen sind äußerst wichtige Moleküle für zahlreiche biologische Schlüsselprozesse.<sup>[12]</sup> Glycolipide sind Teil von Membranstrukturen und spielen eine wichtige Rolle bei der Biosynthese von Glycoproteinen, als biologische Marker und sind Liganden für Toxine, Lektine, Antikörper, Bakterien und Viren.<sup>[13,14]</sup> Glycolipide sind teils komplexe Lipidstrukturen, wobei ihr Aufbau zwei prinzipiellen Architekturen folgt, die in Abbildung 2 dargestellt sind. Entscheidend ist hierbei das lipophile Aglycon. Die sogenannten Glycoglycerolipide enthalten eine 1,2-di-O-acetylierte Glycerineinheit (Abbildung 2a), während Glycosphingolipide glycosylierte *N*-Acetylsphingosine sind.<sup>[15,16]</sup> Glycosphingolipide können komplexere Strukturen sein, wie das Gangliosid GD1a (Abbildung 2b), das hauptsächlich in neuronalen Plasmamembranen vorkommt.<sup>[17]</sup> Neben den glycosylierten Lipiden kommen auch weitere strukturgebende Lipidstrukturen in Form von Cholesterin in der Zellmembran vor.<sup>[18]</sup>

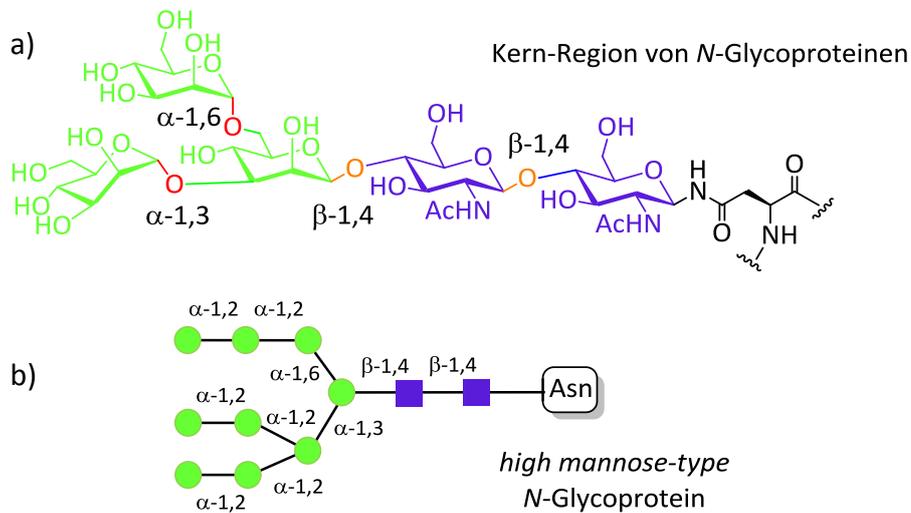


**Abbildung 2:** a) Glycoglycerolipide sind abgeleitet von *O*-glycosylierten Glycerindiestern (rot); b) Glycosphingolipide enthalten das *N*-Acetylsphingosin als lipophile Einheit (blau); Die Namensgebung des Glycolipids wird anhand der verschiedenen Sacchariduntereinheiten vorgenommen.<sup>[15]</sup>

In Glycoproteinen sind Zucker *O*- oder *N*-glycosidisch an Peptide oder ein Protein gebunden und in oder an der Zellmembran lokalisiert.<sup>[18,19]</sup> In natürlich vorkommenden *N*-Glycoproteinen sind die Zucker immer über eine *N*-glycosidische Bindung an die

## 1 Einleitung

Seitenkette einer Asparagineinheit gebunden. Allen *N*-Glycoproteinen ist eine pentasaccharidische „Kern-Region“<sup>[20]</sup> gemein (Abbildung 3a, grün und blau).



**Abbildung 3:** Schematische Darstellung von *N*-Glycanen: a) Die „Kern-Region“ der *N*-Glycoproteine bestehend aus zwei *N*-Acetylglucosamin-Molekülen und drei *D*-Mannoseeinheiten; b) Darstellung einer *high-mannose*-Struktur anhand der CFG-Nomenklatur.<sup>[21]</sup>

Bei der glycosidischen Verknüpfung der Zucker untereinander wird zwischen  $\alpha$ - und  $\beta$ -glycosidischen Bindung unterschieden, wie im Fall des  $\beta$ -1,4-glycosidisch verknüpften Mannosids (Abbildung 3a, orange), das als Verzweigungspunkt von *N*-Glycanen dient, oder im Fall der daran  $\alpha$ -1,6- bzw.  $\alpha$ -1,3-glycosidisch gebundenen Mannoside (Abbildung 3a, rot). An die Kernregion der *N*-Glycane sind weitere Monosaccharide geknüpft, was zu Glycoproteinen vom *high mannose*-, *complex mannose*- und *hybrid*-Type führt.<sup>[11,21]</sup> Ein Beispiel eines *high mannose*-Typ-Glycoproteins ist in Abbildung 3b dargestellt.

Neben *N*-Glycoproteinen sind auch *O*-Glycane (*mucins*) bekannt,<sup>[22]</sup> in denen Zucker über *N*-Acetylgalactosamin (GalNAc) an eine Hydroxylfunktion entweder von Serin oder Threonin *O*-glycosidisch gebunden sind. Als weitere Klasse von Glycokonjugaten sind GPI-Anker zu nennen, die über eine mehrfach mannosylierte Inositoleinheit verfügen und über einen Phosphorsäureester an Alkylketten gebunden sind. Eine phosphatidylierte Ethanolaminfunktion verknüpft die terminale Mannose mit einem Protein.

Die Glycokonjugate der Glycokalix wie die Lipide der Zellmembran sind nicht starr angeordnet, sondern besitzen eine Dynamik, die innerhalb der Zellmembran zu einer lateralen Beweglichkeit führt. So legt ein einzelnes Lipidmolekül etwa 2  $\mu$ m pro Sekunde

---

zurück, was vergleichbar mit dem Durchmesser eines Bakteriums ist.<sup>[4]</sup> Ein Modell von SIMONS,<sup>[23]</sup> bei dem Mikrodomänen der einzelnen Zellmembranbestandteile gebildet wurden, versucht diese Dynamik zu veranschaulichen. Es können sich Domänen in Form von selbstorganisierten Strukturen in der Zellmembran bilden, die sogenannten *Lipid-Rafts*, die durch dynamische Zusammenlagerung von Membranmolekülen entstehen, um wichtige biologische Prozesse zu initialisieren bzw. möglich zu machen. Durch die Bildung von *Lipid-Rafts* kann z. B. der Wirkungsort und Zeitpunkt von Signalübermittlungen bestimmt werden.<sup>[24]</sup> Fehlfunktionen können in diesem Zusammenhang pathogene Auswirkungen und sogar Krebs zur Folge haben.<sup>[25]</sup>

Krankheitserreger nutzen *Lipid-Rafts*, um sich an Zellen anzulagern. Beispielsweise können bestimmte Toxine, die die Ursache von Cholera sind, sich an Gangliosid GM1-*Rafts* anheften, dann in die Zelle aufgenommen werden und diese infizieren.<sup>[26]</sup>

Schon dieses Beispiel macht deutlich, wie wichtig die Erforschung der Dynamik in der glycosylierten Zellmembran im Zusammenhang mit den Mechanismen der Erkennungsprozesse auf der Zelloberfläche ist.

## 1.2 Lektine, Multivalenz und multivalente Glycomimetika

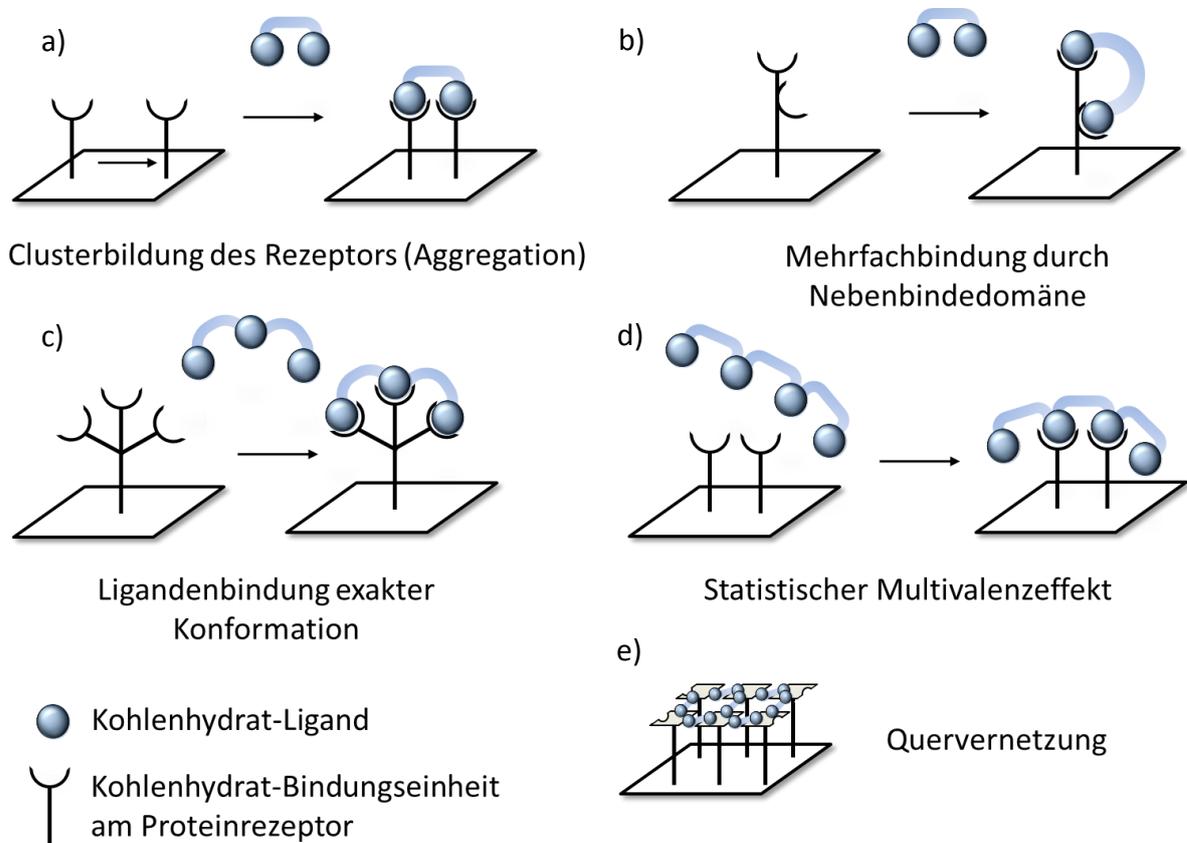
Die natürlichen Glycokonjugatstrukturen der Glycokalyx werden von spezifischen Proteinen erkannt und gebunden, sodass in der Folge verschiedene Prozesse innerhalb des Organismus ablaufen.<sup>[27,28]</sup> So interagieren neben den im extrazellulären Raum vorkommenden Enzymen, Antikörpern und Immunoglobulinen auch Lektine auf spezifische Weise mit den Kohlenhydraten der Glycokalyx.<sup>[29]</sup> Lektine gehören zu einer hochdiversen Familie von Proteinen, die in verschiedenen Organismen (Viren, Pflanzen, Tieren) vorkommen und deren gemeinsame Eigenschaft die reversible Wechselwirkung mit Mono- oder Oligosacchariden ist, wovon sich der Name Lektin (latein: „legere“ = auswählen) ableitet, wobei weder eine katalytische Aktivität noch eine Immunantwort Folgen der Interaktion sind.<sup>[30]</sup> Ihre recht hohe Spezifität wird besonders deutlich durch die Tatsache, dass Lektine Konfigurationen von Kohlenhydraten und ihre funktionellen Gruppen unterscheiden können. So wird z. B. von dem Lektin WGA (*wheat germ agglutinin*) das Monosaccharid *N*-Acetylglucosamin (GlcNAc) gebunden, mit dem C-4-Epimer *N*-Acetylgalactosamin (GalNAc) hingegen wurden keine Interaktionen beobachtet.<sup>[31]</sup> Lektine wurden früher auf spezifische Weise nach dem betreffenden Monosaccharid, welches vom jeweiligen Protein erkannt wird, klassifiziert.<sup>[30]</sup>

Heutzutage erfolgt die Einteilung entsprechend struktureller Homologien und der dreidimensionalen Bindungsdomänen der Proteine.<sup>[32]</sup> Beispielsweise binden C-Typ-Lektine in Anwesenheit von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen nur Kohlenhydrat-Liganden in Form eines Ion-Ligand-Rezeptor-Komplexes, wohingegen bei L-Typ-Lektinen auch eine  $\text{Ca}^{2+}$ -vermittelte Bindung anderer Liganden zu beobachten ist. Strukturell unterscheidet sich der L-Typ vom C-Typ durch eine andere Proteinfaltung.<sup>[33]</sup>

Nachteilig bei der Betrachtung von Kohlenhydrat vermittelten Erkennungsprozessen von Lektinen ist die geringe Stärke der Bindung, die sich im Fall von Monosacchariden im millimolaren bis hoch micromolaren Bereich befindet. Im Gegensatz hierzu werden hochglycosylierte Saccharide immerhin mit einer 1000-fach höheren Affinität gebunden.<sup>[29]</sup> Dieses ergibt sich dadurch, dass es sich nur um reversible nichtkovalente Bindungen handelt, wobei Wasserstoffbrückenbindungen und andere sekundäre Wechselwirkungen beteiligt sind. Sowohl das Lektin als auch das zu erkennende Oligosaccharid können multivalente Eigenschaften aufweisen. Die Stärke der Bindung nimmt bei der Exposition multivalenter Bindungspartner häufig nicht linear zu sondern folgt einem exponentiellen Verlauf. Die Beschreibung dieses Multivalenzeffektes, der erstmals von Y. C. LEE bei Bindungsstudien von Glycoclustern an Leberlektinen erkannt wurde, wird folglich als „*Glycocluster-Effekt*“ bezeichnet.<sup>[34]</sup> Somit können viele schwach affinen Bindungsereignisse zu einer starken Gesamtbindungsstärke führen, wobei in diesem Zusammenhang von Avidität gesprochen wird. In biologischen Systemen ist dieser Multivalenzeffekt besonders wichtig, da auf diese Weise viele wichtige Erkennungsprozesse reguliert werden können, z. B. bei der Dynamik der Adhäsion von Lektinen an die Glycokalyx.

Modelle zur Veranschaulichung des Multivalenzeffektes zwischen Rezeptor und Liganden sind vielfältig.<sup>[35–37]</sup> In Abbildung 4 ist eine Auswahl verschiedener Interaktionsmechanismen dargestellt. Hierbei sind neben intermolekularen Interaktionen zwischen Ligand und Rezeptor auch intramolekulare Prozesse beteiligt. Die Aggregation von kohlenhydrat-bindenden Proteinen durch einen bivalenten Liganden erfordert einen translatorischen Entropiebeitrag  $\Delta S$  der Proteine (Abbildung 4a), wohingegen bei der Bindung an einer Nebenstelle (Abbildung 4b) dieser von dem Liganden aufgebracht werden muss. Bei der Anlagerung exakt passender multivalenter Liganden wird durch den Chelat-Effekt eine erhöhte Bindungsstärke zu den Bindungseinheiten des Proteins beobachtet als im Falle einer einfachen Interaktion (Abbildung 4c). Durch das Anbieten von multivalenten Liganden kann

aber auch die statistische Wahrscheinlichkeit zur reversiblen Bindung erhöht werden und so die schwache Affinität einzelner Bindungsereignisse ausgeglichen werden (Abbildung 4d).

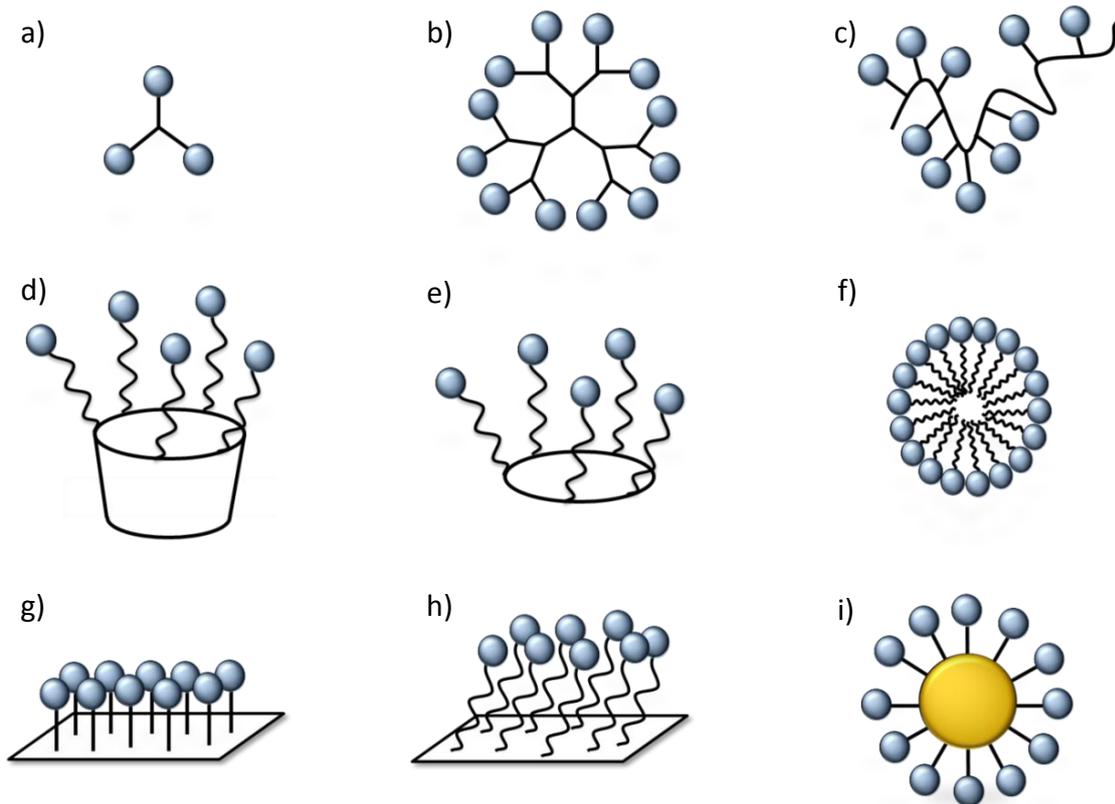


**Abbildung 4:** Auswahl verschiedener Interaktionsmechanismen und Bindungseffekte zwischen multivalenten Kohlenhydrat-Liganden und kohlenhydratbindenden Proteinen.<sup>[38]</sup>

Durch Quervernetzung mit Hilfe von multivalenten Glycokonjugaten (Abbildung 4e) können auch biologische Prozesskaskaden, z. B. Lektin vermittelte Signalübertragung, ausgelöst werden. Die Aggregation von geordneten Domänen an der Oberfläche der Zelle zur Signaltransduktion ist somit im weitesten Sinne supramolekularen Ursprungs.<sup>[39]</sup>

Der Untersuchung der Wechselwirkungsprozesse zwischen natürlichen Glycokonjugaten untereinander und deren molekulare Erkennung durch z. B. Lektine kommt innerhalb der Glycobiologie eine große Bedeutung zu. Allerdings können die komplexen Oligosaccharidstrukturen der Glycokalix nur schwierig isoliert und aufgereinigt werden. Zusätzlich sind vielfältige zelluläre Eigenschaften (s. o.) zu beachten ebenso wie die Tatsache, dass die Oligosaccharidsynthese Resultat sekundärer Genkontrolle ist. Glycosyltransferasen katalysieren jeden einzelnen Glycosylierungsschritt, wobei selten exakte Duplikate der

Glykokonjugate hergestellt werden. In diesem Zusammenhang wird von Mikroheterogenität der Glycokalix gesprochen.<sup>[37]</sup> Um Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Glykokonjugatbestandteilen zu analysieren, benötigt man genau definierte Kohlenhydratstrukturen in ausreichender Menge und hoher Reinheit. Diese sind durch gezielte chemische Synthesen realisierbar.



**Abbildung 5:** Darstellung unterschiedlicher multivalenter Glycomimetika: a) Glycocluster; b) Glycodendrimer; c) Glycopolymer; d) Glycoccalixarene oder -cyclodextrine; e) cyclische Glycocluster; f) Glycomizellen; g) Glyco-SAMs; h) Glycoarrays; i) Glyconanopartikel (nach der Literatur abgewandelte Grafik).<sup>[37,38]</sup>

Von diesen synthetischen Glycostrukturen, die als vereinfachte Varianten natürlicher Kohlenhydratkonjugate, sogenannte Glycomimetika, bezeichnet werden, ist eine Vielzahl verschiedener Beispiele literaturbekannt.<sup>[40]</sup> Sie weisen je nach späterem Anwendungsfeld und konzeptioneller Fragestellung verschiedene Architekturen auf. Es werden hierbei die biologisch relevanten Saccharidstrukturen und Strukturmerkmale häufig mit einem artifiziellen Verzweigungsgerüst verknüpft, welches durch einfachere Syntheseschritte unter Verwendung standardisierter Methoden besser zugänglich ist als eine aufwändige

---

Oligosaccharidsynthese. Als Gerüste eignen sich u. a. Proteine, Polymere, Calixarene, Dendrimere, Cyclodextrine, Cyclopeptide, Fullerene und Nanopartikel.<sup>[41-43]</sup> Diese werden mit den Kohlenhydratstrukturen kovalent verknüpft. Multivalente Glycomimetika können allerdings auch durch nicht kovalente Wechselwirkungen aufgebaut werden: Werden biologische Anwendungen auf Oberflächen angestrebt, werden sogenannte Glyco-SAMs (*self assembled monolayer*)<sup>[44,45]</sup> und Glycoarrays,<sup>[46,47]</sup> die teils kovalent an die Oberfläche gebunden werden können, vielfach eingesetzt.<sup>[48,49]</sup> Hierbei werden häufig spezielle oberflächenanalytische Methoden (IRRAS, SPR, AFM, etc.) relevant, die notwendig sind, um das dargestellte System zu charakterisieren.

Ein supramolekulares Ordnungsprinzip, welches vollständig auf Selbstaggregation amphiphiler Glycostrukturen beruht, stellen die Glycomizellen dar.<sup>[13,50-52]</sup> Diese sind ein supramolekularer Verband aus einzelnen Glycolipiden, die je nach eingesetzten Monomeren verschiedene Anwendungen haben. Glycomizellen haben den großen Vorteil gegenüber großen glycomimetischen Strukturen (Cluster, Dendrimere), dass die Monomere in wenigen Syntheseschritten gezielt synthetisiert werden können und sich diese in wässrigen Lösungsmitteln zu Aggregaten mit hoher Kohlenhydratdichte zusammenlagern (vgl. Einleitung 1.3). Eine teils aufwändige Verknüpfungsschemie zu größeren Verzweigungseinheiten (Dendrimere) oder die Bindung an Oberflächen (Nanopartikel, Glyco-SAMs) entfällt in diesem Fall. Neben dem Einsatz zur Untersuchung von Mizell-Lektin-Wechselwirkungen, bei dem die Mizelle als dreidimensionales Modell die Zelloberfläche vereinfacht nachahmt,<sup>[53]</sup> stehen in neuerer Forschung immer häufiger die Untersuchung von Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen im Focus der Glycowissenschaften, da innerhalb der Glycokalyx diesen dynamischen Wechselwirkungen eine wichtige Rolle bei Zell-Adhäsionsprozessen (u. a.) zwischen benachbarten Glycolipidstrukturen auf der Zelloberfläche zukommt.<sup>[54]</sup>

### 1.3 Selbstaggregation von Glycomizellen

Bevor einige prinzipielle Methoden vorgestellt werden, die sich für die Untersuchung der strukturellen Eigenschaften von Mizellen eignen, sollte der Selbstaggregationsprozess der zu Mizellen führt genauer erklärt werden.

Glycomizellen sind aus Glycolipiden aufgebaut, die als nichtionische Amphiphile bezeichnet werden. Der hydrophile Anteil ist hierbei die Kohlenhydrateinheit, die verschiedenste Glycosylierungsmuster aufweisen kann, wohingegen der lipophile Teil häufig aus einfachen Alkylketten aufgebaut ist. In wässriger Umgebung findet ein Selbstaggregationsprozess statt, bei dem abhängig von der chemischen Struktur der eingesetzten Amphiphile und Konzentration verschiedene Überstrukturen gebildet werden können.

Die einfachste Überstruktur ist hier die sphärische Mizelle, die sich spontan ab einer bestimmten Konzentration bildet, der sogenannten kritischen Mizellbildungskonzentration (*critical micelle concentration*, CMC). Die Assoziation ist ein Prozess, der ohne Energiezufuhr abläuft, was thermodynamisch erklärt werden kann (s. Kapitel 3.4). In Wasser lagern sich die Alkylketten im Inneren der Mizelle zu Aggregaten zusammen und verringern auf diese Weise Kontaktfläche zu den umgebenen Wassermolekülen, was als *hydrophober Effekt* bezeichnet wird.<sup>[55]</sup> Der hydrophobe Kern der Mizellen ist dann durch den hydrophilen Teil vom Wasser abgeschirmt. Der hydrophobe Effekt ist entropisch bedingt (s. Kapitel 3.4) und bestimmt im Wesentlichen die Form biologischer Molekülaggregate.<sup>[4]</sup>

Ein Modell, das versucht die chemische Struktur eines Moleküls mit seinen prinzipiellen Tenseideigenschaften zu verknüpfen, ist das von GRIFFIN eingeführte HLB-Prinzip (*hydrophilic lipophilic balance*) (Gleichung 1).<sup>[56,57]</sup> Hierbei wird ein dimensionsloser Wert zwischen 0 und 20 anhand der Molmassenverhältnisse von lipophilem Anteil und Gesamtmolekülmasse bestimmt. Anhand dieser Skala ist ein Tensid mit HLB-Werten von 0-9 vorwiegend in organischen Lösungsmitteln löslich, wohingegen ein Amphiphil mit einem HLB-Wert von 11-20 besser in Wasser löslich ist.

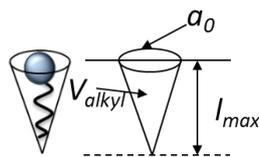
$$HLB = 20 \cdot \left( 1 - \frac{M_{lipo}}{M_{ges}} \right) \quad (1)$$

mit  $M_{lipo}$  = Molmasse des lipophilen Anteils  
und  $M_{ges}$  = Gesamtmolekülmasse

Beispielsweise hat Octyl- $\beta$ -D-glucopyranosid, das vielfach als Modellverbindung für ein Glycolipid-Molekül verwendet wird, einen HLB-Wert von 12.4 und kann als Öl-in-Wasser-Emulgator eingesetzt werden.<sup>[52]</sup> Dieses HLB-Prinzip ist allerdings nur begrenzt einsatzfähig und bietet lediglich eine grobe Abschätzung für die gewonnenen Eigenschaften der betrachteten Tenside.

Die Bildung einer bestimmten Überstruktur hängt neben der Konzentration auch von der Temperatur, der elektrostatischen Wechselwirkung der Kopfgruppen und der Geometrie des Amphiphils ab. Anhand des kritischen Packparameters CPP nach ISRAELACHVILLI kann die Form der gebildeten Aggregate anhand eines geometrischen Modells für die Monomere bestimmt werden (Gleichung 2).<sup>[55]</sup>

Hierfür werden drei Parameter bestimmt: Das Alkylkettenvolumen  $V_{alkyl}$ , die Fläche der Kopfgruppe  $a_0$  und die Alkylkettenlänge  $l_{max}$ :



$$CPP = \frac{V_{alkyl}}{l_{max} \cdot a_0} \quad (2)$$

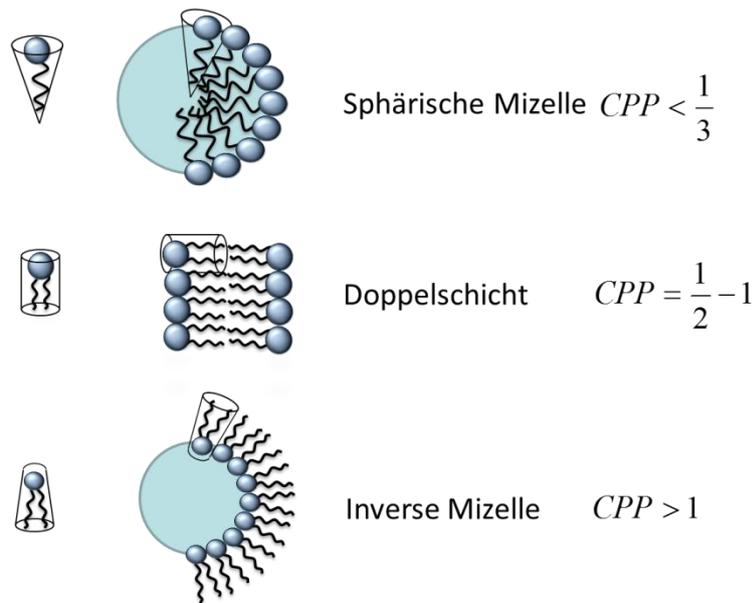
Die Alkylkettenlänge und das -volumen können nach einer Näherung von TANFORD<sup>[58]</sup> durch die Anzahl der Kohlenstoffatome bestimmt werden. Die kritische Länge der Alkylkette  $l_{max}$  und Volumen  $V_{alkyl}$  betragen hierbei:

$$l_{max} = (0.15 + 0.1265 \cdot n_{alkyl}) \cdot nm^3 \quad (3)$$

$$V_{alkyl} = (27.4 + 26.9 \cdot n_{alkyl}) \cdot 10^{-3} nm^3 \quad (4)$$

mit  $n_{alkyl}$  = Anzahl der Kohlenstoffatome in der Alkylkette

Eine Bestimmung der Morphologie und Form der gebildeten Aggregate kann anhand des CPP vorgenommen werden, wobei die Fläche der Kopfgruppe  $a_0$  experimentell bestimmt werden muss. Aggregate, die einen  $CPP < 1/3$  aufweisen, haben demnach näherungsweise eine sphärische Form. Weitere Einteilungen anhand des CPP sind in Abbildung 6 dargestellt.



**Abbildung 6:** Darstellung einiger Aggregatformen in Abhängigkeit ihres Packparameters CPP.<sup>[55]</sup>

Da im Falle eines amphiphilen Glycosids mehrere Hydroxylgruppen als Anknüpfungspunkt für die Alkylkette dienen können und entsprechend verschiedene Molekülgeometrien ergeben können, sind Glycolipid-Mizellen oft komplexe Gebilde, die schwierig zu untersuchen sind.<sup>[51]</sup>

Von amphiphilen Glycosidstrukturen ist bekannt, dass sie sowohl thermotrop als auch lyotrop flüssigkristalline Eigenschaften aufweisen.<sup>[59]</sup> Thermotrop kristalline Flüssigkristalle bezeichnen Stoffe, die bei verschiedenen Temperaturen unterschiedliche Mesophasen ausbilden. Diese Phasen sind hierbei zwischen isotropen Festkörpern und anisotropen Flüssigkeiten anzuordnen. Im Gegensatz hierzu können durch Zusatz von Wasser innerhalb lyotroper Flüssigkristalle verschieden strukturierte Flüssigkeiten, wie z. B. mizellare Flüssigkeiten, gebildet werden.<sup>[60]</sup>

Die strukturelle Charakterisierung von amphiphilen Verbindungen im Hinblick auf biologische, biophysikalische, physikalische und technische Eigenschaften kann Einblicke in Struktur-Eigenschafts-Beziehungen aufzeigen. Besonders die Untersuchung der physikochemischen Eigenschaften natürlich vorkommender Amphiphile ist in diesem Zusammenhang von Interesse, da sie zu einem besseren Verständnis biologischer Prozesse beitragen kann.<sup>[61,62]</sup>

Die kritische Mizellbildungskonzentration (CMC) ist ein wichtiger physikochemischer Parameter für die Charakterisierung von Mizellen in wässriger Lösung.<sup>[63]</sup> Sie kann mittels

---

einer Vielzahl von Methoden und Verfahren bestimmt und gemessen werden. Ein klassisches Verfahren ist die Bestimmung der CMC an einer Luft-Wasser-Grenzfläche. Hierbei wird der sprunghafte Abfall der Oberflächenspannung ermittelt und dadurch die CMC bestimmt.<sup>[13]</sup> Weiterhin sind Streuungsexperimente (*Dynamic Light Scattering (DLS)*, *Small-Angle X-ray Scattering (SAXS)* und *Small-Angle Neutron Scattering (SANS)*)<sup>[64–66]</sup> zur Charakterisierung dieser Systeme vermehrt im Einsatz. Falls ionische Amphiphile eingesetzt werden, kann die elektrische Leitfähigkeit bestimmt werden und im Fall der Beteiligung von fluoreszierenden Molekülen können spektroskopische Methoden<sup>[67,68]</sup> dazu verwendet werden, die CMC bei einer bestimmten Temperatur zu bestimmen. Anhand dieser ermittelten CMC-Werte können dann Enthalpie und Entropieänderungen bei der Mizellbildung indirekt mit Hilfe der van't Hoff'schen Gleichung<sup>[69]</sup> berechnet werden. Die thermodynamischen Parameter sind allerdings sehr stark abhängig von der Temperatur, sodass eine hochsensitive Bestimmung der CMC nötig ist. Kalorimetrische Methoden haben den großen Vorteil, dass hier neben der CMC auch direkt die Enthalpie der Mizellbildung bestimmt werden kann. Durch eine hochsensitive Temperaturregulierung unter Verwendung der Dynamischen Differenz-Kalorimetrie (DSC) oder Isothermen Titrationskalorimetrie (ITC) kann die CMC sehr exakt und gut reproduzierbar ermittelt werden.<sup>[70–72]</sup> Die ITC ermöglicht somit die Bestimmung thermodynamischer Parameter von dynamischen Systemen. Im biochemischen Bereich gehören dazu unter anderem Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen, wie beispielsweise zwischen Antigen und Antikörper, Lipid und Protein, Protein und DNA, Proteinen und Zuckern, Enzym und Substrat oder Lipid und Arzneistoff.<sup>[73]</sup>

Die makroskopischen Eigenschaften von mizellaren Systemen werden direkt von den inter- und intramolekularen Bewegungen und Wechselwirkungen der amphiphilen Monomere beeinflusst, die nur schwierig mit experimentellen Verfahren zu quantifizieren und zu charakterisieren sind. Durch den Einsatz computergestützter dynamischer Simulationsverfahren können diese Eigenschaften genauer untersucht werden.<sup>[52]</sup>

## **1.4 Bioinformatik und Molecular Modelling in der Glycobiologie**

Die strukturelle Diversität von Oligo- und Polysacchariden ist weit größer als im Fall linearer Biomakromoleküle wie der DNA oder den Proteinen. Aufgrund dieser strukturellen Besonderheiten der Zucker, die für das Gebiet der Glycobiologie von großer Wichtigkeit ist,

kommt der *in silico*-Untersuchung von Zuckerstrukturen und den sogenannten 'glycobioinformatics' besondere Bedeutung zu.<sup>[74–77]</sup>

Die dreidimensionale Struktur von Oligosacchariden weist außerdem eine starke dynamische Flexibilität auf, sowie eine besondere Variationsbreite an Verknüpfungsarten und -formen, was es erschwert, stabile Konformationen für Simulationen zu finden. Allerdings gibt es zum Aufbau von Saccharidstrukturen die Möglichkeit, verschiedene Datenbanken zu nutzen (*Cambridge Structural Database (CSD)*, *Protein Data Base (PDB)*, *GLYCOSCIENCES*).<sup>[78–80]</sup>

Eines der Hauptziele von computergestützten Modelling-Methoden zur Simulation von Zuckerstrukturen ist es, ein sinnvolles dreidimensionales Kohlenhydratmodell zu erstellen, das die experimentellen Beobachtungen unterstützt und so zum Verständnis des jeweiligen Experiments beiträgt. Zwar ist die Strukturaufklärung kleineren Kohlenhydratdomänen diskreter Glykokonjugate mittels z. B. klassischer NMR-Methoden häufig gut möglich, allerdings nur schwer auf supramolekulare Aggregate anzuwenden.<sup>[81]</sup>

Eine weitverbreitete theoretische Methode zur Konformationsanalyse von Saccharidstrukturen ist die Moleküldynamik (MD)-Simulation in wässriger Umgebung.<sup>[82]</sup>

Hierfür wurden spezielle Kraftfelder wie das von GLYCAM,<sup>[83]</sup> CHARMM<sup>[84]</sup> und das GROMAS<sup>[85]</sup> entwickelt. Das Vielfältigste ist das GLYCAM06-Kraftfeld,<sup>[86]</sup> welches Parameter für eine Vielzahl von unterschiedlich konfigurierten biologisch relevanten D- bzw. L-Kohlenhydratstrukturen (ca. 30 Verbindungen) beinhaltet.<sup>[87]</sup> Trotz der teilweise bestehenden Limitationen bei der Übertragung auf das jeweilige Glycomimetikum wird dieses Verfahren häufig für die Untersuchung von konformationellen Eigenschaften von Kohlenhydraten und ihrer Bedeutung in der Biologie angewandt.<sup>[88]</sup> Hierzu wurden neben der konformationellen Aufklärung von komplexen Oligosaccharidstrukturen,<sup>[89]</sup> auch Glycolipide und Glycoproteine, sowie deren Wechselwirkung mit Proteinen simuliert.<sup>[90]</sup> Weiterhin sind Studien zu Kohlenhydrat-Ion-Wechselwirkungen<sup>[91]</sup> und Kohlenhydrat-Wasser-Wechselwirkungen durchgeführt worden.<sup>[92,93]</sup> Bei diesen Berechnungen sollte allerdings berücksichtigt werden, dass je komplizierter das zu simulierende System ist, desto aufwändiger die betreffenden Simulationen sind. Ob das erhaltene Ergebnis der MD-Simulation verlässlich ist, sollte in jedem Fall mit einem Experiment validiert werden, oder mit experimentell ermittelten Daten verglichen werden. Diskrepanzen sollten unter Berücksichtigung der gewählten Parameter (Kraftfeld, Lösungsmittelmodell) kritisch hinterfragt werden.

---

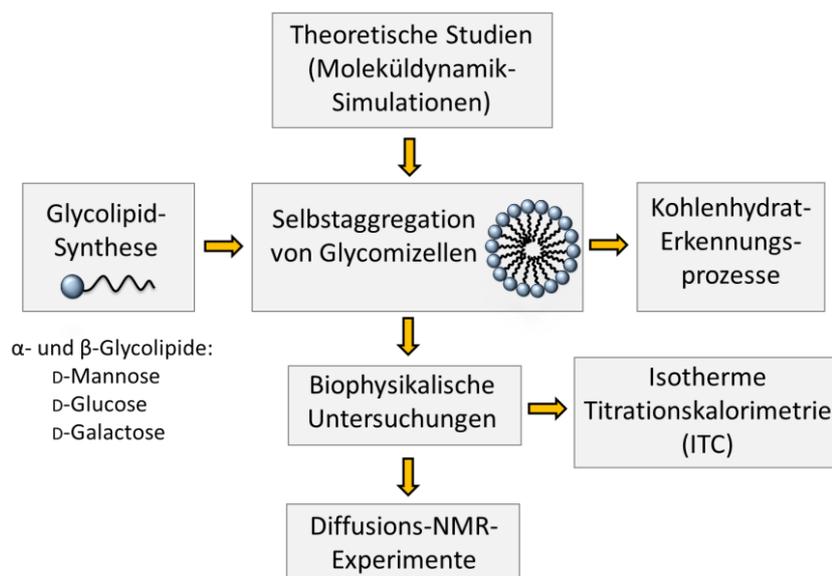
Eine sehr interessante und wichtige Aufgabenstellung in der Bioinformatik der Glycobiologie ist das Molecular Modelling von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkung unter dem speziellen Gesichtspunkt der Bindungsaffinität zwischen dem Liganden und dem betreffenden Rezeptorprotein.<sup>[74]</sup> Eine schnelle *in silico*-Screening-Methode auf der Grundlage von sogenannten Scoring-Funktionen ist das Docking-Verfahren (s. Kapitel 3.6). Als Standardverfahren versteht man hierunter, dass die Bindungsaffinität eines flexiblen Liganden zu einer unflexiblen Rezeptordomäne nach einem speziellen Docking-Prozedere bestimmt wird. Die jeweilige Scoring-Funktion und der Docking-Algorithmus werden hierbei in verschiedenen Docking-Programmen, wie Schrödinger (Glide),<sup>[94]</sup> AutoDOCK,<sup>[95]</sup> GOLD<sup>[96]</sup> und FlexX<sup>[97]</sup> verwendet. Eine robuste Scoring-Funktion ist wichtig für valide Ergebnisse, wobei die erhaltenen Konformationen des Liganden stets auf eine sinnvolle Anordnung im Rezeptor-Ligand-Komplex hin hinterfragt werden müssen.

## 2 Zielsetzung und konzeptioneller Aufbau

Die Untersuchung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen mit Bezug auf die supramolekularen Eigenschaften von Glycokalyx-Bestandteilen ist ein wichtiger Teil aktueller Forschung in der Glycobiologie.<sup>[38,98]</sup> Durch den Einsatz multivalenter Glycomimetika können unterschiedliche Aspekte der Wechselwirkung von ausgewählten Kohlenhydraten untereinander untersucht werden.<sup>[43]</sup>

Um Kohlenhydrat-Erkennungsprozesse besser verstehen zu können, sollte in der vorliegenden Dissertation die Selbstaggregation von Glycomizellen als vereinfachtes Modellsystem für supramolekulare Einheiten, wie sie in der Glycokalyx eine Rolle spielen könnten, untersucht werden. Sowohl in der Glycokalyx als auch in der Mizelle haben dynamische Interaktionsprozesse eine äußerst große Bedeutung, sodass Mizellen ein gutes System zur Untersuchung darstellen.

In einem interdisziplinären Projekt sollte die Selbstaggregation von amphiphilen Glycosiden zu Glycomizellen in Wasser analysiert werden. Dieses Projekt kann hier in die Synthese von Glycolipiden, anschließende experimentelle Untersuchungen durch biophysikalische Methoden und theoretische Studien gegliedert werden (Abbildung 7). Diese Arbeit beinhaltet somit verschiedene Konzepte, die sich gegenseitig unterstützen und ergänzen.



**Abbildung 7:** Konzeptioneller Aufbau der vorliegenden Dissertation: Der erste Teil umfasst die Synthese der Monomerbausteine, die im zweiten Teil durch experimentelle biophysikalische Methoden (ITC, Diffusions-NMR) analysiert werden sollten. Ergänzend sollten durch theoretische Moleküldynamik-Simulationen vertiefende Einzelheiten über das Wechselwirkungsverhalten von Mizellen in Wasser erhalten werden.

---

Zur Durchführung dieses Projekts sollten im ersten Teil dieser Arbeit durch verschiedene Synthesestrategien zielgerichtet  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glycolipide ausgewählter Kohlenhydrate (D-Mannose, D-Glucose, D-Galactose) hergestellt werden, die über eine O- oder N-glycosidische Bindung verfügen. Diese Glycolipide sollten im zweiten Teil durch Anwendung unterschiedlicher biophysikalischer Methoden (ITC, Diffusions-NMR) in Bezug auf ihre physikochemischen Eigenschaften der Selbstaggregation untersucht werden. Durch die flexible Wahl der Kopfgruppe sind auch gemischte Systeme sehr gut zugänglich, deren Aggregationsverhalten ebenfalls analysiert werden sollte. Zur genaueren Erforschung des Einflusses der anomeren Konfiguration bei mannosidischen Glycomizellen sollten im dritten Teil der Arbeit Moleküldynamik-Simulationen eingesetzt werden, die unterstützende und detailliertere Erkenntnisse über das dynamische Verhalten von Mizellen und deren Interaktion in wässriger Umgebung auf atomarer Ebene liefern sollten.

Darüber hinaus sollten in einem Kooperationsprojekt die Bindungsmechanismen von Mannose-basierten Quadratsäurederivaten als potentielle Inhibitoren der bakteriellen Adhäsion von FimH durch *in silico*-Studien (*flexible docking*) evaluiert und mit experimentellen biologischen Adhäsionsassays verglichen werden.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

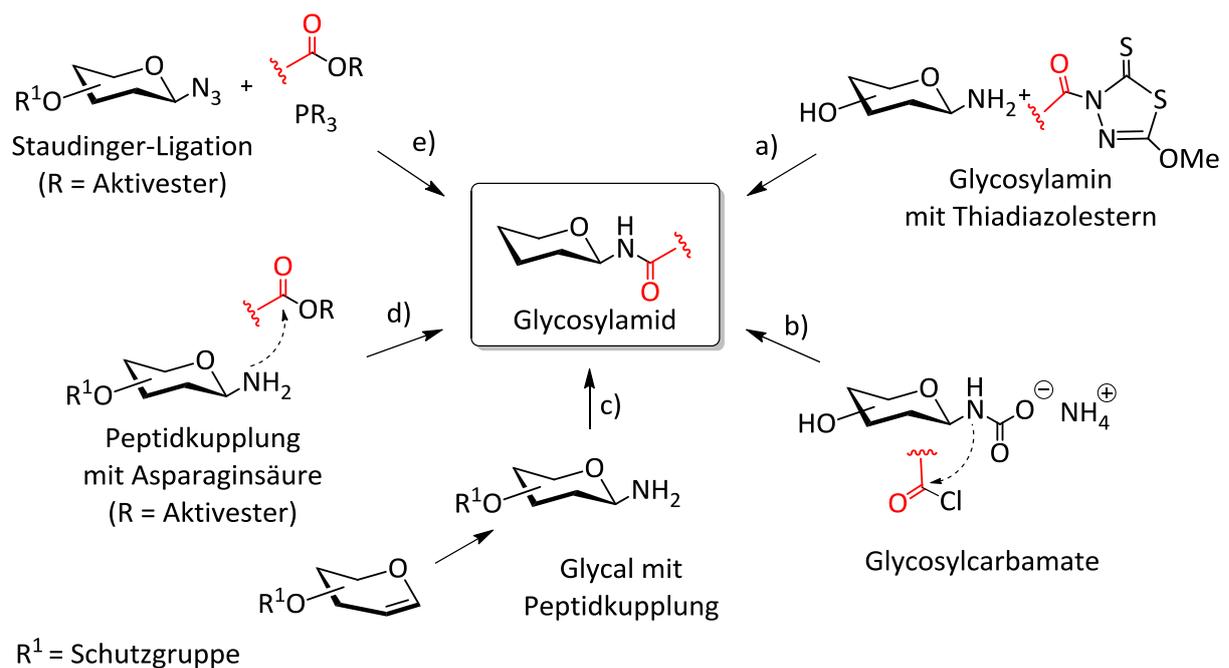
### 3.1 Amphiphile Glycosylamide

In allen *N*-Glycoproteinen ist die Verknüpfung zwischen Oligosaccharid und Protein amidisch.<sup>[99]</sup> Diese äußerst wichtige Ligation<sup>[100]</sup> wird für die Konjugation von Zuckern immer wieder aufgegriffen, sei es bei der Synthese amphiphiler Oligosaccharide<sup>[101,102]</sup> für die Untersuchung von amphiphilen Glycosylamiden<sup>[103]</sup> in Membranstudien<sup>[104,105]</sup> oder mit *N*-glycosidisch verknüpften Glycosylamiden, die unter anderem beim Aufbau von Mikroarrays verwendet werden.<sup>[106]</sup>

Die Synthese von Glycosylamiden wird in der Literatur ausgehend von Glycosylaminen anhand vieler Beispiele beschrieben. Bei der Kochetkov-Aminierung<sup>[107]</sup> wird mit einem großem Überschuss von Ammoniumhydrogencarbonat und nachteiligen langen Reaktionszeiten gearbeitet, die durch Einsatz von Mikrowellen allerdings stark reduziert werden konnten.<sup>[108]</sup> Das gebildete aminofunktionalisierte Kohlenhydrat (Halbaminale) ist aber nicht besonders stabil und darüber hinaus recht konfigurationsinstabil, was sich durch Anomerisierung<sup>[109]</sup> bei der anschließenden Reaktion zu Amiden bemerkbar macht. Bei freien Zuckern sind auch unerwünschte Nebenreaktionen, wie Hydrolyse und Dimerisierung zu beachten. Trotz dieser Nachteile wurden freie Glycosylamine in vielen Fällen erfolgreich eingesetzt. Gängige Methoden zur Herstellung von Glycosylamiden sind in Abbildung 8 aufgeführt. Einerseits wird mit Glycosylaminen und Thiazadiazolestern oder Glycosylcarbamat- und Säurechloriden gearbeitet (Abbildung 8a,b). Andererseits kann eine Peptidkupplung mit *O*-acetylgeschützten Glycosylaminen, die beispielsweise aus Glycalen zugänglich sind (Abbildung 8c), erfolgen. Durch den Einsatz von Asparaginsäure-Aktivestern (Abbildung 8d) sind mittels Peptidkupplung Glycosylaminosäuren herstellbar. Bei der Durchführung der letzteren Anwendungen besteht zusätzlich die Problematik einer (*O*→*N*)-Acetylgruppenwanderung.

Eine andere Methode zur Herstellung von Glycosylamiden basiert auf der Staudinger-Reaktion. Die Bildung von Amiden ausgehend von Cholesterylaziden und Carbonsäuren wurde erstmals von GARCIA et al.<sup>[110]</sup> beschrieben, damals eine neue Variante der Staudinger-Reaktion. Grundlage dieser heute als „Staudinger-Ligation“ bezeichneten Methode ist die

von STAUDINGER erfundene Reduktion von Aziden zu Aminen unter Verwendung von Phosphinverbindungen.<sup>[111]</sup> In der Glycobiologie ist die Staudinger-Ligation heute wegen ihrer Biokompatibilität weit verbreitet.<sup>[112–117]</sup> Neben den milden Reaktionsbedingungen ist die Chemoselektivität der Reaktion von Aziden z. B. in großen Biomolekülen bemerkenswert, wodurch außerdem die Möglichkeit gegeben ist, mit oder ohne Schutzgruppen zu arbeiten. Die sogenannte „Dreikomponenten“-Staudinger-Ligation (Abbildung 8e) von Glycosylaziden mit Aktivestern von Aminosäuren zum Aufbau von Glycoaminosäuren<sup>[118]</sup> und Glycoclustern<sup>[119]</sup> wurde in der Arbeitsgruppe LINDHORST von RÖCKENDORF und SCHIERHOLT etabliert und stellt eine effiziente Methode zur Darstellung von Alkylglycosylamiden dar. Letztere können hierbei sowohl unter Verwendung von Octansäure-Aktivestern als auch durch Reaktion von reaktiveren Octanoylchloriden<sup>[109,120]</sup> dargestellt werden. Im Falle der Glycosylaminosäuren kann aufgrund von Racemisierung nicht mit Säurechloriden gearbeitet werden.

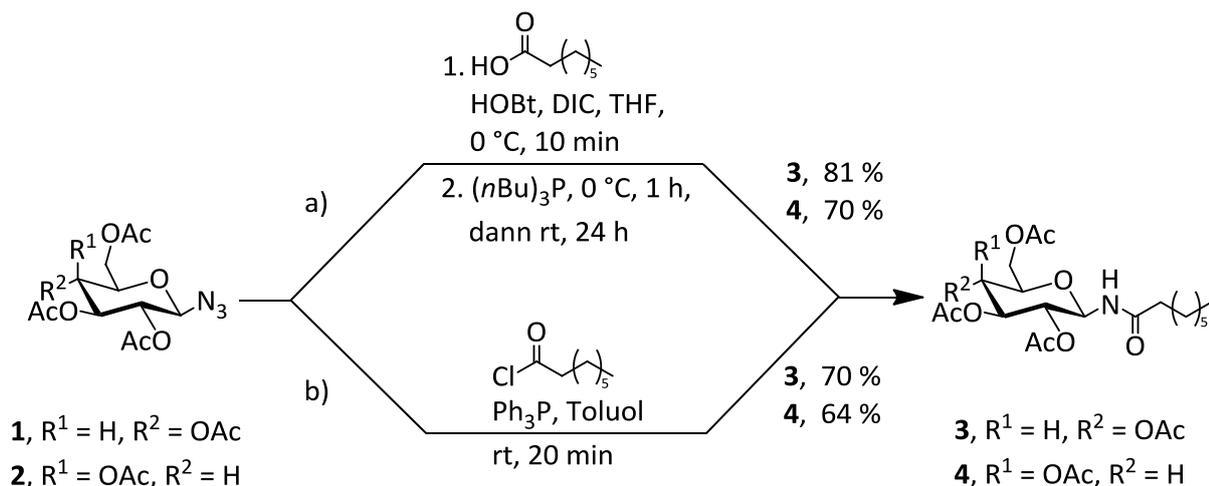


**Abbildung 8:** Synthesekonzepte zur Darstellung von Glycosylamiden: a) Kupplung von Glycosylaminen mit Thiadiazolestern;<sup>[104]</sup> c) Reaktion von Glycosylcarbamaten mit Säurechloriden;<sup>[103]</sup> d) Darstellung von Glycosylaminosäuren ausgehend von Glycalen;<sup>[121]</sup> e) Peptidkupplung von geschützten Glycosylaminen mit Aminosäureaktivestern;<sup>[122,123]</sup> e) „Dreikomponenten“-Staudinger-Ligation von Glycosylaziden nach LINDHORST.<sup>[118]</sup>

## 3.1.1 Synthese der Glycosylamide

Wichtige Zielmoleküle dieser Dissertation waren Glycosylamide der Glucose, Galactose und Mannose mit einer C<sub>8</sub>-Alkylkette als hydrophober Anteil des Amphiphils. Diese Glycosylamide ließen sich im Anschluss auf ihre Selbstaggregationseigenschaften mittels biophysikalischer Messmethoden untersuchen.

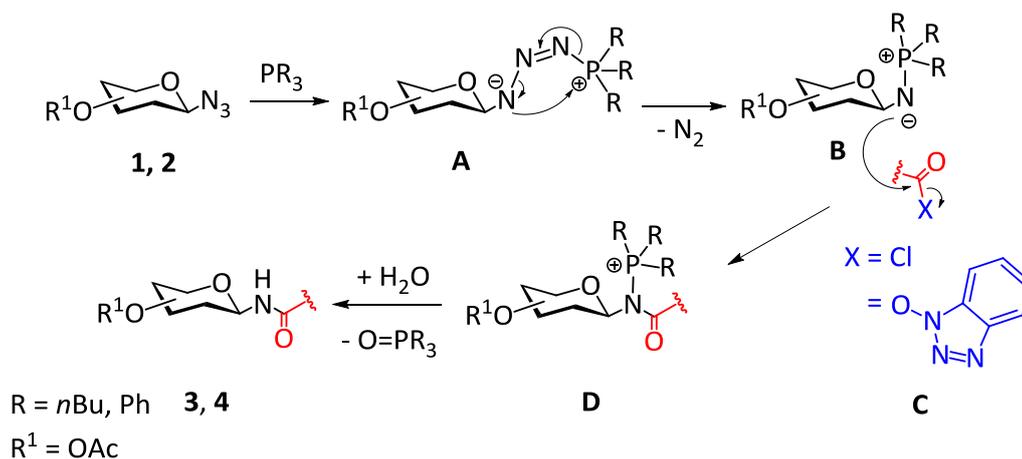
Diese amphiphilen Glycosylamide wurden ausgehend von einfach zugänglichen Glycosylaziden<sup>[124]</sup> durch die Staudinger-Ligation hergestellt. Als Phosphinspezies wurde im Fall der „Dreikomponenten“-Staudinger-Ligation mit dem vielfach bewährten Tri-*n*-butylphosphin gearbeitet. Die Darstellung des 1,2-*trans*-Glucosyl- und Galactosylamids **3** bzw. **4** unter Verwendung von aktivierter Octansäure verlief stereoselektiv, wobei die jeweiligen Produkte in sehr guten bis guten Ausbeuten von 81 % bzw. 70 % isoliert werden konnten (Schema 1a). Neben der HOBt-DIC-Aktivierung von Octansäure wurde auch das entsprechende Säurechlorid in der von BOULLANGER et al. entwickelten Staudinger-Ligation<sup>[120]</sup> getestet (Schema 1b). In diesem Fall konnten das Glucosylamid **3** wie das Galactosylamid **4** in vergleichbar guten Ausbeuten von 70 % bzw. 64 % dargestellt werden. Durch die erhöhte Reaktivität des Säurechlorids ist die Reaktionszeit verkürzt. Allerdings verläuft die Reaktion nach Aktivierung der Octansäure mit HOBt und DIC unter milderen Reaktionsbedingungen und es kann die Darstellung des hydrolyseempfindlichen Säurechlorids eingespart werden, falls dieses nicht kommerziell erhältlich ist.



**Schema 1:** Synthese der amphiphilen Glycosylamide **3** und **4** durch die Staudinger-Ligation unter Verwendung von aktivierter Octansäure (a) und Octanoylchlorid (b).

Der Mechanismus der hier angewandten Reaktion ist durch den Nachweis einzelner Zwischenstufen, wie dem Iminophosphoran **B**,<sup>[120]</sup> und der NMR-spektroskopischen Verfolgung des Reaktionsverlaufs größtenteils verstanden (Schema 2).<sup>[125]</sup> Der bei der Reaktion freiwerdende Stickstoff wird im Fall der Säurechlorid-Variante als sichtbare Blasenbildung gesehen.

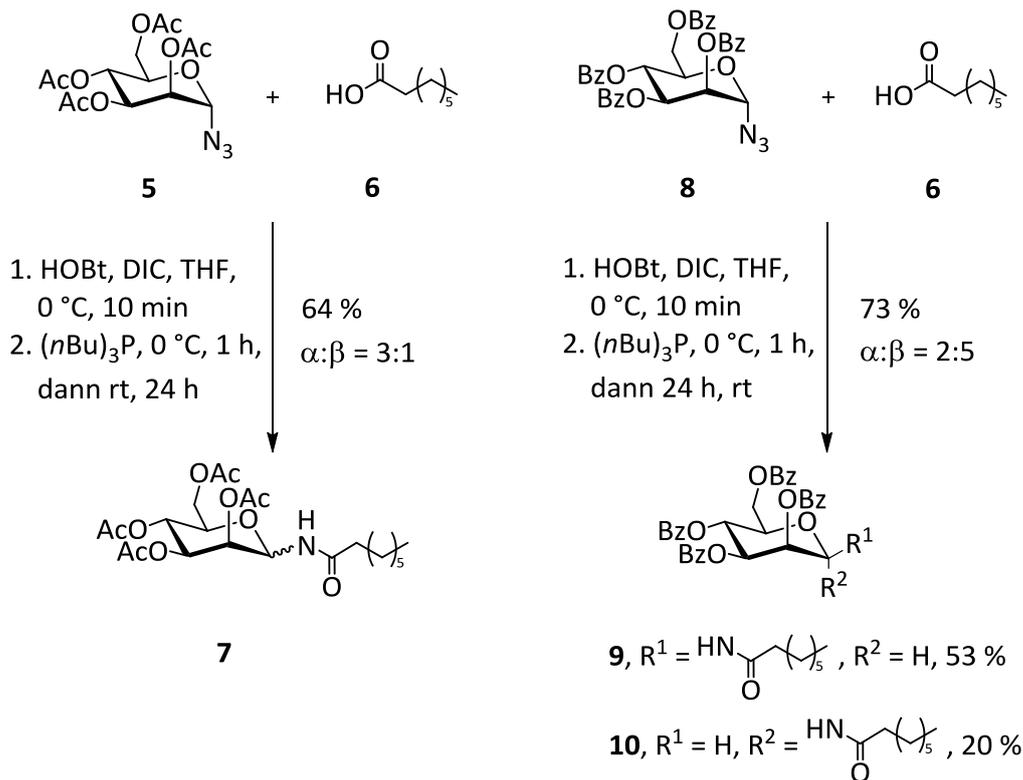
Die Synthesesequenz beginnt mit der Reaktion zwischen Azid **1** bzw. **2** und Phosphin, wodurch ein Phosphazid-Intermediat **A** gebildet wird, was über einen viergliedrigen Übergangszustand Stickstoff abspaltet und so in das Iminophosphoran **B** übergeht. Das Säurechlorid bzw. der *in situ* gebildete HOBt-Aktivester **C** reagiert mit dem stark nucleophilen Stickstoffatom des Iminophosphorans **B** zum Phosphamid-Intermediat **D**, das nach Hydrolyse Phosphinoxid eliminiert und das Amid **3** bzw. **4** bildet.



**Schema 2:** Allgemein akzeptierter Mechanismus der Staudinger-Ligation, der durch NMR-spektroskopische Untersuchungen untermauert wurde.<sup>[125]</sup>

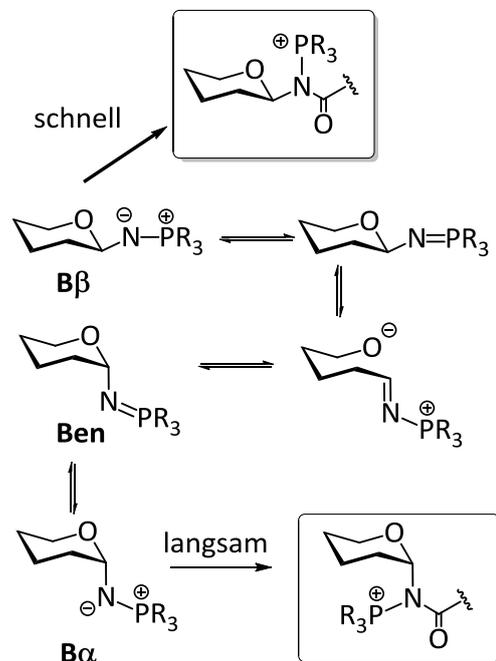
Die Darstellung des *O*-acetylgeschützten Mannosylamids **7** war ebenfalls erfolgreich und das Produkt konnte in befriedigender Ausbeute von 64% isoliert werden (Schema 3). Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zeigte allerdings, dass sich während der Reaktion ein  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch im Verhältnis von 3:1 bildete, welches durch einfache Säulenchromatographie nicht getrennt werden konnte.

### 3.1 Amphiphile Glycosylamide



**Schema 3:** Darstellung der *O*-acetylierten und *O*-benzoylierten Mannosylamide **7**, **9** und **10** durch die Staudinger-Ligation.

Die Reaktion des  $\alpha$ -Mannosylazids **5** nimmt keinen stereospezifischen Verlauf, weil es zwischenzeitlich zur Ringöffnung des  $\alpha$ -Iminophosphorans **B $\alpha$**  kommt, was eine Anomerisierung des Produkts zur Folge hat. Das auf diese Weise während der Reaktion gebildete  $\beta$ -Iminophosphoran **B $\beta$**  reagiert schneller mit dem Acylierungsmittel als **B $\alpha$**  aufgrund der geringeren sterischen Hinderung (Schema 4).<sup>[120]</sup> Leider konnte durch den Einsatz von *O*-benzoyliertem Mannosylazid die Anomerisierung nicht verhindert werden. Allerdings zeigte SCHIERHOLT in seiner Doktorarbeit,<sup>[126]</sup> dass in diesem Fall die Anomere durch Säulenchromatographie an Kieselgel getrennt werden konnten. Hier lieferte die Umsetzung von *O*-benzoylgeschütztem Azid **8**

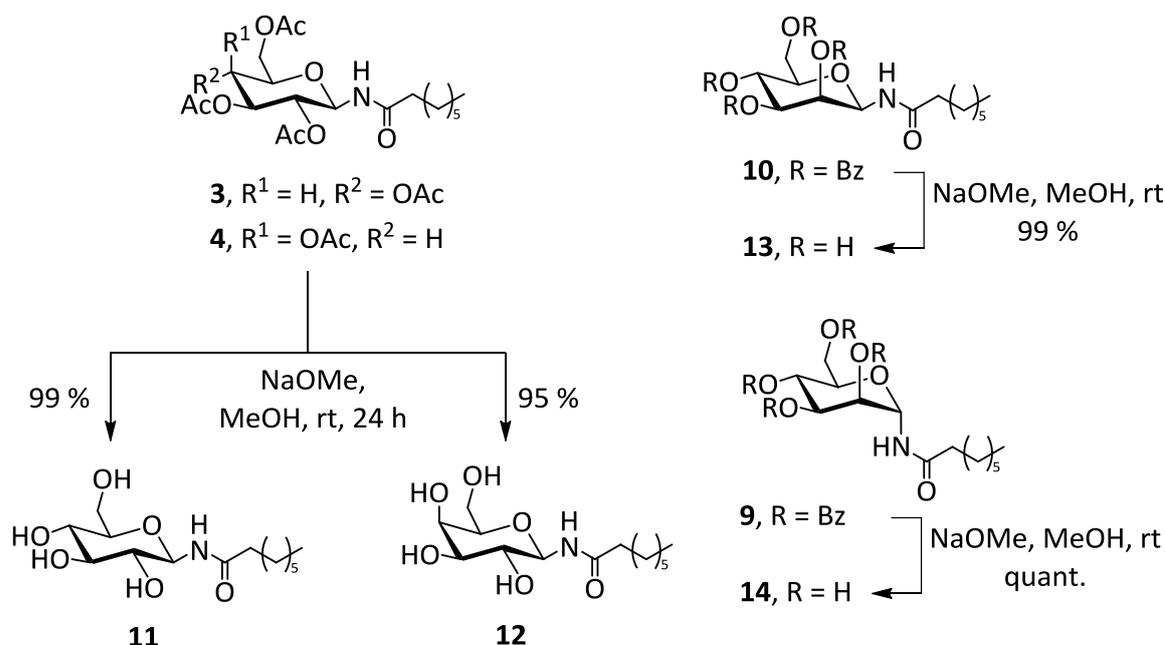


**Schema 4:** Mechanismus der Anomerisierung des  $\alpha$ -Iminophosphorans **B $\alpha$**  zum  $\beta$ -Iminophosphoran **B $\beta$**  über das Phosphazen **Ben**.

das *O*-benzoylierte Mannosylamid **9** bzw. **10** in guter Ausbeute. Das  $\alpha,\beta$ -Anomerenverhältnis

betrug in diesem Fall 2:5, die säulenchromatographische Trennung der Anomere war in diesem Fall erfolgreich (Schema 3).

Nach Deacetylierung bzw. Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen,<sup>[127]</sup> wurden anomerenreine Glycosylamide **11**, **12**, **13** und **14** in exzellenten bis quantitativen Ausbeuten isoliert (Schema 5).



**Schema 5:** Entschützung der amphiphilen *O*-acetylgeschützten Glycosylamide **3** und **4** und *O*-benzoylgeschützten Mannoside **9** und **10**.

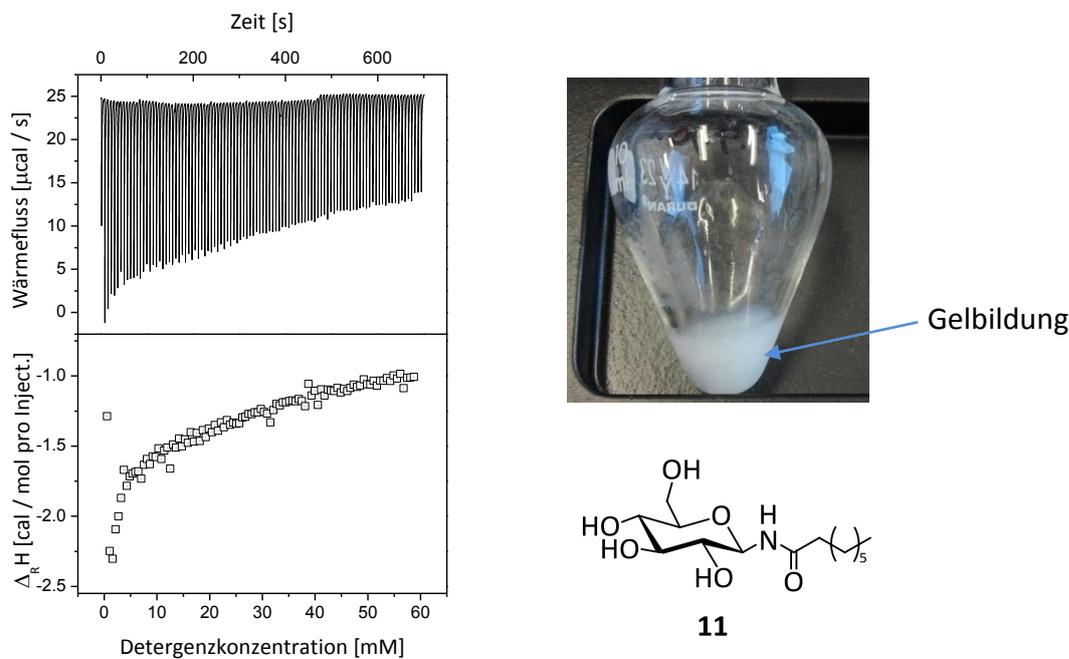
In der Doktorarbeit von SHAIK wurde gezeigt, dass unter Verwendung von *O*-benzoylierten  $\alpha$ -Mannosylaziden die Synthese von anomerenreinen  $\alpha$ -Glycosylamiden möglich ist.<sup>[128]</sup> Hier wurde jedoch bei tiefen Temperaturen und im Gegensatz zu dem in dieser Arbeit verwendeten Tri-*n*-butylphosphin mit dem sterisch anspruchsloseren Trimethylphosphin gearbeitet. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Aspekte des Temperatureinflusses und der sterische Effekt des Phosphins nicht weiter untersucht, da ausreichende Mengen der reinen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Mannosylamide **9** und **10** zur weiteren Untersuchung zur Verfügung standen.

### 3.1.2 Versuche zur ITC-Messung amphiphiler Glycosylamide

Anschließend wurde die Selbstaggregation der durch die Staudinger-Ligation erfolgreich synthetisierten *N*-Glycosylamide **11**, **12**, **13** und **14** mittels der Isothermen Titrationskalorimetrie (ITC) untersucht. Hierzu wurde eine hochkonzentrierte Lösung (ca. ein

### 3.1 Amphiphile Glycosylamide

Zehnfaches der kritischen Mizellbildungskonzentration, CMC) in Wasser hergestellt und ein Demizellisierungsexperiment nach bekannten Verfahren durchgeführt.<sup>[69,70,129]</sup> Bei einer Temperatur von 25 °C unter quasi-isothermen Verhältnissen wurde dann der Enthalpiebeitrag jeder Injektion im Vergleich zu einer mit Wasser gefüllten Referenzzelle gemessen (Genauerer s. Kapitel 3.4.1). Zur Bestimmung der CMC ist ein sprunghafter Anstieg der Titrationskurve notwendig, was im Fall der Glycosylamide allerdings leider nicht der Fall ist (Abbildung 9). Zwar ist eine exotherme Reaktion zu beobachten, jedoch kommt es zu keiner sättigungsbedingten Mizellbildung in der Probenzelle. In diesem Fall ist die Konzentration in der Probenzelle nicht groß genug, um den Demizellierungsprozess der hinzu titrierten Mizelllösung nicht mehr stattfinden zu lassen, wodurch der gemessene Enthalpiebetrag stark abnehmen würde.



**Abbildung 9:** Roh-ITC-Messung mit dem *N*-Octanoyl-β-D-glucopyranosylamin (**11**); *c* = 250 mM, 100 Injektionen, 3 μL Aliquots (links); Gelbildung nach Lösungsversuch in Wasser (rechts).

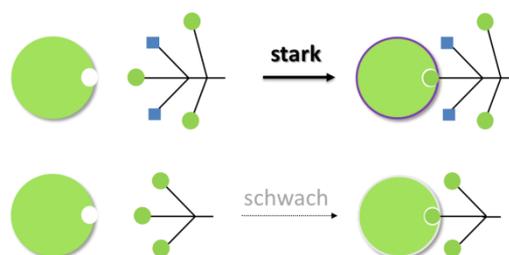
Wird die Ausgangskonzentration der hinzu titrierten Lösung, die sich in der Titrationspritze befindet, in einem erneuten ITC-Messung noch weiter erhöht, gelangt man unter den gewählten Bedingungen an die Grenze der Wärmekapazität des ITC-Messgerätes und an die Löslichkeitsgrenze des amphiphilen Amids, was sich durch Selbstaggregation in Form von Gelen äußert. Literaturbekannt sind CMC-Werte von 40 mM<sup>[103]</sup> bzw. 80 mM<sup>[104]</sup> (in 0.1 M Phosphat-Puffer), die durch kolorimetrische Verfahren bestimmt wurden. Hierbei wird die

Änderung des Absorptionsverhaltens eines zugesetzten Farbstoffs (Coomassie-Brilliant Blau) bei einer definierten Wellenlänge ( $\lambda = 620 \text{ nm}$ ) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen einer Amphiphillösung bestimmt. Die Amphiphillösung ändert bei Konzentrationen oberhalb der CMC ihre Farbe von grau-blau zu himmelblau.<sup>[103]</sup> Die Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration der hergestellten Glycosylamide verschiedener Konfiguration mittels ITC wurde hier nicht weiter verfolgt.

### 3.1.3 Versuche zur bakteriellen Adhäsion Typ-1-fimbrierter Bakterien von Glycolipiden auf Polystyroloberflächen

Eine effiziente Methode zur biologischen Untersuchung von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen ist der Einsatz von sogenannten Glycoarrays,<sup>[130–132]</sup> die aus amphiphilen Glykokonjugaten leicht hergestellt werden können.<sup>[47,133]</sup> Daher kamen hier Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**17**, siehe unten) und das

*N*-Mannosylamids **14** zum Einsatz um den Einfluss der *N*-glycosidischen Bindung auf die bakterielle Adhäsion im Vergleich zur *O*-glycosidischen Verknüpfung an einem einfachen Modell zu untersuchen. Des Weiteren könnte durch Verwendung von Octyl- $\alpha$ -D-galactosid **18** und



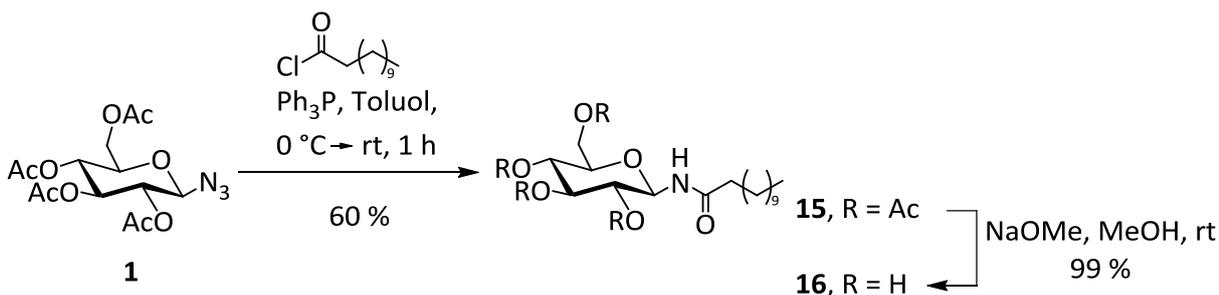
**Abbildung 10:** Heterocluster-Effekt: Anwesenheit von nicht-spezifischen Liganden erhöht die Bindung zu einer Erkennungsdomäne im Vergleich zu einem Cluster eines Ligandentyps.

Octyl- $\alpha$ -D-glucosid **19** (s. Kapitel 3.2) in gemischten Glycoarrays der sogenannte „Heterocluster-Effekt“<sup>[134]</sup> näher untersucht werden. Letzterer bezeichnet die erhöhte Affinität eines Lektins an einen gemischten Glycoarray, der außer dem spezifischen Kohlenhydratliganden auch solche Zucker enthält, für die das untersuchte Lektin unspezifisch ist. In einem Glycomimetikum (Glycocluster), in welchem die verschiedenen Kohlenhydrate gemeinsam geclustert wurden, ist dieser Effekt erstmals beobachtet worden.<sup>[134]</sup>

Im Folgenden wurden die synthetisierten amphiphilen Glycoside und Glycosylamide auf Oberflächen immobilisiert und die resultierenden Glycoarrays untersucht. Dies ist eine in der Arbeitsgruppe LINDHORST etablierte Anwendung zur Untersuchung bakterieller Adhäsion.<sup>[47,133]</sup> Die Alkylkette des jeweiligen Amphipils kann hier über nichtkovalente hydrophobe Wechselwirkungen auf einer Polystyroloberfläche immobilisiert werden,

### 3.1 Amphiphile Glycosylamide

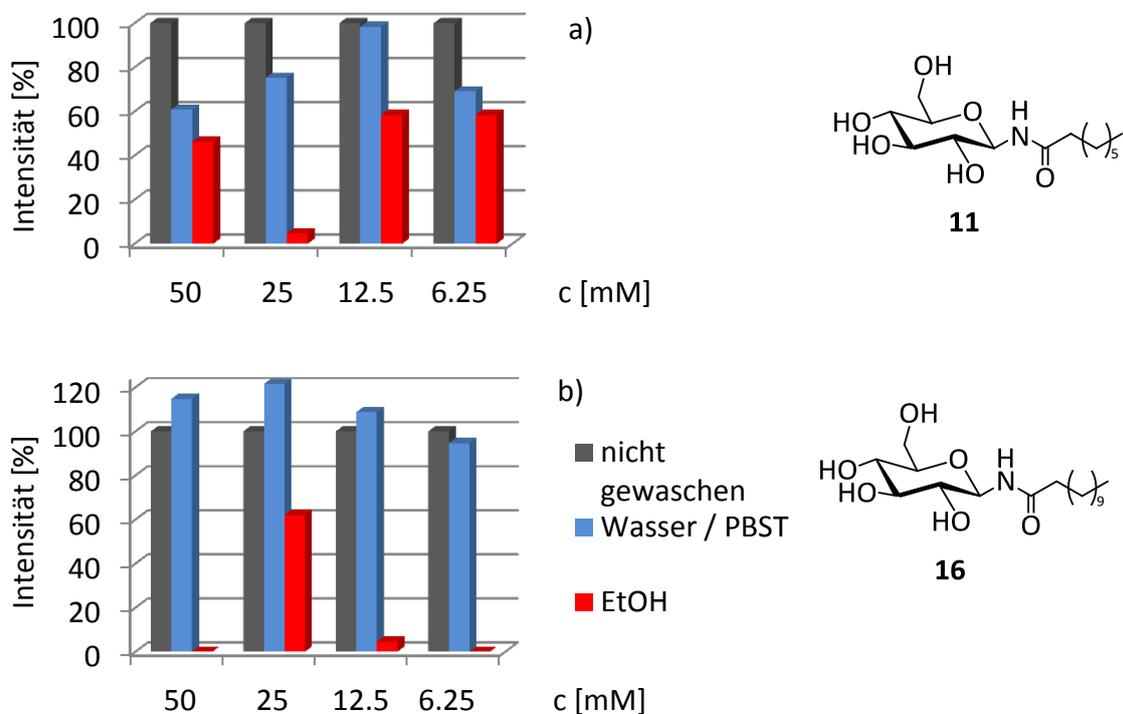
wodurch unmittelbar und schnell Glycoarrays aufgebaut werden können. Um den Erfolg der Immobilisierung zu testen, wurde ein Phenol-Schwefelsäure-Assay<sup>[135–137]</sup> durchgeführt, zunächst mit den amphiphilen Glucosylamiden **11** und **16**. Dieser Test erlaubt es, einen günstigen Konzentrationsbereich für einen späteren Adhäsionsassay zu bestimmen und zum anderen die Stabilität der Arrays gegen verschiedene Waschschrte zu testen. Letztere werden im Zuge eines Adhäsionsassays mit Bakterien standardmäßig durchgeführt.<sup>[138]</sup> Außerdem sollte analysiert werden, ob eine Octylkette im Vergleich mit einer Dodecylkette bei einer Immobilisierung nachteilig bzw. ausreichend ist. Hierzu wurde *N*-Dodecanoyl- $\beta$ -D-glucopyranosylamin (**16**) unter Staudinger-Bedingungen in zwei Schritten nach BOULLANGER et al.<sup>[120]</sup> unter Verwendung des Säurechlorids und Triphenylphosphin in einer befriedigenden Ausbeute von 60 % dargestellt (Schema 6). Nach Deacetylierung stand das im Vergleich zu **11** um vier Methylengruppen längere Glycosylamid **16** ebenfalls für die Bildung von Glycoarrays zur Verfügung.



**Schema 6:** Darstellung des *N*-Dodecanoyl- $\beta$ -D-glucopyranosylamins (**16**) ausgehend vom Glucosylazid **1**.

Zur hydrophoben Immobilisierung der Glucosylamide **11** und **16** auf Polystyrol wurden methanolische Lösungen mit Konzentrationen von 50, 25, 12.5 und 6.25 mM hergestellt und diese Lösungen über Nacht in einer 96-Well-Mikrotiterplatte eingedampft. Im Anschluss wurden verschiedene Waschschrte durchgeführt, wie es dem Prozedere eines Adhäsionsassays entspricht. Wurde mit Ethanol gewaschen, waren die Glycoarrays besonders instabil und die immobilisierten Glucosylamide **11** und **16** wurden aus den Wells entfernt (Abbildung 11a,b, rot). Wurde allerdings mit einem Gemisch aus Wasser und PBST-Puffer (Verhältnis 1:1) gewaschen, wurde im Fall von **11** nur ein geringer Anteil der immobilisierten Molekülen entfernt (Abbildung 11a, blau). Die mit Wasser und PBST-Puffer gewaschenen Wells zeigen im Fall von **16** im Konzentrationsbereich zwischen 50 und 12.5 mM eine zuerst erstaunliche Intensität von über 100 % (Abbildung 11b, blau). Ursache

dieses Ergebnisses ist, dass bei der Immobilisierung des dodecylfunktionalisierten Glycosylamids **16** Agglomerate in den Wells festgestellt wurden (Abbildung 12), die während der Waschprozedur mechanisch entfernt wurden. **16** wurde auf der Mikrotiterplatte in den Zeilen A bis D und **11** in den Zeilen E bis H immobilisiert. In den Wells, in denen **11** immobilisiert wurde, sind diese Agglomerate nicht zu beobachten. Hierdurch ist der geringere Wert von **16** der nichtgewaschenen Wells (Abbildung 11b, grau), die als Referenzen für den Anteil an immobilisiertem Amphiphil als 100 % definiert wurden, im Vergleich zu den Werten der mit Wasser und PBST-durchgeführten Waschprozedur (Abbildung 11b, blau), zu erklären.



**Abbildung 11:** Phenol-Schwefelsäure-Assay zur Konzentrationsbestimmung und Stabilitätsuntersuchung gegen unterschiedliche Waschschritte von a) *N*-Octanoyl- $\beta$ -D-glucopyranosylamin (**11**) und b) *N*-Dodecanoyl- $\beta$ -D-glucopyranosylamin (**16**) auf Polystyroloberflächen; Es wurden vier methanolische Lösungen mit Konzentrationen von 50, 25, 12.5 und 6.25 mM immobilisiert; nicht gewaschene Wells (graue Balken) wurden als Referenz an immobilisiertem Amphiphil mit 100 % definiert.

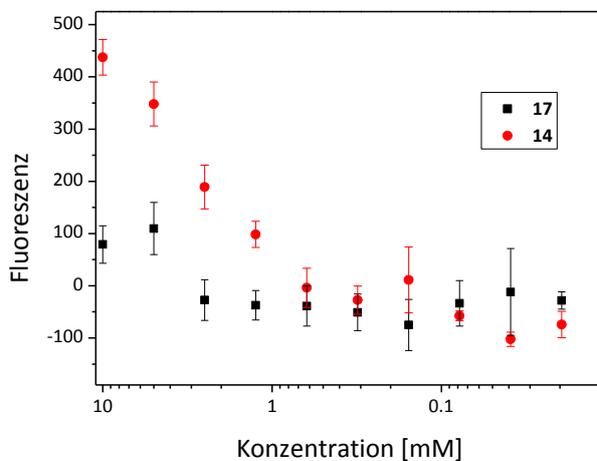
Der Einfluss der Alkylkettenlänge ist hier nur marginal (Abbildung 11). Als Ergebnis ist festzuhalten, dass die Glycoarrays stabil gegen unterschiedliche Waschbedingungen sind, wodurch sie in anschließenden bakteriellen Adhäsionsassays eingesetzt werden können. Konzentrationen von ca. 10 mM sind noch ausreichend um Glycoarrays aufzubauen. Hierbei

### 3.1 Amphiphile Glycosylamide

kann sowohl die kürzere C<sub>8</sub>-Alkylkette als auch die längere C<sub>12</sub>-Alkylkette zur Arraybildung eingesetzt werden.

Als nächster Schritt wurden bakterielle Adhäsionsassays mit GFP-markierten *E. coli*-Bakterien des Laborstamms PKL1162 nach einem von HARTMANN entwickelten Assay durchgeführt.<sup>[138]</sup> In diesem Assay wird der Bindungsprozess von Bakterien an einer glycosylierten Oberfläche (hier Glycoarray) untersucht. Es wurden  $\alpha$ -mannosylierte Amphiphile eingesetzt,

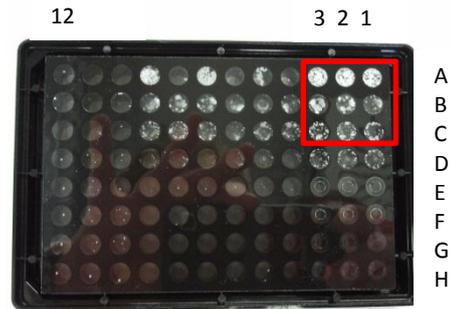
die an das  $\alpha$ -D-Mannose-spezifische bakteriellen Lektin FimH binden können. Aus den erhaltenen bakteriellen Adhäsionskurven (Abbildung 13) wird deutlich, dass mit steigender Konzentration an immobilisierten mannosyliertem Amphiphil auch die bakterielle Adhäsion ansteigt, so wie man es erwartet.



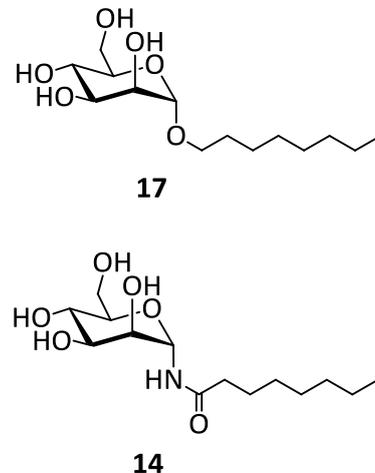
**Abbildung 13:** Bakterielle Adhäsionskurven mit GFP-markierten *E. coli*-Bakterien von einfachen Glycoarrays, die aus **14** bzw. **17** hergestellt wurden. Nach 1 h Inkubation wurde die Fluoreszenz der adhären *E. coli*-Bakterien bestimmt.

Es wird beobachtet, dass das Mannosylamid **14** eine bessere bakterielle Adhäsion aufweist als das analoge *O*-Mannosid **17**. Letzteres zeigt keine spezifische Adhäsion von *E. coli*-Bakterien an den Glycoarray, bei dem das *O*-Mannosid **17** immobilisiert wurde.

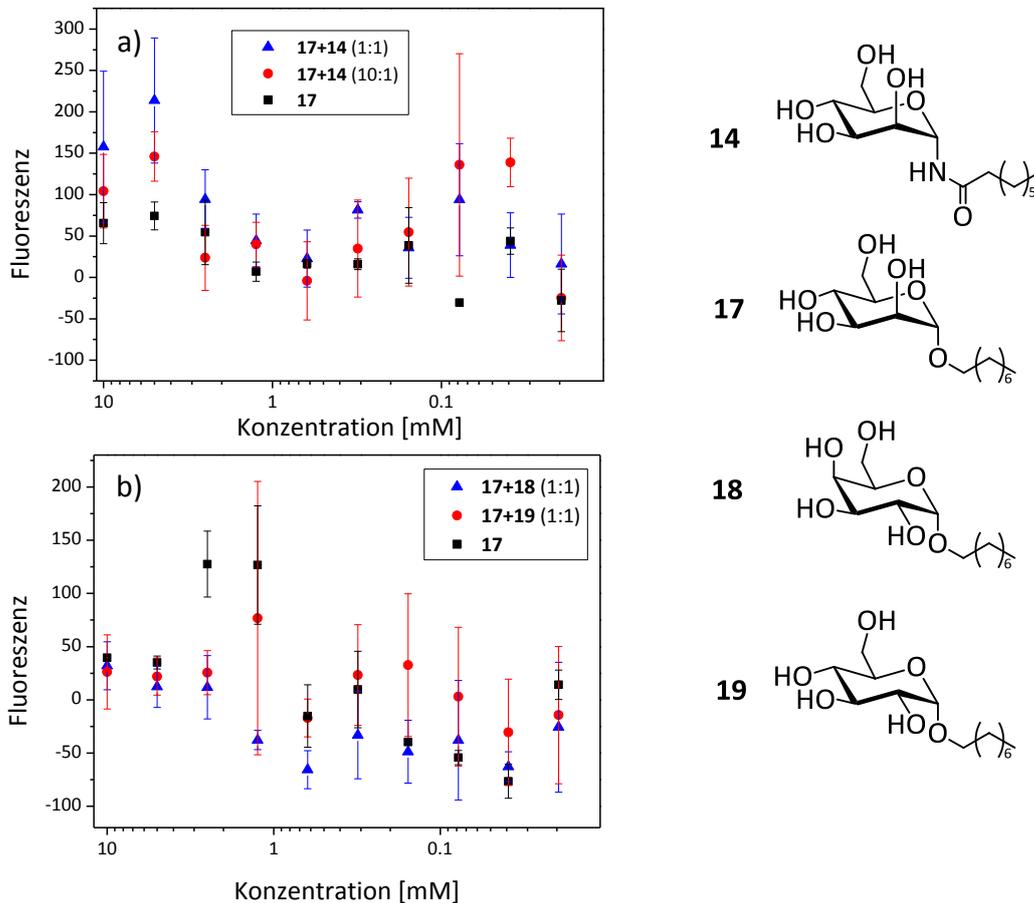
Im Fall des gemischten Arrays aus mannosylierten Amphiphilen (Abbildung 14a) konnte kein konzentrationsbedingter Anstieg der bakteriellen Adhäsion festgestellt werden. Auch bei



**Abbildung 12:** Spaltenreihen 1-3 wurden nicht gewaschen und zeigten im Fall von **16** (A-C; 50-12.5 mM) Agglomerate in den betreffenden Wells, die während des Waschvorgangs entfernt wurden.



den Biotests mit gemischten Glycoarrays unter Verwendung der *O*-Glycoside **18** und **19** (Abbildung 14b) konnte keine spezifische bakterielle Adhäsion nachgewiesen werden. Die mehrfache Wiederholung der Tests mit höheren Konzentrationen der für die Herstellung der Glycoarrays verwendeten Lösungen brachten keine verbesserten Ergebnisse.



**Abbildung 14:** Bakterielle Adhäsionskurven mit GFP-markierten *E. coli*-Bakterien von gemischten Glycoarrays; a) gemischte mannosylierte Arrays von **14** und **17**, wobei die Verhältnisse der eingesetzten Mannosederivate variiert wurden (1:1 und 10:1); b) gemischte Arrays von **17** mit *O*-Glucosid **18** (blau) und *O*-Galactosid **19** (rot). Nach 1 h Inkubation wurde die Fluoreszenz der adhärenen *E. coli*-Bakterien bestimmt.

Insgesamt sind nur schwache Wechselwirkungen in den Studien zur Bakterienbindung beobachtet worden. Das amphiphile Octylmannosylamid **14** zeigte die Bildung eines Glycoarrays, der eine erkennbare konzentrationsabhängige bakterielle Adhäsion aufweist. Im Gegensatz hierzu wurde bei der Verwendung des *O*-Mannosids **17** keine spezifische bakterielle Adhäsion des Glycoarrays nachgewiesen. Das *O*-Mannosid **17** weist aufgrund seiner besseren Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln eine geringere Stabilität gegen die Waschprozedur auf als das Octylmannosylamid **14**. Das Amid **14** ist schlechter in polaren Lösungsmitteln löslich (Abbildung 9) und bildet durch die höhere Stabilität gegen die

Waschprozedur somit etwas stabilere Glycoarrays aus, was die leichten Unterschiede bei den durchgeführten Adhäsionstest erklärbar macht. Insgesamt sind die gebildeten Glycoarrays mit einer C<sub>8</sub>-Alkylkette nicht robust gegen die Bedingungen des Biotests.

Die Ergebnisse des Vortests (Phenol-Schwefelsäure-Assay), bei dem ein stabiler Array am Beispiel des amphiphilen Glucosylamids **11** nach Durchführung verschiedener Waschschriffe erhalten werden konnte, konnten nach Einsatz des Mannosylamids **14** im bakteriellen Adhäsionstest nur bedingt bestätigt werden.

Ein Heterocluster-Effekt, der durch die Anwesenheit von amphiphilen Glucosiden und Galactosiden zu stande kommt, konnte unter den gewählten Bedingungen nicht untersucht werden. Wahrscheinlich sind die gebildeten Glycoarrays ebenfalls nicht stabil genug, um an ihnen bakterielle Adhäsionsstudien durchführen zu können.

Die Einführung von längeren Alkylketten würde die Stabilität der Glycoarrays auf den Polystyrol-Oberflächen begünstigen.<sup>[133]</sup> Diese Tendenz wurde auch von WEHNER festgestellt, der mit S-tritylierten  $\alpha$ -D-Mannosiden unterschiedlicher Spacerlänge arbeitete, wobei längererkettige Mannoside stabile Glycoarrays bildeten. Kürzere Spacerlängen ergaben keine robusten Arrays für einen bakteriellen Adhäsionstest.<sup>[47]</sup> Außerdem könnten weitere Testreihen unter Verwendung eines aromatischen Aglycons oder anderer affinitätssteigerender Komponenten die bakterielle Adhäsion verstärken. Hierdurch könnten auch kompetitive bakterielle Adhäsions-Inhibitions-Assays durchgeführt werden.

#### 3.1.4 Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde gezeigt, dass amphiphile Glycosylamide durch die Staudinger-Ligation sehr gut zugänglich sind. Es wurden insgesamt fünf unterschiedliche Glycosylamide, **11**, **12**, **13**, **14** und **16**, dargestellt, die sich im Kohlenhydratteil und in der anomeren Konfiguration unterscheiden. Hierbei wurden zwei Varianten der Staudinger-Ligation angewandt, die zu vergleichbaren Ergebnissen führten. Die vielfältigeren Einsatzmöglichkeiten bietet die Aktivester-Variante, da in diesem Fall auch chirale Verbindungen zum Aufbau von z. B. Glycosylaminosäure-Bibliotheken eingesetzt werden können.<sup>[118]</sup> Im Gegensatz dazu birgt die Verwendung von Säurechloriden die Gefahr der Racemisierung.

---

Die anschließende Vermessung der Glycosylamide mit der ITC im Hinblick auf Mizellbildung war wegen des Auftretens von Gelbildung nicht möglich. Andererseits konnten die synthetisierten Verbindungen für die Herstellung eingesetzt werden, die aber wiederum recht mangelhafte Stabilität in Biotests aufwiesen. Aussagekräftige Ergebnisse zur bakteriellen Adhäsion konnten damit nicht erhalten werden. Aufgrund dieser Misserfolge wurden dann andere amphiphile *O*-Glycosiden hergestellt, was in den folgenden Kapiteln näher beschrieben wird. Im Falle der *O*-Glucoside sind bereits in der Literatur erfolgreich ITC-Messungen zur Bestimmung der CMC an einigen Beispielen durchgeführt worden, so dass hier mehr Aussicht auf Erfolg war.

---

## 3.2 Amphiphile Glucoside und Galactoside

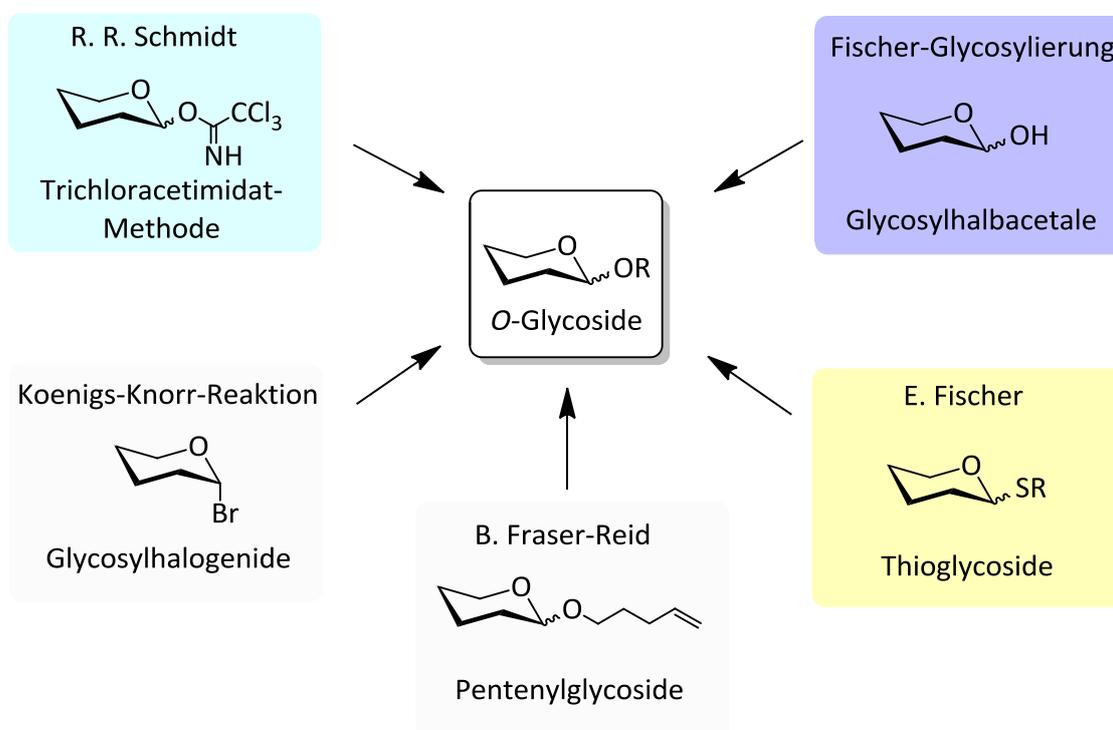
In den natürlichen Poly- und Oligosacchariden sind *O*-glycosidische Verknüpfungen die Regel.<sup>[8]</sup> Sie werden von einem hochregulierten System hochspezifischer Enzyme aufgebaut, wobei die *O*-glycosidische Bindungen durch Glycosyltransferasen geknüpft und durch Glycosidasen gespalten werden. Als Donorsubstrate für Glycosyltransferase-katalysierte Reaktionen sind zumeist Nucleosiddiphosphat- oder -monophosphat-funktionalisierte Zucker (sogenannte XDP-Zucker) notwendig, die regio- und stereospezifisch auf ein Akzeptorsaccharid übertragen werden.<sup>[15]</sup> Die natürlichen Enzyme lassen sich aber schlecht für die Synthese nichtnatürlicher Zielverbindungen einsetzen, was Limitationen für die biologisch-chemische Forschung impliziert. „Chemical Engineering“, wobei ein Teilaspekt die Anwendung genetisch veränderter Enzyme ist, brachte in diesem Zusammenhang große Erfolge.<sup>[139,140]</sup> Die klassische chemische Glycosidsynthese ist allerdings immer noch das Mittel der Wahl für den schnellen und gezielten Aufbau von *O*-Glycosiden.<sup>[141]</sup>

Erstmalig von MICHAEL<sup>[142]</sup> und FISCHER<sup>[143]</sup> durchgeführte Glycosylierungsreaktionen sind immer noch gängige Methoden zum Aufbau einfacher *O*-Glycoside. Weitere maßgebende Arbeiten folgten von KOENIGS und KNORR<sup>[144]</sup> bis hin zu der Trichloracetimidat-Methode nach SCHMIDT.<sup>[145]</sup> All diese Verfahren nutzen den Grundgedanken der chemischen Glycosidsynthese: Nach Aktivierung des anomeren Zentrums vollständig geschützter Zucker fungieren sie als Glycosyldonor und können von einem Alkohol (Glycosylakzeptor) unter Bildung eines Vollacetals (*O*-glycosidische Bindung) angegriffen werden. Die nach FISCHER benannte Fischer-Glycosylierung beinhaltet die säurekatalysierte Substitution am anomeren Zentrum. Aufgrund der reversiblen Eigenschaften dieses Typs von Reaktion ist sie allerdings nur von eingeschränktem Nutzen bei dem Aufbau komplizierterer Strukturen. Eine der berühmtesten Verfahren zur irreversiblen Knüpfung von *O*-Glycosiden ist die Koenigs-Knorr-Methode, bei der Glycosylhalogenide als Glycosyldonor eingesetzt werden. Nachteilig ist hierbei, dass Glycosylhalogenide wegen der guten Abgangseigenschaften der Halogenidsubstituenten verhältnismäßig instabil sind. Mit der Erzeugung eines stabileren Glycosyldonors hatte SCHMIDT bahnbrechenden Erfolg. In diesem Fall wurden *O*-Glycosyltrichloracetimide hergestellt und im Anschluss mit Lewis-Säuren als Promotor (Abbildung 16) effizient aktiviert. In den letzten Jahren sind weitere stereoselektive Verfahren der Glycosidsynthese auf der Basis von Thioglycosiden<sup>[146,147]</sup> als Glycosyldonoren vermehrt in den Focus gerückt. Vor allem die vielfältigen Aktivierungsmethoden zusammen

mit der größeren Stabilität gegen Schutzgruppenmodifikationen machen neuere Glycosyldonortypen für diverse Glycosylierungsreaktionen interessant (Abbildung 15).

Weitere stabile Glycosyldonorsysteme sind die *n*-Pentenylglycoside (NPG) von FRASER-REID,<sup>[148]</sup> die ebenfalls durch eine große Anzahl von Promotoren (Lewis-Säuren, Halogene, halogenierte Succinimide) aktiviert werden können. Die Donoreigenschaft kann hier auch durch Additions- und Eliminierungsreaktionen während der Syntheseroute reversibel beeinflusst werden.

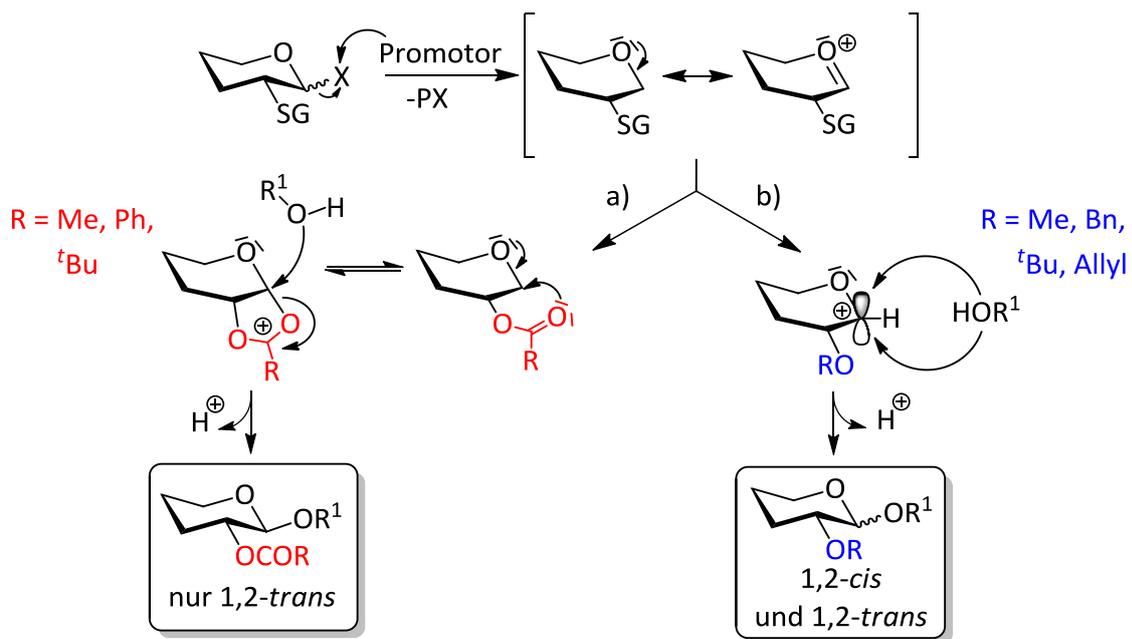
Die farbig unterlegten Methoden wurden in der vorliegenden Dissertation zum Aufbau einer Bibliothek von amphiphilen Octylglycosiden erfolgreich eingesetzt. Die unterschiedlichen Syntheserouten werden in den folgenden Kapiteln genauer erläutert.



**Abbildung 15:** Auswahl an Glycosylierungsmethoden zur Darstellung von O-Glycosiden; die farbig hervorgehobenen Methoden wurden im Rahmen dieser Dissertation zum Aufbau von O-Glycosiden erfolgreich eingesetzt.

### 3.2.1 Synthesekonzepte für Glykokonjugate unterschiedlicher anomerer Konfiguration

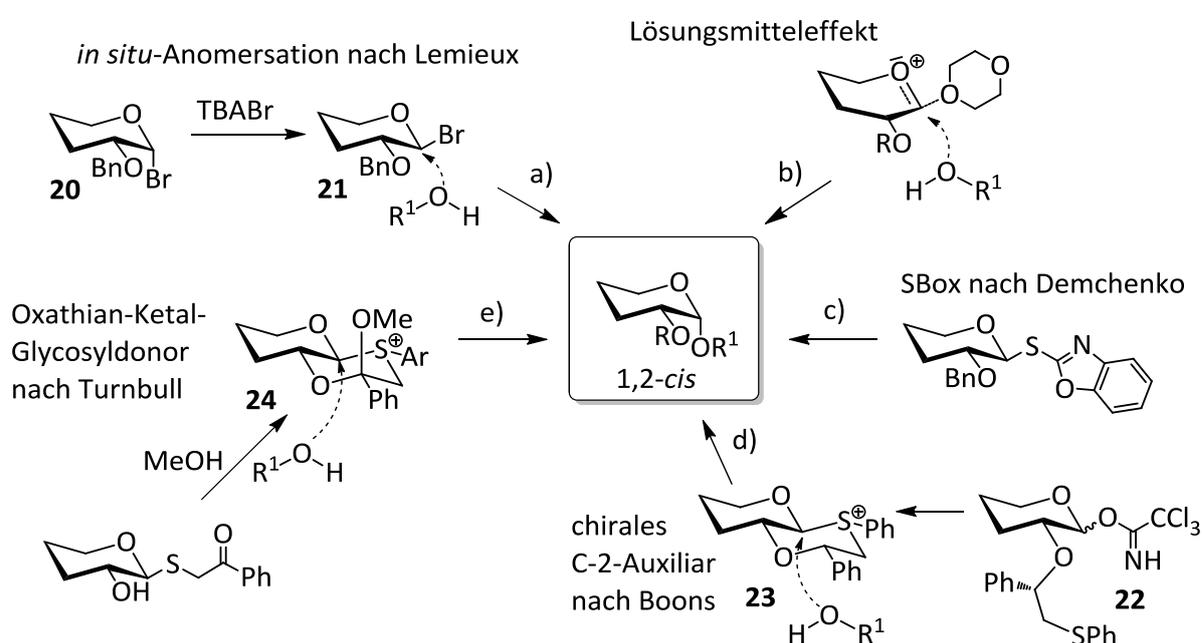
Bei der Glycosidsynthese ist die Kontrolle der anomeren Konfiguration des Produkts ein entscheidendes Problem. Hierzu finden sich in der Literatur unterschiedliche Lösungen, die je nach Zielkonfiguration verschieden kompliziert sind. Den einfachsten Fall stellt die Synthese von 1,2-*trans*-Glycosiden dar, wo mit Esterschutzgruppen (SG = Acetyl oder Benzoyl) in 2-Position gearbeitet wird (Abbildung 16a). Ausgenutzt wird in diesem Fall der Nachbargruppeneffekt der Schutzgruppe in 2-Position, der zum Tragen kommt, wenn am anomeren Zentrum eine Abgangsgruppe X durch Einwirken einer Promotorsubstanz (z. B. Lewis-Säuren) aktiviert und ein Oxocarbeniumion generiert wird. Dann bildet sich nach Angriff der Carboxylgruppe ein Acetoxoniumion, wodurch eine Seite der Ringebene (im Fall von Glc und Gal die  $\alpha$ -Seite) für den nucleophilen Angriff des Glycosylakzeptors blockiert ist.



**Abbildung 16:** Einfluss der Schutzgruppe an C-2-Position auf die Konfiguration des gebildeten Glycosids: a) Nachbargruppeneffekt von Esterschutzgruppen, b) ohne Nachbargruppeneffekt bildet sich ein Anomerengemisch, da keine Abschirmung einer Kohlenhydratseite erfolgt; R<sup>1</sup> = beliebiges Aglycon.

Ist keine Esterschutzgruppe an 2-Position vorhanden, die einen Nachbargruppeneffekt ausüben kann, wird ein Anomerengemisch (1,2-*cis* und 1,2-*trans*) erhalten, weil der nucleophile Angriff sowohl von der  $\alpha$ - als auch von der  $\beta$ -Seite erfolgen kann (Abbildung 16b). Das Anomenenverhältnis des Produkt-Glycosids ist variiert abhängig von sterischen und elektronischen Effekten, wie der Konfiguration der Hydroxylgruppe in

2-Position und dem anomeren Effekt. Somit ist eine stereoselektive Synthese von 1,2-*cis*-Glycosiden eine anspruchsvollere Aufgabe. Mitte der 70er Jahre entwickelte LEMIEUX<sup>[149]</sup> das Konzept der „*in situ*-Anomerisierung“ mit benzylierten Glycosylbromiden, welches in hoher Ausbeute 1,2-*cis*-Glycoside unter kinetisch kontrollierten S<sub>N</sub>2-Reaktionsbedingungen liefert. Reaktive Spezies ist in diesem Fall das hochreaktive β-Glycosylbromid **21**, welches bei Anwesenheit von TBABr *in situ* aus dem entsprechenden α-Anomer **20** gebildet wird (Abbildung 17a). Diese Methode funktioniert nur für die Synthese von α-Glucosiden gut. Außerdem treten instabile Intermediate während der Reaktion auf, wodurch nachweislich unerwünschte Nebenprodukte (auch 1,2-*trans*-Glycoside) gebildet werden.



**Abbildung 17:** Mögliche Konzepte zur Synthese von 1,2-*cis*-Glycosiden: a) S<sub>N</sub>2-Reaktion nach „*in situ*-Anomerisierung“ von α-Glycosylbromiden,<sup>[149]</sup> b) Ausnutzung von Lösungsmittelleffekten,<sup>[150]</sup> c, d, e) Methoden zur stereoselektiven 1,2-*cis*-Glycosylierung,<sup>[151-153]</sup> wobei bei d) und e) mit Intermediaten vom *trans*-Decalin-Typ (**23**, **24**) gearbeitet wird; R<sup>1</sup> = beliebiges Aglycon.

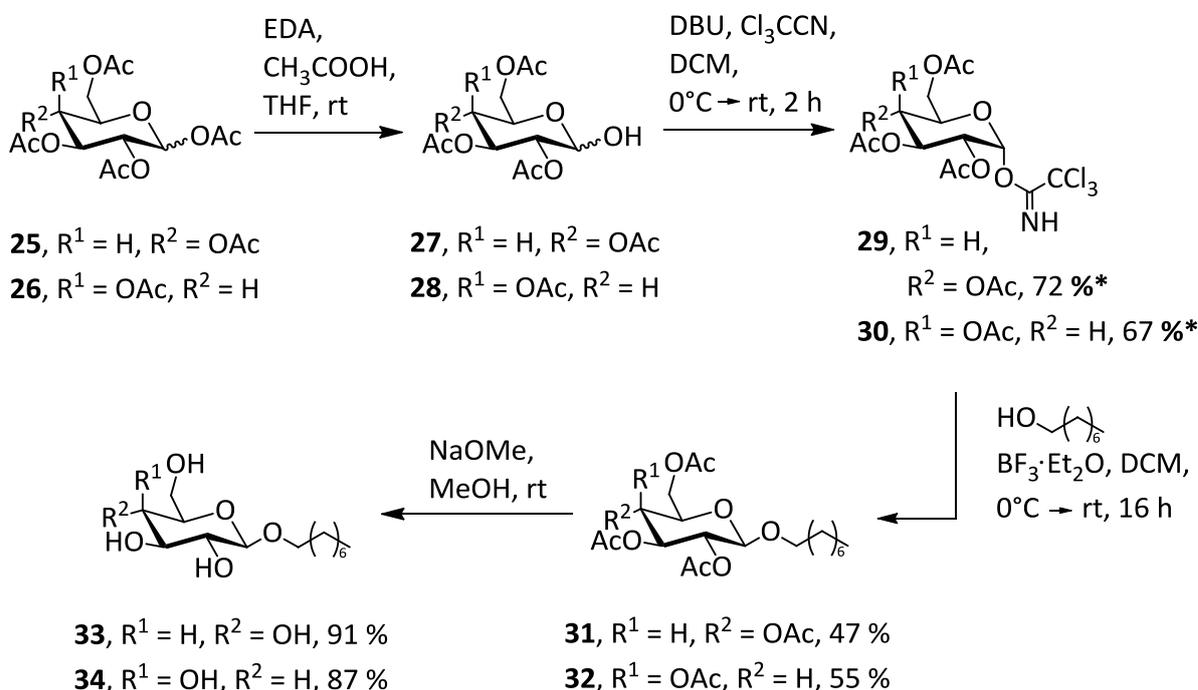
Neben Schutzgruppe und Abgangsgruppe hat auch das gewählte Lösungsmittel einen Einfluss auf das Resultat einer Glycosidsynthese.<sup>[150]</sup> Bei der Verwendung von Ethern (Abbildung 17b) konnte ein hoher Anteil an 1,2-*cis*-Produktbildung beobachtet werden. Neuere Forschungsarbeiten verbesserten die Stereoselektivität der 1,2-*cis*-Glycosylierung unter Verwendung spezieller Abgangsgruppen bzw. Aktivierungsmechanismen, die hohe Ausbeuten liefern.<sup>[154]</sup> Neben der „SBox-Methode“ von DEMCHENKO<sup>[151]</sup> (Abbildung 17c) sind in den letzten Jahren besonders Zuckerderivate vom *trans*-Decalin-Typ als Glycosyldonoren entwickelt worden. Großen Erfolg hatten hier BOONS und Mitarbeiter,<sup>[152]</sup> die ein chirales

Auxiliar an der 2-Position von **22** eingeführt, welches über die *trans*-Decalin-Typ-Zwischenstufe **23** zum 1,2-*cis*-Glycosid führt (Abbildung 17d). Dem gleichen Motiv folgte auch TURNBULL,<sup>[153,155]</sup> dem es gelang, mit einem Oxathian-Ketal-Glycosyldonor **24** hoch stereoselektive 1,2-*cis*-Glycosid-Synthesen durchzuführen (Abbildung 17e). Letztere Methode hat den Vorteil, dass der *trans*-Decalin-Bicyclus vor der eigentlichen Glycosylierung gebildet wird und dadurch eine Vororientierung des angreifenden Nucleophils ( $R^1OH$ ) gegeben ist. Die TURNBULL-Methode wird im Folgenden für die Herstellung von  $\alpha$ -Glucosiden und  $\alpha$ -Galactosiden näher erläutert, während die Synthese von 1,2-*cis*-Mannosiden an anderer Stelle beschrieben wird (s. Kapitel 3.3), da sie sich von der Herstellung der  $\alpha$ -Glucoside und  $\alpha$ -Galactoside unterscheidet.

### 3.2.2 Synthese von Alkyl-1,2-*trans*-Glycosiden

Die Synthese der Alkyl-1,2-*trans*-Glycoside der Glucose und Galactose erfolgte nach der klassischen Trichloracetimidat-Methode von SCHMIDT<sup>[145]</sup> und PAULSEN.<sup>[156]</sup> Hierzu wurden die entsprechenden *O*-Glycosyltrichloracetimide **29** und **30** nach literaturbekannten Methoden<sup>[157,158]</sup> in zwei Schritten erhalten (Schema 7). Diese wurden unter Verwendung von  $BF_3$ -Etherat als Promotor in der folgenden 1,2-*trans*-Glycosylierung weiter umgesetzt. Die Synthese verlief unproblematisch, allerdings in moderaten Ausbeuten von 47 % für **31** und 55 % für **32**. Die geringen Ausbeuten bei der Glycosylierung sind auf die geringe Reaktivität des Glycosylakzeptors zurückzuführen, wobei nach erfolgter Reaktion keine Rückstände des Startmaterials beobachtet werden konnten. Der Glycosylakzeptor wurde aufgrund seiner geringeren Reaktivität im Überschuss (2.1 eq.) eingesetzt. Für Trichloracetimide ist weiterhin bekannt, dass bei der Glycosylierung mit reaktionsträgen Glycosylakzeptoren bei Anwesenheit von Lewis-Säuren eine Umlagerung zum Glycosyltrichloracetamid erfolgen kann, das keine Glycosyldonoreigenschaften mehr besitzt.<sup>[15]</sup> Diese Nebenreaktion konnte experimentell nicht nachgewiesen werden, ist allerdings aber aufgrund der Vielzahl an Spots des Reaktionsgemisches, die durch Dünnschichtchromatographie festgestellt worden sind, nicht auszuschließen. Darüber hinaus konnten in früheren Arbeiten teilweise entschützte Produkte massenspektrometrisch per MALDI-ToF-MS nachgewiesen werden.<sup>[159]</sup> Da ausreichende Mengen an Substanzen im Grammaßstab erhalten werden konnten, wurde von einer Optimierung der Reaktion

abgesehen. Im Anschluss wurden die acetylierten Produkte nach Zemplén<sup>[127]</sup> entschützt und die Zielglycoside **33** und **34** in sehr guten Ausbeuten von 91 % und 87 % isoliert.



**Schema 7:** Synthese der *O*-Glycosyltrichloracetimide **29**, **30** aus den Pentaacetaten **25**, **26** und anschließende Darstellung der Octylglycoside **33**, **34**; \* Ausbeute über zwei Stufen.

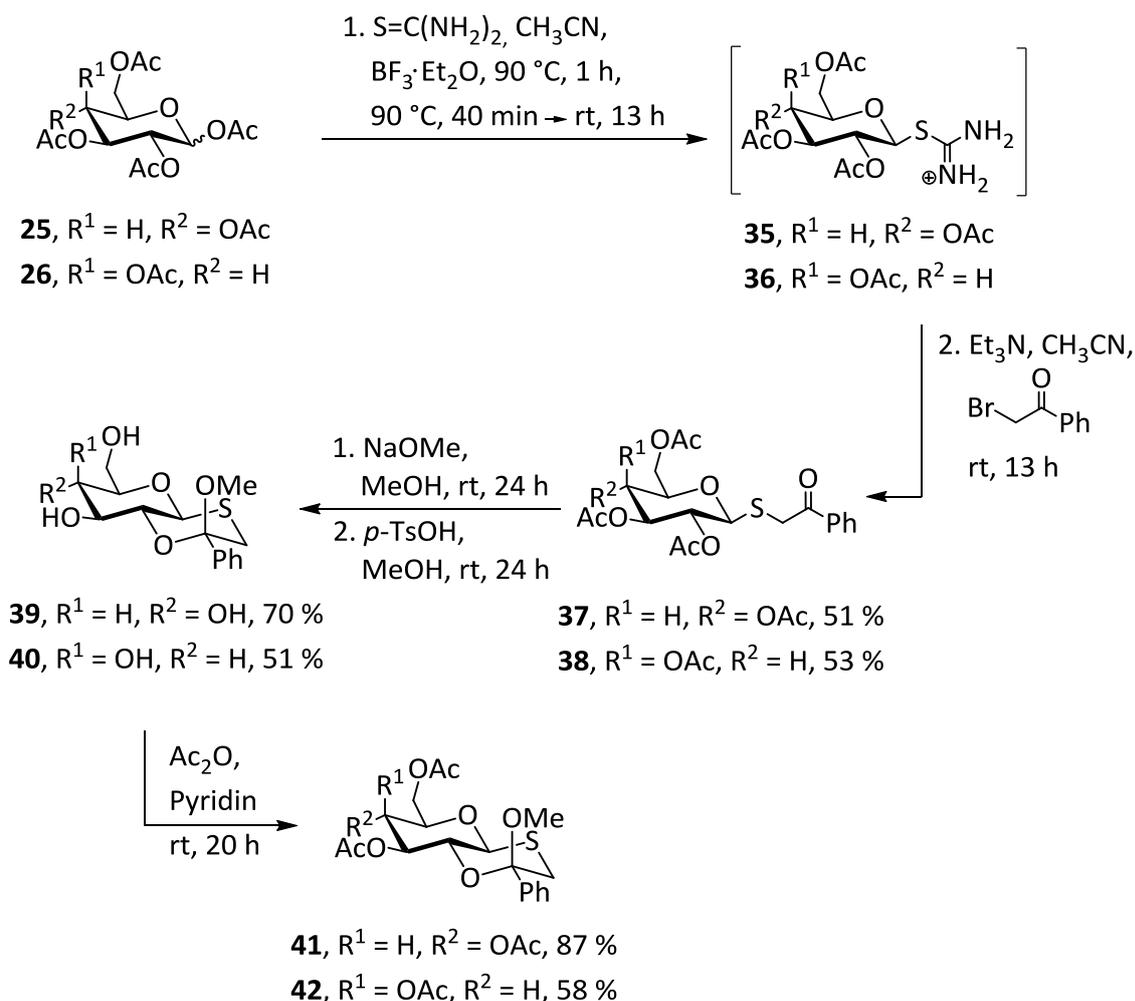
### 3.2.3 Synthese von sterisch gehinderten Alkyl-1,2-*cis*-Glycosiden

Um eine hohe Ausbeute an 1,2-*cis*-Glycosiden ( $\alpha$ -Glucoside oder  $\alpha$ -Galactoside) zu erzielen, wurde ein Syntheseweg eingeschlagen, der eine stereoselektive Glycosylierungsreaktion erlaubt. Zur Auswahl standen somit das Synthesekonzept von BOONS,<sup>[152]</sup> welches Verwendung eines klassischen chiralen Auxiliars beinhaltet und dessen Weiterentwicklung durch FASCIONE und TURNBULL.<sup>[153]</sup> Vergleicht man die beiden Ansätze stellt die Synthese des Oxathian-Ketal-Glycosyldonors nach TURNBULL die schnellere Route zu 1,2-*cis*-Glycosiden dar, wobei hier das *trans*-Decalin-System, welches für die abschließende stereoselektive Glycosylierung nötig ist, in stabiler Form zu Beginn der Synthese eingebracht wird.

Nach der Strategie von FASCIONE und TURNBULL<sup>[153]</sup> wurde zuerst ausgehend von peracetylierter *D*-Glucopyranose **25** und *D*-Galactopyranose **26** eine Eintopfreaktion durchgeführt (Schema 8), bei der zunächst ein *S*-Glycosylthiuronium-Salz **35** bzw. **36** gebildet wird, welches anschließend zum *S*-Glycosid weiter reagiert.<sup>[160]</sup> Die Ausbeuten von

### 3.2 Amphiphile Glucoside und Galactoside

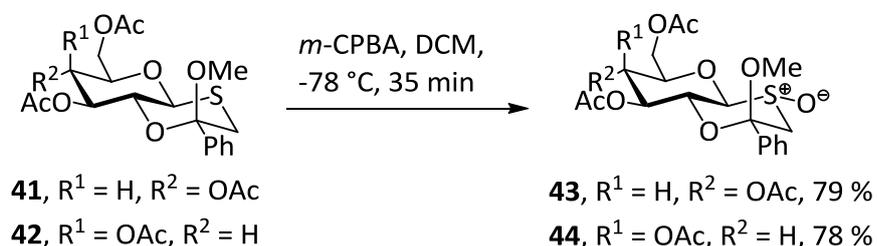
51 % für **37** bzw. 53 % für das *S*-Galactosid **38** sind vergleichbar mit der Literatur. Die so erhaltenen Thioglycoylacetophenone **37** und **38** wurden weiter umgesetzt zu dem Glucosederivat **39** und dem Galactosederivat **40**, wobei gute bis moderate Ausbeuten von 70 % bzw. 51 % erzielt wurden. Diese zweistufige Reaktionssequenz besteht aus Zemplén-Entschützung<sup>[127]</sup> und nachfolgender sauerkatalysierter Cyclisierung in Methanol zum Oxathian. Die Acetylierung von **39** und **40** erfolgte im Anschluss an die Oxathianbildung. Die jeweiligen acetylierten Produkte **41** und **42** wurden in Ausbeuten von 87 % und 58 % isoliert.



**Schema 8:** Synthese der *O*-acetylierten Glucosyl oxathiane **41** und **42** nach FASCIONE und TURNBULL.<sup>[153]</sup>

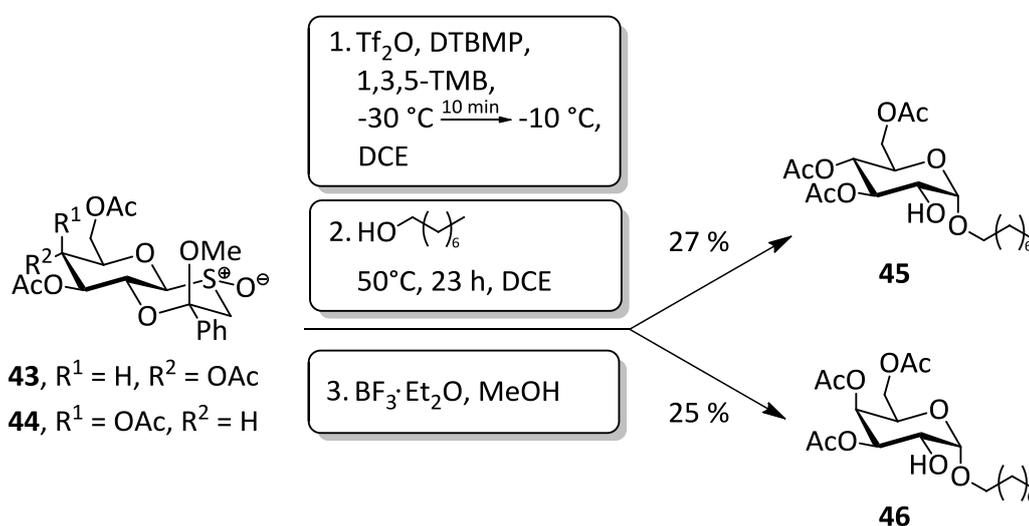
Nach erfolgreicher Synthese der Oxathian-Bausteine **41** und **42** war als Voraussetzung für die Aktivierung während der Glycosylierung eine Oxidation der Schwefelfunktion notwendig. Als Oxidationsmittel wurde *m*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) verwendet, wodurch die Sulfoxide **43** und **44** in guten Ausbeuten von 78 % und 79 % dargestellt werden konnten

(Schema 9). Es wurde in beiden Fällen die Bildung nur eines Diastereomeres, das (*R*)-Sulfoxid, beobachtet.



**Schema 9:** Darstellung der Sulfoxide **43** und **44** mittels Oxidation ausgehend von den Oxathianen **41** und **42**.

Die auf diese Weise dargestellten Sulfoxide **43** und **44** standen im nächsten Syntheseschritt für die stereoselektive 1,2-*cis*-Glycosylierung zur Verfügung. Der Glycosyldonor-Baustein wurde mit Triflourmethansulfonsäureanhydrid (Tf<sub>2</sub>O) in Anwesenheit einer Stickstoffbase (hier: DTBMP) aktiviert, der *in situ* mit 1,3,5-Trimethoxybenzol (1,3,5-TMB) zu einer aktivierten Zwischenstufe weiter reagiert (Schema 11). Letztere wird mit 1-Octanol zum entsprechenden 1,2-*cis*-Glucosid **45** und 1,2-*cis*-Galactosid **46** in Ausbeuten von 27 % und 25 % umgesetzt (Schema 10).

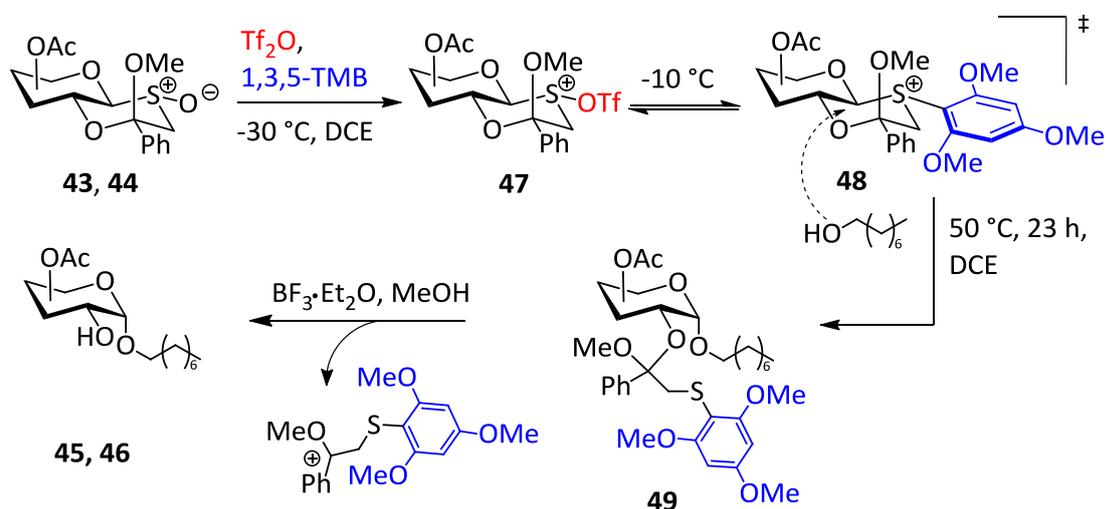


**Schema 10:** Darstellung des 1,2-*cis*-Glucosids **45** und 1,2-*cis*-Galactosids **46** nach der TURNBULL-Methode.<sup>[153]</sup>

Diese komplexe Reaktion besteht aus drei aufeinander folgenden Teilreaktionen, deren postulierter Mechanismus literaturbeschrieben ist (Schema 11).<sup>[153]</sup> Zuerst wird bei tiefer Temperatur (-30 °C) durch Aktivierung mit Tf<sub>2</sub>O ein Triflyoxyl-Sulfoniumion **47** gebildet. Die Temperatur wird über einen Zeitraum von 10 min auf -10 °C erhöht, wodurch eine

### 3.2 Amphiphile Glucoside und Galactoside

elektrophile aromatische Substitution des elektrophilen Schwefelatoms von **47** mit 1,3,5-TMB vermehrt erfolgt und das Gleichgewicht der Aktivierung in Richtung der Arylsulfonium-Spezies **48** verschoben wird, welche bei  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  die dominierende Spezies ist. Im Anschluss wird **48** nucleophil vom Glycosylakzeptor auf der nicht abgeschirmten  $\alpha$ -Seite angegriffen. Abschließend wird die auxiliäre Gruppe des glycosylierten Intermediats **49**, die nun an der 2-Position gebunden ist, mit  $\text{BF}_3$ -Etherat in Methanol abgespalten. Die gebildeten Produkte **45** bzw. **46** besitzen an der 2-Position eine freie Hydroxylfunktion, die dann wiederum für eine erneute Reaktion als Glycosylakzeptor zur Verfügung steht, was eine interessante potentielle Fortführung der Reaktionssequenz ist. Durch Entschützung unter Zemplén-Bedingungen<sup>[127]</sup> würden die freien 1,2-*cis*-Glycoside gebildet werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde dieser letzte Schritt nicht mehr durchgeführt.

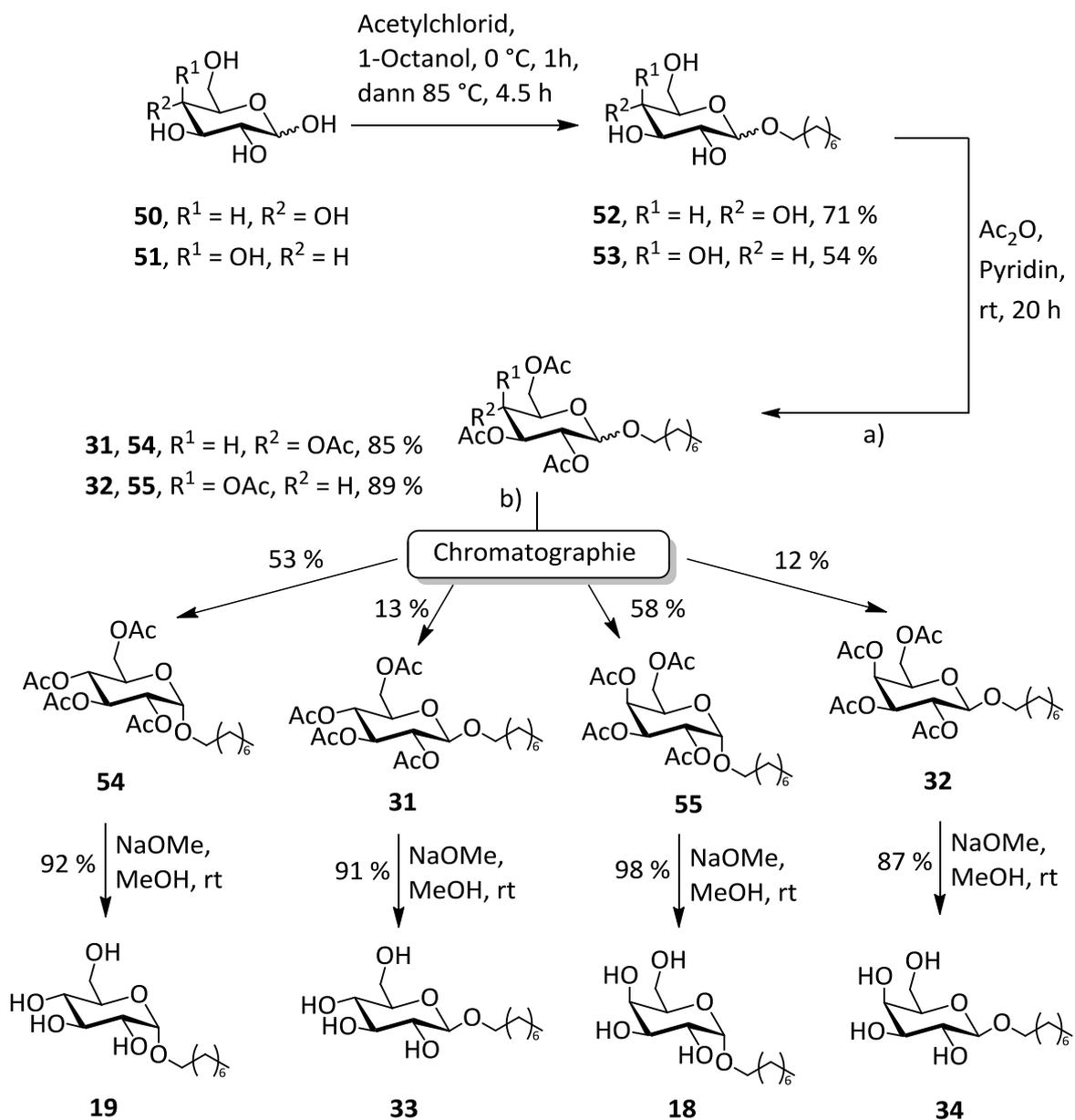


**Schema 11:** Mechanismus der 1,2-*cis*-Glycosylierung ausgehend vom Oxathian-funktionalisierten Glycosyldonor **43** bzw. **44**.

Die wenig zufriedenstellenden Ausbeuten von 27 % für das 1,2-*cis*-Glucosid **45** und 25 % für das 1,2-*cis*-Galactosid **46** verlangten jedoch das Erarbeiten einer alternativen Syntheseroute. Eine andere Möglichkeit zur Synthese einfacher  $\alpha$ -Glycoside ist die säurekatalysierte Fischer-Glycosylierung mit anschließender Anomertrennung durch Säulenchromatographie. Der Glycosylakzeptor wird hierbei gleichzeitig als Lösungsmittel eingesetzt. Diese recht einfache Methode erlaubt es im Grammmaßstab die gewünschten Produkte in ausreichender Menge darzustellen, was eine erhebliche Zeitersparnis bedeutet. Da bei dieser Reaktion neben dem an dieser Stelle beschriebenen 1,2-*cis*-Glycosid auch das *trans*-Produkt gebildet wird, stehen

nach der säulenchromatographischen Trennung beide anomeren *O*-Glycoside für weitere Anwendungen zur Verfügung.

Die Synthese von Octyl- $\alpha$ -galactosid **18** und Octyl- $\alpha$ -glucosid **19** wurde nach WINNIK et al.<sup>[161]</sup> in abgeänderter Form durchgeführt (Schema 12).



**Schema 12:** a) Fischer-Glycosylierung und anschließende Acetylierung zur Synthese von **31**, **32**, **54** und **55**; b) Chromatographische Trennung der *O*-acetylierten Anomerengemische und Deacetylierung zur Darstellung der Octylglucoside **19**, **33** und Octylgalactoside **18**, **34**.

Die Fischer-Glycosylierung von D-Glucose **50** und D-Galactose **51** verlief in moderaten bis guten Ausbeuten von 54 % und 71 %, wobei in beiden Fällen ein  $\alpha,\beta$ -Anomerenverhältnis

von 3:1 festgestellt wurde. Die Aufarbeitung dieser Produkte war mit einigem experimentellem Aufwand verbunden, da das hochsiedende 1-Octanol (Sdp.: 192-193 °C)<sup>[162]</sup> eingesetzt wurde, das schwieriger aus der Reaktionsmischung zu entfernen war. Als Lösung für dieses Problem wurden eine erhöhte Temperatur (70 °C) während des Entfernens des Lösungsmittels 1-Octanol und ein Vakuum von 12 mbar gewählt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung der Rohprodukte wurden **52** und **53** jeweils als Anomergemisch erhalten. Diese wurden zur leichteren Anomerentrennung an Kieselgel acyliert, wobei gute Ausbeuten von 85 % (**31**, **54**) bzw. 89 % (**32**, **55**) erzielt wurden. Die Anomerentrennung mittels Säulenchromatographie an Kieselgel war dann aber unproblematisch, allerdings wurde auch ein gewisser Teil an Mischfraktion isoliert, weil die Produkte sehr ähnliche  $R_f$ -Werte aufwiesen. Dennoch standen ausreichende Mengen reiner Produkte für die folgenden Untersuchungen zur Verfügung.

Nach Entschützung unter Zemplén-Bedingungen<sup>[127]</sup> konnten schließlich die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere der Glucose- und Galactoseserie, **18**, **19**, **33** und **34**, in sehr guten Ausbeuten von 87 % bis 98 % isoliert werden. Für die hier benötigten einfachen Monosaccharide erwies sich der Syntheseweg über die Fischer-Glycosylierung als zielführend. Die oben beschriebene stereoselektive Synthese (Schema 10) ist jedoch zu bevorzugen, falls komplexere Saccharid-Bausteine, wie z. B. Di- und Trisaccharide, das Ziel der Synthese sind. Dann ist die Anwendung der Fischer-Glycosidsynthese ausgeschlossen und die aufwändige Erstellung eines speziellen Schutzgruppenmusters für die Herstellung der Oxathian-funktionalisierten Glycosyldonoren **43** bzw. **44** gerechtfertigt.

### 3.2.4 Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel

Ziel dieses Kapitels der Arbeit war die Synthese von amphiphilen Glucosiden und Galactosiden unterschiedlicher anomerer Konfiguration, was zu den Zielglycosiden **18**, **19**, **33** und **34** führte. Die 1,2-*trans*-Glycoside **33** und **34** konnten durch Einsatz der Trichloracetimidat-Methode nach SCHMIDT<sup>[145]</sup> unkompliziert und stereospezifisch dargestellt werden. Bei den 1,2-*cis*-Glycosiden wurde nach zwei unterschiedlichen Varianten verfahren: Zuerst wurde das Synthesekonzept einer stereoselektiven 1,2-*cis*-Glycosylierung nach TURNBULL et al.<sup>[153]</sup> verfolgt. Hierzu wurden die jeweils erforderlichen Oxathian-Ketal-Glycosyldonoren **43** und **44** in einer vier- bis fünfstufigen Synthese erfolgreich dargestellt,

---

welche im Anschluss durch stereoselektive Glycosylierungsreaktionen zu den 1,2-*cis*-Glycosiden **45** und **46** umgesetzt wurden (vgl. Schema 10). Die Gesamtausbeute dieser Route war jedoch zu gering, um mit den erhaltenen Verbindungen weitere Untersuchungen durchzuführen zu können. Aus diesem Grund wurde eine alternative, kürzere Syntheseroute durchgeführt. Durch die Fischer-Glycosylierung mit anschließender *O*-Acetylierung zur Erleichterung der säulenchromatographischen Trennung der gebildeten  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere, konnten die  $\alpha$ -Glycoside schneller und vor allem im größeren Maßstab erhalten werden (vgl. Schema 12). Diese standen nun für biophysikalische Untersuchungen bereit (s. Kapitel 3.4). Um trotz der Reversibilität der Fischer-Glycosylierung Glycoside zu erhalten, muss der Glycosylakzeptor in großem Überschuss bzw. als Lösungsmittel eingesetzt werden. Sind komplexere Saccharidstrukturen Ziel der Synthese, ist die Fischer-Glycosylierung keine Option und dann ist allerdings eine stereoselektive und aufwändige Variante von Vorteil.

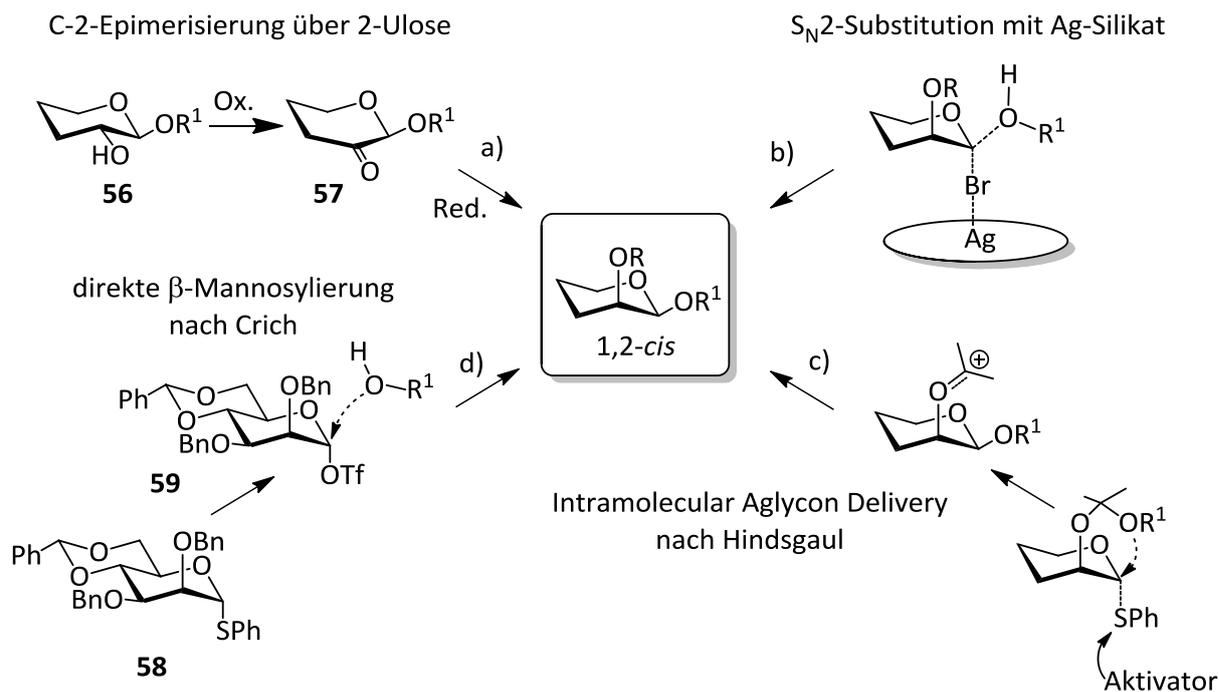
---

### 3.3 Amphiphile Mannoside

In der Natur sind  $\beta$ -Mannoside in einer Vielzahl von Strukturelementen (z. B. Serum- und Membranglycoproteinen) zu finden. Ein prominentes Beispiel ist die Kern-Region der *N*-Glycoproteine (vgl. Abbildung 3), in denen die  $\beta$ -Mannosyl-chitobiose enthalten ist.<sup>[20]</sup> Die Synthese von  $\beta$ -Mannosiden erfordert allerdings eine andere Strategie als im vorangegangenen Kapitel für die 1,2-*cis*-Glucoside und Galactoside beschrieben.

1,2-*trans*-Mannoside sind mittels Nachbargruppenbeteiligung der 2-Position stereospezifisch gut zugänglich. Im Gegensatz hierzu ist die Synthese von 1,2-*cis*-Mannosiden schwer, weil sowohl der anomere Effekt als auch der sterische Faktor der axial stehenden Hydroxylgruppe an 2-Position einer  $\beta$ -Glycosylierung der Mannose entgegenwirken. Im Weiteren werden einige bekannte Verfahren zur  $\beta$ -Mannosylierung beschrieben.<sup>[163]</sup>

Eine geläufige Methode ist die Epimerisierung an der 2-Position, bei der zuerst das 1,2-*trans*-Glucosid **56** stereospezifisch synthetisiert wird und danach die Hydroxylgruppe an 2-Position oxidiert und das 2-Ulose-Derivat **57**<sup>[164]</sup> erhalten wird, das in einem anschließenden Reduktionsschritt zum Mannosid epimerisiert wird (Abbildung 18a).<sup>[165]</sup> Eine weitere Möglichkeit ist der Einsatz von  $\alpha$ -Mannosylbromid als Glycosyldonor unter Verwendung von Silbersilikaten als Promotoren nach PAULSEN. Hierbei erfolgt eine  $S_N2$ -Substitution unter Inversion der Konfiguration am anomeren Zentrum (Abbildung 18b).<sup>[166]</sup> Nachteilig hierbei ist der Gebrauch von Schwermetallsalzen und deren Abtrennung. Eine andere Strategie von HINDSGAUL führt das Aglykon vor der Glycosylierung des anomeren Zentrums an der 2-Position in das Mannosid ein (Abbildung 18c). Diese Vororientierung hilft bei der anschließenden intramolekularen Glycosylierung und führt stereospezifisch zu  $\beta$ -Mannosiden (IAD, *Intramolecular Aglycon Delivery*).<sup>[167,168]</sup> Neuere Ansätze entwerfen spezielle Glycosyldonorsysteme, um direkte stereoselektive 1,2-*cis*-Glycosylierungen an Mannosiden durchzuführen. KAHNE<sup>[169]</sup> führte hier ein stereoselektives Glycosylierungsverfahren ein, welches von CRICH<sup>[170-172]</sup> weiterentwickelt wurde. Dieses Verfahren bildet *in situ* aus Mannosylsulfoxiden oder Thioglycosiden **58**  $\alpha$ -Mannosyltriflate **59** als reaktive Intermediate, die durch eine Aktivierung mit z. B. BSP und Trifluormetansulfonsäureanhydrid bei Anwesenheit von TTBP zum Glycosid führt (Abbildung 18d).<sup>[173]</sup> Wichtig ist hier, dass nach einem  $S_N2$ -Mechanismus die axiale Abgangsgruppe am anomeren Zentrum gleichzeitig mit dem Angriff des Alkohols  $R^1OH$  von der  $\beta$ -Seite des Zuckerrings abgespalten wird.

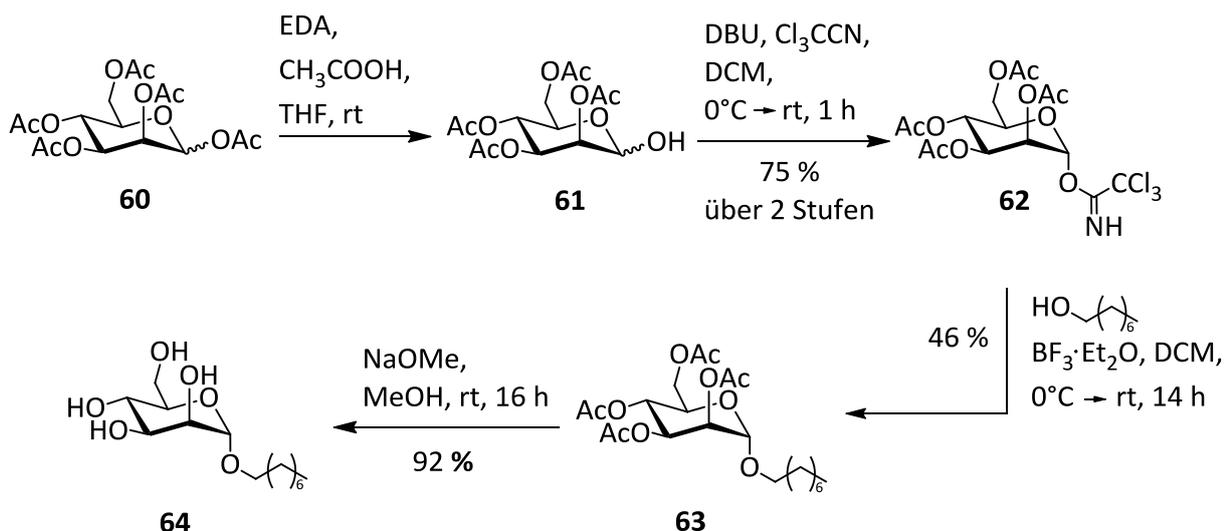


**Abbildung 18:** Konzepte für die Synthese von  $\beta$ -Mannosiden: a) C-2-Epimerisierung;<sup>[165]</sup> b) Einsatz von Silbersilikaten nach PAULSEN;<sup>[166]</sup> c) IAD nach HINDSGAUL (Tebbe-Reaktion und Aglycon-Einführung<sup>[168]</sup> der Übersichtlichkeit halber weggelassen); d) CRICH-Methode mit stabilen Thioglycosiden, R<sup>1</sup> = beliebiges Aglycon (abgewandelte Grafik nach EL ASHRY et al.<sup>[163]</sup>).

### 3.3.1 Synthese der Octyl-1,2-*trans*-Mannoside und -1,2-*cis*-Mannoside

Die Synthese des Octyl- $\alpha$ -D-mannosids **17** wurde wie oben beschrieben nach der Trichloracetimidat-Methode von SCHMIDT<sup>[145]</sup> durchgeführt. Das *O*-Mannosyltrichloracetimidat **62**<sup>[174]</sup> wurde nach literaturbekannter Methode erhalten und unter Einsatz von BF<sub>3</sub>-Etherat als Lewis-Säure zum acetylierten Mannosid **63** weiter umgesetzt, wobei eine moderate Ausbeute von 46 % erzielt wurde. Nach Zemplén-Entschützung<sup>[127]</sup> wurde das amphiphile Mannosid **17** in 92 %iger Ausbeute isoliert. Diese Synthesesequenz kann sowohl in Milligramm- als auch im Grammaßstab in vergleichbaren Ausbeuten durchgeführt werden (Schema 13).

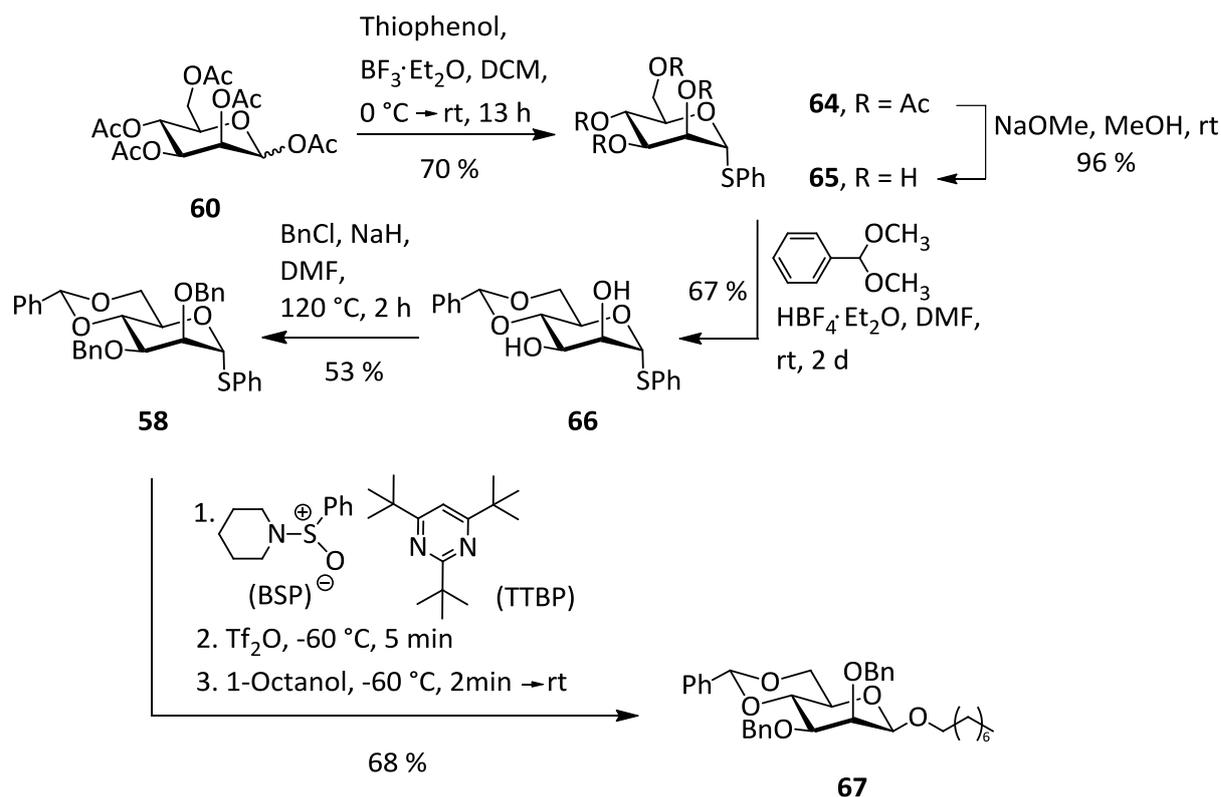
### 3.3 Amphiphile Mannoside



**Schema 13:** Synthese des Octyl- $\alpha$ -D-mannosids **17** nach der Trichloracetimidat-Methode ausgehend vom Pentaacetat **60**.

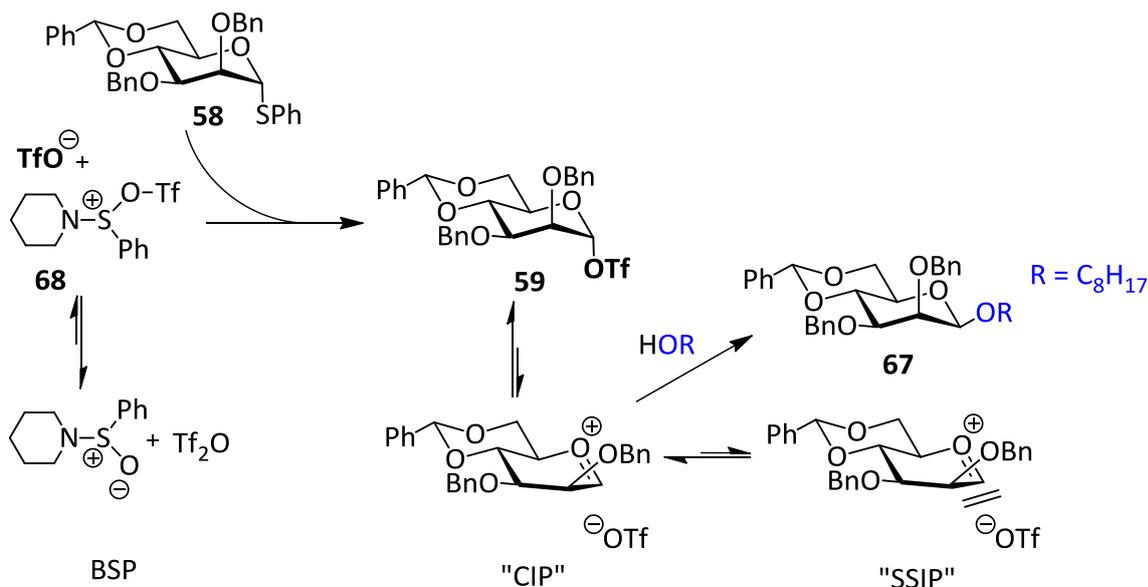
Zur Synthese der 1,2-*cis*-Mannoside wurde nach der Synthesestrategie von CRICH<sup>[173]</sup> vorgegangen, da diese im Vergleich zu anderen Verfahren eine hochselektive und vielfältig einsetzbare Methode ist. Als Glycosyldonor wurde hier ein 4,6-Benzyliden-2,3-benzylgeschütztes S-Mannosid **58** hergestellt, welches ein äußerst robustes und stabiles Mannose-Derivat darstellt (Schema 14). Ausgehend von Mannosepentaacetat **60** wurde eine Glycosylierungsreaktion mit Thiophenol als Glycosylakzeptor durchgeführt, wodurch das acetylierte Thioglycosid **64** in guter Ausbeute von 70 % isoliert werden konnte. Nach Deacetylierung wurde in zwei aufeinander folgenden Schritten zuerst eine Benzylidenschutzgruppe in 4,6-Position eingeführt und anschließend die verbliebenen Hydroxylgruppen in 2- und 3-Position benzyliert. Beide Schützungschritte verliefen in guten bis befriedigenden Ausbeuten von 67 % und 53 %.

Im Anschluss folgte die stereoselektive 1,2-*cis*-Mannosylierung nach einer adaptierten Vorschrift von CRICH.<sup>[173]</sup> Hierzu wurde das Thiomannosid **58** mittels einer Kombination von BSP und  $\text{Tf}_2\text{O}$  aktiviert und *in situ* mit dem Glycosylakzeptor 1-Octanol zum  $\beta$ -Mannosid **67** umgesetzt (Schema 14). Die Stickstoffbase TTBP dient hier als Säurefänger. Das Produkt konnte nach säulenchromatographischer Aufreinigung in guter Ausbeute von 68 % isoliert werden.



**Schema 14:** Darstellung des vollständig geschützten Thiomannosids **58** und dessen Glycosidierung zu **67**.

Der Mechanismus der  $\text{CRICH-}\beta$ -Mannosylierung<sup>[175]</sup> verläuft entlang einer Abfolge von Teilreaktionsschritten, wobei viele der beteiligten Intermediate belegt werden konnten<sup>[175]</sup>: BSP und  $\text{Tf}_2\text{O}$  bilden bei tiefen Temperaturen ein vorgelagertes Gleichgewicht, welches hauptsächlich auf Seiten der Startkomponenten liegt (Schema 15). Allerdings ist das Salz **68** stark thiophil und bildet mit dem Thiomannosid **58** das reaktive Mannosyltriflat **59**. Letzteres steht im Gleichgewicht mit dem CIP (*Contact Ion Pair*,  $\beta$ -Selektivität) und dem SSIP (*Solvent Separated Ion Pair*,  $\alpha$ -Selektivität), wobei das Gleichgewicht in diesem Fall auf der CIP-Seite liegt. Dies dürfte an der 4,6-Benzylidenschutzgruppe liegen, welche die freie Rotation der 6-Hydroxylgruppe blockiert und einen elektronenziehenden Effekt bewirkt. Dieser destabilisiert das gebildete Oxocarbeniumion.<sup>[176]</sup> Hierdurch kann das Gleichgewicht in Richtung des kovalenten Mannosyltriflats und des CIP-Intermediats verschoben werden;  $\beta$ -Selektivität ist die Folge. Studien zum  $\alpha$ -kinetischen Isotopeneffekt favorisieren den CIP-Reaktionsverlauf.<sup>[177]</sup>

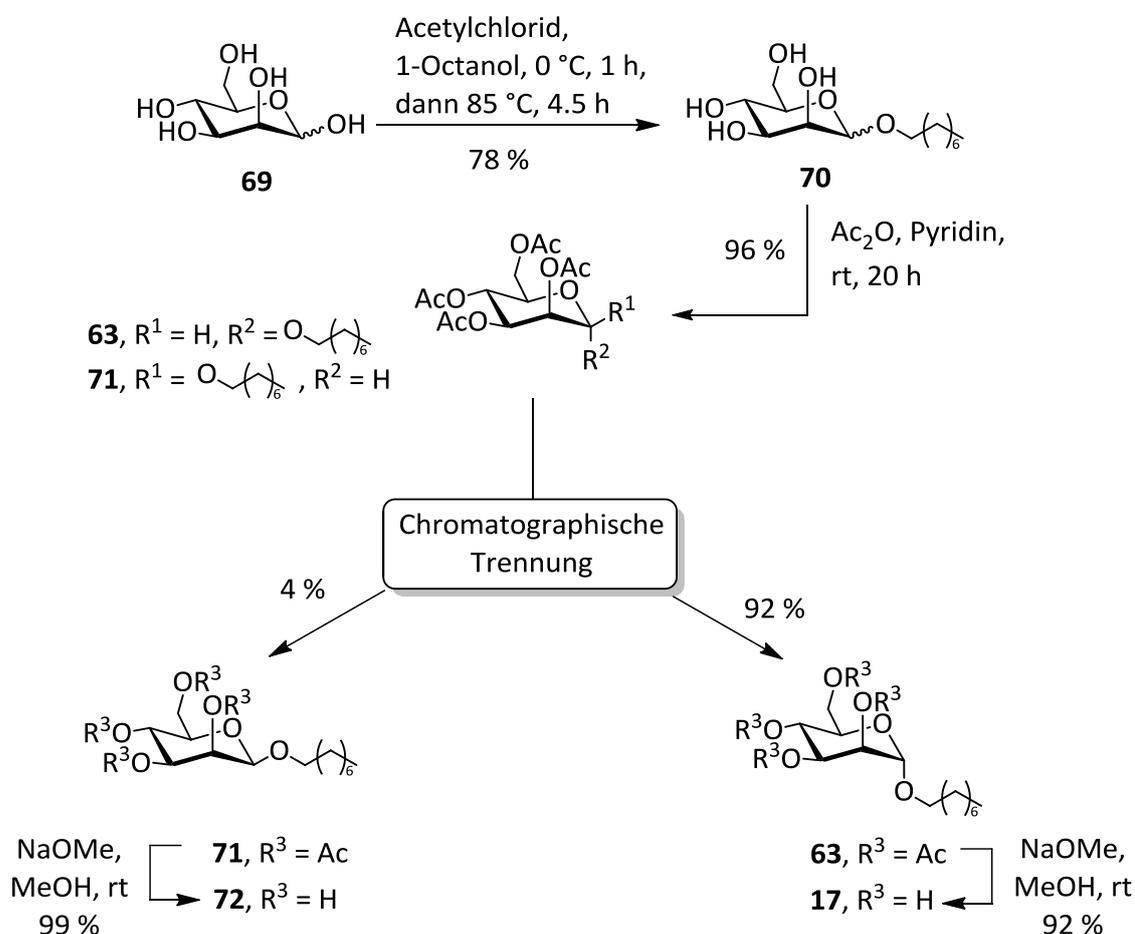


**Schema 15:** Mechanismus der Aktivierung von Thiomannosiden mit BSP/Tf<sub>2</sub>O zur stereoselektiven Bildung von β-Mannosiden.

Der stereoselektive Syntheseweg zum β-Octylmannosid **67** nach CRICH war zwar erfolgreich, allerdings benötigt diese Synthese fünf Schritte ausgehend vom Mannosepentaacetat **60**, ein nicht unerheblicher Aufwand. Die Ausbeute über alle fünf Syntheseschritte war im vorliegenden Fall zu gering, als dass ausreichende Materialmengen des β-Mannosids erhalten werden konnten.

Angeregt durch die positiven Ergebnisse der Fischer-Glycosylierung im Fall der Gluco- und Galactoserie (s. Kapitel 3.2) wurde nun diese ebenfalls für die Synthese der *manno*-Reihe angewendet. Für dieses Vorgehen spricht die kürzere Synthese, nachteilig ist hingegen, dass ein hoher Anomerenüberschuss an α-Anomer wegen des sterischen Einflusses der 2-Hydroxygruppe und des anomeren Effektes zu erwarten war. In der Fischer-Glycosylierung konnte das Mannosid **69** als α,β-Anomerengemisch mit einem Verhältnis von 95:5 in guter Ausbeute von 78 % erhalten werden (Schema 16). Nach *O*-Acetylierung, die wie zu erwarten praktisch quantitativ (96 %) verlief, wurden die Anomere **63** und **71** in zwei aufeinander folgenden präparativen Säulenchromatographieschritten getrennt. Zuerst wurde das stark dominierende α-Anomer in einem ersten Reinigungsschritt abgetrennt und in einem zweiten Trennungsschritt reines β-Anomer **69** erhalten. Beide reinen Octylmannoside, **63** und **71**, wurden im Anschluss deacetyliert um **72** und **17** zu erhalten. Die Ansatzgröße für die Fischer-Glycosylierung wurde nach dem weniger gebildetem β-Anomer ausgerichtet, so dass

ausreichende Mengen  $\beta$ -Mannosid **72** für folgende Untersuchungen isoliert werden konnten.

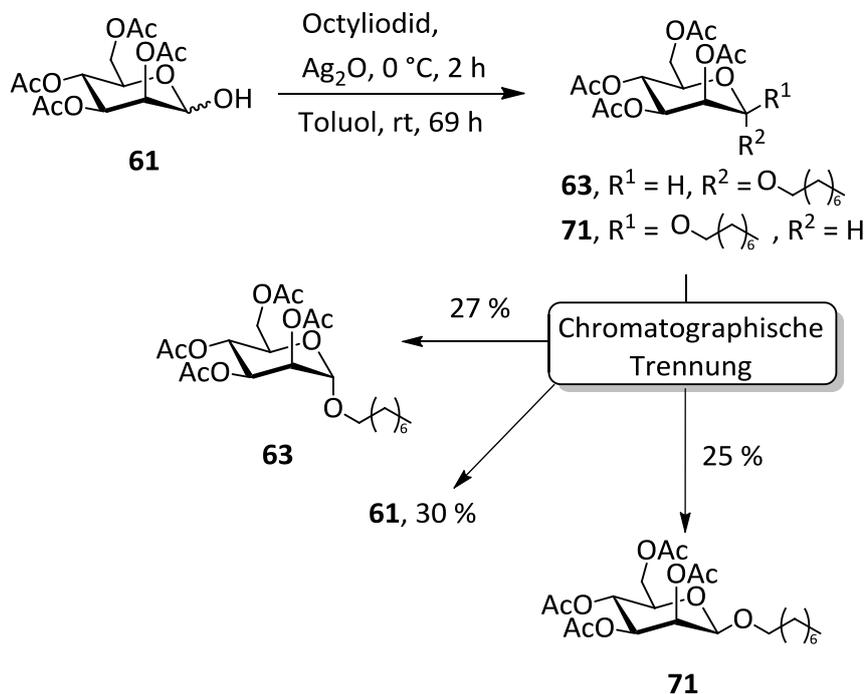


**Schema 16:** Synthese des Octyl- $\alpha$ - und Octyl- $\beta$ -D-mannosids **17** und **72** mittels Fischer-Glycosylierung.

Zur Darstellung von anomerenreinen Octylmannosiden ist ein alternativer Ansatz von HINDSGAUL literaturbekannt.<sup>[178]</sup> Hier wird in Anlehnung an die Arbeiten von LEMIEUX<sup>[149]</sup> mit Alkyljodiden und Silberoxiden gearbeitet mit dem Unterschied, dass der Glycosyldonor nicht als Elektrophil sondern als Nucleophil fungiert. Diese Strategie beinhaltet, dass die im geringeren Maße gebildete  $\beta$ -Mannopyranoseform von **61** durch Reaktion mit dem Alkyljodid aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt wird und eine Verschiebung des Anomerenverhältnisses der gebildeten anomeren Mannoside, **63** und **71**, die Folge ist. Das erhaltene anomere Produktgemisch aus **63** und **71** hat somit einen höheren Anteil an  $\beta$ -Anomer als das Ergebnis der Fischer-Glycosylierung. Die Reaktion lieferte das erwartete Ergebnis mit einem  $\alpha,\beta$ -Anomerenverhältnis von 1:1. Nach Säulenchromatographie konnten

### 3.3 Amphiphile Mannoside

das  $\alpha$ -Anomer **63** in 27 % und das  $\beta$ -Anomer **71** in 22 % Ausbeute isoliert werden (Schema 17).



**Schema 17:** Synthese des Octyl- $\alpha$ - und Octyl- $\beta$ -D-mannosids **63** und **71** nach HINDSGAUL.<sup>[178]</sup>

Trotz der geringen, mit der Literatur allerdings vergleichbaren Ausbeute der Reaktion, stellt diese Reaktionssequenz eine interessante und schnelle Möglichkeit zur Darstellung einfacher Alkyl- $\beta$ -mannoside dar, falls eine effiziente Anomerentrennung gelingt. Ursache der geringen Ausbeute ist bedingt durch eine unvollständige Umsetzung (30 % Isolierung des Edukts). Einschränkender Faktor für die Anwendung dieser Methode ist der Einsatz von primären Alkyljodiden. Ohne eine gute Abgangsgruppe scheint die Umsetzung nicht oder nur in geringem Maß zu erfolgen.

Insgesamt standen jetzt aus den durchgeführten Synthesen in diesem Kapitel ausreichende Mengen der Octylmannoside **17** und **72** für mizellare Untersuchungen zur Verfügung.

#### 3.3.2 Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel

In diesem abschließenden Synthesekapitel war es das Ziel, amphiphile Mannoside durch Anwendung unterschiedlicher Synthesestrategien herzustellen. Neben der Synthese des 1,2-*trans*-Mannosids **17** durch die bewährte Trichloracetimidat-Methode lag der Fokus auf der

---

Darstellung des schwieriger zugänglichen 1,2-*cis*-Mannosids **72**. Letzteres wurde unter Verwendung drei unterschiedlicher Synthesevarianten erfolgreich dargestellt. Die klassische Methode nach HINDSGAUL<sup>[178]</sup> lieferte am schnellsten das gewünschte 1,2-*cis*-Mannosid **71** in Form eines  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisches mit einem Verhältnis von 1:1. Die jeweiligen Anomere konnten durch Säulenchromatographie nahezu verlustfrei getrennt werden. Auch das anomere Produktgemisch, das in der Fischer-Glycosylierung erhalten wurde, konnte erfolgreich getrennt werden. Ohne die Beeinflussung des anomeren Effekts durch Oberflächenchemisorbtion an Silberoxid bildet sich ein  $\alpha,\beta$ -Anomerenverhältnis von 95:5. So kann diese Synthesemethode für das hier gestellte Problem nicht als effektiv gelten.

Die moderne CRICH- $\beta$ -Mannosylierung<sup>[171,173]</sup> ist aufgrund der sehr guten stereoselektiven Donoreigenschaften des Thiomannosids **58** besonders attraktiv, da eine Vielzahl von Glycosylakzeptoren sehr gute Ergebnisse erzielten. Auch die hier durchgeführte stereoselektive Glycosylierung von 1-Octanol zeigte gute Ausbeuten von 68 %, was im Vergleich mit den übrigen Glycosylierungsreaktionen (vgl. Kapitel 3.2) ein sehr gutes Ergebnis darstellt. Allerdings ist die Anwendung der speziell aufeinander abgestimmten Reagenzien eher im „*proof-of-principle*“-Mikromaßstab anzusiedeln. Für größere Ansatzgrößen sind kostengünstigere, zeiteffizientere und effektivere Syntheserouten auszuwählen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die geplanten Zielverbindungen, das Octyl- $\alpha$ - und Octyl- $\beta$ -D-mannosid **17** und **72**, schließlich in ausreichender Menge für nachfolgende biophysikalische Untersuchungen zur Verfügung standen, die im nächsten Kapitel beschrieben werden.

---

### 3.4 Biophysikalische Untersuchung der Selbstaggregation von amphiphilen Glycosiden in reinen und gemischten Mizellen

Die Selbstaggregation von Glycolipiden wird seit vielen Jahren mit den unterschiedlichsten Verfahren untersucht, wobei als Modellsystem  $\beta$ -Octylglucosid am weitesten verbreitet ist.<sup>[51,52]</sup> Als Analysemethoden kommen hierbei neben klassischen Verfahren (Grenzflächenspannung mittels Tensiometer, Fluoreszenzspektroskopie, FTIR) auch einfache bis aufwändige Streuungsexperimente (DLS, SANS, SAXS) zum Einsatz.<sup>[51,52]</sup>

Neben diesen Verfahren sind besonders auch biophysikalische Untersuchungsmethoden, die das System anhand von molekularen (kinetischen oder thermodynamischen) Eigenschaften beschreiben können, sehr interessant, weil mithilfe dieser Verfahren auch Interaktionen *in vitro* und *in vivo* untersucht und so komplexere biologische Fragestellungen aufgeklärt werden können.<sup>[63]</sup>

Die hier synthetisierten amphiphilen Glycoside (vgl. Kapitel 3.2 und 3.3) wurden nun mithilfe von biophysikalischen Messmethoden, der Isothermen Titrationskalorimetrie und Diffusions-NMR-Spektroskopie, untersucht. Im Vordergrund der Untersuchungen stand hierbei die Auswirkung der Konfigurationsunterschiede am anomeren Zentrum von Kohlenhydraten auf die Mizellbildung einfacher und gemischter Mizellen in Wasser. Der Vergleich sollte Struktur-Eigenschafts-Beziehungen für die Wechselwirkung der Kohlenhydrate untereinander und mit dem umgebenen Wasser näher aufklären.

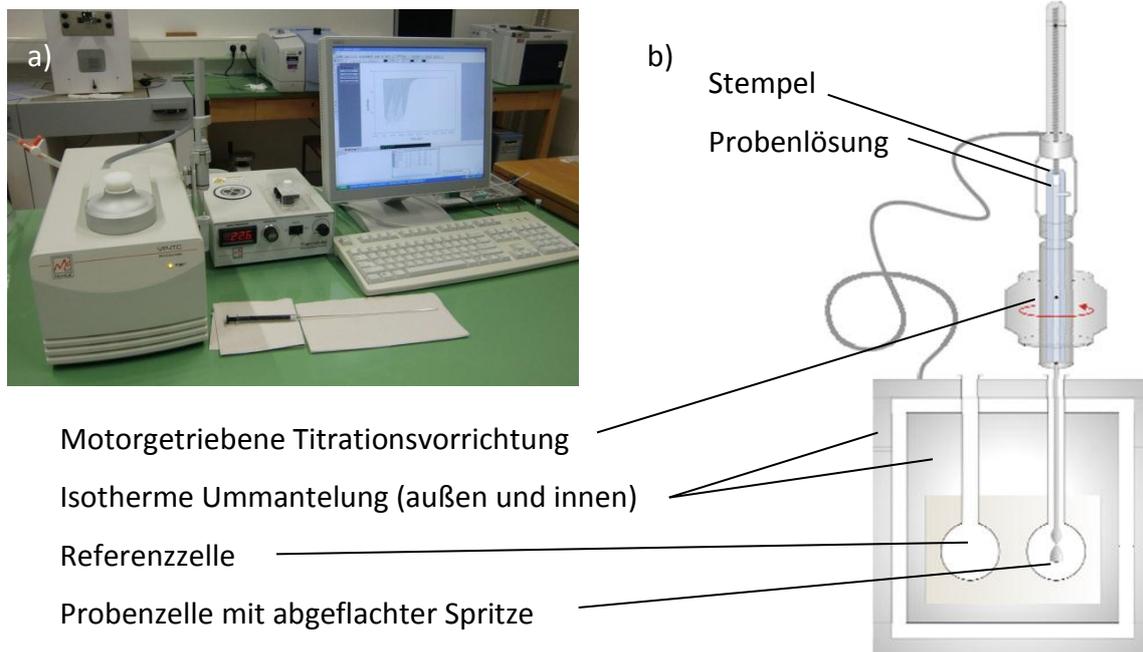
#### 3.4.1 ITC-Messungen reiner Glycomizellen

Die ITC ist eine hochempfindliche Methode zur thermodynamischen Charakterisierung von Struktur- und Phasenumwandlungen sowie inter- und intramolekularen Wechselwirkungsprozessen.<sup>[4]</sup> Der experimentelle Aufbau ist in Abbildung 19 dargestellt. Die über eine Computereinheit gesteuerte Thermoeinheit besteht aus einer Probenzelle und einer Referenzzelle, die getrennt voneinander geheizt werden können. In die Probenzelle taucht die abgeflachte Titrationspritze ein, die Teil einer motorgetriebenen Titrationsvorrichtung ist. In dieser Spritze befindet sich ein Stempel, der die enthaltene Probenlösung in präzisen Aliquots in die Probenzelle titrieren kann. Beide Zellen sind von einer Ummantelung umgeben, die dafür sorgt, dass kein Wärmeaustausch des Systems mit der Umgebung stattfindet.<sup>[4]</sup>

### 3.4.1.1 Methodik und Thermodynamik

Das Kalorimeter misst bei einer Wechselwirkung zwischen zwei Reaktionspartnern oder aber bei konzentrationsinduzierten Aggregationsprozessen (z. B. Mizellbildung) die direkt freigesetzte oder absorbierte Wärme.

Das Messprinzip der ITC beruht darauf, dass die Heizleistungsdifferenz zwischen einer Probenzelle und einer Referenzzelle ständig überprüft wird. Kommt es zu einer Auslenkung aus dem thermischen Gleichgewicht der beiden Zellen (d.h. findet eine Reaktion bzw. eine molekulare Interaktion in der Probenzelle statt), wird der Probenzelle ein zur Temperaturdifferenz proportionaler Heizstrom (Regelstrom) zugeführt. Die Regelleistung (*Cell Current Feedback, CFB*) wird zeitabhängig gemessen und bildet die ablaufende Reaktion ab. Eine exotherme Reaktion bewirkt eine Verringerung des CFB, während bei einem endothermen Verlauf der kompensierende Strom hochreguliert wird. Um eine Kompensation von sowohl exo- als auch endothermen Reaktionen zu ermöglichen, wird daher der Referenzzelle ein permanenter Heizstrom zugeführt.

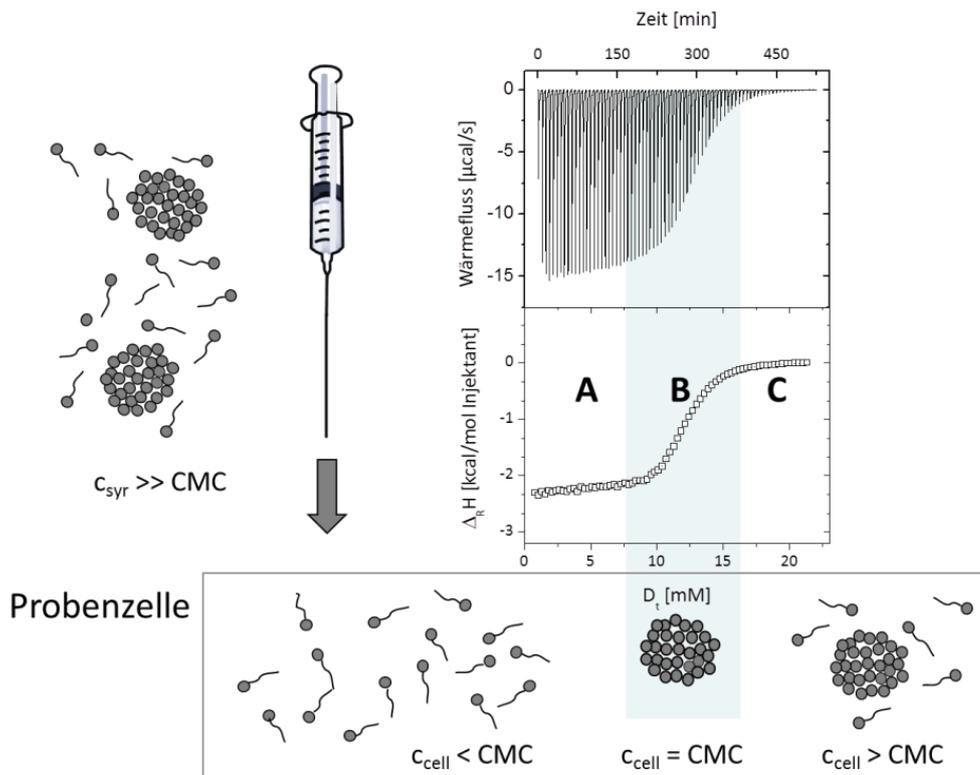


**Abbildung 19:** Aufbau des ITC-Messgerätes; a) Bild des ITC-Messgerätes in Kiel, Thermoeinheit (links), Steuereinheit (rechts); b) Schematischer Aufbau der Titrationseinheit mit Proben- und Referenzzelle (abgewandelte Grafik nach der Literatur).<sup>[179]</sup>

Bei der ITC kann jetzt in entgegengesetzter Richtung zur Mizellbildung die Enthalpie beim Demizellierungsprozess in Form einer exothermen oder endothermen Reaktion bestimmt werden. Dieser Prozess ist stark temperaturabhängig.<sup>[72]</sup> In dieser Arbeit wurde durchgehend

### 3.4 Biophysikalische Untersuchung der Selbstaggregation amphiphiler Glycoside

bei einer Temperatur von 25 °C gearbeitet, wobei sich für alle untersuchten Prozesse ein exothermer Titrationsverlauf zeigte (Abbildung 20).



**Abbildung 20:** Ergebnis eines Demizellierungsexperiments mit konzentrationsabhängigen Enthalpiebeiträgen in der Probenzelle schematisch dargestellt: A) Starke Signalintensität, hervorgerufen durch geringe Amphiphilkonzentration in der Zelle ( $\Delta H_{\text{demiz}} + \Delta H_{\text{miz,verd}} + \Delta H_{\text{mono,verd}}$ ); B) Sprunghafte Änderung bei der Titrationskurve bei Erreichen der CMC; C) Enthalpiebeiträge der Mizellen entfallen ( $\Delta H_{\text{mono,verd}}$  bleibt übrig).

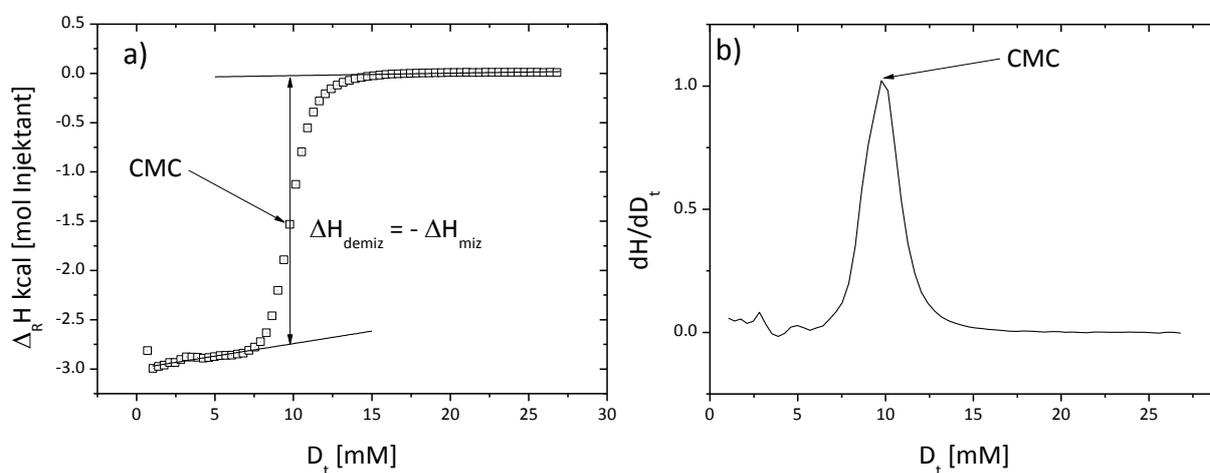
Im Versuch wird eine hochkonzentrierte Lösung (ca. ein Zehnfaches der CMC) eines Amphiphils (Abbildung 20, links) in kleinen Portionen über eine Spritze zu Wasser titriert, wobei jede Zugabe eine Auslenkung aus dem Temperaturgleichgewicht bedeutet, in welches das System nach entsprechender Kühlung wieder zurückkehrt. Die Wärmemengen bzw. Enthalpiebeiträge einer ITC-Messung können anhand eines einfachen Modells erklärt werden (Gleichung 5):

$$\Delta H = \Delta H_{\text{demiz}} + \Delta H_{\text{mono,verd}} + \Delta H_{\text{miz,verd}} \quad (5)$$

Am Anfang zeigt die Titrationskurve einen starken exothermen Verlauf (Abbildung 20A), wobei es zu einer Verdünnung der freien Monomere ( $\Delta H_{\text{mono,verd}}$ ) und der vorliegenden Mizellen ( $\Delta H_{\text{miz,verd}}$ ) durch Unterschreiten der CMC kommt. Dieser Vorgang der Demizellierung mit dem dazugehörigen Enthalpiebeitrag  $\Delta H_{\text{demiz}}$  wiederholt sich nach jeder

Titrationzugabe, bis der Punkt der Mizellbildung (Abbildung 20B, CMC) erreicht wird. Hier ist die Konzentration an Amphiphil soweit angestiegen, dass anstelle von Monomeren nun Mizellen in der Probenzelle vorliegen, wodurch die Enthalpiebeiträge  $\Delta H_{\text{demiz}}$  und  $\Delta H_{\text{miz,verd}}$  wegfallen. Bei einer weiteren Zugabe von Amphiphil-Lösung aus der Spritze findet keine entscheidende enthalpische Reaktion ( $\Delta H_{\text{mono,verd}}$ ) mehr statt (Abbildung 20C).<sup>[69]</sup>

Die einzelnen Messpunkte werden hier integriert und in einer Graphik gegen die Amphiphilkonzentration aufgetragen, was als Enthalpogramm bezeichnet wird (Abbildung 21). Aus dem integrierten Enthalpogramm lässt sich am Wendepunkt der Kurve die CMC ablesen, welche mittels der ersten Ableitung als Extremstelle exakt bestimmt wird (Abbildung 21b).



**Abbildung 21:** a) Integrierte Titrationskurve (Enthalpogramm), deren Wendepunkt die Demizzierungsenthalpie ergibt; b) Erste Ableitung des Enthalpogramms, wonach die CMC exakt bestimmt werden kann.

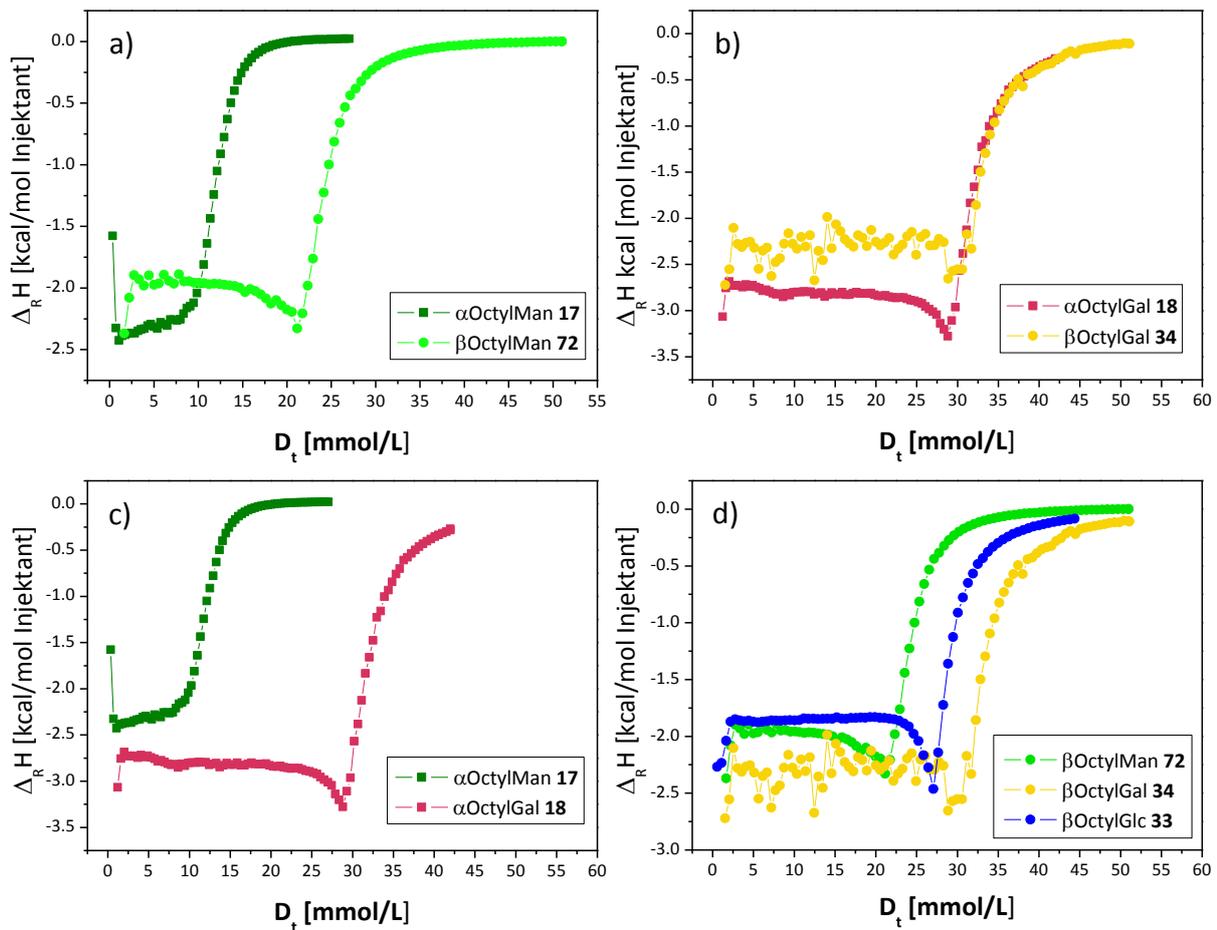
### 3.4.1.2 Messergebnisse

Im ersten Teil der ITC-Studien wurden die jeweils reinen  $\alpha$ -Octylglycoside **17**, **18** und **19** sowie die entsprechenden  $\beta$ -Octylglycoside **33**, **34** und **72** separat auf ihre Mizellbildung mittels ITC-Titrationen untersucht. Dabei sollte besonderes Augenmerk auf den Einfluss der Konfiguration der Kopfgruppe und der anomeren Konfiguration gelegt werden, da diese strukturellen Merkmale eine wichtige Rolle für die supramolekularen Eigenschaften und die davon abgeleitete Funktion der Glycokalyx spielen könnten. In allen Fällen konnten ITC-Titrationmessungen nach der beschriebenen allgemeinen Arbeitsweise mit exothermem Verlauf erhalten werden mit Ausnahme von Octyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**19**), welches

### 3.4 Biophysikalische Untersuchung der Selbstaggregation amphiphiler Glycoside

aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in Wasser an dieser Stelle nicht gemessen werden konnte.<sup>[180]</sup> Jede ITC-Messung wurde dreimal durchgeführt und der Mittelwert für die CMC gebildet.

Zuerst wird die Konfiguration eines Kohlenhydrates und somit der Einfluss der anomeren Konfiguration betrachtet (Abbildung 22a,b).



	$\alpha$ OctylMan <b>17</b>	$\alpha$ OctylGal <b>18</b>	$\beta$ OctylMan <b>72</b>	$\beta$ OctylGal <b>34</b>	$\beta$ OctylGlc <b>33</b>
CMC [mM]	10.9±0.7	30.2±0.4	22.9±0.3	31.7±0.3	28.3±0.5

**Abbildung 22:** Integrierte Enthalpogramme der ITC-Titrationskurven der reinen Glycomizellen: a) Vergleich der Mannoside ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Octylmannosid **17**, **72**) b) Vergleich der Galactoside ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Octylgalactosid **18**, **34**); c) Vergleich der  $\alpha$ -Anomere des Octylmannosids **17** und -galactosids **18**; d) Vergleich der  $\beta$ -Anomere des Octylmannosids **72**, -galactosids **34** und -glucosids **33**; dargestellt sind repräsentative ITC-Kurven, in der Tabelle sind Durchschnittswerte aus dreifach durchgeführten Titrationsen und deren Standardabweichung aufgeführt.

Aus den erhaltenen Enthalpogrammen der Octylmannoside **17** und **72** (Abbildung 22a) wird deutlich, dass das  $\beta$ -Anomer mit einer CMC von 22.9 mM eine doppelt so große CMC wie das  $\alpha$ -Anomer (CMC = 10.9 mM) aufweist. Im Fall der Octylgalactoside **18** und **34**

---

(Abbildung 22b) ist diese Tendenz ebenfalls zu erkennen, allerdings nicht so stark ausgeprägt. Hier wurde eine CMC von 31.7 mM für das  $\beta$ -Anomer und für das  $\alpha$ -Anomer eine CMC von 30.2 mM bestimmt. Die Glucosederivate können nur bedingt in den Vergleich einbezogen werden, da keine ITC-Messung des  $\alpha$ -Anomers durchgeführt werden konnte.

Als allgemeines Ergebnis lässt sich somit festhalten, dass die anomere Konfiguration, also die Positionierung der Zuckerkopfgruppe, einen Einfluss auf die Mizellbildung hat, wobei der jeweilige Einfluss unterschiedlich ausgeprägt sein kann. Im Fall der *manno*-Reihe (**17**, **72**) ist ein sehr viel stärkerer Effekt als im Fall der Galactoside **18** und **34** beobachtet worden.

In der Literatur ist der Einfluss der anomeren Position der Alkylkette für Octylglucoside **19** und **33** und Dodecylmaltoside<sup>[181]</sup> in experimentellen Studien bereits untersucht worden. Von FOCHER et al. wurde eine CMC von 19 mM für das  $\beta$ -Glucosid **33** und eine CMC von 6.3 mM für das  $\alpha$ -Glucosid **19** bestimmt, wobei letztere wegen der unzureichenden Löslichkeit der Verbindung nur unter Verwendung eines Tensiometers als Messmethode zugänglich war.<sup>[180]</sup> Als Argument für diese Unterschiede wurde die gewinkelte  $\alpha$ -Konfiguration angeführt, die eine schlechtere Packung der Alkylketten in den Mizellen zur Folge hat. Dieses Verhalten wurde von MATSUMURA et al. mit einer geringeren Hydrophilie des  $\alpha$ -Glucosids **19** beschrieben. Somit ist die Selbstaggregation der  $\alpha$ -Glucoside **19** zu sphärischen Mizellen gehemmt und die CMC folglich geringer als bei dem betreffenden  $\beta$ -Glucosid **33**. Dieser Unterschied zwischen einem  $\alpha$ -Anomer im Vergleich mit seinem  $\beta$ -Anomer wurde von VAN BUUREN und BERENDSEN in MD-Simulationen von Decylglucosiden mithilfe von schwächer ausgeprägten Wasserstoffbrückenbindungen im Fall des  $\alpha$ -Anomer erklärt. Hierbei wurde mit einem Monolage des  $\alpha$ - und  $\beta$ -Decylglucosids an einer Öl-Wasser-Grenzfläche gearbeitet.<sup>[182]</sup>

Mannoside oder Galactoside wurden bisher in einem experimentellen Zusammenhang nicht beschrieben.

In der vorliegenden Arbeit wurden für die anomeren Octylgalactoside **18** und **34** nur geringe Unterschiede der CMCs gefunden. Somit scheint die Entfernung einer axialen Hydroxylgruppe vom anomeren Zentrum ebenfalls einen entscheidenden Einfluss auf die CMC zu haben. Befindet sich die axiale Hydroxylgruppe in 2-Position, also in direkter Nachbarschaft zum anomeren Zentrum, wie im Fall der Octylmannoside **17** und **72**, ist ein deutlich stärkerer Effekt auf die Mizellbildung zu beobachten als im Fall der Galactoside **18** und **34** mit einer axialen Hydroxylgruppe in 4-Position.

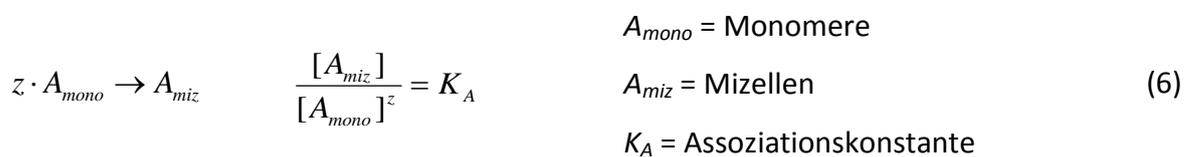
Die hier gemessenen CMC-Werte waren Ausgangspunkt für tiefergehende Untersuchungen über den Einfluss der anomeren Konfiguration eines amphiphilen Glycosids auf die Mizellbildung. Hierzu wurde mit den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Octylmannosiden ein theoretischer Ansatz mittels Moleküldynamik-Simulationen (s. Kapitel 3.5) verfolgt. Außerdem wurden die Größenordnungen der CMC-Werte mit einer zweiten Untersuchungsmethode, der Diffusions-NMR-Spektroskopie, verifiziert (s. Kapitel 3.4.3).

Des Weiteren wurde der Effekt der Zuckerkonfiguration auf den Mizellbildungsprozess betrachtet (Abbildung 22c,d). Aus den Graphen in Abbildung 22c,d wird klar ersichtlich, dass die Octylgalactoside **18** und **34** (rot, gelb) deutlich höhere Werte für die CMC-Werte (CMC ( $\alpha$ OctylGal) = 30.2 mM, CMC ( $\beta$ OctylGal) = 31.7 mM) annehmen als die Octylmannoside **17** und **72** (olivgrün, grün), für die CMC-Werte von 10.9 mM für das  $\alpha$ -Anomer und 22.9 mM für das  $\beta$ -Anomer bestimmt wurden. Das Octylglucosid **33** (blau) ist mit einer CMC von 28.3 mM für das  $\beta$ -Anomer tendenziell zwischen diesen Glycosiden anzusiedeln.

Hieraus ergibt sich eine klare Kohlenhydrat spezifische Abhängigkeit der Mizellbildung von Octylglycosiden: In der Reihenfolge Gal > Glc >> Man nimmt der CMC-Wert sowohl für das  $\alpha$ - als auch für das  $\beta$ -Anomer ab, wobei dieser Effekt bei der  $\alpha$ -Serie stärker ausgeprägt ist. Ein Erklärungsansatz für den Unterschied zwischen dem Galactosid **34** und dem Glucosid **33** ist bei Berechnungen von intermolekularen Wasserstoffbrücken von benachbarten Kopfgruppen beobachtet worden.<sup>[183]</sup> Hierbei wurde in MD-Simulationen gezeigt, dass  $\beta$ -Octylgalactosid **34** eine leicht erhöhte Tendenz zur Ausbildung von inter- und intramolekularen H-Brücken aufweist als das entsprechende  $\beta$ -Octylglucosid **33**. Gestützt wird diese Hypothese durch eine Studie von HASHIM et al.,<sup>[184]</sup> wo die Selbstaggregation unterschiedlicher Glycolipide in einer flüssigkristallinen lamellaren Phase untersucht wurde. Einen entscheidenden Einfluss auf die Selbstaggregation hat die Orientierung der Hydroxylgruppe in 4-Position und die anomere Konfiguration (*anomer-epimer-relationship*). Ist die Hydroxylgruppe in 4-Position axial orientiert, können besonders gut H-Brücken in einer lamellaren Phase ausgebildet werden. Dieses stimmt überein mit den hohen CMC-Werten für beide Galactoside **18** und **34**, wobei hier mizellare Systeme und keine flüssigkristalline lamellare Phasen vorliegen. Diesem Konzept steht die unterschiedliche Hydratisierung der Kohlenhydrat-Kopfgruppe entgegen, was auf der Wechselwirkung der Zuckerring-Hydroxylgruppen mit dem dreidimensionalen H-Brückennetzwerk des Wassers beruht.<sup>[185]</sup> Hier wird die Orientierung bzw. der Abstand der Hydroxylgruppe in 4-Position

relativ zu derjenigen in 2-Position betrachtet, welcher im optimalen Fall dem Sauerstoff-Sauerstoff-Abstand des Wassers entspricht. Stehen beide Hydroxylgruppen axial, findet durch den optimalen Abstand die beste Hydratisierung statt. Für 2-OH-axial oder 2-OH-äquatorial und 4-OH-äquatorial wird eine moderate Kompatibilität mit dem H-Brückennetzwerk des Wassers gefunden, wie dies bei Mannose und Glucose der Fall ist. Für Galactose (4-OH-axial und 2-OH-äquatorial) ist die „Verträglichkeit“ mit dem umgebenden Wasser am geringsten. Da diese Modellbetrachtung allerdings auf der Grundlage von Monosacchariden ohne amphiphilen Charakter aufgestellt wurde, ist eine weitergehende Interpretation für den hier vorliegenden Fall nur schwer möglich.

Neben der Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC) lassen sich aus den ITC-Messkurven auch thermodynamische Parameter anhand zweier Modellbetrachtungen bestimmen. Das erste Modell behandelt die Mizellbildung als einen Assoziations- bzw. Aggregationsprozess, welcher durch eine Gleichgewichtskonstante  $K_A$  beschrieben werden kann. Hieraus leitet sich die Bezeichnung als Massenwirkungsmodell (*mass action model*) ab, wobei von einer schrittweisen reversiblen Aggregation der Amphiphile ausgegangen wird (Gleichung 6):



Dieses Modell ist allerdings nur begrenzt anwendbar, da es die polydisperse Verteilung der Mizellen in Lösung nicht berücksichtigt.<sup>[60]</sup>

Darüber hinaus sind für mizellare Systeme von  $\beta$ -Octylglucosiden relativ große Aggregationszahlen von 27 bis 87,<sup>[70,186]</sup> 90<sup>[64]</sup> und 92<sup>[187]</sup> bestimmt worden, wodurch dieses Modell, welches in guter Näherung für kleine Aggregationszahlen gilt, hier nur begrenzt einsetzbar ist.<sup>[70]</sup>

Einen anderen Ansatz macht das Phasenseparationsmodell, welches die Mizelle als neue Phase, genauer Mikrophase, beschreibt. Die Standard-Gibbs-Enthalpie  $\Delta G$  eines Transfers eines Monomers aus einer Mizelle in Wasser kann durch die chemischen Potentiale der Amphiphile in Wasser  $\mu_w$  und in der Mizellphase  $\mu_{miz}$  beschrieben werden (Gleichung 7), wobei bei genügend großer Aggregationszahl in guter Näherung gilt:<sup>[70]</sup>

$$\Delta G_{demiz} = \mu_w^0 - \mu_{miz}^0 = -RT \cdot \ln CMC' \quad (7)$$

Hier ist  $CMC'$  die kritische Mizellbildungskonzentration ausgedrückt als Molenbruch. Zur Berechnung der Demizellisierungsenthalpie  $\Delta H_{demiz}$  muss noch die Konzentration der Monomere  $c_{Mono}$  in der Spritze ( $c_{Spritze} = c_{mono} + c_{miz}$ ) berücksichtigt werden (Gleichung 8) und der gemessene Wert entsprechend korrigiert werden. Es kann hier angenommen werden, dass oberhalb der CMC die Konzentration der Monomere konstant bleibt ( $c_{mono} \approx CMC$ ;  $c_{miz} = c_{Spritze} - CMC$ ):<sup>[69]</sup>

$$\Delta H_{demiz} = \frac{c_{Spritze}}{c_{miz}} \Delta H_{demiz}^{gemessen} \quad (8)$$

Die Entropiebeiträge  $\Delta S_{demiz}$  lassen sich über die Gibbs-Helmholtz-Gleichung ( $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ ) nach Umformen berechnen (Gleichung 9):

$$\Delta S_{demiz} = \frac{\Delta H_{demiz} - \Delta G_{demiz}}{T} \quad (9)$$

Anhand der in der Tabelle 1 zusammengestellten berechneten thermodynamischen Daten zeigt sich, dass die Mizellbildung, also der Umkehrprozess der Demizellisierung, ein freiwillig ablaufender Prozess ist, da  $\Delta G_{miz}$  einen negativen Wert annimmt. Dies liegt daran, dass die Mizellbildungsentropie  $\Delta S_{miz}$  in allen Fällen positiv ist, woraus folgt, dass bei der Mizellbildung eine Entropiezunahme zu beobachten ist. Dieses ergibt sich dadurch, dass die Assoziationbildung zu Mizellen als Entsolvatisierungsprozess der Monomere aufgefasst werden kann.<sup>[60]</sup> Es kommt somit zur Freisetzung von Wassermolekülen, die nicht an einer Solvatisierung der Monomere teilnehmen.<sup>[60]</sup> Zusätzlich bewirkt die Mizellbildung eine Konformationsänderung der Alkylketten, woraus wiederum eine Entropiezunahme resultiert. Der Beitrag der Mizellbildungsenthalpie  $\Delta H_{miz}$  ist hier ebenfalls positiv, allerdings überwiegt der größere Term  $\Delta S_{miz}$  bei der Gesamtbetrachtung der Gibbs-Enthalpie  $\Delta G_{miz}$ , wodurch ein entropisch begünstigter Prozess bei der Mizellbildung resultiert. Dieses Verhalten ist für alle untersuchten Glycomizellen zu beobachten. Es handelt sich somit um einen freiwillig ablaufenden Vorgang ( $\Delta G_{miz}$  negativ), was aus einer Enthalpie-Entropie-

Kompensation resultiert.<sup>[188]</sup> Da keine Messungen bei erhöhten Temperaturen durchgeführt wurden, kann keine Interpretation bezüglich der Temperaturabhängigkeit der untersuchten Prozesse gemacht werden. Mit steigender Temperatur nimmt der Enthalpiebeitrag zu, so dass ab einer bestimmten Temperatur die Mizellbildung zusätzlich enthalpiegetrieben sein sollte. Laut literaturbekannter Studien<sup>[72]</sup> wird mit steigender Temperatur der Enthalpiebeitrag so groß, dass der Entropieterm kompensiert wird.

**Tabelle 1:** Durch ITC experimentell bestimmte CMC-Werte und Demizellisierungsenthalpien  $\Delta H_{\text{demiz}}$  (nach Gleichung 8 korrigiert) der Octylglycoside; c = eingesetzte Probenkonzentration für die Titration,  $\text{CMC}' = \text{CMC}$  als Molenbruch; berechnete thermodynamische Parameter ( $\Delta G_{\text{demiz}}$ ,  $T\Delta S_{\text{demiz}}$  und  $\Delta S_{\text{demiz}}$ ) nach dem Phasenseparationsmodell (7) und Gibbs-Helmholtz-Gleichung (9).

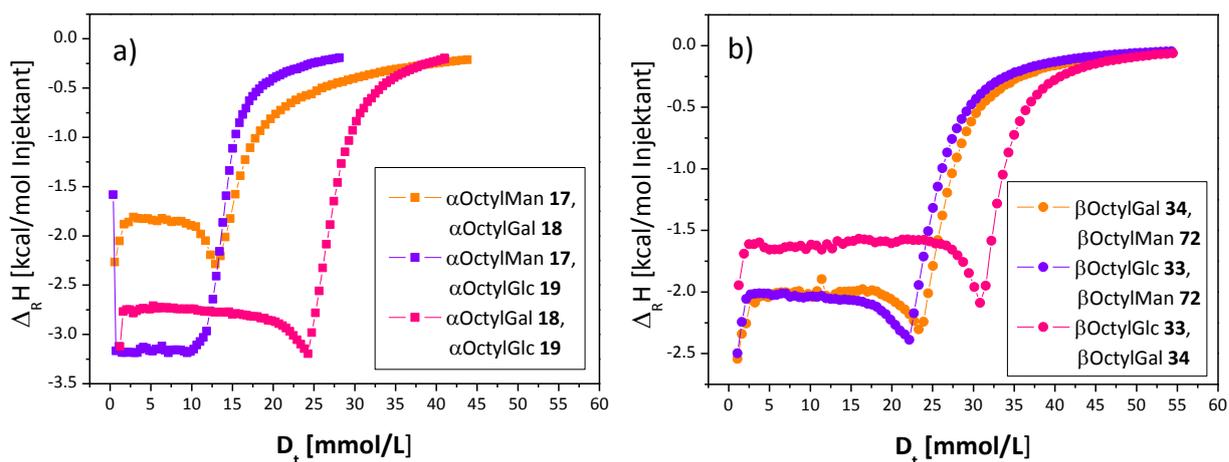
	$\alpha$ OctylMan <b>17</b>	$\beta$ OctylMan <b>72</b>	$\alpha$ OctylGal <b>18</b>	$\beta$ OctylGal <b>34</b>	$\alpha$ OctylGlc <b>19</b>	$\beta$ OctylGlc <b>33</b>
c [mM]	123	259	189	238	--	258
CMC [mM]	10.9±0.7	22.9±0.3	30.2±0.4	31.7±0.3		28.3±0.5
CMC (Lit.)	6.0 <sup>[189]</sup>			16 <sup>[189]</sup>	6.3 <sup>[180]</sup> , 12 <sup>[189]</sup>	20 <sup>[189]</sup> , 23 <sup>[70]</sup> , 25.8 <sup>[186]</sup>
CMC' [ $\cdot 10^{-4}$ ]	1.95±0.13	4.11±0.06	5.42±0.07	5.68±0.06		5.07±0.09
lnCMC'	-8.55±0.07	-7.80±0.03	-7.52±0.04	-7.47±0.03		-7.59±0.05
$\Delta G_{\text{demiz}}$ [kJ/mol] = - $\Delta G_{\text{miz}}$	21.2±0.2	19.3±0.1	18.6±0.1	18.5±0.2		18.8±0.2
$\Delta H_{\text{demiz}}$ [kJ/mol]	-10.3±1.7	-9.7±0.9	-9.2±1.0	-8.4±0.7		-6.4±1.2
$T\Delta S_{\text{demiz}}$ [kJ/mol]	-31.5±1.9	-29.1±0.8	-27.9±1.1	-26.9±1.2		-25.2±1.4
$\Delta S_{\text{demiz}}$ [J/K]	-105.6±6.5	-97.5±2.8	-93.5±3.3	-90.2±3.1		-84.6±4.6

#### 3.4.2 ITC-Messungen gemischter Glycomizellen

Die Glycokonjugate in der Glycokalyx treten in einem wässrigen Milieu miteinander dynamisch in Wechselwirkung. Gemischte Mizellare Systeme, bei denen eine Vielzahl von Amphiphilen (Glycostrukturen, Tensiden und Glycolipiden) eingesetzt werden kann, sind ein gutes Modellsystem, um die dynamische Interaktion bei biologischen Erkennungsprozessen zu erforschen.<sup>[190,191]</sup> Um dieses Verhalten in einem vereinfachten Modell nachzustellen, wurden hier gemischte Glycomizellen aus zwei amphiphilen Glycosiden gleicher anomerer Konfiguration mittels der Isothermen Titrationskalorimetrie untersucht. Da die relative Position des Aglycons zur Kopfgruppe in beiden eingesetzten Glycolipiden gleich ist, kann hier der Effekt der Zuckerkonfiguration näher untersucht werden. In der Literatur sind bisher Untersuchungen zur Selbstaggregation von gemischten Mizellsystemen zwischen Octylglycosiden mit ionischen Tensiden beschrieben, wobei ein positiver Einfluss im Hinblick auf das Wachstum der Mizellen beobachtet wurde.<sup>[192,193]</sup> Weiterhin wurde das Aggregationsverhalten gemischter Mizellen auf der Basis von Alkylmaltosiden von HEERKLOTZ et al. in binären Mischungen untersucht, wobei bei einheitlicher Kopfgruppe die Alkylkettenlänge variiert wurde. Es konnte hier erfolgreich das Phasenseparationsmodell als Modellsystem für die kalorimetrischen Studien angewandt werden.<sup>[194]</sup>

Hier wurden nun jeweils eine Mischung anomerengleicher Glycolipide im Verhältnis von 1:1 hergestellt und die auf diese Weise erhaltenen sechs gemischten Glycomizellsysteme nach dem Standard-Demizellierungsprotokoll (vgl. Abbildung 20) untersucht. In Abbildung 23 sind die Enthalpogramme der gemischten Mizellen, unterteilt in gemischte  $\alpha$ -anomere (Abbildung 23a) und gemischte  $\beta$ -anomere Mizellen (Abbildung 23b).

Als erstes Ergebnis zeigte sich, dass in allen Fällen nur eine einzige CMC vorliegt, da jeweils nur ein Wendepunkt in den Kurven enthalten ist. Hieraus ergibt sich, dass sich wirklich gemischte Glycomizellen bilden und keine separaten Mizellen aus einem einzigen Glycosidtyp. Folglich treten die unterschiedlichen Kohlenhydrate bei der Selbstaggregation zu gemischten Mizellen in Wechselwirkung miteinander.



c)	$\alpha$ OctylMan <b>17</b> , $\alpha$ OctylGal <b>18</b>	$\alpha$ OctylMan <b>17</b> , $\alpha$ OctylGlc <b>19</b>	$\alpha$ OctylGal <b>18</b> , $\alpha$ OctylGlc <b>19</b>	$\beta$ OctylGal <b>34</b> , $\beta$ OctylMan <b>72</b>	$\beta$ OctylGlc <b>33</b> , $\beta$ OctylMan <b>72</b>	$\beta$ OctylGlc <b>33</b> , $\beta$ OctylGal <b>34</b>
CMC [mM]	15.4±0.3	13.0±0.7	25.4±0.7	24.5±0.4	23.3±0.2	31.9±0.3
d)	$\alpha$ OctylMan <b>17</b>	$\alpha$ OctylGal <b>18</b>	$\beta$ OctylGlc <b>33</b>	$\beta$ OctylGal <b>34</b>	$\beta$ OctylMan <b>72</b>	
CMC [mM]	10.9±0.7	30.2±0.4	28.3±0.5	31.7±0.3	22.9±0.3	

**Abbildung 23:** Integrierte Enthalpogramme der ITC-Titrationskurven der gemischten Glycomizellen: a) Gemischte Mizellen der  $\alpha$ -Anomere ( $\alpha$ OctylMan **17** und  $\alpha$ OctylGal **18**,  $\alpha$ OctylMan **17** und  $\alpha$ OctylGlc **19**,  $\alpha$ OctylGal **18** und  $\alpha$ OctylGlc **19**); b) Gemischte Mizellen der  $\beta$ -Anomere ( $\beta$ OctylGal **34** und  $\beta$ OctylMan **72**,  $\beta$ OctylGlc **33** und  $\beta$ OctylMan **72**,  $\beta$ OctylGlc **33** und  $\beta$ OctylGal **34**); c) Tabelle mit Durchschnittswerten der gemischten Mizellen aus dreifach durchgeführten Titrationsen und deren Standardabweichung; d) Tabelle reiner Glycomizellen zum Vergleich; dargestellt sind jeweils repräsentative ITC-Kurven.

Anhand der Lage der CMC-Werte wird deutlich, dass trotz des vorgelegten 1:1-Verhältnisses (bezogen auf die beiden eingesetzten Glycoside) nicht der Durchschnitt der CMC-Werte der einfachen Mizellen erreicht wird.

Beispielsweise hätte man bei einer gemischten Mizelle, die aus  $\alpha$ OctylMan **17** und  $\alpha$ OctylGal **18** besteht, ein CMC-Wert von etwa 20.6 mM erwarten können, da sich dieser als Durchschnittswert aus den reinen Mizellen bildet ( $\alpha$ OctylMan **17** = 10.9 mM,  $\alpha$ OctylGal **18** = 30.2 mM). Gemessen wurde allerdings ein CMC-Wert von 15.4 mM für die betreffende Mizelle. Da der gemessene Wert bei allen mannosehaltigen Mizellen deutlich unter dem erwarteten Durchschnittswert liegt, bedeutet dies wiederum, dass die axiale Hydroxylgruppe in 2-Position der Mannose einen besonderen Einfluss auf die Selbstaggregation hat und sich positiv auf eine frühe Mizellbildung auswirkt.

### 3.4 Biophysikalische Untersuchung der Selbstaggregation amphiphiler Glycoside

Im Falle der gemischten Mizellen aus Galactose und Glucose kann ein solcher Effekt nicht nachgewiesen werden, da die einzelnen CMC-Werte nicht besonders stark voneinander abweichen.

Weiterhin ist festzuhalten, dass im Fall der gemischten Mizellen auch Octyl- $\alpha$ -D-glucosid **19** eingesetzt werden konnte und jeweils ein CMC-Wert in zwei binären Mizellsystemen bestimmt werden konnte. Aufgrund von Löslichkeitsproblemen war dies bei Versuchen zu reinen Mizellen nicht gelungen. Hierdurch konnte nachgewiesen werden, dass die makroskopischen Eigenschaften von Amphiphilen, die sich in Wechselwirkung mit anderen befinden, wie z. B. in einem binären gemischten Mizellverband, von denen separater Systeme unterscheiden. In technischen Anwendungen könnte somit dieser positive Effekt der Löslichkeit und die Mizellbildung binärer Systeme angewendet werden.

In Tabelle 2 sind die thermodynamischen Parameter, die analog zu denen der reinen Glycomizellen berechnet wurden, zusammengestellt.

**Tabelle 2:** Durch ITC experimentell bestimmte CMC-Werte und Demizellisierungsenthalpien  $\Delta H_{\text{demiz}}$  (nach Gleichung 8 korrigiert) der gemischten Glycomizellen;  $c$  = eingesetzte Probenkonzentration für die Titration,  $\text{CMC}' = \text{CMC}$  als Molenbruch; berechnete thermodynamische Parameter ( $\Delta G_{\text{demiz}}$ ,  $T\Delta S_{\text{demiz}}$  und  $\Delta S_{\text{demiz}}$ ) nach dem Phasenseparationsmodell (7) und Gibbs-Helmholtz-Gleichung (9).

	$\alpha$ OctylMan <b>17</b> , $\alpha$ OctylGal <b>18</b>	$\alpha$ OctylMan <b>17</b> , $\alpha$ OctylGlc <b>19</b>	$\alpha$ OctylGal <b>18</b> , $\alpha$ OctylGlc <b>19</b>	$\beta$ OctylGal <b>34</b> , $\beta$ OctylMan <b>72</b>	$\beta$ OctylGlc <b>33</b> , $\beta$ OctylMan <b>72</b>	$\beta$ OctylGlc <b>33</b> , $\beta$ OctylGal <b>34</b>
$c$ [mM]	201	250	129	250	189	250
CMC [mM]	15.4 $\pm$ 0.3	13.0 $\pm$ 0.7	25.4 $\pm$ 0.7	24.5 $\pm$ 0.4	23.3 $\pm$ 0.2	31.9 $\pm$ 0.3
CMC' [ $\cdot 10^{-4}$ ]	2.76 $\pm$ 0.06	2.34 $\pm$ 0.14	4.48 $\pm$ 0.16	4.39 $\pm$ 0.07	4.18 $\pm$ 0.04	5.71 $\pm$ 0.06
lnCMC'	-8.20 $\pm$ 0.03	-8.36 $\pm$ 0.06	-7.71 $\pm$ 0.07	-7.73 $\pm$ 0.04	-7.78 $\pm$ 0.01	-7.47 $\pm$ 0.03
$\Delta G_{\text{demiz}}$ [kJ/mol]	20.3 $\pm$ 0.1	20.7 $\pm$ 0.2	19.1 $\pm$ 0.2	19.2 $\pm$ 0.2	19.3 $\pm$ 0.1	18.5 $\pm$ 0.1
$\Delta H_{\text{demiz}}$ [kJ/mol]	-5.2 $\pm$ 0.3	-12.3 $\pm$ 0.1	-10.6 $\pm$ 0.1	-8.5 $\pm$ 0.2	-8.6 $\pm$ 0.4	-7.2 $\pm$ 0.9
$T\Delta S_{\text{demiz}}$ [kJ/mol]	-25.2 $\pm$ 0.3	-33.1 $\pm$ 0.1	-29.7 $\pm$ 0.1	-27.7 $\pm$ 0.3	-27.9 $\pm$ 0.4	-25.7 $\pm$ 0.9
$\Delta S_{\text{demiz}}$ [J/K]	-85.7 $\pm$ 1.3	-110.9 $\pm$ 0.4	-99.8 $\pm$ 0.3	-92.8 $\pm$ 0.9	-93.4 $\pm$ 1.3	-86.1 $\pm$ 3.1

---

Ein negativer Wert für  $\Delta G_{\text{miz}}$  zeigt erneut an, dass es sich bei der Mizellbildung um einen freiwillig ablaufenden Prozess handelt. Die Mizellbildungsentropie  $\Delta S_{\text{miz}}$  nimmt wiederum positive Werte an, wodurch der Mizellbildungsprozess mit einer Entropiezunahme verbunden ist. Die Mizellbildungsenthalpie  $\Delta H_{\text{miz}}$  liefert hier ebenfalls einen positiven Beitrag, allerdings überwiegt der größere Term  $\Delta S_{\text{miz}}$  bei der Gesamtbetrachtung der Gibbs-Enthalpie  $\Delta G_{\text{miz}}$ , wodurch ein entropisch begünstigter Prozess bei der Mizellbildung bei der Untersuchung der gemischten Glycomizellen resultiert, wie dies auch schon im Fall der reinen Glycomizellen zu beobachten gewesen ist.

### 3.4.3 NMR-Diffusionsexperimente von Octylmannosid-Mizellen

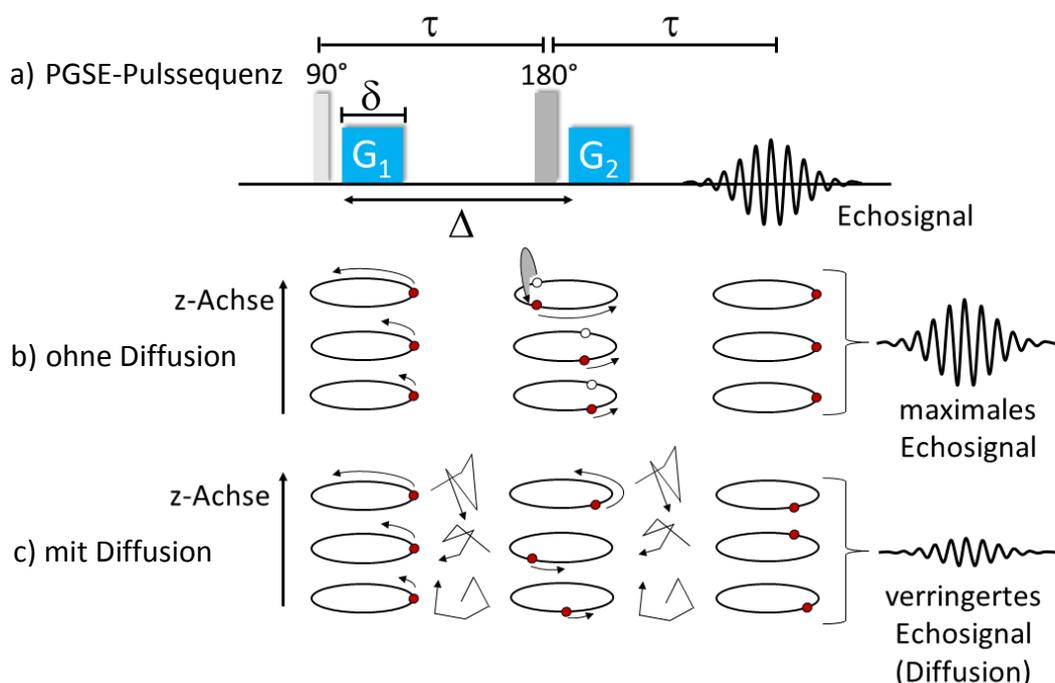
Die molekularen Aggregationseigenschaften in mizellaren Systemen von unterschiedlichen amphiphilen Glycosiden wurden durch kalorimetrische Untersuchungen mit der Isothermen Titrationskalorimetrie untersucht, wobei eine thermodynamische Charakterisierung der hier vorgestellten Modellsysteme durchgeführt werden konnte. Neben der Beschreibung des Gleichgewichtszustandes eines Mizellsystems ist es auch wichtig, die Dynamik eines solchen Systems zu erforschen und dadurch weitere Erkenntnisse über die Selbstaggregation von Mizellen zu gewinnen. In der natürlichen Umgebung der Glycokalyx sind solche dynamischen Interaktionsprozesse der Glycokonjugate bei biologischen Erkennungsprozessen ein allgegenwärtiges Phänomen (s. Einleitung). Die Mizelle als ein Modell für einen solchen flexiblen supramolekularen Verbund ist für verschiedene Fragestellungen eingesetzt worden. Beispielsweise wurden Konformationsanalysen von komplexeren, in DPC(*dodecylphosphocholine*)-Mizellen eingelagerten Glycolipiden (Gangliosid GD1a) durchgeführt.<sup>[17]</sup> Grundlage hierfür waren NOE-Daten, die mittels NMR-spektroskopischer Untersuchungen erhalten werden konnten. Des Weiteren konnten von SCHWEKENDIEK und LINDHORST amphiphile Glycothymidine erfolgreich in SDS(*sodiumdodecylsulfate*)-Mizellen eingelagert werden. An diesem Plasmamembran-Mimetikum konnte mithilfe einer Photodimerisierung eine konformationelle Änderung innerhalb des gemischten Mizellsystems nachgewiesen werden.<sup>[195]</sup> Als Methode zur Analyse dieses Systems wurde eine spezielle Methode auf spektroskopischer Basis, die Diffusions-NMR-Spektroskopie, eingesetzt. Bei diesem Verfahren wird auf direkte Weise die Diffusionsgeschwindigkeit eines Moleküls oder Molekülverbandes gemessen. Zusätzlich können vielfältige Informationen

über zwischenmolekulare Wechselwirkungen sowie Größe und Gestalt des untersuchten Systems in Lösung mithilfe eines nichtinvasiven Verfahrens erhalten werden, das für die Untersuchung der Moleküldynamik sowie der lateralen Diffusion von Molekülen in biologischen Systemen besonders geeignet ist.<sup>[196]</sup>

Im vorliegenden Fall sollte die freie Diffusion von mannosidischen Mizellen, die besonders auffällige Unterschiede bei ihrem Aggregationsverhalten in Abhängigkeit von der anomeren Konfiguration gezeigt haben (s. Kapitel 3.4.1 und 3.4.2), mithilfe der hochsensitiven Diffusions-NMR-Spektroskopie untersucht werden. Von besonderem Interesse war hierbei die Bestimmung der kritischen CMC. Die im NMR-Experiment erhaltenen Werte sollten mit den durch ITC-Messungen bestimmten Werten verglichen werden. Darüber hinaus sollten aus den erhaltenen Diffusionskoeffizienten  $D_{\text{obs}}$  Aussagen über die Größe und das Ausmaß der Diffusionsbewegung für die betrachteten amphiphilen Moleküle bzw. Mizellen getroffen werden.

Die Methodik einer NMR-Diffusionsmessung beinhaltet das sogenannte gepulste Gradienten-Spin-Echo-NMR-Experiment (*Pulsed-Gradient-Spin-Echo*, PGSE), welches in abgewandelten Verfahren zahlreiche Anwendungen findet. Grundlage für dieses Experiment ist eine vierstufige Pulssequenz, durch die ein Echo unterschiedlicher Signalintensität erzeugt wird und welche abhängig von der Diffusionsbewegung in einem geplusten Gradientenmagnetfeld ist. Zur Veranschaulichung sind in Abbildung 24 die PGSE-Pulssequenz (Abbildung 24a) und davon abhängig zwei Molekülvarianten (Abbildung 24b,c) dargestellt, bei denen nur bei der zweiten Darstellung eine Eigendiffusionsbewegung (Abbildung 24c) beobachtet wird. Zuerst wird ein  $90^\circ$ -Anregungspuls eingestrahlt, der die Spins von der z-Achse in x,y-Ebene dreht. Im Anschluss wird ein gepulstes Gradientenmagnetfeld  $G_1$  der Dauer  $\delta$  angelegt, wodurch eine ortsabhängige Phasenverschiebung bewirkt wird. Nach diesem Zeitintervall  $\tau$  (Dauer einer Periode) wird erneut ein  $180^\circ$ -Puls eingestrahlt, der das Vorzeichen der Spins ändert. Abschließend wird wiederum der Gradientenpuls  $G_2$  gleicher Stärke und Dauer angelegt, der die Spins wieder in die ursprüngliche Phase bringt, was als Refokussierung bezeichnet wird. Findet während des Gradientenpulses  $G_1$  und  $G_2$  keine Diffusion statt, wird ein Echosignal maximaler Intensität erzeugt, da eine vollständige Refokussierung erzielt wird (Abbildung 24b). Ist hingegen eine Diffusionsbewegung zu beobachten, findet nur eine teilweise Refokussierung durch das ortsabhängige Magnetfeld statt und ein schwächeres Echosignal ist zu beobachten (Abbildung 24c). Die zu

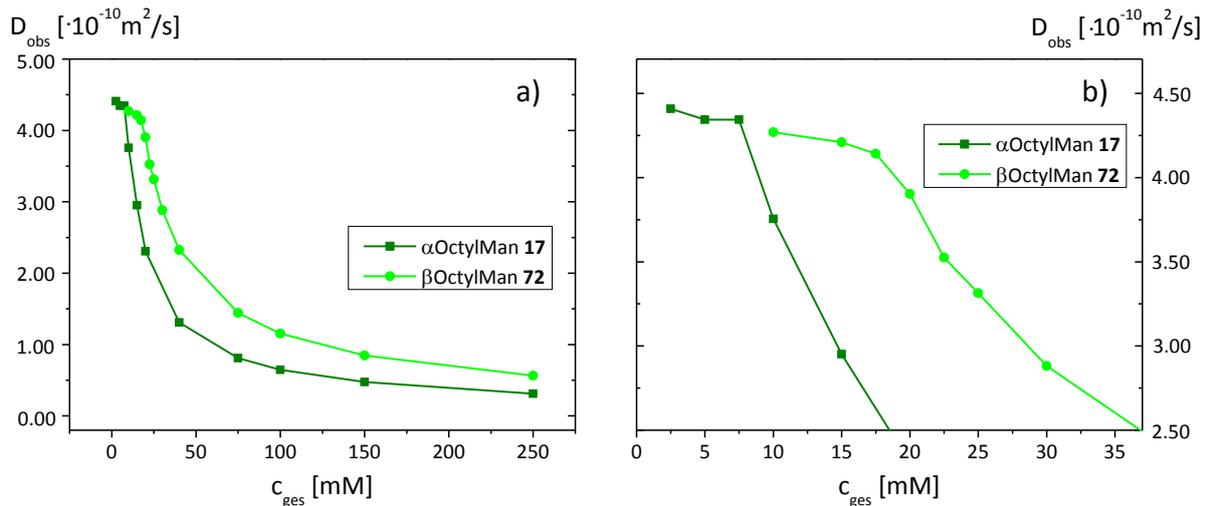
bestimmende Diffusionskonstante setzt sich aus dem Verhältnis der Intensitäten der Signale mit und ohne Gradientenpuls sowie experimenteller Parameter zusammen.<sup>[197]</sup>



**Abbildung 24:** Schematische Darstellung des gepulsten Gradienten-Spin-Echo-Experiments: a) PGSE-Pulssequenz,  $G_1/G_2$  ist die Amplitude des Pulsgradienten entlang der z-Achse und  $\delta$  die Pulsdauer; b) ohne Diffusion findet nach  $G_2$  eine vollständige Refokussierung der Moleküle statt; c) Auswirkung von Diffusion, wodurch sich die Größe der Phasenverschiebung unterscheidet und eine unvollständige Refokussierung resultiert (verringertes Echo); (abgewandelte Graphik nach der Literatur).<sup>[196]</sup>

Unter Verwendung von jeweils einer Konzentrationsreihe (2.5 - 250 mM für  $\alpha$ OctylMan **17**, 10 - 250 mM für  $\beta$ OctylMan **72**) wurden die Diffusionskoeffizienten  $D_{\text{obs}}$  der Octylmannosid-Mizellen mit dem hier vorgestellten PGSE-Experiment gemessen. Es ergab sich ein konzentrationsbedingter Abfall der Diffusionskoeffizienten bei steigender Konzentration (Abbildung 25). Dieser Effekt wurde in der Literatur für Diffusionsmessungen von Octyl- $\beta$ -D-glucosiden bereits beschrieben.<sup>[198]</sup>

### 3.4 Biophysikalische Untersuchung der Selbstaggregation amphiphiler Glycoside

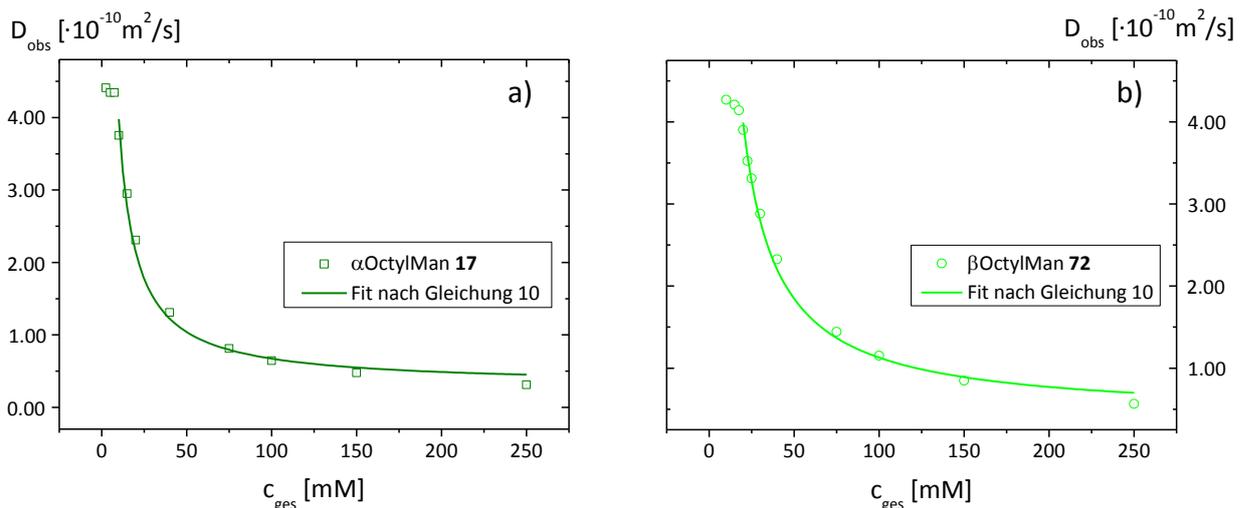


**Abbildung 25:** Graphen der gemessenen Diffusionskonstanten des Octyl- $\alpha$ -D-mannosids **17** und Octyl- $\beta$ -D-mannosids **72** im Konzentrationsbereich zwischen 2.5 bis 250 mM; a) Übersichtskurven; b) Ausschnitt der Kurven, die den plötzlichen Abfall der Diffusion bei Überschreiten der CMC verdeutlicht.

Für die Bestimmung der Diffusionskoeffizienten wurden bei jeder Konzentration vier Bereiche ( $\delta = 4.00 - 3.30, 1.65 - 1.37, 1.36 - 1.00, 0.90 - 0.60$  ppm) des NMR-Spektrums ausgewählt und für diese der Diffusionskoeffizient separat bestimmt. Da jeweils nur eine diffundierende Spezies identifiziert wurde, ist hieraus zu folgern, dass es sich in Bezug auf die NMR-Zeitskala um ein schnelles Gleichgewicht zwischen Monomer und Mizelle handelt. Hieraus ergibt sich, dass der gemessene Diffusionskoeffizient  $D_{obs}$  ein konzentrationsgewichte Mittelwert ist, aus dem jeweils die Diffusionskoeffizienten des Monomers  $D_{mono}$  und der Mizelle  $D_{miz}$  nach Gleichung 10 bestimmt werden konnten.<sup>[199]</sup>

$$D_{obs} = \frac{c_{CMC} \cdot D_{mono} + [c_{gesamt} - c_{CMC}] \cdot D_{miz}}{c_{gesamt}} \quad (10)$$

Bei Überschreiten der CMC ist ein rapider Abfall von  $D_{obs}$  zu erkennen (Abbildung 25b). Die Bestimmung der CMC kann nun einerseits graphisch durch viele Messpunkte in diesem Konzentrationsbereich erfolgen oder andererseits unter Verwendung eines Fits nach Gleichung 10. Da die angewandte Gleichung nur gültig für den Bereich oberhalb der CMC ist, wurden die Fitgrenzen entsprechend gewählt.



$\alpha$ OctylMan <b>17</b>		
CMC [mM]	$D_{\text{mono}}$ [ $\text{m}^2/\text{s}$ ]	$D_{\text{miz}}$ [ $\text{m}^2/\text{s}$ ]
$9.1 \pm 0.3$	$4.35 \cdot 10^{-10}$	$3.05 \pm 0.81 \cdot 10^{-11}$

$\beta$ OctylMan <b>72</b>		
CMC [mM]	$D_{\text{mono}}$ [ $\text{m}^2/\text{s}$ ]	$D_{\text{miz}}$ [ $\text{m}^2/\text{s}$ ]
$18.9 \pm 0.3$	$4.21 \cdot 10^{-10}$	$4.13 \pm 0.58 \cdot 10^{-11}$

**Abbildung 26:** Bestimmung der CMC und Diffusionskoeffizienten durch die Fitfunktion nach Gleichung 10; Die Fitgrenzen beziehen sich auf Messpunkte oberhalb der CMC.

Durch die so erhaltenen Fitkurven (Abbildung 26) wurde die Auswertung der Diffusions-Experimente vorgenommen. Es wurde hierfür die Diffusionskonstante des jeweiligen Monomers unterhalb der CMC als konstant angenommen.<sup>[199]</sup> Die CMC-Werte mit 9.1 mM für das  $\alpha$ -Anomer **17** und 18.9 mM für das  $\beta$ -Anomer **72** weisen im Vergleich mit den durch die ITC bestimmten Werte (ITC: CMC ( $\alpha$ OctylMan **17**) = 10.9 mM, CMC ( $\beta$ OctylMan **72**) = 22.9 mM) geringere Werte auf. Dies ist ein nachzuvollziehendes Ergebnis, da bei der ITC zusätzliche intermolekulare Wechselwirkungsprozesse der Demizellisierung und Verdünnung der Mizellen und Monomere berücksichtigt werden müssen. Somit können diese hier bestimmten Werte als Verifizierung der per ITC bestimmten CMC-Werte bewertet werden. Die Diffusionskoeffizienten  $D_{\text{mono}}$  der Monomere mit Werten von  $4.35 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  ( $\alpha$ OctylMan **17**) bzw.  $4.21 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  ( $\beta$ OctylMan **72**) sind im Rahmen der Fehlergrenzen als nahezu gleich anzusehen. Im Gegensatz hierzu sind die Diffusionskoeffizienten  $D_{\text{miz}}$  der beiden Mizellsysteme mit einem Wert von  $3.05 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  für die Mizelle des  $\alpha$ -Anomers **17** und  $4.13 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  für die Mizelle des  $\beta$ -Anomers **72** unterschiedlich. Es ergibt sich hieraus, dass die  $\alpha$ OctylMan-Mizelle entsprechend der langsameren Diffusion im Vergleich zur  $\beta$ OctylMan-Mizelle größere Aggregate bildet. Somit kann hier wiederum der Einfluss der anomeren Konfiguration auf die Selbstaggregation im Fall der mannosidischen Mizellen

nachgewiesen werden, der eine veränderte Diffusionsgeschwindigkeit bewirkt. Die Größenordnung der hier bestimmten Diffusionskoeffizienten ist mit literaturbekannten Diffusions-Studien von  $\beta$ -Octylglucosid-Mizellen von SÖNNICHSEN und SANDERS vergleichbar, wobei hier eine Abschätzung der CMC mit Daten aus der Literatur vorgenommen wurde.<sup>[200]</sup> Diese Daten konnten in gemeinsamen Projektarbeiten mit KOBARG und SMETS über Diffusions-NMR-Experimente ebenfalls bestätigt werden.<sup>[201,202]</sup> Durch das Modell harter Kugeln unter Verwendung der Stokes-Einstein-Gleichung (11) kann eine Abschätzung für die Größe der beiden mizellaren Systeme in sphärischer Form vorgenommen werden.

$$R_h = \frac{k_B \cdot T}{6\pi\eta D_{miz}} \quad (11)$$

Mit einer dynamischen Viskosität von  $\eta = 1.10 \text{ Ns/m}^2$ <sup>[203]</sup> für D<sub>2</sub>O wird für die  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17** ein hydrodynamischer Radius von 65.1 Å berechnet und das entsprechende  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** weist einen Radius von 52.9 Å auf. Somit haben die untersuchten Systeme eine leicht unterschiedliche Größe bei Annahme einer sphärischen Kugel. Diese Werte haben allerdings aufgrund der tatsächlich nichtsphärischen Form (s. Kapitel 3.5) nur begrenzte Aussagekraft.

#### 3.4.4 Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel

In diesem Abschnitt wurden zwei biophysikalische Verfahren zur Untersuchung der Selbstaggregation von amphiphilen Glycosiden angewendet, wobei sowohl reine als auch gemischte Glycomizellen analysiert wurden. Zuerst wurden reine Glycomizellen mit der ITC vermessen, wodurch neben den CMC-Werten der fünf unterschiedlichen mizellaren Systeme auch thermodynamische Parameter der Mizellen mittels des Phasenseparationsmodells berechnet werden konnten. Es zeigte sich, dass die anomere Konfiguration eines Glycosids einen Effekt auf die Mizellbildung hat, dessen Stärke abhängig von der Konfiguration des jeweilig untersuchten Glycosids ist. Bei den anomeren Mannosederivaten ( $\alpha$ OctylMan **17**, 10.9 mM;  $\beta$ OctylMan **72**, 22.9 mM) wurde ein stärkerer Effekt auf den CMC-Wert beobachtet als im Fall der anomeren Galactosederivate ( $\alpha$ OctylGal **18**, 30.2 mM;  $\beta$ OctylGal **34**, 31.7 mM), deren CMC-Werte für  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer nahezu gleich sind.

---

Weiterhin wurde der Einfluss der Zuckerkonfiguration auf die Mizellbildung betrachtet, wobei eine kohlenhydratspezifische Abhängigkeit der Mizellbildung festgestellt werden konnte. In der Reihenfolge Gal>Glc>Man nehmen die CMC-Werte ab, was sowohl für die  $\alpha$ -Serie als auch in abgeschwächter Form für die  $\beta$ -Serie gefunden wurde.

Bei der Vermessung der gemischten Mizellen wurden sechs binäre Mischungen von je zwei  $\alpha$ -konfigurierten oder  $\beta$ -konfigurierten Glycosiden untersucht, um die Rolle der Konfiguration des Zuckerringes und ihre intermolekularen Wechselwirkungen in einem supramolekularen Ensemble zu erforschen. Es wurde in allen Fällen nur eine CMC pro gemischter Glycomizelle gefunden, was Interaktionen der jeweils beteiligten Amphiphile bei der Bildung einer Mizelle nahe legt. Besonders auffällig waren hierbei die mannosehaltigen Mizellen, deren CMC-Werte nicht dem Durchschnittswert der CMCs der separaten Mizellen entsprachen, sondern stets geringere CMC-Werte aufwiesen.

Darüber hinaus konnten gemischte Mizellen mit  $\alpha$ -Octylglucosid **19** gebildet werden, was bei der Durchführung der einfachen Mizellen bedingt durch die schlechte Löslichkeit des reinen Anomers nicht möglich war. Hierdurch wurde deutlich, dass sich gemischte Mizellen auf andere Weise verhalten als die reine Form des Amphiphils. Dieses Ergebnis, in einem gemischten System neue Eigenschaften zu bilden, ist eine wichtige Erkenntnis, die bei der Fragestellung von neuen molekularen Zusammensetzungen in supramolekularen Systemen berücksichtigt werden muss.

Weiterhin wurden NMR-spektroskopische Diffusionsmessungen mit den reinen mannosidischen Mizellen aus **17** und **72** durchgeführt, wodurch die bisher erzielten Erkenntnisse über die Mizellbildung verifiziert und erweitert werden konnten. Die hierbei ermittelten CMC-Werte für die beiden Anomere stimmen qualitativ mit denen der ITC-Messungen überein. Es konnten die Diffusionskoeffizienten der beteiligten Mizellssysteme ( $\alpha$ OctylMan **17**,  $3.05 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ ,  $\beta$ OctylMan **72**,  $4.13 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ ) bestimmt werden, wobei deutliche Unterschiede in den Diffusionsgeschwindigkeiten gefunden wurden. Folglich sind die durchschnittlichen Mizellgrößen von **17** und **72** nicht gleich und die  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17** bildet leicht größere Aggregate, weil diese Aggregate sich langsamer bewegen.

Die besondere Bedeutung der axialen Hydroxylgruppe auf die Mizellbildung im Falle der mannosidischen Mizellen, die bei allen angewendeten Analyseverfahren beobachtet wurde, wird im folgenden Kapitel auf molekularer Ebene mittels eines klassischen theoretischen Analyseansatzes, der Moleküldynamik-Simulation, näher untersucht.

---

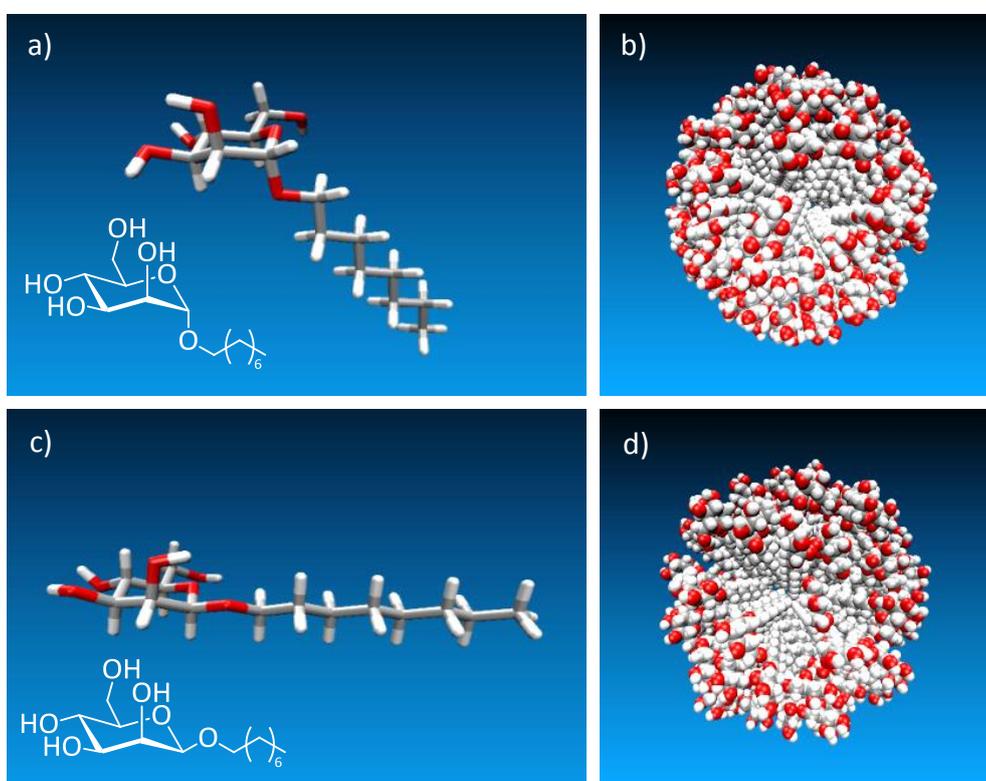
### 3.5 Moleküldynamik-Simulationen von Octylmannosid-Mizellen in Wasser

Die Simulation von amphiphilen Glycokonjugaten in biologisch relevanten Systemen, wie biologischen Membranen, ist eine weit verbreitete Methode zur Erforschung von Struktur-Wirkungsbeziehungen auf der atomistischen Ebene.<sup>[204]</sup> Einerseits werden Effekte, die beim Aufbau von Doppelschichten aus unterschiedlich verknüpften Disacchariden und verzweigten Alkylketten auftreten, untersucht,<sup>[205]</sup> andererseits werden die Wechselwirkungen betrachtet, die mit anderen Strukturelementen der Plasmamembran bei der Untersuchung von sogenannten *Lipid-Rafts* auftreten.<sup>[206]</sup> Die Untersuchung der Selbstaggregation in Form von Glycomizellen ist ebenfalls schon in der Literatur beschrieben, allerdings wurden bisher ausschließlich Gluco- und Galactolipide<sup>[183,207,208]</sup> mit unterschiedlichen Anzahlen an Monomeren berechnet, wobei eine Vielzahl von Kraftfeldern zum Einsatz kam. Neben Glycolipiden mit einer Kohlenhydrateinheit sind auch Moleküldynamik (MD)-Simulationen mit Maltosekopfguppen bekannt.<sup>[209]</sup> In zwei der oben genannten Studien wurde der Einfluss der anomeren Konfiguration behandelt, es liegen allerdings keine theoretischen MD-Simulationen ausgehend von Mannosid-Mizellen vor.

Um einen detaillierten Einblick in das dynamische Verhalten von Mizellen zu erhalten, wurden MD-Simulationen mit dem Programm AMBER 10<sup>[210,211]</sup> von mannosidischen Mizellen aus **17** und **72** durchgeführt. Hierbei war der Einfluss der anomeren Konfiguration auf die Selbstaggregation der amphiphilen Mannoside ein besonderer Aspekt, der auf atomarer Ebene untersucht werden sollte. Aus diesem Grund wurden die Parameter für die simulierten Systeme im Bereich der Monomer- und der Wassermolekülanzahl gleich gewählt, um Unterschiede durch verschiedene Konzentrationen vernachlässigen zu können und somit ein einfach zu vergleichendes System zu erhalten. Dieser theoretische Simulationsansatz sollte unterstützende Erklärungsansätze liefern, um das unterschiedliche Aggregationsverhalten der mannosidischen Glycomizellen von **17** und **72** besser nachvollziehen zu können, wie es die experimentellen Untersuchungen mittels ITC und Diffusions-NMR (s. Kapitel 3.4) gezeigt haben. Im nachfolgenden Kapitel sind die Simulationsdetails, wie Aufbau und Durchführung der MD-Simulation, sowie die Analyse der Simulationen aufgeführt. Da der Einfluss des umgebenden wässrigen Milieus immer in biologischen relevanten Fragestellungen von entscheidender Bedeutung sein kann,<sup>[212]</sup> wurde ein Fokus auch auf die Berechnung von Kohlenhydrat-Wasser-Wechselwirkungen gelegt.

### 3.5.1 Aufbau von Startkonformationen und Simulationsprotokoll von Mannosid-Mizellen

Die für eine MD-Simulation erforderlichen Kraftfeld-Parameter der einzelnen Monomerstrukturen von **17** und **72** (Abbildung 27) wurden als erstes bestimmt. Die Mannoseeinheit ist im GLYCAM06-Kraftfeld<sup>[213]</sup> bereits implementiert, wohingegen die Parameter der Octylkette mit dem R.E.D.-Programm<sup>[214]</sup> auf Grundlage von RESP-Ladungsberechnung (HF/6-31G\*) unter Berücksichtigung der späteren Anwendung im GLYCAM-Kraftfeld eigenständig berechnet wurden. Hierzu wurde mit einer fiktiven CH<sub>3</sub>-Gruppe gearbeitet, die als Platzhalter für die spätere Kohlenhydratkopfgruppe diente.

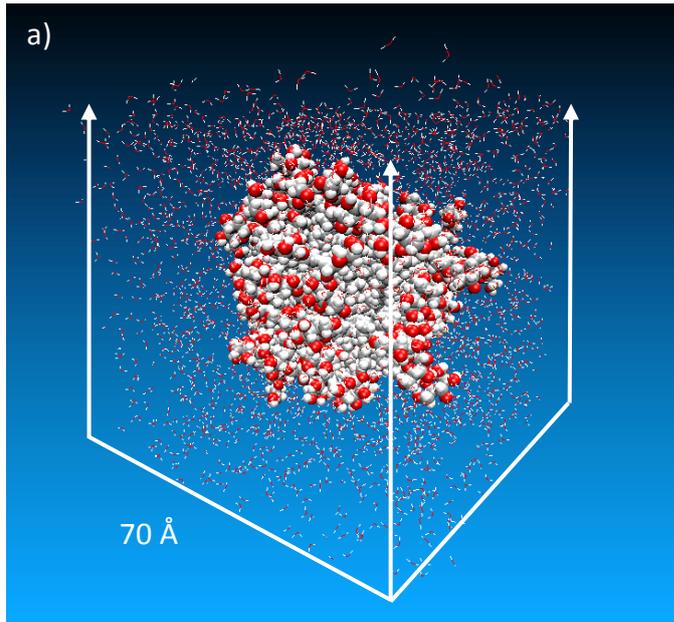


**Abbildung 27:** 3D-Startstrukturen der Monomere und Mizellen für die MD-Simulationen: a) Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**17**) ( $\alpha$ OctylMan); b) Mizellstartkonfiguration von  $\alpha$ OctylMan bestehend aus 92 Monomeren; c) Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosid (**72**) ( $\beta$ OctylMan); d) Mizellstartkonfiguration von  $\beta$ OctylMan bestehend aus 92 Monomeren.

Bei der Berechnung wurde mit einer angenommenen Ladung von +0.194 Punktladungseinheiten der CH<sub>3</sub>-Gruppe gearbeitet (*intermolecular charge restraint*), da die später eingeführte Mannoseeinheit eine Ladung von -0.194 Punktladungseinheiten im GLYCAM-Kraftfeld aufweist.

Die Mizellstartkonfigurationen, bestehend aus jeweils 92 Monomeren, wurden in Form einer sphärischen Kugel mit dem PACKMOL-Programm<sup>[215]</sup> erstellt. ABEL et al. haben bei ihren Simulationen ausgehend von experimentellen Werten mit einer Monomeranzahl von 75 für die  $\alpha$ -Maltosemizelle und 132 für die  $\beta$ -Maltosemizelle gearbeitet. Die unterschiedlich gewählten Monomeranzahlen machten allerdings den späteren Vergleich der erhaltenen Ergebnisse im Hinblick auf den Effekt der verschiedenen anomeren Konfiguration schwierig.<sup>[209]</sup> Im Anschluss wurden mit Hilfe des XLEAP-Tools des AMBER-Pakets die Parameter und Koordinaten der Mizellstartsysteme für die nachfolgenden Schritte der Simulationsequenz bestimmt. Nach einer kurzen Minimierungsphase wurden die Mizellsysteme in einer kubischen Wasserbox (70 Å x 70 Å x 70 Å) mit 6796 Wassermolekülen (TIP3P Wassermodell)<sup>[216]</sup> solvatisiert (Abbildung 28). Die Anzahl der Monomere und Wassermoleküle wurde hierbei aus einer literaturbekannten MD-Simulation adaptiert,<sup>[207]</sup> weil keine experimentellen Daten von Octylmannosid-Mizellen vorliegen und die CMC-Werte sich in einem ähnlichen Konzentrationsbereich befinden (vgl. Kapitel 3.4).

Das Simulationsprozedere einer MD-Simulation ist zwar abhängig vom jeweiligen System, beinhaltet allerdings immer gleiche Teilschritte, die dazu dienen, das simulierte System ins Gleichgewicht zu bringen und somit zu äquilibrieren. Zu Anfang wird eine zweistufige Minimierungsphase durchgeführt, die dazu dient, Kontakte zwischen Amphiphilen und Wassermolekülen, bzw. zwischen Wassermolekülen untereinander, zu entfernen. Im Anschluss an diese erste Stufe, die mit einer geringen Fixierung der Mizelle (*restraints on the solute*) durchgeführt wird, wird das gesamte Mizell-Wasser-System nun ohne Fixierung energieminiert. In der sich anschließenden Äquilibrierungsphase wird das System auf die gewünschte Temperatur aufgeheizt und in einer kurzen MD-Simulation das gesamte System bezogen auf die Dichteverhältnisse ins thermische Gleichgewicht gebracht. Nach diesen Schritten konnten die eigentlichen MD-Produktionsläufe von 15 ns erfolgen, die aus praktischen Gründen in 2 ns-Teilsimulationsschritten durchgeführt wurden (Details s. Experimenteller Teil).



b) Parameter der MD-Simulationen	
Monomere	92
Wassermoleküle	6792
Atome	24804
Temperatur	298.15 K
Zeit	15 ns

**Abbildung 28:** a) Anfängliche Konfiguration der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** in einer Wasserbox bei  $t = 0$  ns; Die Dichte der Wassermoleküle wurde der Übersichtlichkeit halber reduziert; b) Zusammenfassung der Simulationsparameter.

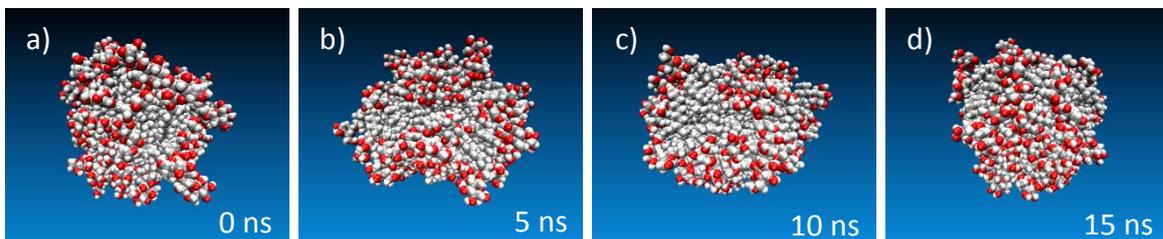
Zur Analyse der Trajektorien der MD-Simulationen wurde auf eine Auswahl unterschiedlichster Methoden und Verfahren zurückgegriffen, welche zum größten Teil mit Hilfe des PTRAJ-Moduls des AMBER-Paketes durchgeführt wurden. In den folgenden Kapiteln sind die Ergebnisse dieser Berechnungen zusammengefasst.

### 3.5.2 Stabilität, Größe und Form der Mannosid-Mizellen

Die ersten Informationen, die nach einer durchgeführten Moleküldynamik-Simulation berechnet werden, sind Parameter zur Stabilitätsuntersuchung des simulierten Systems. Hierzu werden Dichte, Druck, Energiewerte, Temperatur und Volumen geplottet und auf Fluktuationen untersucht (Graphen s. Anhang). Im vorliegenden Fall ist außerdem sehr wichtig zu berücksichtigen, ob einzelne Monomere des simulierten Mizellsystems sich von der Mizelle entfernen, was sich negativ auf die anschließenden Betrachtungen von Größe und Form der Mannosid-Mizellen auswirken würde. Die Systemparameter, die visuelle Inspektion und die berechneten Größenverläufe (Abbildung 30) zeigen, dass es sich bei beiden simulierten Mizellsystemen aus dem  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Anomers (**17** bzw. **72**) um stabile Produktionsläufe handelt, bei denen keine fehlerhaften Monomerfluktuationen zu

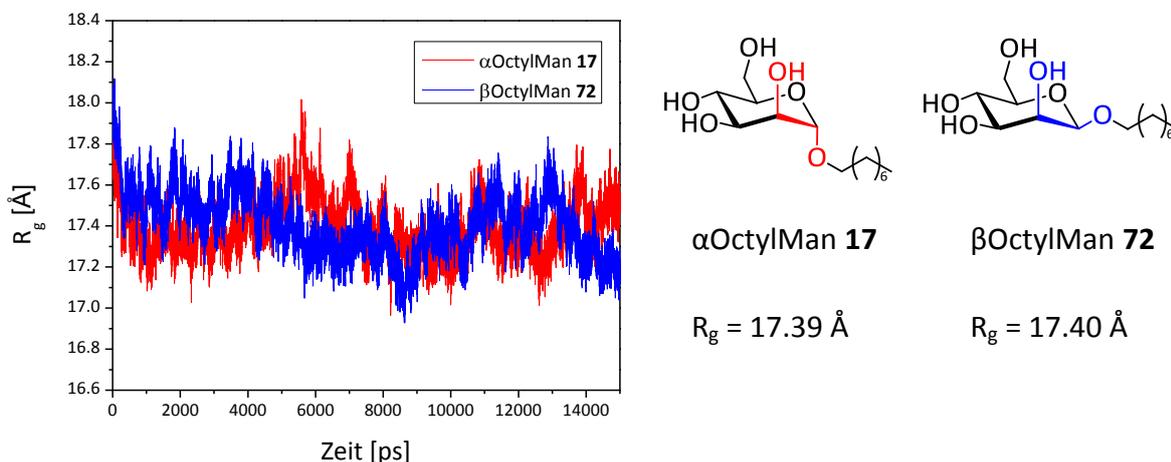
### 3.5 MD-Simulationen von Octylmannosid-Mizellen in Wasser

beobachtet waren. Zur Veranschaulichung sind in Abbildung 29 beispielhaft Snapshots einer Mizellsimulation abgebildet.



**Abbildung 29:** Exemplarische Snapshots der MD-Simulation der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72**: a)  $t = 0$  ns; b)  $t = 5$  ns; c)  $t = 10$  ns; d)  $t = 15$  ns.

Die Größe der Mizellen wurde durch Berechnung der Trägheitsradien bestimmt (Abbildung 30).<sup>[207]</sup> Das Quadrat des Trägheitsradius beschreibt den mittleren quadratischen Abstand der Amphiphilatomer vom Schwerpunkt der Mizelle. Über den gesamten Zeitraum der Simulation variiert der Radius nur minimal und bleibt auf einem konstanten Niveau. Der Durchschnittsradius der Mizelle des  $\alpha$ OctylMan **17** liegt bei  $17.39 \text{ \AA}$  und der Wert der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** bei  $17.40 \text{ \AA}$ . Somit scheint die Konfiguration am anomeren Zentrum anhand der hier berechneten Werte keinen nennenswerten Einfluss auf die Größe der betrachteten Mizellen zu haben.



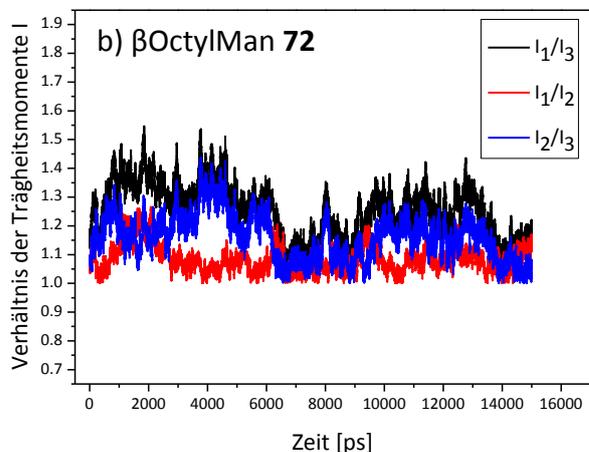
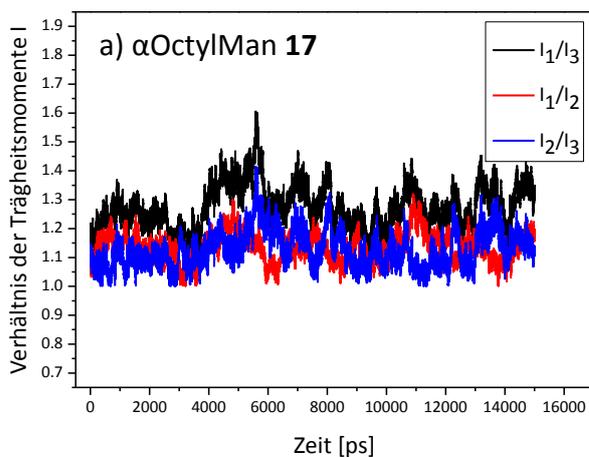
**Abbildung 30:** Verlauf der Trägheitsradien  $R_g$  der Mizellsimulationen;  $R_g(\alpha\text{OctylMan } \mathbf{17}) = 17.39 \pm 0.13 \text{ \AA}$ ;  $R_g(\beta\text{OctylMan } \mathbf{72}) = 17.40 \pm 0.16 \text{ \AA}$ .

Im Vergleich mit der Literatur einer  $\beta$ -Octylglucosid-Mizelle ( $R_g = 19.4 \text{ \AA}$ ) ist ein Größenunterschied von ca.  $2 \text{ \AA}$  der Aggregate zu erkennen, wobei die Stabilität der dort simulierten Mizellen über den gesamten Bereich nicht immer gegeben ist und sich einzelne

Monomere während der Simulation von der Mizelle entfernen. Dieses ist durch Snapshots in der Literatur dargestellt.<sup>[207]</sup>

Die von PASTOR et al.<sup>[208]</sup> durchgeführten MD-Simulationen einer  $\beta$ -Octylglucosid-Mizelle zeigen einen  $R_g$ -Wert von 17.6 Å, der gut mit den hier berechneten Simulationen der Mannosid-Mizellen übereinstimmt, wobei unterschiedliche Aggregationszahlen (75 Monomere in der Literatur und 92 im hier gerechneten Fall) angewandt wurden. Unterschiede bei der Berechnung von z. B. dem Trägheitsradius  $R_g$  aus verschiedenen durchgeführten Simulationen sind häufig zu beobachten und können durch andere Kraftfelder und Systemparameter bei den MD-Simulationen erklärt werden. Experimentelle Daten sind für das Standardsystem  $\beta$ -Octylglucosid durch Streuungsexperimente (SANS, SAXS) bestimmt worden, wobei diese je nach Methode und dem anschließend verwendeten Auswertungsmodell Werte von 19 bis 40 Å annehmen.<sup>[65,198,217]</sup>

Die Aggregationsform der Mizellen wurde durch das Verhältnis der Trägheitsmomente ( $I_1/I_3$ ,  $I_2/I_3$  und  $I_1/I_2$ ) der Hauptträgheitsachsen bestimmt (Abbildung 31).



c) Durchschnittswerte von $I_1/I_3$ , $I_2/I_3$ und $I_1/I_2$		
	$\alpha$ OctylMan 17	$\beta$ OctylMan 72
$I_1/I_3$	$1.27 \pm 0.07$	$1.27 \pm 0.09$
$I_2/I_3$	$1.12 \pm 0.06$	$1.16 \pm 0.08$
$I_1/I_2$	$1.13 \pm 0.05$	$1.08 \pm 0.05$

Hauptträgheitsachsen:  
 $a = I_1$   
 $b = I_2$   
 $c = I_3$   
 $\rightarrow a = b > c$  prolater Ellipsoid

**Abbildung 31:** a, b) Verlauf der Verhältnisse der Trägheitsmomente  $I_1/I_3$ ,  $I_2/I_3$  und  $I_1/I_2$ ; c) berechnete Durchschnittswerte mit Standardabweichung.

Hierzu wurden die diagonalisierten Eigenwerte der Trägheitsmomentstensenoren berechnet. Aus dem Verlauf der Verhältnisse der Trägheitsmomente und Untereinbeziehung der Standardabweichung wird deutlich, dass es sich in beiden Fällen um stark fluktuierende Systeme handelt, was in Übereinstimmung mit literaturbekannten Systemen ist. Der Bereich des  $I_1/I_3$ -Trägheitsmomentsverhältnisses von durchschnittlich  $1.27 \pm 0.07$  bzw.  $1.27 \pm 0.09$  ist in Konsistenz mit anderen Modellsystemen.

Aus den erhaltenen Trägheitsmomenten  $I_1$ ,  $I_2$  und  $I_3$  in Abbildung 31 leiten sich die Hauptträgheitsachsen  $a$ ,  $b$  und  $c$  ab. Da die Beziehung  $a = b > c$  für Hauptträgheitsachsen hieraus näherungsweise gilt, sind beide Mizellen nicht exakt sphärische Mizellen, sondern die Form entspricht einem prolaten Ellipsoiden.<sup>[207]</sup> Ein prolater Ellipsoid bezeichnet eine zigarrenähnliche Form eines Molekülsystems.

Um die Aggregationsform und -größe noch detaillierter zu betrachten, wurden verschiedene geometrische Deskriptoren auf der Basis der Eigenwerte der Trägheitsmomente berechnet (Tabelle 3).<sup>[218]</sup> Ein Größendeskriptor wurde bereits durch den Trägheitsradius  $R_g$  (s. o.) berechnet.

**Tabelle 3:** Auswahl von zwei geometrischen Deskriptoren, die aus den Eigenwerten der Trägheitsmomentw berechnet wurden, anhand dieser kann die Form der simulierten Mizellsysteme genauer untersucht werden.

Geometrische Formdeskriptoren		
	$\alpha$ OctylMan <b>17</b>	$\beta$ OctylMan <b>72</b>
Molekulare Exzentrizität $\epsilon$	$0.61 \pm 0.06$	$0.59 \pm 0.08$
Asphärizität $\Omega$	$0.016 \pm 0.007$	$0.014 \pm 0.008$

Die Molekulare Exzentrizität  $\epsilon$  gibt eine Aussage darüber, ob die mittlere Form des betrachteten Systems eher eine klassisch sphärische Kugel ( $\epsilon = 0$ ) oder eine lineares Molekül ( $\epsilon = 1$ ) aufweist. Für beide Mizellsysteme werden  $\epsilon$ -Werte von 0.61 für **17** bzw. 0.59 für **72** bestimmt, was die Hypothese einer nicht exakt sphärischen und elongierten Mizelle bekräftigt. Die für Octylglucosid-Mizellen literaturbekannten  $\epsilon$ -Werte von  $0.60$ <sup>[208]</sup> und  $0.62$ <sup>[207]</sup> unterstützen diese Hypothese der nicht sphärischen und elongierten Form auch für mannosidische Mizellen. Über den Asphärizitäts-Deskriptor  $\Omega$  kann darüber hinaus noch die Abweichung (Ungleichheit, Anisotropie) von einer sphärischen Form bestimmt werden. Ein

---

kleiner  $\Omega$ -Wert ( $\Omega = 0$ ) wird mit einer sphärischen Kugel in Einklang gebracht, und ein  $\Omega$ -Wert ( $\Omega = 1$ ) beschreibt lineare Formen. Es wurden äußerst kleine  $\Omega$ -Werte von 0.016 (**17**) bzw. 0.014 (**72**) berechnet, was im Rahmen dieses theoretischen Asphäritäts-Modells ebenfalls die Hypothese der Abweichung von der sphärischen Form bekräftigt, allerdings nur in gering ausgeprägter Weise.

### **3.5.3 Kohlenhydrat-Wasser-Wechselwirkungen**

Die Betrachtung von Kohlenhydrat-Wasser-Interaktionen bei der Aufklärung von Kohlenhydrat-Protein-Erkennungsprozessen wird heutzutage vielfach mit spektroskopischen Methoden und mit klassischer Moleküldynamik untersucht.<sup>[92,219]</sup> Die Strukturierung und Dynamik der Wassermoleküle bei der jeweiligen Lektin-Kohlenhydrat-Wechselwirkung selbst ist hierbei schwierig zu analysieren. Im Hinblick auf multivalente Erkennungsereignisse mit einer kohlenhydratreichen Oberfläche, wie dies bei einer Glycomizelle der Fall ist, spielen die jeweiligen Wasserstoffbrücken eine wichtige Rolle für das Verständnis biologischer Erkennungsprozesse. Zur Analyse der Kohlenhydrat-Wasser-Wechselwirkungen wurden verschiedene makroskopische und mikroskopische Aspekte betrachtet. Unter makroskopischen Gesichtspunkten ist es zuerst interessant zu erfahren, welche Oberfläche den Wassermolekülen zur Interaktion mit der Glycomizelle zur Verfügung steht.

#### **3.5.3.1 Kohlenhydrat-Wasser-Wasserstoffbrückenbindungen**

Zuerst wurden die betreffenden Wasserstoffbrückenbindungen der beiden Mizellsysteme im Hinblick auf die Interaktion zwischen Kopfgruppe und umgebenden Wassermolekülen berechnet. Als Kriterien für die Berechnung dienten ein maximaler O-O-Abstand von 3.5 Å und eine Winkeltoleranz von 60°, da hier von einer linearen Wasserstoffbrücke (180°) als Referenz ausgegangen wurde.<sup>[209]</sup> Angegeben ist jeweils die durchschnittliche Anzahl an Wasserstoffbrückenbindungen, die ein Mizellmonomer über den Zeitraum der Simulation ausbildet. Die Ergebnisse der H-Brücken unter Berücksichtigung der Donor- und Akzeptoreigenschaften sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Die Summe der insgesamt ausgebildeten H-Brücken bezogen auf ein Monomer in der Mizelle zeigt, dass die  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17** mit einem durchschnittlichen H-Brücken-Wert von 6.71 etwas höhere

### 3.5 MD-Simulationen von Octylmannosid-Mizellen in Wasser

Wechselwirkungen mit den umgebenden Wassermolekülen aufweist als die  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** (6.24 H-Bindungen pro Monomer), was mit literaturbekannten Analysen von Mizell-Simulationen übereinstimmt.<sup>[209]</sup> Die Ursache dieses Effektes wird bei der detaillierteren Betrachtung der H-Brücken deutlich, welche die Hydroxylgruppe in 2-Position ausbildet. Die  $\alpha$ OctylMan-Monomere **17** bilden über die 2-Hydroxylgruppe verstärkt H-Brücken aus mit einem Durchschnittswert von 1.64. Dieser ist mehr als doppelt so groß wie die berechneten Wasserstoffbrückenbindungs-Werte der  $\beta$ OctylMan-Mizellmonomere **72** mit einem Wert von 0.74.

**Tabelle 4:** Durchschnittliche Anzahl an Wasserstoffbrückenbindungen eines Mizellmonomers zwischen der jeweiligen Kopfgruppe und Wasser; berechnet aus den 75000 Snapshots mit dem H-Brücken-Tool von VMD,<sup>[220]</sup> 1-O bezeichnet das anomere und 5-O das endocyclischen Sauerstoffatom des Kohlenhydrats.

	$\alpha$ OctylMan <b>17</b>			$\beta$ OctylMan <b>72</b>		
	Donor	Akzeptor	Summe (D,A)	Donor	Akzeptor	Summe (D,A)
1-O		0.32±0.05	0.32±0.05		0.36±0.07	0.36±0.07
2-O	0.71±0.05	0.93±0.07	1.64±0.09	0.29±0.05	0.45±0.12	0.74±0.14
3-O	0.73±0.05	0.77±0.07	1.49±0.09	0.68±0.11	0.91±0.07	1.59±0.14
4-O	0.74±0.05	0.73±0.06	1.47±0.09	0.85±0.04	1.04±0.07	1.89±0.08
5-O		0.29±0.05	0.29±0.05		0.19±0.04	0.19±0.04
6-O	0.46±0.05	1.05±0.07	1.51±0.09	0.51±0.06	0.95±0.07	1.46±0.10
Summe	2.63±0.10	4.08±0.16		2.34±0.13	3.90±0.24	
Total	6.71±0.23			6.24±0.32		

Diese unterschiedlichen H-Brücken-Werte können durch die Tatsache erklärt werden, dass durch das axial stehende anomere Sauerstoffatom mehr Raum bei 2-O für Wassermoleküle zur Verfügung steht, die dann mit der betreffenden Hydroxylgruppe in 2-Position wechselwirken können. Im Fall von  $\beta$ OctylMan **72** erfolgt eine sterische Abschirmung von 2-O durch das äquatorial stehende anomere Sauerstoffatom 1-O und somit ist der Raum für Wassermoleküle verringert. Die anderen betrachteten H-Brücken sind größtenteils miteinander vergleichbar mit Ausnahme der Akzeptorwasserstoffbrücke der Hydroxylgruppen in 3- und 4-Position. Die Hydroxylgruppen der  $\beta$ OMan-Mizelle **72** bilden etwas mehr Wasserstoffbrücken (0.91 und 1.04) aus als die entsprechenden Hydroxylfunktionen der  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17** (0.77 und 0.73). Somit haben die

Hydroxylgruppen in 3- und 4-Position der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** direkten Kontakt mit Wasser und befinden sich vermehrt in der Mizell-Wasser-Grenzflächenregion als diejenigen der  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17**.

Die Betrachtung der Wasserstoffbrückenbindungen gibt schon einen ersten Eindruck davon, dass sich das  $\alpha$ -Mizellsystem **17** von dem entsprechenden  $\beta$ -System **72** im Hinblick auf Kohlenhydrat-Wasser-Wechselwirkungen unterscheidet, was im Folgenden mit weiteren Analysemethoden genauer untersucht wird.

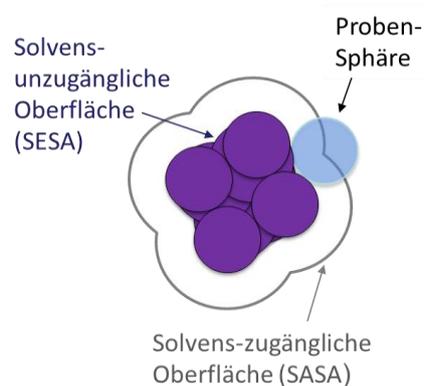
### 3.5.3.2 Solvens-zugängliche Moleküloberfläche (Solvent-Accessible Surface Area - SASA)

Bei der Analyse der dreidimensionalen Struktur der Mizellsysteme ist es wichtig zu erfahren, wie sich die Solvens-zugängliche Oberfläche der Mizellen verhält bzw. verändert, die mit den umgebenden Wassermolekülen wechselwirken kann. Ein Modell zur Visualisierung und Betrachtung dieser Oberfläche ist das von LEE und RICHARDS entwickelte Konzept der Solvens-zugänglichen Molekül-Oberfläche (*Solvent-Accessible Surface Area, SASA*),<sup>[221,222]</sup> welches ursprünglich für die Analyse von Proteinoberflächen eingesetzt wurde. Hierbei wird modellhaft eine Kugel (das Lösungsmittel

simulierend) mit einem definierten Radius (hier 1.4 Å) über die Oberfläche der van-der-Waals(vdW)-Radien benachbarter Atome gerollt. Als Referenzpunkt der SASA dient jetzt das Zentrum der Probensphäre. Die Solvens-unzugängliche Kontaktfläche, die wesentlich kleinere Werte als die SASA aufweist, ist die *Solvent-Excluded Surface Area (SESA)*, die nach M. CONNOLLY auch als Connolly- oder Molekül-Oberfläche bezeichnet wird.<sup>[223]</sup>

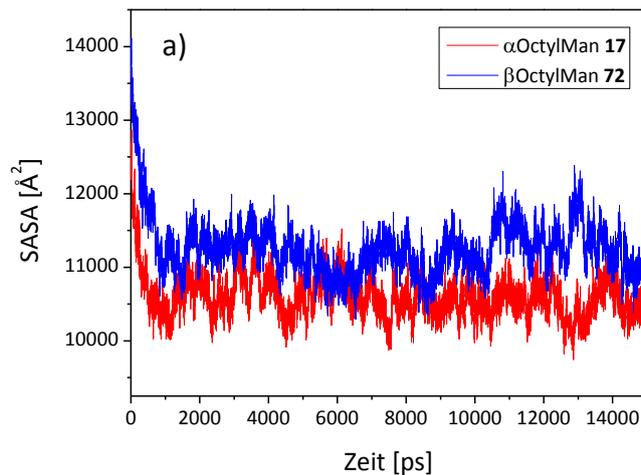
Zur Berechnung der Solvens-zugänglichen Oberfläche mithilfe der MMPBSA-Methode des AMBER-Pakets wurde aus den Trajektorien der MD-Simulation 15000 Snapshots generiert.

Aus dem erhaltenen Graphen der SASA (Abbildung 33a) ist klar ersichtlich, dass die Oberfläche im Fall der  $\beta$ OctylMan-Mizelle (**72**, rot), die für eine Wechselwirkung mit Wassermolekülen zur Verfügung steht, einen höheren Wert von durchschnittlich 11253 Å<sup>2</sup>



**Abbildung 32:** Modellhafte Veranschaulichung der SASA; vdW-Radien benachbarter kugelförmiger Atome (lila) ergeben die SASA.

aufweist als die berechnete SASA der  $\alpha$ OctylMan-Mizelle (**17**, blau) mit einer Durchschnittsoberfläche von  $10600 \text{ \AA}^2$  (Abbildung 33b). Eine durchschnittliche Oberflächendifferenz von ca.  $650 \text{ \AA}^2$  konnte zwischen den beiden Mizellsystemen **17** und **72** festgestellt werden. Dieser Trend, dass die Mizelle des  $\beta$ -Anomers **72** eine größere Solvens-zugängliche Oberfläche im Vergleich zum  $\alpha$ -Anomers **17** aufweist, ist über die gesamte Dauer der Simulation zu beobachten.



b) Durchschnittswerte der SASA:

$$\text{SASA (17)} = 10600 \pm 293 \text{ \AA}^2$$

$$\rightarrow 115.2 \text{ \AA}^2 \text{ pro Monomer;}$$

$$\text{SASA (72)} = 11253 \pm 387 \text{ \AA}^2$$

$$\rightarrow 122.3 \text{ \AA}^2 \text{ pro Monomer}$$

**Abbildung 33:** Graphen der Solvens-zugänglichen Oberfläche (SASA) der beiden untersuchten Mizellsimulationen: a) Verlauf der SASA über die Simulationen; b) Durchschnittswerte der SASA (pro Monomer) in der jeweiligen Simulation.

Der Sachverhalt, dass ein Mizellsystem aus amphiphilen Glycosiden mit einer  $\beta$ -Konfiguration im Vergleich zu einer  $\alpha$ -konfigurierten Mizelle besser solvatisiert werden kann, wurde bereits in der Literatur erläutert, allerdings wurde dieses bisher nur für einen anders konfigurierten Zucker ( $\beta$ OcylGlc) untersucht.<sup>[208]</sup> Eine höhere CMC kann somit mit einer besseren und größeren Wechselwirkung der beteiligten Mizelle mit den umgebenden Wassermolekülen in Korrelation gebracht werden, was durch die bestimmten CMC-Werte aus den ITC-Messung und den Diffusions-NMR-Experimenten bestätigt wird.

Zur Bestimmung der Region der Solvatisierung wurden die Kopfgruppe und die Alkylkette des Amphiphils getrennt analysiert (Tabelle 5a). Die beiden Kopfgruppen von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer **17** und **72** weisen keine deutlichen Unterschiede in der Solvatisierung auf. Bei der Solvatisierung der Alkylkette hingegen sind erhebliche Unterschiede zu erkennen. Die Alkylkette der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** hat eine SASA von  $24.4 \text{ \AA}^2$  und besitzt einen um den Faktor 0.7 ( $8 \text{ \AA}^2$ ) höheren Wert für die Solvatisierung als die Alkylkette der  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17**, bei der eine SASA von  $16.6 \text{ \AA}^2$  berechnet wurde. Es kann hieraus abgeleitet

werden, dass die anomere  $\beta$ -Konfiguration von **72** einen entscheidenden Einfluss auf die Solvatisierung des Aglycons, in diesem Fall die Octylkette, zu haben scheint. Selbst das einzelne  $\beta$ -Monomer **72** hat ohne einen Mizellverband eine leicht höhere SASA von  $563.1 \text{ \AA}^2$  als das  $\alpha$ -Monomer **17**, was eine SASA von  $555.6 \text{ \AA}^2$  besitzt (Tabelle 5b). Weiterhin wird aus den Größenordnungen der in der Mizelle berechneten SASA von ca.  $130 \text{ \AA}^2$  im Vergleich mit der SASA der Monomere in Lösung von ca.  $550 \text{ \AA}^2$  deutlich, dass sich die einzelnen Monomere in der Mizelle in sehr engem Kontakt befinden.

**Tabelle 5** Region der Solvatisierung bezogen auf den Amphiphilanteil des Mannosids. Berechnet mit tcl-Skript in VMD (s. Anhang).<sup>[220,224]</sup>

a) Region der SASA			b) SASA eines freien Monomers	
	$\alpha$ OctylMan <b>17</b>	$\beta$ OctylMan <b>72</b>	$\alpha$ OctylMan <b>17</b>	$\beta$ OctylMan <b>72</b>
Kopfgruppe [ $\text{\AA}^2$ ]	104.0	103.3	555.6 $\text{\AA}^2$	563.1 $\text{\AA}^2$
Octylkette [ $\text{\AA}^2$ ]	16.6	24.4		

Motiviert durch diesen Effekt der unterschiedlichen Solvens-Oberflächen der Mizellsimulationen wurden weitere Untersuchungsmethoden angewendet, um eine genauere Vorstellung der Struktur der Solvens-Umgebung der Mizellmonomere zu erhalten und die erhaltenen Ergebnisse zu bestärken.

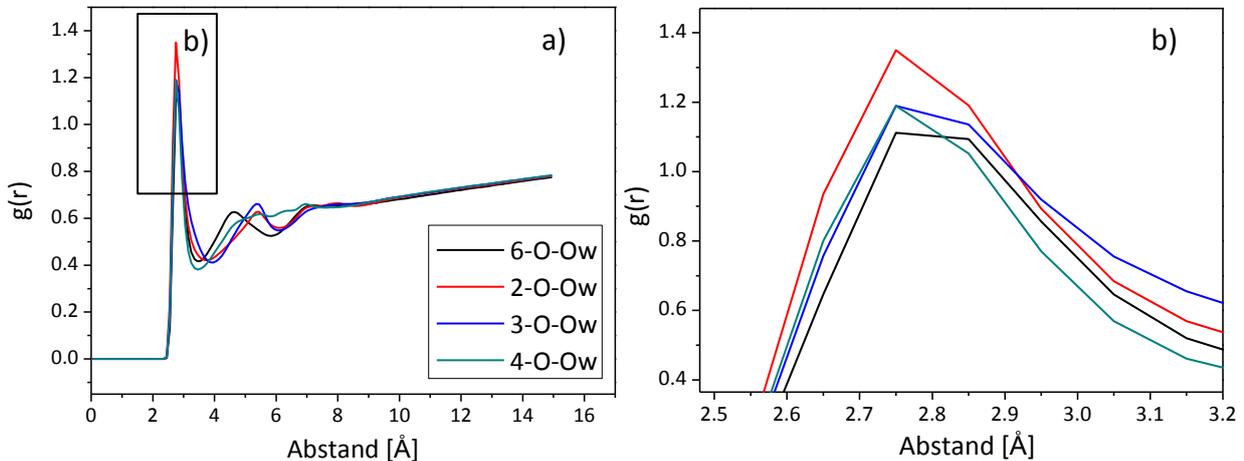
### 3.5.3.2 *rdf-Funktion (radial-pair-distribution function)*

Ein häufig verwendetes Verfahren zur Untersuchung der Solvens-Umgebung von simulierten Glycolipiden auf atomarer Ebene ist die Berechnung der *radial-pair-distribution*-Funktion (*rdf*,  $g(r)$ ) zwischen Atomenpaaren, wobei ein Atompartner das Sauerstoffatom der Wassermoleküle darstellt und der zweite Partner ein beliebiges Sauerstoffatom. Es wird hier der Abstand  $r$  zwischen diesem Atompaar in Abhängigkeit von einer Referenzfunktion berechnet. Als Referenz wird hier die Verteilung der Wassermoleküle in der Bulk-Phase verwendet.

Zuerst wurden die Sauerstoff-Sauerstoff-Abstände von Wasser und Hydroxylgruppen der  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17** (Abbildung 34) und  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** (Abbildung 35) berechnet. In beiden gezeigten Mizellsystemen ist bei  $2.8 \text{ \AA}$  das erste Maximum zu beobachten, was

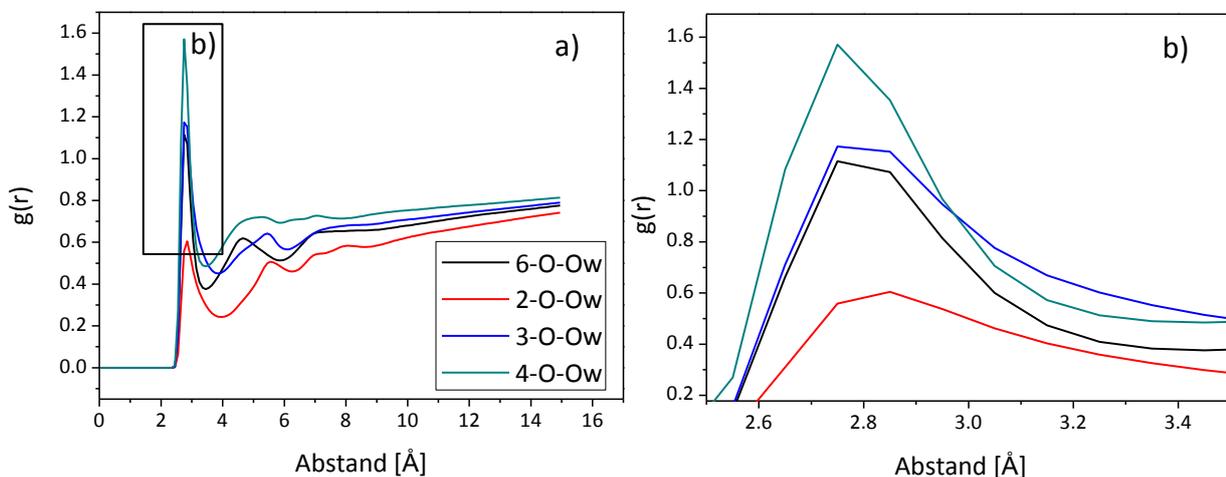
### 3.5 MD-Simulationen von Octylmannosid-Mizellen in Wasser

dem minimalen van-der-Waals-Radius von Sauerstoffatomen entspricht. Diese erste Hydrathülle endet bei ca. 3.8 Å, die durch ein Minimum im entsprechenden Graphen ausgedrückt wird. Das zweite Maximum repräsentiert die Durchmesser der betrachteten Sauerstoffatome.



**Abbildung 34:** rdf-Funktionen der Sauerstoffatome der Hydroxylgruppen der  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17**; a) Graphik des gesamten Bereichs; b) Ausschnitt des Maximums der ersten Hydrathülle.

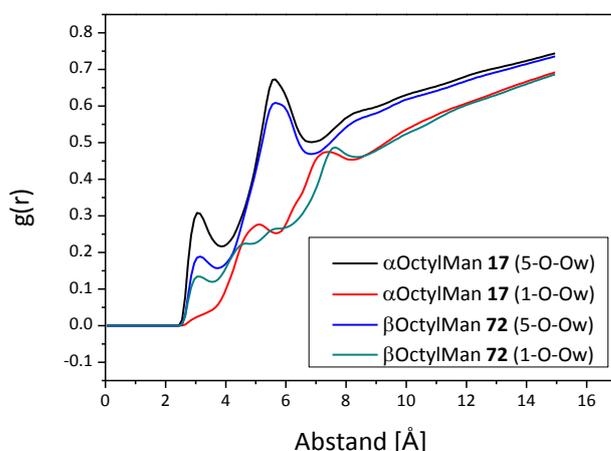
Die einzelnen Kurven der rdf-Funktionen haben einen ähnlichen Verlauf, wobei die Hydroxylgruppe in 2-Position die größten Werte bei Erreichen des ersten Maximums aufweist (Abbildung 34b, rot). Diesen Effekt könnte man anhand der geringen sterischen Abschirmung von 2-O durch benachbarte Gruppen erklären. Die anderen Hydroxylgruppen weisen geringfügig abweichende Maxima auf mit einer Solvatisierung, die der in der Bulk-Phase vergleichbar ist. Im Fall der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** sind die Intensitätsunterschiede der ersten Maximapeaks wesentlich stärker ausgeprägt: Es ist hier eine Zunahme von 2-O < 6-O  $\approx$  3-O < 4-O zu erkennen (Abbildung 35b).



**Abbildung 35:** rdf-Funktionen der Sauerstoffatome der Hydroxylgruppen der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72**; a) Graphik des gesamten Bereichs; b) Ausschnitt des Maximums der ersten Hydrathülle.

Auffällig ist, dass das 2-O-Ow-Maximum den mit Abstand geringsten Wert annimmt (Abbildung 35b, rot), was aufgrund der starken Abschirmung von 2-O durch das benachbarte anomere Sauerstoffatom erklärt werden könnte. Dieser Abschirmungseffekt ist im ersten betrachteten Fall der  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17** nicht vorhanden. Wie zu erwarten ist, ist das 4-O-Ow-Maximum der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** am größten, da die Hydroxylgruppe in 4-Position bei Annahme einer nahezu sphärischen Form der Mizelle dem umgebenen Wasser direkt zur Interaktion zur Verfügung steht.

Deutlich wird dieser Entschirmungs- und Abschirmungseffekt ebenfalls bei Betrachtung des endocyclischen (5-O) und anomeren (1-O) Sauerstoffatoms (Abbildung 36a). Das 5-O-Ringsauerstoffatom ist im Fall des  $\alpha$ OctylMan-Mizellsystems **17** ( $g(r) = 0.31$ ) stärker von Wassermolekülen umgeben als im Fall der  $\beta$ -Mizelle **72** ( $g(r) = 0.19$ ), da sich das Aglycon durch die  $\alpha$ -Stellung nicht in unmittelbarer Umgebung von 5-O befindet (Abbildung 36b). Durch die gewinkelte Geometrie des  $\alpha$ OctylMan-Monomers **17** ist allerdings sehr viel mehr Abstand ( $5.05 \text{ \AA}$ ) zwischen anomerem 1-O-Sauerstoffatom und weiteren Wassermolekülen in der ersten Hydrathülle notwendig als bei 1-O von **72** ( $3.05 \text{ \AA}$ ), was durch das verschobene Maximum bei  $5.05 \text{ \AA}$  (Abbildung 36a, rot) angezeigt wird. Abgeschirmt durch die Hydroxylgruppe in 2-Position ist die Solvatisierung des anomeren 1-O-Sauerstoffatoms des  $\beta$ OctylMan-Monomers **72** nur schwach ausgeprägt ( $g(r) = 0.03$ ). Dieses fällt besonders bei der ersten Hydrathülle bei einem Sauerstoff-Sauerstoff-Abstand von  $3.1 \text{ \AA}$  und einer relativen Dichte  $g(r)$  0.13 auf.



b) Maxima  $g(r)$  der ersten Hydrathülle:

$$\alpha\text{OctylMan } \mathbf{17} \text{ (5-O-Ow)} = 0.31$$

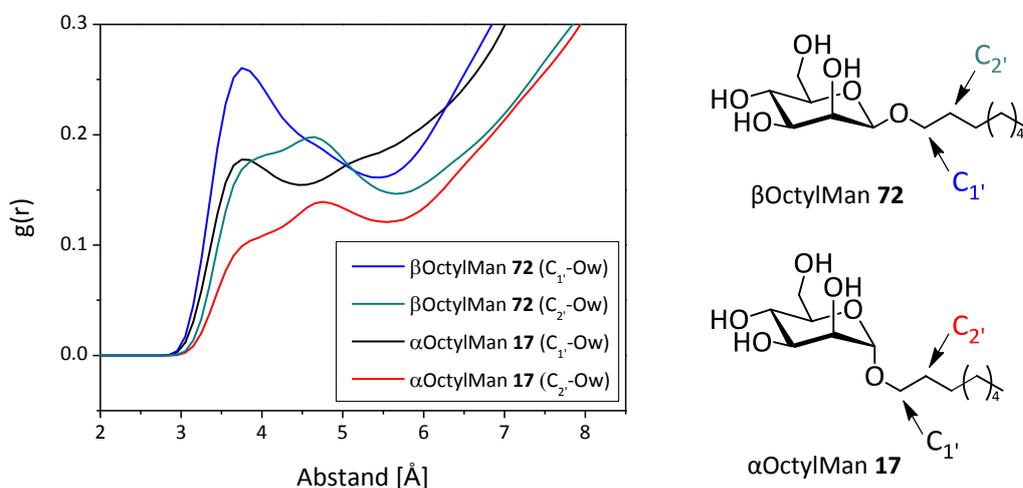
$$\alpha\text{OctylMan } \mathbf{17} \text{ (1-O-Ow)} = 0.03$$

$$\beta\text{OctylMan } \mathbf{72} \text{ (5-O-Ow)} = 0.19$$

$$\beta\text{OctylMan } \mathbf{72} \text{ (1-O-Ow)} = 0.13$$

**Abbildung 36:** rdf-Funktionen der endocyclischen (5-O) und anomeren (1-O) Sauerstoffatome der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Octylmannosid-Simulationen von **17** und **72**.

Um den Effekt der unterschiedlichen Solvatisierung, der durch die Berechnung der SASA gefunden wurde, detaillierter zu untersuchen bzw. zu bestätigen, wurden die rdf-Funktionen der Kohlenstoffatome der Octylkette ebenfalls berechnet (Abbildung 37). Ein direkter Vergleich der Solvatisierung der Kohlenstoffatome in 1'- und 2'-Position, die sich in direkter Nachbarschaft zum anomeren Zentrum befinden, ist in Abbildung 37 dargestellt. Trotz der insgesamt geringen Intensitäten ist die berechnete Wahrscheinlichkeit dafür, dass die Kohlenstoffatome in 1'- und 2'-Position des  $\beta$ OctylMan-Mizellensystems aus **72** mit Wassermolekülen umgeben sind, höher im entsprechenden  $\alpha$ -System aus **17**. Diese Betrachtungsweise unterstützt somit die Hypothese der besseren Solvatisierung der  $\beta$ -Mizelle von **72**, die aufgrund der Berechnung der SASA gemacht wurde.



**Abbildung 37:** rdf-Funktionen der Kohlenstoffatome in 1'- und 2'-Position der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Octylmannosid-Simulationen von **17** und **72**.

Ein Erklärungsmodell für das unterschiedliche Solvatisierungsverhalten der Kohlenstoffatome in 1'- und 2'-Position ist die schlechtere Packung bzw. Stapelung bedingt durch die gewinkelte Geometrie am anomeren Zentrum des  $\alpha$ OctylMan-Monomers **17**. Die insgesamt lineare Geometrie des  $\beta$ OctylMan-Monomers **72** macht eine einfache lamellare Packung möglich, wodurch die Alkylketten auch vermehrt dem umgebenden Wasser exponiert sind und so größere Wechselwirkungen mit den Wassermolekülen beobachtet werden können.

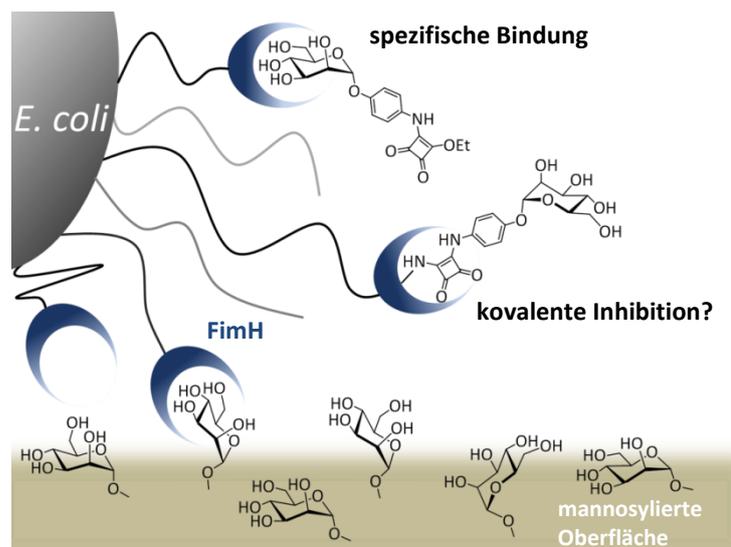
---

### 3.5.4 Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel

Um den Einfluss der anomeren Konfiguration von Octylmannosiden auf ihre Mizellbildung auf atomarem Level zu untersuchen, wurden Moleküldynamik-Simulationen im Nanosekundenbereich durchgeführt. Hierzu wurden jeweils für Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**17**) und für Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosid (**72**) eine mizellare Startkonfiguration mit explizitem Wasser erstellt und über einen Zeitraum von jeweils 15 ns die Trajektorien simuliert. Die Parameter von Monomer- und Wassermolekülanzahl wurden aufgrund der besseren Vergleichbarkeit nicht variiert, sondern identisch gewählt. Die Analyse der MD-Simulationen zeigte, dass es sich um stabile Simulationen handelt, wobei die Mizellsysteme eine vergleichbare Durchschnittsgröße von  $R_g = 17.4 \text{ \AA}$  haben. Anhand der weiteren Berechnungen wurde deutlich, dass die Mizellen eine nichtsphärische Form (prolater Ellipsoid) aufweisen, die durch eine starke Fluktuation der einzelnen amphiphilen Monomere gekennzeichnet ist. Im Bereich der Kohlenhydrat-Wasser-Wechselwirkungen wurden zwischen den Mizellen prägnante Unterschiede, die stark durch die geometrische Struktur der Monomere beeinflusst werden, festgestellt. Der Beitrag der Solvenszugänglichen Oberfläche (SASA) brachte erste nennenswerte Ergebnisse, die im Anschluss als Bezugspunkt für weitere Interpretationen diente. Es wurde ganz deutlich, dass die  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** aus makroskopischer Sicht besser solvatisiert werden kann als die  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17**. Hierfür ist vor allem die erhöhte Solvatisierung der Octylkette verantwortlich, was mit verschiedenen Analysemethoden belegt wurde. Dadurch wird eine recht raue Oberfläche an der Mizell-Wasser-Grenzfläche gebildet, was auch die Snapshots der MD-Simulationen schon angedeutet haben. Insgesamt stimmen die hier beobachteten Erkenntnisse mit den für andere amphiphile Glycoside etablierten literaturbekannten Ergebnissen sehr gut überein. Durch die bessere Solvatisierung der  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72**, insbesondere der starken Interaktion der Octylkette mit den umgebenden Wassermolekülen, hat man einen ersten Erklärungsansatz, warum die CMC dieser Mizelle einen doppelt so hohen Wert annimmt wie die Mizelle des  $\alpha$ -Anomers **17**. In diesem Fall zeigt sich der große Nutzen der Verknüpfung von Molecular Modelling und Experiment.

### 3.6 Docking von Quadratsäure-Mannosiden als Liganden für das bakterielle Lektin FimH

Die Suche nach potentiellen Liganden zur Inhibition biologischer Erkennungsprozesse ist eine äußerst wichtige Fragestellung in der Biologischen Chemie, auf die in der vorliegenden Dissertation noch nicht eingegangen wurde.<sup>[21,43]</sup> Die Infektion eines Organismus durch Bakterien, bei der sich z. B. pathogene *Escherichia coli* an die Oberfläche ihrer Wirtszellen anheften, stellt einen solchen biologischen Erkennungsprozess dar. Dieser Adhäsionsprozess wird durch haarähnliche Proteinstrukturen, die als Fimbrien oder Pili bezeichnet werden, vermittelt. Die eigentliche Wechselwirkung kommt zwischen den Fimbrien und einem speziellen Kohlenhydrat zustande, welches ein Glycokonjugat-Bestandteil der glycosylierten Wirtsoberflächen sein kann (Abbildung 38). Die eigentliche Bindungsdomäne ist eine kohlenhydratspezifische Erkennungseinheit (*Carbohydrate Recognition Domain, CRD*) an der Fimbrienspitze. Zuckerspezifische Proteine, die keine enzymatische Aktivität haben und auch keine Immunglobuline sind, werden als Lektine bezeichnet. Zur Untersuchung der Stärke und Spezifität des Adhäsionsprozesses können genetisch veränderte *E. coli*-Bakterien eingesetzt werden, die nur Typ-1-Fimbrien exprimieren.

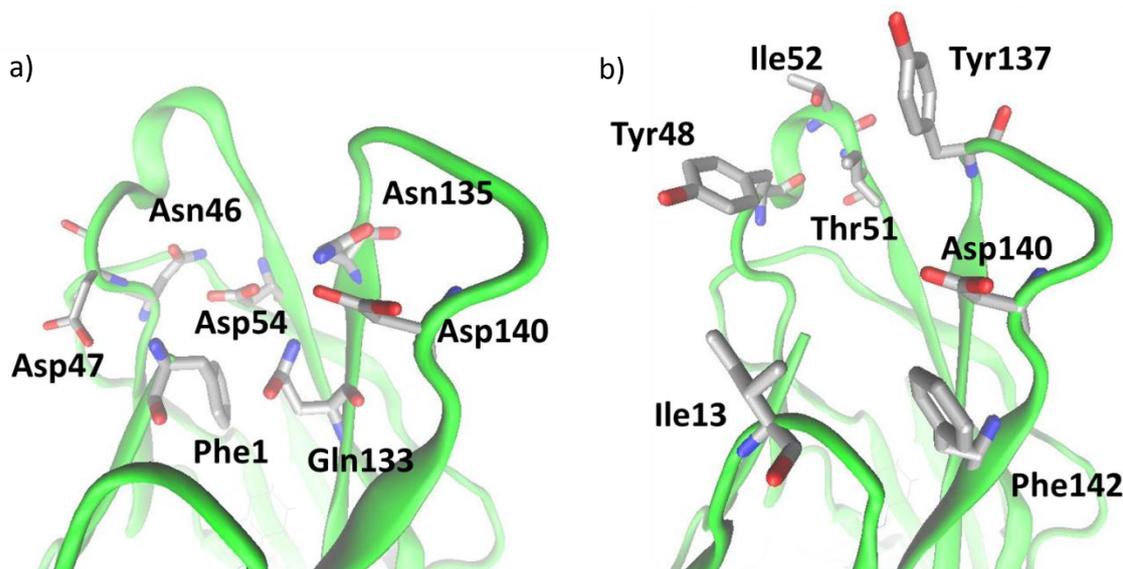


Typ-1-Fimbrien besitzen an der Spitze das FimH-Protein, das spezifisch an  $\alpha$ -D-Mannoside bindet.<sup>[225]</sup> Die Struktur von FimH ist

**Abbildung 38:** Kompetitiver Adhäsions-Inhibitionsprozess: Die Typ-1-Fimbrien-vermittelte Adhäsion zu einer mannosylierten Oberfläche kann durch konkurrierende Mannoside inhibiert (spezifische Bindung) oder durch unspezifische Komplexierung (kovalente Inhibition) mit der CRD blockiert werden (abgewandelte Grafik nach der Literatur).<sup>[230]</sup>

durch Röntgenkristallstrukturanalysen bekannt und wurde erstmals von KNIGHT et al. beschrieben.<sup>[226]</sup> Es konnte hier die 3D-Struktur des FimH-FimC-Komplexes mit einer Auflösung von 2.8 Å und CHEGA als komplexiertem Ligand aufgeklärt werden. Die FimH-CRD kann exakt eine Mannoseeinheit komplexieren. Über hydrophile Aminosäureseitenketten (Asn46, Asp47, Asp54, Gln133, Asn135, Asp140 und Phe1) kann die Zuckereinheit mittels eines Wasserstoffbrückennetzwerkes fixiert werden (Abbildung 39a), wohingegen die

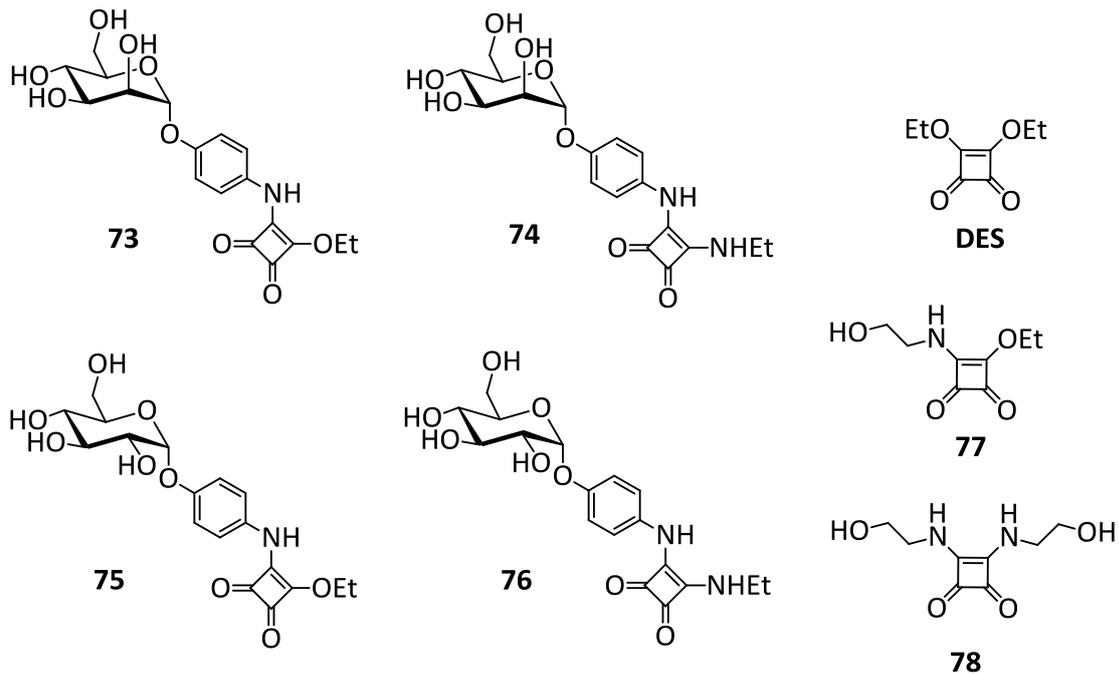
Peripherie der CRD eher durch lipophile Aminosäuren („*hydrophobic ridge*“)<sup>[226,227]</sup> gekennzeichnet ist (Abbildung 39b). Anhand der genauen Kenntnis dieser Struktureigenschaften der FimH-CRD lassen sich maßgeschneiderte mannosebasierte Liganden entwerfen.<sup>[228]</sup>



**Abbildung 39:** CRD (*Carbohydrate Recognition Domain*) mit Aminosäuren ausgehend vom Peptidrückgrat (Cartoon, grün) (PDB-ID: 1KLF):<sup>[227]</sup> a) hydrophile Aminosäureseitenketten der unteren Seite der CRD, die die komplexierte Mannoseeinheit über Wasserstoffbrückenbindungen stabilisieren (nicht gezeigt); b) lipophile Seitenketten an der direkten Peripherie der CRD („*hydrophobic ridge*“); Graphik erstellt mit VMD.

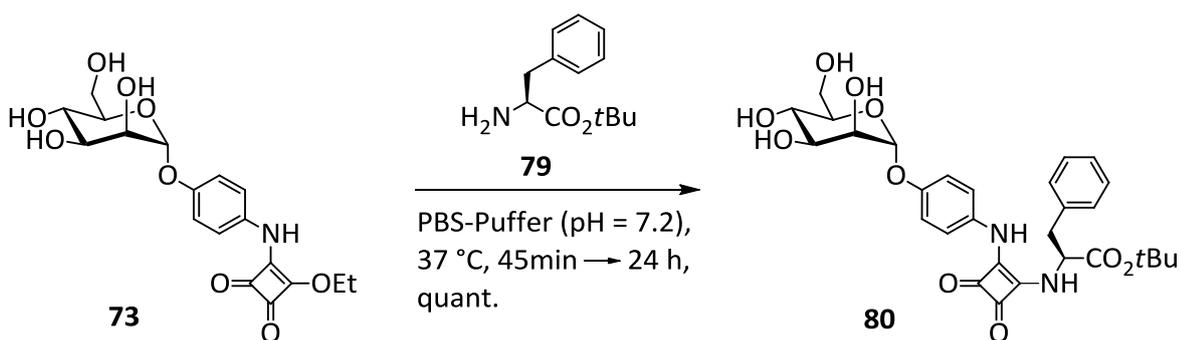
SPERLING und FUCHS in der Arbeitsgruppe LINDHORST führten die Quadratsäure als Aglycon für mannosidische Liganden ein, welche sich in Form eines Quadratsäuremonoamids **73** als sehr guter Inhibitor für die FimH-vermittelte bakterielle Adhäsion herausstellte.<sup>[229]</sup> Als Ursache für die hohe Affinität sind mehrere Hypothesen denkbar: Zum einem ist eine erhöhte Wechselwirkung des Aglycons mit den lipophilen Seitenketten an der Peripherie der CRD möglich, zum anderen könnte auch die Ausbildung einer kovalenten Bindung zum N-Terminus des Proteins (Phe1) zur kovalenten Biokonjugation (*crosslinking*) führen.

Um diesen möglichen Bindungsmechanismus des Quadratsäuremonoamids **73** zu erforschen, wurden in einem interdisziplinären Projekt aus Synthese, biologischen Adhäsionsassays und Molecular Modelling-Studien monovalente Quadratsäure-Mannoside als potentielle Liganden für das bakterielle Lektin FimH untersucht.<sup>[230]</sup> Die Synthesearbeiten von GRABOSCH umfassten hierbei die Darstellung und Charakterisierung der Quadratsäurederivate (Abbildung 40), die von HARTMANN in kompetitiven Adhäsionsassays auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber dem Lektin FimH getestet wurden.<sup>[138]</sup>



**Abbildung 40:** In dieser Studie eingesetzte Quadratsäurederivate: Mannosylquadratsäurederivate **73** und **74**, wobei mit der Diamid-funktionalisierten Quadratsäure **74** keine kovalente Biokonjugation mit dem N-Terminus (Phe1) möglich ist; Glucosylquadratsäurederivate **75** und **76** als Kontrollverbindungen für die Kohlenhydratspezifität im biologischen Assays; weitere Kontrollsubstanzen mit dem Quadratsäuremotiv **DES**, **77** und **78**.

Der Vorversuch mit einer Phenylalaninderivat **79** als Mimetikum für den N-Terminus des Proteins (Phe1) zeigte ausgehend vom Quadratsäuremonomamid **73** eine erfolgreiche Amidbildung zum Phenylalanin-funktionalisierten Quadratsäurediamid **80**.



**Schema 18:** Vorversuch zur Testung einer kovalenten Biokonjugation des Quadratsäuremonoamids **73** mit einem Phenylalaninderivat **79** führte zur Bildung des Quadratsäurediamids **80** unter den Reaktionsbedingungen des Biotests; nach 45 min eine quantitative Umsetzung der Reaktionspartner, die auch nach 24 h keine Änderung zeigte.<sup>[230]</sup>

Nach einer Reaktionszeit von 45 min konnten keine Reaktionspartner mehr massenspektrometrisch per MALDI-ToF-MS nachgewiesen werden. Das

---

Quadratsäurediamid **80** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in quantitativer Ausbeute isoliert werden. Wurde die gleiche Reaktion in Zitronensäure-Puffer (pH = 4.5) durchgeführt, konnte keine Umsetzung beobachtet werden. Dieser Test unter physiologischen Reaktionsbedingungen des angewendeten Biotests bestätigte somit, dass die prinzipielle Möglichkeit einer kovalenten Biokonjugation vom Quadratsäuremonoamid **73** gegeben ist.<sup>[230]</sup>

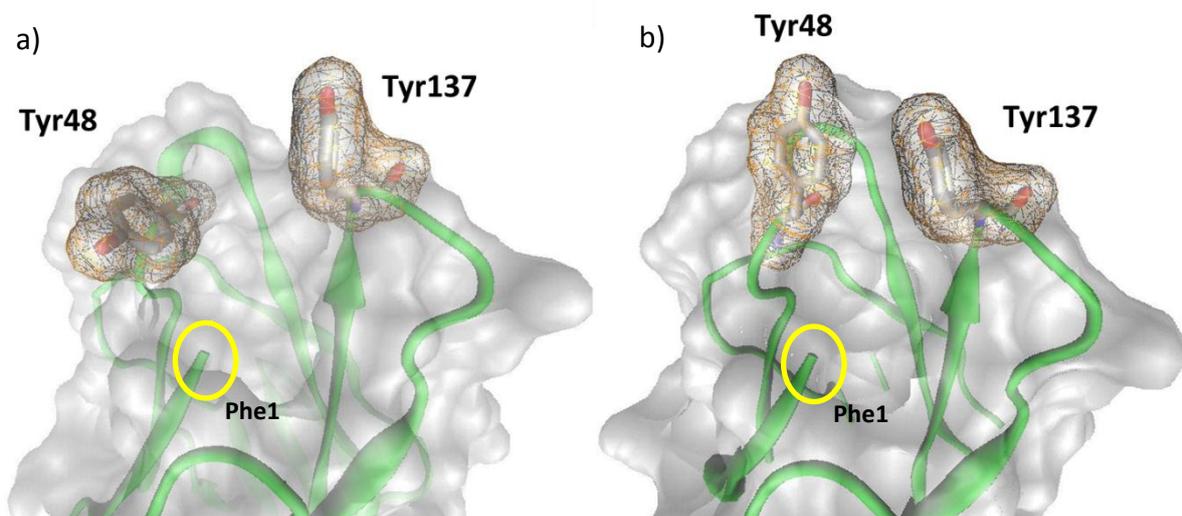
Mittels eines biologischen Adhäsions-Inhibitions-Assays<sup>[138]</sup> konnten für die Quadratsäurederivate **73** und **74** sogenannte RIP (Relative inhibitorische Potenz)-Werte bestimmt werden. Inhibitorische Potentiale neuer möglicher Inhibitorstrukturen werden so jeweils bezogen auf einen mitgetesteten Standardinhibitor und dadurch miteinander vergleichbar gemacht. Als Standard wurde im vorliegenden Fall das *p*-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-mannosid (*p*NPMa) verwendet, dessen inhibitorische Potenz gleich 1 gesetzt wurde. Die bakteriellen Adhäsionsassays ergaben eine erhöhte inhibitorische Potenz des Quadratsäurediamids **74** (RIP = 50 $\pm$ 16) im Vergleich zum Quadratsäuremonoamid **73** (RIP = 16 $\pm$ 1.5) (Tabelle 6, S.95). Das Quadratsäurediamid **74** kann allerdings nicht durch kovalente Biokonjugation den Phe1-N-Terminus blockieren. Als Ergebnis dieser Testreihe kann eine kovalente irreversible Biokonjugation zwischen FimH und Quadratsäure ausgeschlossen werden. Um diese unterschiedlichen Bindungseigenschaften der mannosidischen Quadratsäurederivate **73** und **74** genauer zu untersuchen und dadurch besser verstehen zu können, wurden Docking Studien durchgeführt, die im Folgenden näher beschrieben werden.

Hierbei wurde ein Bereich der CRD als Rezeptor für die Kohlenhydrat-Liganden festgelegt (s. Experimenteller Teil). Die eigentlichen Docking-Experimente wurden durch das graphische FlexX-Modul,<sup>[97,231–233]</sup> welches in Sybyl 6.9<sup>[234]</sup> integriert ist, durchgeführt. Während des Docking-Prozesses wird der Ligand flexibel gehalten und kann verschiedene Konformationen zu der fixierten CRD einnehmen. Um verlässlichere Ergebnisse in diesem Teil des Docking-Verfahrens zu erhalten und das Auftreten von „gespannten“ Konformationslösungen (unpassende Bindungswinkel oder Diederwinkel) zu minimieren, wurde eine zweistufige Strategie verfolgt.<sup>[235]</sup> Die zuerst mittels FlexX gedockte Konformation wurde als unrelaxierte Lösung angesehen und nach einer Energieminimierung erneut einem Docking-Prozess unterzogen. Im Anschluss wurden die 30 besten Konformationen nach Fehlern in der Struktur visuell inspiziert und bewertet. Für jede gedockte Konformation wird über einen

Scoring-Algorithmus ein Scoring-Wert erhalten, der mit der freien Bindungsenergie (Gibbs-Enthalpie) des Liganden korreliert werden kann. Dies ermöglicht dann, die Stärke der Wechselwirkung in der Bindungstasche abzuschätzen. Folglich ist eine Bindung genau dann besonders gut, wenn ein möglichst negativer Scoring-Wert erreicht wird.

Neben der FlexX-Scoring-Funktion wurde zur Validierung (und Evaluierung) der erhaltenen Ergebnisse das Consensus-Verfahren (CScore) angewandt,<sup>[236,237]</sup> wobei weitere Scoring-Funktionen zur Beurteilung der gedockten Konformationen eingesetzt wurden. Liefert eine gedockte Konformation bei mehreren Scoring-Funktionen niedrige Werte und somit hohe Affinität, ist der CScore-Wert hoch, wodurch die Konformation als valider anzusehen ist im Vergleich zu einer gedockten Konformation, die nur vereinzelt exzellente Scoring-Werte annimmt.

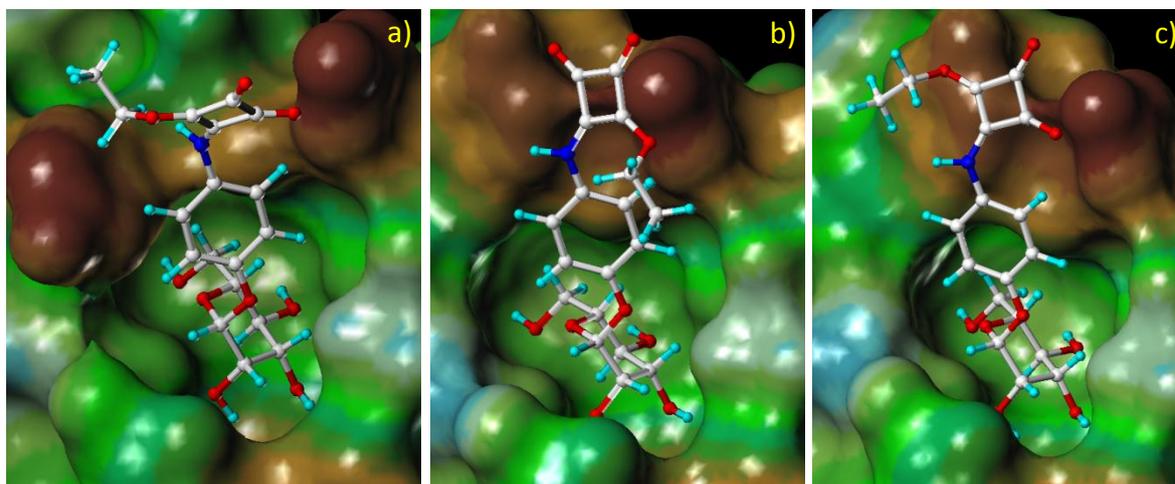
Um die konformationelle Flexibilität der Tyrosinseitenketten Tyr48 und Tyr137, die sich in der direkten Peripherie der CRD befinden, zu berücksichtigen, wurde jedes Docking-Experiment jeweils mit zwei Kristallstrukturen durchgeführt (Abbildung 41).



**Abbildung 41:** Vergleich der hier verwendeten Kristallstrukturen bezogen auf das „Tyrosin-Tor“: a) „*open-gate*“ der Mannose-basierten Kristallstruktur (1KLF);<sup>[227]</sup> b) „*closed-gate*“ der Butylmannosid-basierten Kristallstruktur (1UWF);<sup>[238]</sup> In beiden Kristallstrukturen ist der N-Terminus (Phe1) gelb hervorgehoben; Grafik erstellt mit VMD.

Die FimH-Struktur, in der D-Mannose komplexiert wurde (PDB-ID: 1KLF),<sup>[227]</sup> besitzt eine offene Konformation bezogen auf das sogenannte „Tyrosin-Tor“ (*open-gate structure*, Abbildung 41a), wohingegen die *n*-Butyl- $\alpha$ -D-mannosid-basierte FimH-Struktur (PDB-ID: 1UWF)<sup>[238]</sup> eine eher geschlossene Konformation des „Tyrosin-Tores“ (*closed-gate structure*, Abbildung 41b) aufweist.

Zuerst werden die Docking-Ergebnisse der mannosidischen Quadratsäurederivate **73** und **74** für beide FimH-Strukturen vorgestellt und diskutiert.

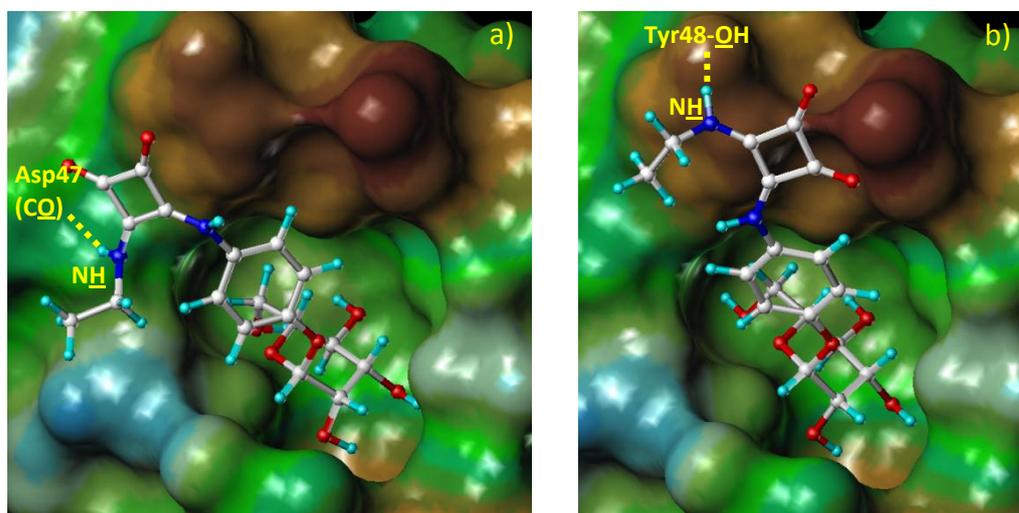


**Abbildung 42:** Repräsentative Konformationen der Docking-Serie des Mannosylquadratsäuremonoamids **73**: a) „Top-scorer“ der „open-gate“-Kristallstruktur mit einem FlexX-Wert von -29.6; b) „Top-scorer“ der „closed-gate“-Struktur mit einem FlexX-Wert von -33.1; c) Docking-Konformation der „closed-gate“-Struktur mit anderer Orientierung der Quadratsäure mit einem Scoring-Wert von -32.8 (Nr. 8 von 30 Konformationen des Ranking); Die Kristallstruktur ist als Connolly-Oberfläche dargestellt (s. Experimenteller Teil).

Wie in Abbildung 42 dargestellt, zeigen alle gedockten Mannosylquadratsäuremonoamid-Konformationen von **74** jeweils mit ihrer Kohlenhydrateinheit in die Bindungstasche der CRD, und das Aglycon ragt heraus. Aufgrund der Anordnung des Aglycons kann man eine erhöhte hydrophobe Wechselwirkung der Liganden mit dem Eingang der CRD annehmen, ein Effekt, der schon in früheren Studien beobachtet wurde.<sup>[229]</sup> Für das Monoamid **73** wurden FlexX-Scoring-Werte von -29.6 (Abbildung 42a, „open-gate“-Struktur) bzw. -33.1 (Abbildung 42b, „closed-gate“-Struktur) berechnet, wobei diese jeweils abhängig von der betrachteten Protein-Kristallstruktur sind. Durch die engere Konformation des „Tyrosin-Tores“ entsteht im Fall der „closed-gate“-Struktur eine stärkere Wechselwirkung zum Mannosid-Aglycon von **73** im Vergleich zur „open-gate“-Struktur, was einen niedrigeren FlexX-Wert (höhere Affinität) zur Folge hat.<sup>[229]</sup> Als Voraussetzung für eine mögliche kovalente Biokonjugation mit dem N-Terminus (Phe1) ist eine „upside-down“-Komplexierung des Mannosid-Liganden notwendig, was allerdings im vorliegenden Fall *in silico* nicht beobachtet wurde.

Die Docking-Experimente des Mannosylquadratsäurediamids **74** wurden auf analoge Weise durchgeführt, wobei Scoring-Werte von -30.9 (s. Tabelle 6) bis zu -35.3 berechnet wurden. Somit konnte in diesem Fall insgesamt eine höhere Affinität zum Protein im Vergleich zum

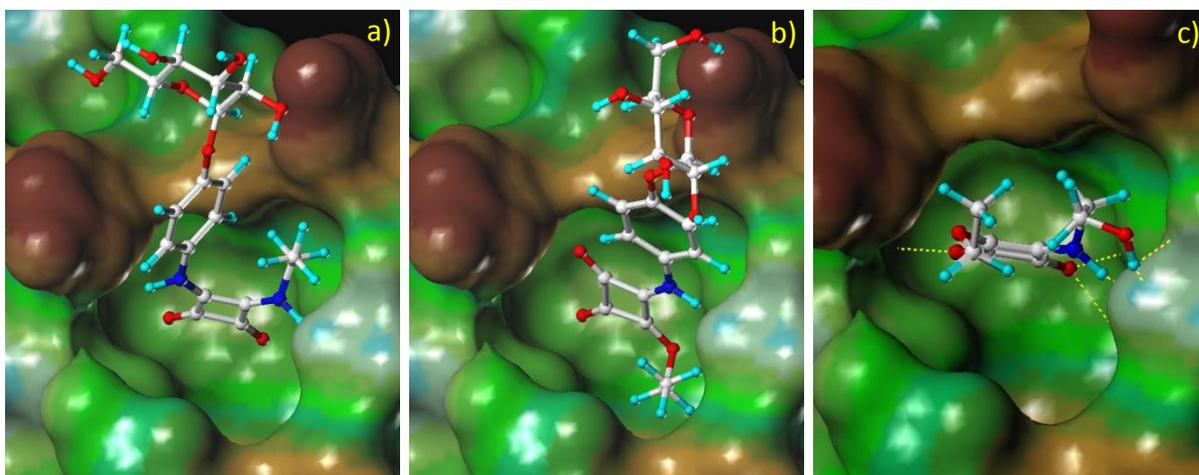
analogen Monoamid **73** festgestellt werden, was mit den experimentellen biologischen Untersuchungen übereinstimmt. Einen Erklärungsansatz hierfür liefern die gedockten Konformationen des Diamids **74**, die eine zusätzliche Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zeigen, was auf die zusätzliche H-Brückendonorfunktion der NH-Ethylgruppe am Quadratsäureaglycon von **74** zurückzuführen ist (Abbildung 43). Diese H-Brücken wurden besonders bei der Verwendung der „closed-gate“-Kristallstruktur beobachtet und konnten im Fall des Monoamids **73** nicht nachgewiesen werden. Als Wasserstoffbrückenakzeptor dienen zum einen Asp47 (Abbildung 43a) und zum anderen Tyr137 (Abbildung 43b).



**Abbildung 43:** Docking-Ergebnisse des Mannosylquadratsäurediamids **74** mit der „closed-gate“-Kristallstruktur: a) „Top-scorer“ mit einem FlexX-Score von -35.3; b) gedockte Konformation mit einem FlexX-Score von -34.3 (Nr. 5 von 30 Konformationen). Das Quadratsäurediamid **74** ist stabilisiert durch Ausbildung von H-Brücken (gelb) zu den Aminosäureseitenketten Asp47 (a) und Tyr48 (b).

Zum Vergleich wurden die Quadratsäurederivate der Glucose **75** und **76** im Docking untersucht, wobei nun eine „upside-down“-Komplexierung gesehen wurde, bei der sich die Quadratsäure in der Bindetasche der CRD befindet (Abbildung 44). Dieses wurde nur bei Verwendung der „open-gate“-Struktur beobachtet. Für das Monoamid **75** wurden 17 „upside-down“-Konformationen innerhalb der CRD komplexiert, wobei insgesamt 30 Konformationen gedockt wurden. Im Fall des Diamids **76** wurden 14 von 30 Konformationen mit einer „upside-down“-Komplexierung in der FimH-CRD ermittelt. Das Quadratsäure-Aglycon wies bei den gedockten Konformationen des Monoamids **75** eine eher lineare Geometrie auf (Abbildung 44a). Diejenige des komplexierten Diamids **76** hingegen war durch eine eher gebogene Orientierung innerhalb der CRD gekennzeichnet (Abbildung 44b), wodurch eine mögliche Wechselwirkung mit einer Arginin-Seitenkette

(Arg140) durch die NH-Donor-Funktion gegeben war. Dieses ist im Fall des Glucosylmonoamids **75** nicht möglich. Die Docking-Serie der Glucosederivate **75** und **76** unter Verwendung der „closed-gate“-Kristallstruktur zeigten keine sinnvollen Komplexierungen innerhalb der CRD von FimH.



**Abbildung 44:** Docking-Ergebnisse der Quadratsäurederivate ohne Mannoseeinheit in der „open-gate“-Struktur; a) und b) Vergleich der „upside-down“-Komplexierung der Glucoside **75** und **76** in der CRD von FimH, a) repräsentative Konformation des Glucosylmonoamids **75** (Nr. 3 von 30 Konformationen; FlexX-Score -15.1) mit linearer Orientierung; b) repräsentative Konformation des Glucosyldiamids **76** (Nr. 4 von 30 Konformationen; FlexX-Score -12.8) mit gebogener Geometrie; c) „Top-scorer“ des Quadratsäuremonoamids **77** (FlexX-Score -17.5), das keine Zuckereinheit aufweist; H-Brücken von **77** mit den Aminosäureseitenketten in gelb dargestellt.

Bei Betrachtung der Höhe der FlexX-Scoring-Werte, die zwischen niedrigen absoluten Werten von -15.3 für das Monoamid **75** und -12.8 für das Diamid **76** liegen, zeigt sich, dass es sich insgesamt nur um schwache Wechselwirkungen dieser Liganden mit der FimH-CRD handelt. Im Vergleich hierzu hat der eher schwach affine aber spezifische FimH-Ligand Methyl- $\alpha$ -D-mannosid einen recht hohen absoluten FlexX-Wert von -22.5.<sup>[229]</sup> Folglich kommen die Glucoside **75** und **76** nicht als ideale Liganden für das Lektin FimH in Frage. Darüber hinaus wurden zum Vergleich auch Docking-Studien mit verschiedenen Quadratsäurederivaten ohne Kohlenhydrateinheit durchgeführt, die insgesamt schwache Affinitäten mit absoluten Scoring-Werten unter -20 aufwiesen. Für das Hydroxyethyl-funktionalisierte Monoamid **77** konnten durch Wasserstoffbrücken stabilisierte Komplexierungen festgestellt werden, wobei FlexX-Werte von -17.5 („open-gate“-Struktur) und -17.8 („closed-gate“-Struktur von FimH) berechnet wurden (Abbildung 44c). Das Quadratsäurederivat **78** erzielte durch zusätzlich mögliche Wasserstoffbrückenbindungen der zweiten Hydroxyethyl-Funktion innerhalb der CRD folglich leicht höhere absolute

### 3.6 Docking von Quadratsäure-Mannosiden

Scoring-Werte von -18.5 bzw. -21.2 für die beiden betrachteten Kristallstrukturen. Die Diethylquadratsäure (DES) schnitt beim Docking mit einem FlexX-Wert von -10.1 mit nur wenigen sinnvollen Konformationen in der Bindetasche am schlechtesten ab.

**Tabelle 6:** Docking-Ergebnisse von sieben unterschiedlichen Liganden mit zwei verschiedenen Kristallstrukturen; Angegeben sind jeweils die FlexX-Scoring-Werte.

Ranking	Ligand	“open-gate”-Struktur (Konformations-Nr.) <sup>[a]</sup>	“closed-gate”-Struktur (Konformations-Nr.) <sup>[a]</sup>	RIP-Wert (pNPMAN)
1	74	-30.9 (1)	-35.3 (1)	50±16
2	73	-29.6 (1)	-33.1 (1)	16±1.5
3	78	-18.5 (1)	-21.2 (1)	
4	77	-17.5 (1)	-17.1 (3)	
5	75	-15.1 (3)	[b]	
6	76	-12.8 (4)	[c]	
7	DES	-10.1 (1)	[c]	

[a] Es wurde jeweils der FlexX-Score mit der vernünftigsten Konformation des Liganden ausgewählt.

[b] Nur 7 von 30 Lösungen des Dockings sind in der CRD komplexiert, wodurch keine repräsentative Konformation bestimmt werden konnte.

[c] Keine gedockte Konformation befindet sich in der CRD.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die erzielten Docking-Ergebnisse gut mit den experimentellen biologischen Untersuchungen übereinstimmen, wobei die Ergebnisse, die mit den Glucosiden **75**, **76** und den Quadratsäurederivaten **77**, **78** erhalten wurden, eine mögliche schwache Interaktion mit dem Lektin FimH vermuten lassen. Aufgrund dessen wurde in einem nichtkompetitiven Bioassay eine mögliche Biokonjugation des betreffenden Mannosids **73** und dem Glucosids **75** sowie Quadratsäurederivate durch Präinkubation mit den GFP-markierten *E. coli*-Bakterien durchgeführt.<sup>[230]</sup> Hierbei konnte festgestellt werden, dass trotz des Einsatzes einer genügend hohen Konzentration des jeweiligen Inhibitors, die zur Sättigung der FimH-Bindungsstellen auf jeden Fall ausreichen könnte, im Fall des Glucosylquadratsäuremonoamids **75** eine Adhäsion der Bakterien an eine Mannanoberfläche positiv ausfiel. Lediglich eine konzentrationsabhängige Inhibition konnte

---

festgestellt werden. Die erzielten Ergebnisse dieser Untersuchung unterstreichen die vorangegangenen Erkenntnisse. Es kann dieser Studie zur Folge eine kovalente Biokonjugation von Quadratsäuremonoamiden (**73**, **75**) mit dem N-Terminus der FimH-CRD (Phe1) ausgeschlossen werden.

### 3.6.1 Schlussfolgerungen aus diesem Kapitel

Ziel dieses Kapitels war die Untersuchung der Bindungsmechanismen von Quadratsäure-Mannosiden durch computergestützte Docking-Studien unter der Fragestellung einer möglichen Biokonjugation solcher Liganden mit dem N-Terminus (Phe1), der sich in der Bindetasche der CRD des Lektins FimH befindet.

In einem bakteriellen Adhäsionsassay wurde experimentell ermittelt, dass das Mannosylquadratsäurediamid **74** die höchste inhibitorische Potenz (RIP ( $p\text{NPMan}$ ) =  $50 \pm 16$ ) gegenüber FimH aufweist, obwohl diese Verbindung keine Möglichkeit der kovalenten Blockierung der CRD hat. Für das Mannosylquadratsäuremonoamid **73** wurde eine dreifach geringere Inhibitionsaffinität (RIP ( $p\text{NPMan}$ ) =  $16 \pm 1.5$ ) bestimmt. Somit kann aus diesem Ergebnis geschlossen werden, dass die erhöhte Bindungsaffinität des Mannosylquadratsäuremonoamids **73** gegenüber dem Lektin FimH nicht auf einer kovalenten Biokonjugation beruht, sondern auf einer besseren Interaktion mit dem Aglykon des Liganden.

Die molekularen Docking-Ergebnisse mit zwei verschiedenen Kristallstrukturen (1KLF und 1UWF), die sich in der relativen Orientierung der Tyrosinseitenketten Tyr48 und Tyr137 am Eingang der CRD unterscheiden, brachten weitere unterstützende Erkenntnisse zu dieser Fragestellung. Es konnten die Ergebnisse der experimentellen Biotests in ihrer Tendenz bestätigt werden, wobei sich wiederum das Mannosylquadratsäurediamid **74** als Ligand mit der höchsten Affinität (FlexX = -30.9 und -35.3) für FimH bei der Untersuchung mit zwei Kristallstrukturen herausstellte. Im Vergleich zum Mannosylquadratsäuremonoamid **73**, für das nur etwas geringere absolute Scoring-Werte von -29.6 für die „*open-gate*“-Struktur und -33.1 für die „*closed-gate*“-Struktur berechnet wurden, konnten im Fall des Mannosylquadratsäurediamids **74** zusätzliche Wasserstoffbrückenbindungen der Konformationen mit zwei Aminosäuren nachgewiesen werden. Entscheidend ist hier die NH-Donor-Eigenschaft der zweiten Amidfunktion des Mannosylquadratsäurediamids **74**. Des

Weiteren ist für eine kovalente Biokonjugation die Platzierung des Quadratsäure-Aglycons des Mannosids in der CRD notwendig („*upside-down*“-Komplexierung). Diese wurden beim Docking der mannosidischen Quadratsäurederivate **73** und **74** nicht beobachtet. Die Befunde mit den analogen Glucosiden **75** und **76** zeigten jedoch eine mögliche „*upside-down*“-Komplexierung, allerdings nur bei der Verwendung einer von zwei verwendeten Kristallstrukturen („*open-gate*“, 1KLF). Die sehr niedrigen absoluten Scoring-Werte, die weit unter den Werten von Methyl- $\alpha$ -D-mannosid (-22.5) liegen, belegen ebenfalls die äußerst schwache Wechselwirkung dieser Verbindung mit FimH.

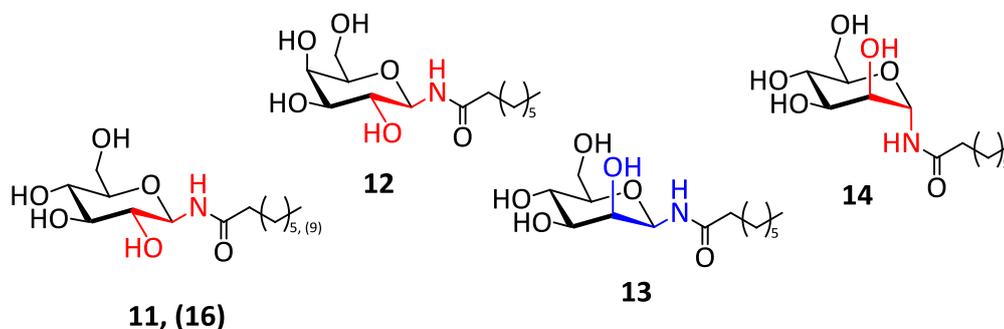
Durch die Bioassays zeigte sich, dass die mannosidischen Quadratsäurederivate **73** und **74** im Vergleich zum *p*NPMann eine bis zu 50-fache höhere inhibitorische Potenz gegenüber dem bakteriellen Lektin FimH aufweisen, was deutlich höher ist als diejenige anderer Mannoside, z. B. die verschiedener Alkylmannoside.<sup>[225]</sup> Somit sind diese niedermolekularen Inhibitoren ein erster Erfolg auf dem Weg zu einer antiadhäsiven Therapie, was weiterhin Gegenstand der aktuellen Forschung bleiben wird. Die Bedeutung von experimentellen Bedingungen in Bezug auf Löslichkeit und oraler Verfügbarkeit in nachfolgenden *in vivo*-Studien sind weitere Aspekte, die bei der Entwicklung medizinisch relevanter Verbindungen berücksichtigt werden müssen. ERNST et al. zeigten in diesem Zusammenhang, dass durch das „*Prodrug-Design*“ eine orale Verfügbarkeit von Biaryl-funktionalisierten Mannosylestern gegeben ist.<sup>[239]</sup> Zusätzlich müssen auch entropische Einflüsse durch wässrige Lösungsmittel im Körper und in *in vitro*-Untersuchungen bei der Bindung von Liganden beachtet werden, was am besten mit experimenteller Biophysik (z. B. ITC) untersucht werden kann. Hierdurch sind dann auch Bindungs- und Dissoziationskonstanten der betreffenden Liganden zugänglich. Es ergeben sich somit viele Fragestellungen und Lösungsansätze, die auf diesem Forschungsgebiet weitere interessante Ergebnisse erhoffen lassen.

Diese interdisziplinäre Studie hatte mit der Analyse und Beurteilung von biologisch relevanter Wechselwirkung und deren möglicher Aufklärung auf atomarer Ebene Erfolg.

## 4 Zusammenfassung

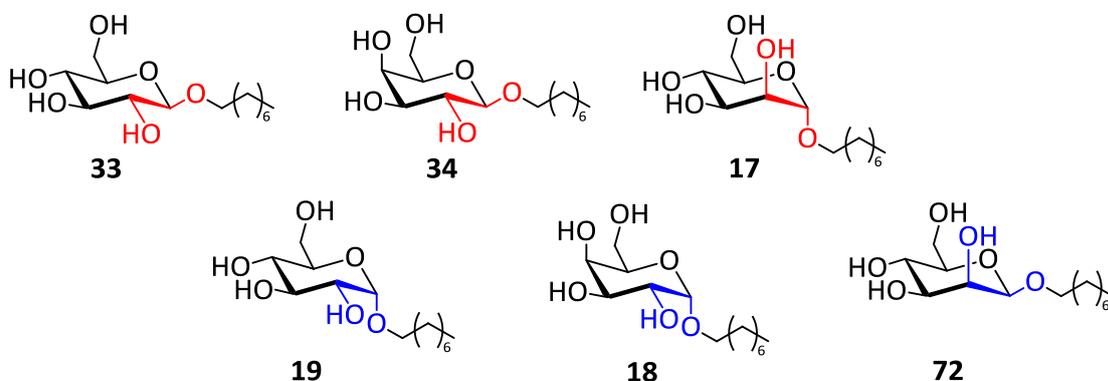
Molekulare Wechselwirkungen von Glycokonjugaten innerhalb der Glycokalyx und die damit verbundenen biologischen Funktionskaskaden sind zum Teil noch unverstanden. Trotz der Kenntnis von vielen strukturellen Details der Glycokalyx-Bestandteile ist das dynamische Zusammenspiel innerhalb dieser Kohlenhydratdomänen in wässriger Umgebung bisher nur in Ansätzen aufgeklärt. Im Rahmen dieser Dissertation wurde daher ein auf amphiphile Glycokonjugate (Glycolipide) basierender Untersuchungsansatz über die Selbstaggregation zu Glycomizellen ausgewählt. Dieses System stellt ein im Vergleich mit der Glycokalyx stark vereinfachtes supramolekulares Organisationsprinzip dar. Die Monomere dieser multivalenten Glycomizellen sollten wichtige Strukturmerkmale der in der Glycokalyx natürlich vorkommenden Glycokonjugate besitzen. Es wurden hierfür amphiphile Glycoside als Vertreter dieser natürlichen Strukturen ausgewählt.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden diese Amphiphile unter Verwendung unterschiedlicher Synthesestrategien hergestellt. Als Kohlenhydratstrukturen wurden D-Glucose, ihr C-2-Epimer D-Mannose sowie das C-4-Epimer D-Galactose ausgewählt. Es wurden insgesamt fünf amphiphile Glycosylamide **11**, **12**, **13**, **14** und **16** synthetisiert (Abbildung 45), wobei zwei Varianten der Staudinger-Ligation angewendet wurden. Die Ergebnisse der von RÖCKENDORF<sup>[119]</sup> und SCHIERHOLT<sup>[118]</sup> innerhalb der Arbeitsgruppe Lindhorst etablierten Staudinger-Ligation und der nach BOULLANGER et al.<sup>[120]</sup> durchgeführten Säurechlorid-Variante waren vergleichbar. Durch die geringe Löslichkeit der Amide in Wasser waren diese allerdings für die geplanten biophysikalischen Untersuchungen nur bedingt geeignet.



**Abbildung 45:** Durch Staudinger-Ligation synthetisierte  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glycosylamide **11-14**, **16**; Die 1,2-*trans*-Konfiguration ist rot und die 1,2-*cis*-Konfiguration ist blau hervorgehoben.

Weiterhin wurde eine Serie von *O*-Glycosiden hergestellt. Die 1,2-*trans*-konfigurierten amphiphilen Glycoside **17**, **33** und **34** wurden durch Einsatz der Trichloracetimidat-Methode nach SCHMIDT<sup>[145]</sup> erfolgreich dargestellt (Abbildung 46, oben). Zur Synthese des Dreiersets der 1,2-*cis*-Glycoside **18**, **19** und **72** (Abbildung 46, unten) wurde anfangs auf stereospezifische Methoden gesetzt, im weiteren Verlauf die Fischer-Glycosylierung und die anomere *O*-Alkylierung nach HINDSGAUL<sup>[178]</sup> verwendet. Das 1,2-*cis*-Glucosid **33** und das 1,2-*cis*-Galactosid **34** wurden hierbei nach den Verfahren von TURNBULL<sup>[153,155]</sup> in geschützter Form (**45**, **46**) unter Verwendung eines Oxathian-Ketal-Glycosyldonors (**44**, **45**) hergestellt und bei der Darstellung des 1,2-*cis*-Mannosids **72** nach der CRICH- $\beta$ -Mannosylierung<sup>[170,173]</sup> verfahren.



**Abbildung 46:** Durch verschiedene Synthesansätze dargestellte 1,2-*trans*- und 1,2-*cis*-Octylglycoside **17-19**, **33**, **34** und **72**; die 1,2-*trans*-Konfiguration ist rot und die 1,2-*cis*-Konfiguration ist blau hervorgehoben.

Bei der Untersuchung der physikochemischen Eigenschaften der Selbstaggregation zu Glycomizellen wurden zwei biophysikalische Messmethoden eingesetzt und zusätzlich theoretische Modelle angewandt, die sich gegenseitig ergänzen. Anhand der ITC-Messungen reiner und gemischter Glycomizellen konnten die CMC-Werte und Demizellierungsenthalpien  $\Delta H_{\text{demiz}}$  von fünf einfachen ( $\alpha$ OctylMan **17**,  $\alpha$ OctylGal **18**,  $\beta$ OctylGlc **33**,  $\beta$ OctylGal **34**,  $\beta$ OctylMan **72**) und sechs gemischten Systemen erfolgreich bestimmt werden. Der Vergleich der Ergebnisse der einfachen Mizellen zeigte, dass die anomere Konfiguration der Kopfgruppe der amphiphilen Glycoside einen Einfluss auf die Mizellbildung hat. Besonders stark ist dieser Effekt bei den mannosidischen Mizellen ( $\alpha$ OctylMan **17**,  $\beta$ OctylMan **72**) erkennbar und im Fall der Galactosederivate ( $\alpha$ OctylGal **18**,  $\beta$ OctylGal **34**) nur noch in Ansätzen zu beobachten. Bei der Analyse des Einflusses der Zuckerkonfiguration auf die Mizellbildung konnte eine kohlenhydratspezifische Abhängigkeit

---

nachgewiesen werden. Dies äußerte sich durch Abnahme der CMC-Werte in der Reihenfolge Gal > Glc > Man. Stärker äußerte sich dieser Effekt in der  $\alpha$ -Serie, er konnte aber in abgeschwächter Form auch in der  $\beta$ -Serie beobachtet werden.

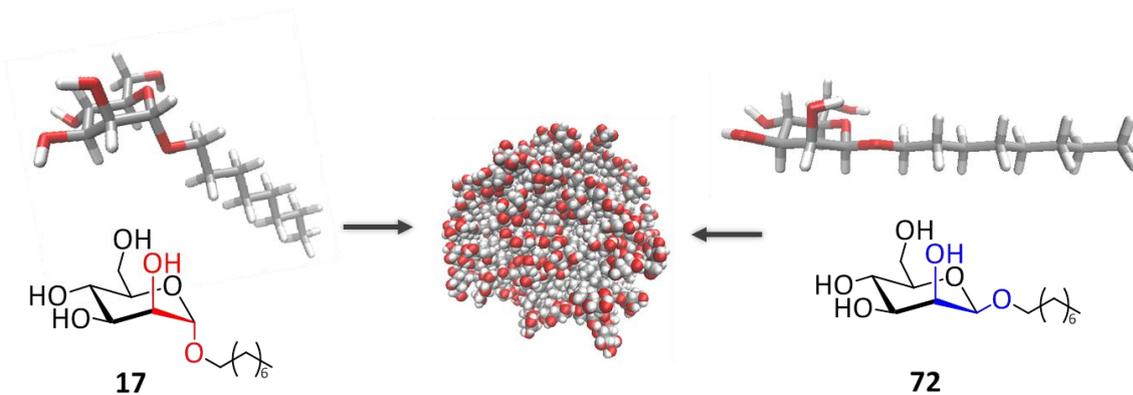
Aus den ITC-Experimenten wurden nach dem Phasenseparationsmodell thermodynamische Parameter berechnet. Dabei stellte sich heraus, dass es sich bei der Mizellbildung bei der hier konstant gehaltenen Temperatur von 25 °C um einen freiwillig ablaufenden entropisch getriebenen Prozess handelt.

Die Untersuchung der gemischten Glycomizellen zeigte in allen betrachteten Systemen jeweils nur einen CMC-Wert, was darauf schließen lässt, dass innerhalb der Systeme eine stark ausgeprägte Wechselwirkung der verschiedenen Kohlenhydrate untereinander zu beobachten ist und sich tatsächlich nur eine Mizelle, nämlich eine gemischte bildet. Auffällig waren die mannosehaltigen Mizellen, bei denen deutlich wurde, dass die Konfiguration des Mannosids einen starken Effekt auf die Mizellbildung auch im gemischten Fall hat.

In spektroskopischen NMR-Diffusionsexperimenten wurden von reinen Mannosid-Mizellen ( $\alpha$ OctylMan **17**,  $\beta$ OctylMan **72**) die Diffusionskoeffizienten  $D_{\text{obs}}$  in  $D_2O$  anhand einer Verdünnungsreihe bestimmt. Die durch eine Fitfunktion bestimmten CMC-Werte für die beiden anomeren Mannoside (CMC ( $\alpha$ OctylMan **17**) = 9.1 mM, CMC ( $\beta$ OctylMan **72**) = 18.9 mM) stimmen hierbei mit den Daten aus den ITC-Messungen unter Berücksichtigung methodenbedingter Abweichungen überein (ITC: CMC ( $\alpha$ OctylMan **17**) = 10.9 mM, CMC ( $\beta$ OctylMan **72**) = 22.9 mM). Die für die beiden Mannosid-Mizellen erhaltenen Diffusionskoeffizienten von  $3.05 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  für die  $\alpha$ OctylMan-Mizelle **17** und  $4.13 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  für die  $\beta$ OctylMan-Mizelle **72** zeigen klare Unterschiede in der Diffusiongeschwindigkeit. Hieraus lässt sich schließen, dass die beiden untersuchten Glycomizellen unterschiedlich groß sind. Die  $\alpha$ OctylMan-Mizelle von **17** mit einem kleineren Diffusionskoeffizienten ( $3.05 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ ) diffundiert langsamer und ist folglich größer als die  $\beta$ OctylMan-Mizelle von **72**, die mit einem größeren Diffusionskoeffizienten ( $4.13 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ ) schneller diffundiert.

Die axiale Hydroxylgruppe in 2-Position der amphiphilen Mannoside hat einen besonderen Effekt auf die Mizellbildung. Dies wurde im Rahmen von Moleküldynamik-Simulationen in wässriger Umgebung auf atomarer Ebene theoretisch untersucht (Abbildung 47). Um vergleichbare Ergebnisse mit Hinblick auf die Bedeutung der Konfiguration der glycosidischen Bindung auf die Mizellbildung zu erhalten, wurden Wasser- und Monomeranzahl gleich gewählt. Es konnten jeweils stabile Simulationen erhalten werden,

die in Bezug auf Größe, Form und kohlenhydratbedingter Wechselwirkungen analysiert und verstanden wurden.



**Abbildung 47:** In dieser Dissertation durch Moleküldynamik simulierte Mizellsysteme: Als Monomere wurde sowohl das Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**17**) als auch das Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosid (**72**) zur Untersuchung des Einflusses der anomeren Konfiguration auf die Mizellbildung ausgewählt.

Die beiden berechneten Mizellsysteme wiesen eine vergleichbare Durchschnittsgröße von je 17.4 Å auf. Durch zusätzliche Berechnungen konnte weiterhin nachgewiesen werden, dass die betrachteten Mizellsysteme keine exakt sphärische Aggregationsform haben, die strukturelle Form ähnelt einem prolaten (zigarrenförmigen) Ellipsoid. Die Betrachtung der Kohlenhydrat-Wasser-Wechselwirkungen zeigte, dass die berechneten Solvens-zugänglichen Oberflächen (SASA) je nach der anomeren Konfiguration der eingesetzten Mannoside unterschiedlich sind. Die Oberfläche der  $\beta$ OctylMan-Mizelle aus **72** hatte eine um ca. 600 Å<sup>2</sup> höheren SASA-Wert als die Mizelle aus dem analogen  $\alpha$ -Anomer **17**. Dieses Ergebnis macht deutlich, dass ein Unterschied in der Solvatisierung vorliegt. Nun wurden verschiedenen Analysemethoden angewendet, um den Aspekt der Solvatisierung weiter zu untersuchen. Hierfür ist vor allem eine erhöhte Solvatisierung der Octylkette verantwortlich. Bedingt durch die geometrische Struktur des  $\beta$ -Mannosids **72** kann die Octylkette besonders gut mit den umgebenden Wassermolekülen wechselwirken, wodurch ein erster Erklärungsansatz geliefert wird, warum im Experiment die CMC des  $\beta$ -Mannosids **72** einen doppelt so hohen Wert annimmt als die des  $\alpha$ -Mannosids **17**.

Ein Unterprojekt dieser Dissertation widmete sich dem Bindungsmechanismus, von Quadratsäure-Mannosiden an das bakterielle Lektin FimH durch *in silico*-Studien. Dem Docking wurden zwei Röntgenkristallstrukturen (1KLF und 1UWF) von FimH zugrunde gelegt, die sich hauptsächlich durch die Konformation der beiden Tyrosinseitenketten 48 und 137

---

(„Tyrosin-Tor“) am Eingang der FimH-CRD unterschieden. Die Docking-Experimente konnten die Details der Ligandenkomplexierung in Übereinstimmung mit den experimentellen Daten klären.

Über die hier zuletzt genannten Docking-Studien zu Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen hinaus, wurden im Hauptteil dieser Arbeit detaillierte Zusammenhänge zwischen der Struktur von amphiphilen Glykokonjugaten und deren Selbstaggregation in wässriger Umgebung erarbeitet. Die erhaltenen Ergebnisse legen nahe, dass besonders Mannoside einen starken Einfluss auf die supramolekulare Chemie der Glykokalyx haben dürfte, in der auch strukturelle Vielfalt einen besonderen Einfluss auf die intermolekularen Wechselwirkungen des Systems hat. Zukünftige Untersuchungen sollten sich auch weiteren Glycosiden wie GlcNAc und GalNAc zuwenden. Hierdurch könnten weitere Erkenntnisse über die Bedeutung der 2-Position eines Glycosids auf die supramolekulare Chemie eines Glyco-Ensembles gewonnen werden. Mit Hinblick auf die Resultate mit den gemischten Glycomizellen wären theoretische Simulationen sehr hilfreich, um genauere Informationen über die Interaktion der verschiedenen Zuckerkomponenten zu erhalten.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Mizellbildung einfacher Octylglycoside ein zwar einfaches, aber alles andere als ein triviales Testsystem darstellt, welches interessante Rückschlüsse auf den speziellen Einfluss von Zuckerstrukturen und Zuckerkonfigurationen auf die supramolekulare Chemie eines komplexen Zuckerensembles zulässt.

# 5 Experimenteller Teil

## 5.1 Allgemeine Arbeitsmethoden

### NMR-Spektren

NMR-spektroskopische Messungen wurden auf den Geräten der Firma Bruker DRX-500 ( $^1\text{H}$ -Kern bei 500.13 MHz,  $^{13}\text{C}$ -Kern bei 125.47 MHz) und AV-600 ( $^1\text{H}$ -Kern bei 600.13 MHz,  $^{13}\text{C}$ -Kern bei 150.91 MHz) aufgenommen.

Kopplungskonstanten ( $J$ ) wurden in Hertz (Hz) angegeben. Die Zuordnung der Signale wurde durch weitere ein- und zweidimensionale Messmethoden (DEPT,  $^{13}\text{C}$ -Gated-Decoupled,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC und  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HMBC) vorgenommen, um die Wasserstoffatome den jeweiligen Kohlenstoffatomen und die anomere Konfiguration ( $\alpha$  oder  $\beta$ ) eindeutig zuordnen zu können.

Die Kalibrierung der Spektren erfolgte über die aufgeführten Lösungsmittelsignale:

$\text{CDCl}_3$	$^1\text{H}$	0.000 ppm (s) (interes Tetramethylsilan)
	$^{13}\text{C}$	77.00 ppm (t)
$\text{MeOH-d}_4$	$^1\text{H}$	3.310 ppm (quint)
	$^{13}\text{C}$	49.00 ppm (sept)
$\text{DMSO-d}_6$	$^1\text{H}$	2.500 ppm (quint)
	$^{13}\text{C}$	39.52 ppm (sept)
$\text{D}_2\text{O}$	$^1\text{H}$	4.790 ppm (quint)

### Massenspektrometrie

MALDI-ToF-MS-Spektren wurden an einem Biflex III-Gerät der Firma Bruker mit 19 kV Beschleunigungsspannung aufgenommen. Als Matrix wurde Cl-CCA in Aceton verwendet. Die Bestrahlung der Probe erfolgte mit einem Stickstofflaser bei einer Wellenlänge von 337 nm.

ESI-MS-Spektren wurden auf einem Mariner ESI-ToF 5280 der Firma Applied Biosystems aufgenommen.

---

## Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden am Institut für Anorganische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel angefertigt. Als Gerät diente ein Euro-EA, Elemental Analyzer der Firma EuroVector.

## Polarimetrie

Drehwerte wurden mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 341 (Natrium-d-Linie:  $\lambda = 589 \text{ nm}$ , Küvettenlänge 1 dm) in den jeweils angegebenen Lösungsmitteln bestimmt.

## IR-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden mit dem FT-IR-Spektrometer Paragon 1000 der Firma Perkin-Elmer aufgenommen. Hierzu wurde eine Golden Gate-Diamant-ATR-Einheit mit Saphirstempel verwendet. Die Lage der Banden ist in Wellenzahlen ( $\text{cm}^{-1}$ ) angegeben.

## Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunktbestimmungsgerät der Firma Büchi (bis  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ ) aufgenommen. Alle angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

## Vorbemerkungen zu den Reaktionsvorschriften

Alle Reaktionen wurden, soweit nicht anders angegeben, unter normalen atmosphärischen Bedingungen durchgeführt. Für Reaktionen unter Schlenkbedingungen wurden ausgeheizte Apparaturen mit Stickstoffatmosphäre verwendet. Es wurden ausschließlich destillierte bzw. absolute Lösungsmittel eingesetzt, die wie folgt getrocknet wurden:

Acetonitril	über Molekularsieb 3 Å
Dichlormethan	über Calciumhydrid
Methanol	über Magnesiumspänen
DMF	getrocknet vom Hersteller
THF	über Lithiumaluminiumhydrid und Triphenylmethan als Indikator
Toluol	über Natrium und Benzophenon als Indikator

### **Analytische Dünnschicht- und präparative Säulenchromatographie**

Normalphase Dünnschichtchromatogramme wurden auf Kieselgelplatten 60 GF<sub>254</sub> der Firma Merck und Machery Nagel, RP-Chromatogramme auf DC-Platten (RP-18 F<sub>254s</sub>) der Firma Merck angefertigt. Die Lösungsmittelgemische sind in v/v angegeben. UV-aktive Substanzen wurden mit einer UV-Lampe der Firma CAMAG ( $\lambda_1 = 254 \text{ nm}$ ,  $\lambda_2 = 366 \text{ nm}$ ) detektiert. Außerdem wurden die Chromatogramme in eine Entwicklerlösung getaucht und durch nachfolgende Wärmebehandlung entwickelt. Als Anfärbereagenzien kamen je nach Substanzklasse folgende Reagenzlösungen zum Einsatz:

Zucker	Schwefelsäure (konz.) : Ethanol, 1:10
Sonstige (unspezifisch)	1.5 g Molybdato-phosphorsäure-Lösung oder 5 g Cer(IV)-sulfat und 12.5 g Molybdato-phosphorsäure in 40 mL Schwefelsäure (konz.) und 500 mL Wasser /Ethanol

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60 (230-400 mesh, Korngröße 0.040-0.063 mm) der Firma Merck und Machery-Nagel eingesetzt. Dabei wurde mit leichtem Überdruck gearbeitet.

### **Biologische Tests**

Zur Auswertung der biologischen Tests wurde der Infinite F200-Reader der Firma Tecan mit MAGELAN als Software verwendet.

---

## 5.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

### AAV 1: Fischer-Glycosylierung mit Acetylchlorid<sup>[161]</sup>

Der Glycosylakzeptor (1-Octanol, 32 eq.) wird als Lösungsmittel vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wird Acetylchlorid (2.5 eq.) zugegeben und 1 h bei Eiskühlung gerührt. Das freie Monosaccharid wird portionsweise zum Ansatz gegeben und 4.5 h bei 85 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird mit Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> neutralisiert und über Celite filtriert. Der Rückstand wird im Anschluss mit Ethylacetat gewaschen. Die org. Phase wird über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel gereinigt.

### AAV 2: Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin

Die jeweilige Substanz wird in Pyridin (10 mL / g) gelöst und Essigsäureanhydrid (10 eq.) hinzugegeben. Die Reaktion wird über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand mit Toluol mehrfach kodestilliert, um die verbliebene Essigsäure zu entfernen. Anschließend erfolgt eine Reinigung durch Säulenchromatographie an Kieselgel.

### AAV 3: Deacetylierung nach Zemplén-Bedingungen<sup>[127]</sup>

Die zu entschützende Substanz wird in abs. Methanol gelöst, mit 200 µL einer frisch hergestellten 1 M-Natriummethanolatlösung versetzt. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Im Anschluss wird mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Falls notwendig erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel. Abschließend wurde das Produkt in Wasser aufgenommen und liophilisiert.

### AAV 4: Glycosylierung nach der Trichloracetimidatmethode<sup>[145,156]</sup>

Der Akzeptor (1-Octanol, 1-2.1 eq) wird mit dem jeweiligen Glycosyltrichloracetimidat<sup>[157,158,174]</sup> (1-1.2 eq.) mindestens 1 h i. Vak. getrocknet und im Anschluss unter Schutzgasatmosphäre in abs. Dichlormethan (1 mL Dichlormethan / g Glycosyldonor) gelöst. Nach Zugabe von getrocknetem Molsieb (4 Å, 500 mg) wird der Ansatz auf 0 °C gekühlt und BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (1.7-4.5 eq.) innerhalb von 30 min zugetropft. Nach

beendeter Zugabe werden weitere 30 min unter Eiskühlung und anschließend über Nacht bei Raumtemp. weitergerührt. Der Reaktionsansatz wird mit ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg. und Wasser gewaschen. Die wässr. Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten org. Phasen über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

### **AAV 5: Aktivester-Variante der Staudinger-Ligation nach LINDHORST<sup>[118]</sup>**

Das Glycosylazid wird mit Octansäure (1.8-1.95 eq.) und 1-Hydroxybenzotriazol (1.8-1.95 eq.) 1 h i. Vak. getrocknet und im Anschluss unter Schutzgasatmosphäre in abs. Tetrahydrofuran gelöst. Bei 0 °C wird *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid (1.8-1.95 eq.) zugegeben und 10 min unter Eiskühlung weitergerührt. Nach Zugabe von Tri-*n*-butylphosphin (1.8-1.95 eq.) wird 1 h unter Eiskühlung und anschließend über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Wasser (50 mL) beendet und  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (300 mg) zugeben. Nach Phasentrennung wird die wässr. Phase fünfmal mit Ethylacetat (jeweils 50 mL) extrahiert und die vereinigten org. Phasen mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. (50 mL) gewaschen. Die org. Phase wird über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

### **AAV 6: Säurechlorid-Variante der Staudinger-Ligation nach BOULLANGER<sup>[120]</sup>**

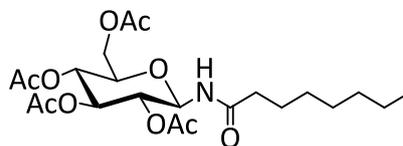
Das Glycosylazid wird mit Octanoylchlorid (2 eq.) versetzt und in Toluol gelöst. Zu diesem Reaktionsansatz wird Triphenylphosphin (1.3 eq.), gelöst in Toluol (0.5 mL), gegeben und 20 min bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit Chloroform verdünnt und mit wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg. gewaschen. Im Anschluss wird mit Chloroform extrahiert, die vereinigten org. Phasen über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt.

## 5.3 Einzelvorschriften

### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-*N*-octanoyl- $\beta$ -D-glucopyranosylamin (**3**)<sup>[118,120]</sup>

Variante 1:

Nach **AAV 5** wurde das Azid **1** (300 mg, 800  $\mu$ mol) mit Octansäure (208 mg, 1.44 mmol, 1.8 eq.), HOBt (210 mg, 1.56 mmol, 1.95 eq.), DIC (240  $\mu$ L, 1.56 mmol, 1.95 eq.) und



(*n*Bu<sub>3</sub>)P (200  $\mu$ L, 800  $\mu$ mol) in abs. THF (40 mL) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) gereinigt. Es wurde als Produkt ein farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 326 mg (688  $\mu$ mol, 473.51 g·mol<sup>-1</sup>, 81 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1); R<sub>f</sub> = 0.53;

**Smp.:** 86-87 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +21.0$  (*c* = 1.1, CHCl<sub>3</sub>);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2927, 2857, 1741, 1673, 1530, 1373, 1218, 1100, 1032, 904, 800, 601, 568, 535$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 6.19$  (d, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = 9.5$  Hz, NH), 5.31 (dd~t, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = ^3J_{1,2} = 9.5$  Hz, H-1), 5.26 (dd~t, 1 H,  $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.5$  Hz, H-3), 5.06 (dd, 1 H,  $^3J_{3,4} = 9.5, ^3J_{4,5} = 10.1$  Hz, H-4), 4.92 (dd~t, 1 H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.5$  Hz, H-2), 4.32 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 4.4$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.5$  Hz, H-6a), 4.08 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.1$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.5$  Hz, H-6b), 3.82 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.1$  Hz,  $^3J_{5,6a} = 4.4$  Hz,  $^3J_{4,5} = 9.5$  Hz, H-5), 2.24-2.11 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>), 2.08, 2.04, 2.03, 2.02 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 1.68-1.53 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.36-1.21 (m, 8 H, 4 CH<sub>2</sub>), 0.87 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 173.4$  (NHCO), 170.9, 170.5, 169.8, 169.5 (4 COCH<sub>3</sub>), 78.1 (C-1), 73.6 (C-5), 72.8 (C-3), 70.7 (C-4), 68.3 (C-2), 61.8 (C-6), 36.7 (NHCOCH<sub>2</sub>), 31.6, 29.2, 28.9 (3 CH<sub>2</sub>), 25.2 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.6 (CH<sub>2</sub>), 20.7, 20.6, 20.6, 20.5 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.0 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** *m/z* = 496.217 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 496.215) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>10</sub> (M = 473.226).

Variante 2:

Nach **AAV 6** wurde das Azid **1** (205 mg, 549  $\mu\text{mol}$ ) mit Ocanoylchlorid (209 mg, 1.28 mmol, 2.3 eq.) und  $\text{PPh}_3$  (188 mg, 715  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq.) in Toluol (2.2 mL) umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) gereinigt. Es wurde ein farbloses Öl als Produkt erhalten.

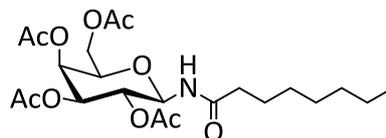
**Ausbeute:** 182 mg (384  $\mu\text{mol}$ , 473.51  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 70 %);

Die analytischen Daten stimmen mit denen des Produkts überein, das nach Variante 1 erhalten wurde.

### 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-N-octanoyl- $\beta$ -D-galactopyranosylamin (**4**)<sup>[118,120]</sup>

Variante 1:

Nach **AAV 5** wurde das Azid **2** (305 mg, 820  $\mu\text{mol}$ ) mit Octansäure (207 mg, 1.44 mmol, 1.75 eq.), HOBT (217 mg, 1.61 mmol, 1.95 eq.), DIC (240  $\mu\text{L}$ , 1.56 mmol, 1.9 eq.) und



( $n\text{Bu}_3$ )P (205  $\mu\text{L}$ , 820  $\mu\text{mol}$ ) in abs. THF (40 mL) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) gereinigt. Es wurde als Produkt ein farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 274 mg (571  $\mu\text{mol}$ , 473.51  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 70 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1);  $R_f = 0.49$ ;

**Smp.:** 78 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +12.5$  ( $c = 1.3$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2927, 2857, 1740, 1673, 1530, 1373, 1217, 1101, 1032, 981, 905, 601, 568 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 6.22$  (d, 1 H,  $^3J_{\text{NH,H1}} = 9.2 \text{ Hz}$ , NH), 5.44 (dd, 1 H,  $^3J_{3,4} = 2.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{4,5} = 1.0 \text{ Hz}$ , H-4), 5.25 (dd~t, 1 H,  $^3J_{\text{NH,1}} = ^3J_{1,2} = 9.2 \text{ Hz}$ , H-1), 5.14 (dd, 1 H,  $^3J_{2,3} = 10.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{3,4} = 2.9 \text{ Hz}$ , H-3), 5.10 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 9.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{2,3} = 10.1 \text{ Hz}$ , H-2), 4.13 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 7.1 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 11.2 \text{ Hz}$ , H-6a), 4.09 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 6.2 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6,6b} = 11.2 \text{ Hz}$ , H-6b), 4.03 (td, 1 H,  $^3J_{4,5} = 1.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{5,6a} = 7.1 \text{ Hz}$ , H-5), 2.25 - 2.15 (m, 2 H,  $\text{NHCOCH}_2$ ), 2.15, 2.06, 2.04, 2.00 (je s, je 3 H, 4  $\text{COCH}_3$ ), 1.68-1.54 (m, 2 H,  $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.34 - 1.22 (m, 10 H, 5  $\text{CH}_2$ ), 0.88 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ) ppm;

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 173.3 (NHCO), 171.3, 170.3, 170.0, 169.7 (4 C=O), 78.5 (C-1), 72.3, 70.9, 68.5, 67.3 (C-2, C-3, C-4, C-5), 61.8 (C-6), 36.7 (NHCOCH<sub>2</sub>), 31.6, 29.1, 28.9 (3 CH<sub>2</sub>), 25.19 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.6 (CH<sub>2</sub>), 20.7, 20.6, 20.6, 20.5 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.0 (CH<sub>3</sub>) ppm;

ESI-MS: *m/z* = 496.207 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 496.215) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>10</sub> (M = 473.226).

Variante 2:

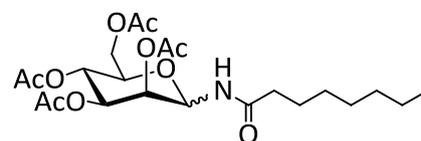
Nach **AAV 6** wurde das Azid **2** (205 mg, 549 μmol) mit Octanoylchlorid (179 mg, 1.1 mmol, 2.0 eq.) und PPh<sub>3</sub> (188 mg, 715 μmol, 1.3 eq.) in Toluol (2.0 mL) umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) gereinigt. Es wurde ein leicht gelbliches Öl als Produkt erhalten.

**Ausbeute:** 167 mg (352 μmol, 473.51 g·mol<sup>-1</sup>, 64 %);

Die analytischen Daten stimmen mit denen des Produkts überein, das nach Variante 1 erhalten wurde.

### 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-N-octanoyl-α,β-D-mannopyranosylamin (**7**)<sup>[118]</sup>

Nach **AAV 5** wurde das Azid **5** (303 mg, 812 μmol) mit Octansäure (207 mg, 1.44 mmol, 1.8 eq.), HOBt (213 mg, 1.58 mmol, 1.95 eq.), DIC (240 μL, 1.56 mmol, 1.95 eq.)



und (*n*Bu<sub>3</sub>)P (203 μL, 812 μmol) in abs. THF (40 mL) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) gereinigt. Es wurde als Produkt ein farbloser Feststoff als Anomerengemisch erhalten, wobei die Anomere nicht getrennt werden konnten.

**Ausbeute:** 259 mg (550 μmol, 473.51 g·mol<sup>-1</sup>, 64 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1); R<sub>f</sub> = 0.54;

Anomerenverhältnis laut <sup>1</sup>H-NMR α:β=3:1;

#### α-Anomer

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.09 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 9.5 Hz, NH), 5.58 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>NH,H1</sub> = 9.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.1 Hz, H-1), 5.37 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.3 Hz, H-2), 5.24 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 10.0 Hz, H-4), 5.13 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 10.0 Hz, H-3), 4.33 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.1 Hz,

$^2J_{6a,6b} = 12.4$  Hz, H-6a), 4.09 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.2$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.4$  Hz, H-6b), 3.88 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.2$  Hz,  $^3J_{5,6a} = 5.1$  Hz,  $^3J_{4,5} = 10.0$  Hz, H-5), 2.24 (s, 3 H, COCH<sub>3</sub>), 2.22-2.17 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>), 2.10, 2.05, 1.98 (je s, je 3 H, 3 COCH<sub>3</sub>), 1.66-1.58 (m, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.35-1.22 (m, 8 H, 4 CH<sub>2</sub>), 0.88 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 172.5 (NHCO), 170.7, 170.3, 169.8, 169.7 (4 C=OCH<sub>3</sub>), 75.9 (C-1), 74.2 (C-5), 71.6 (C-3), 70.2 (C-2), 65.2 (C-4), 62.2 (C-6), 36.6 (NHCOCH<sub>2</sub>), 31.7, 29.7, 29.1, 28.9 (4 CH<sub>2</sub>), 25.1 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.6 (CH<sub>2</sub>), 20.89, 20.79, 20.70, 20.53 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.05 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm;

### β-Anomer

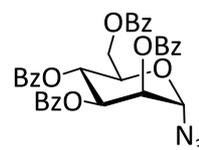
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.32 (d, 1 H,  $^3J_{NH,1} = 8.5$  Hz, NH), 5.68 (dd, 1 H,  $^3J_{NH,1} = 8.5$  Hz,  $^3J_{1,2} = 1.3$  Hz, H-1), 5.28 (dd, 1 H,  $^3J_{2,3} = 3.3$  Hz,  $^3J_{3,4} = 7.0$  Hz, H-3), 5.23 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-2), 5.16 (dd~t, 1 H,  $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 7.0$  Hz, H-4), 4.41 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 6.1$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.1$  Hz, H-6a), 4.24 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 4.0$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.1$  Hz, H-6b), 4.01 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-5), 2.21 (m<sub>c</sub>, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>), 2.12, 2.09, 2.09, 2.08 (je s, je 3 H, COCH<sub>3</sub>), 1.66-1.58 (m, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.35-1.22 (m, 8 H, 4 CH<sub>2</sub>), 0.88 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 172.5 (NHCO), 170.7, 170.3, 169.8, 169.7 (4 C=OCH<sub>3</sub>), 74.3 (C-1), 71.6 (C-5), 68.9 (C-3), 67.5 (C-2), 66.8 (C-4), 61.5 (C-6), 36.5 (NHCOCH<sub>2</sub>), 31.6, 29.1, 28.9, 28.5 (4 CH<sub>2</sub>), 24.8 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.6 (CH<sub>2</sub>), 20.9, 20.8, 20.7, 20.5 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 496.210$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 496.215$ ) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>10</sub> (M = 473.226).

### 2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl-α-D-mannopyranosylazid (8)<sup>[240]</sup>

Nach einer variierten Literaturvorschrift von MALKINSON et al.<sup>[124]</sup> wurde perbenzoylierte D-Mannopyranose (2.02 g, 2.88 mmol) in abs. Dichlormethan (20 mL) vorgelegt und unter Schutzgasatmosphäre mit



Trimethylsilylazid (948 μL, 7.21 mmol, 2.5 eq.) und Zinntetrachlorid (300 μL) versetzt und der Ansatz über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde Dichlormethan zugegeben und die Reaktionsmischung mit wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lsg. gewaschen (50 mL). Die org. Phase wurde abgetrennt und die wässr. Phase dreimal mit Dichlormethan (jeweils 50 mL)

extrahiert und die vereinigten org. Phasen mit ges. NaCl-Lsg. (50 mL) gewaschen. Die org. Phase wird über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 5:1) wurde das Produkt als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 1.50 g (2.42 mmol, 621.59 g·mol<sup>-1</sup>, 84 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 5:1); R<sub>f</sub> = 0.25;

**Smp.:** 128 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +9.2$  (*c* = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2112, 1716, 1600, 1451, 1264, 1233, 1102, 1071, 1026, 942, 797, 705$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 8.11$  (dd, 2 H, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, Ar-H), 8.04 (dd, 2 H, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.96 (dd, 2 H, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.83 (dd, 2 H, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.59 (m<sub>c</sub>, 2 H, Ar-H), 7.51 (m<sub>c</sub>, 1 H, Ar-H), 7.47-7.33 (m, 7 H, Ar-H), 7.26 (dd, 2 H, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, Ar-H), 6.13 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 10.2 Hz, H-4), 5.83 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 3.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 10.2 Hz, H-3), 5.69 (d, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 2.0 Hz, H-1), 5.62 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 2.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 3.3 Hz, H-2), 4.76 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 2.4 Hz, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 12.3 Hz, H-6a), 4.61 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 2.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 4.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 10.2 Hz, H-5), 4.52 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 4.4 Hz, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 12.3 Hz, H-6b) ppm;

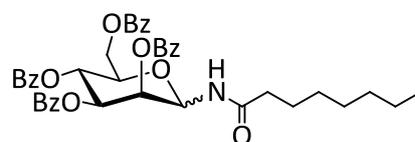
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 166.1, 165.4, 165.4, 165.3$  (4 C=O-Ar), 133.7, 133.6, 133.3, 133.1 (4 C-Ar), 129.9-123.8 (20 C-Ar), 87.6 (C-1), 70.9 (C-5), 70.1 (C-2), 69.2 (C-3), 66.3 (C-4), 62.5 (C-6) ppm;

**MALDI-ToF-MS:** *m/z* = 644.25 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 644.16) und *m/z* = 660.20 [M+K]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 660.14) für Summenformel C<sub>34</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub> (M = 621.17);

**ESI-MS:** *m/z* = 644.160 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 644.164) für Summenformel C<sub>34</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub> (M = 621.175).

### 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl-*N*-octanoyl- $\alpha$ - und - $\beta$ -D-mannopyranosylamin (9, 10)

Nach **AAV 5** wurde das Azid **8** (364 mg, 585  $\mu$ mol) mit Octansäure (151 mg, 1.05 mmol, 1.8 eq.), HOBt (142 mg, 1.05 mmol, 1.8 eq.), DIC (164  $\mu$ L, 1.05 mmol, 1.8 eq.) und



(*n*Bu<sub>3</sub>)P (146  $\mu$ L, 585  $\mu$ mol) in abs. THF (20 mL) umgesetzt. Der Rückstand wurde

säulenchromatographisch an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) gereinigt. Es wurde als Produkt ein farbloser Feststoff erhalten. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 3:1) konnte das sich während der Reaktion gebildete Anomerengemisch getrennt werden. Sowohl das  $\alpha$ - als auch das  $\beta$ -Anomer konnten als Reinsubstanzen in Form farbloser Feststoffe erhalten werden.

Anomerenverhältnis laut  $^1\text{H-NMR}$   $\alpha:\beta=2:5$ ;

### $\alpha$ -Anomer (9)

**Ausbeute:** 47.1 mg (65.3  $\mu\text{mol}$ ,  $721.79 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 20 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 3:1);  $R_f = 0.25$ ;

**Smp.:** 145 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -30.9$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3285, 2927, 1721, 1659, 1535, 1452, 1254, 1090, 1069, 1027, 706, 685 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 9.30$  (d, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = 9.4 \text{ Hz}$ , NH), 8.01 (dd, 2 H,  $^3J = 1.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 8.2 \text{ Hz}$ , Ar-H), 7.96 (dd, 2 H,  $^4J = 1.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 8.2 \text{ Hz}$ , Ar-H), 7.89 (dd, 2 H,  $^4J = 1.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 8.2 \text{ Hz}$ , Ar-H), 7.75-7.67 (m, 4 H, Ar-H), 7.63 (m<sub>c</sub>, 1 H, Ar-H), 7.58-7.46 (m, 7 H, Ar-H), 7.37 (t, 2 H,  $^3J = 7.9 \text{ Hz}$ , Ar-H), 6.18 (dd, 1 H,  $^3J_{2,3} = 3.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{3,4} = 9.8 \text{ Hz}$ , H-3), 5.94 (dd~t, 1 H,  $^3J_{3,4} = 9.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{3,4} = 9.9 \text{ Hz}$  H-4), 5.79 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 2.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{NH},1} = 9.4 \text{ Hz}$ , H-1), 5.53 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 2.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{2,3} = 3.2 \text{ Hz}$ , H-2), 4.57 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.6 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 12.4 \text{ Hz}$ , H-6a), 4.50 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 3.5 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 12.4 \text{ Hz}$ , H-6b), 4.57 (ddd~dt, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{4,5} = 9.9 \text{ Hz}$ , H-5), 2.29 (t, 2 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2} = 7.4 \text{ Hz}$ ,  $\text{NHCOCH}_2$ ), 1.62-1.53 (m, 2 H,  $\text{NHCOCH}_2$ ), 1.33-1.22 (m, 8 H, 4  $\text{CH}_2$ ), 0.86 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ );

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 173.3$  (NHCO), 165.7, 165.4, 165.1, 165.1 (4  $\text{CO-Ar}$ ), 134.4, 134.3, 134.2, 134.0 (4 C-Ar), 129.9-129.0 (20 C-Ar), 75.9 (C-1), 71.1 (C-2), 70.3 (C-3), 69.6 (C-5), 67.3 (C-4), 62.7 (C-6), 35.8 ( $\text{NHCOCH}_2$ ), 31.6, 29.0, 28.9 (3  $\text{CH}_2$ ), 25.5 ( $\text{NHCOCH}_2$ ), 22.5 ( $\text{CH}_2$ ), 14.4 ( $\text{CH}_3$ ) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR-gated-decoupled}$**  (125 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 75.9$  ( $J_{\text{C-1,H-1}} = 164.3 \text{ Hz}$ , C-1) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 744.30$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 744.28$ ) und  $m/z = 760.27$  [ $\text{M}+\text{K}$ ]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 760.25$ ) für Summenformel  $\text{C}_{42}\text{H}_{43}\text{NO}_{10}$  ( $M = 721.29$ );

**ESI-MS:**  $m/z = 744.2657$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 744.2779$ ) für Summenformel  $\text{C}_{42}\text{H}_{43}\text{NO}_{10}$  ( $M = 721.2887$ );

## $\beta$ -Anomer (10)

**Ausbeute:** 124 mg (172  $\mu$ mol, 721.79 g $\cdot$ mol<sup>-1</sup>, 53 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 3:1); R<sub>f</sub> = 0.17;

**Smp.:** 75-77 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -63.6$  ( $c = 1.0$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2928, 2856, 1725, 1602, 1521, 1452, 1255, 1091, 1066, 1026, 705$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 8.68$  (d, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = 8.8$  Hz, NH), 8.07 (dd, 2 H,  $^4J = 1.3$  Hz,  $^3J = 8.3$  Hz, Ar-H), 7.99 (dd, 2 H,  $^4J = 1.3$  Hz,  $^3J = 8.3$  Hz, Ar-H), 7.86 (dd, 2 H,  $^4J = 1.3$  Hz,  $^3J = 8.3$  Hz, Ar-H), 7.74 (m<sub>C</sub>, 2 H, Ar-H), 7.64-7.57 (m, 5 H, Ar-H), 7.55-7.49 (m, 3 H, Ar-H), 7.45 (dd, 2 H,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^3J = 8.2$  Hz, Ar-H), 7.32 (dd, 2 H,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^3J = 8.2$  Hz, Ar-H), 5.96 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 1.0$  Hz,  $^3J_{\text{NH},1} = 8.8$  Hz, H-1), 5.94-5.88 (m, 2 H, H-3, H-4), 5.67 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 1.0$  Hz,  $^3J_{2,3} = 2.4$  Hz, H-2), 4.60 (m<sub>C</sub>, 1 H, H-6a), 4.55-4.43 (m, 2 H, H-5, H-6b), 2.13 (m<sub>C</sub>, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>), 1.52-1.40 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.25-1.14 (m, 8 H, 4 CH<sub>2</sub>), 0.81 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 172.9$  (NHCO), 165.7, 165.6, 165.4, 165.0 (4 C=O-Ar), 134.2, 134.1, 134.1, 134.0 (4 C-Ar), 130.2-129.0 (20 C-Ar), 76.9 (C-1), 73.0 (C-5), 73.0 (C-3), 71.0 (C-2), 66.6 (C-4), 62.8 (C-6), 35.2 (NHCOCH<sub>2</sub>), 31.6, 28.9, 28.9 (3 CH<sub>2</sub>), 25.4 (CHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.5 (CH<sub>2</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub>) ppm;

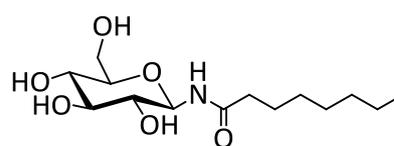
**<sup>13</sup>C-NMR-gated-decoupled** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 76.9$  ( $J_{\text{C-1,H-1}} = 155.4$  Hz, C-1) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 744.44$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 744.28$ ) und  $m/z = 760.42$  [M+K]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 760.25$ ) für Summenformel C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>10</sub> (M = 721.29);

**ESI-MS:**  $m/z = 722.299$  [M+H]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 722.296$ ) für Summenformel C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>10</sub> (M = 721.289).

## *N*-Octanoyl- $\beta$ -D-glucopyranosylamin (11)<sup>[118,120]</sup>

Nach **AAV 3** wurde 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-*N*-octanoyl- $\beta$ -D-glucopyranosylamin (**3**) (772 mg, 1.63 mmol) in abs. Methanol (10 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 497 mg (1.62 mmol, 305.37 g $\cdot$ mol<sup>-1</sup>, 99 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1);  $R_f = 0.40$ ;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +1.6$  ( $c = 0.9$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3433, 3320, 2919, 2853, 1632, 1546, 1269, 1211, 1078, 1031, 890, 574, 550 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ):  $\delta = 8.55$  (s, 1 H, NH), 4.89 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 8.9 \text{ Hz}$ , H-1), 3.82 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.2 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 11.9 \text{ Hz}$ , H-6a), 3.65 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 5.1 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 11.9 \text{ Hz}$ , H-6), 3.40 (dd~t, 1 H,  $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 8.9 \text{ Hz}$ , H-3), 3.36-3.28 (m, 2 H, H-4, H-5), 3.24 (dd~t, 1 H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 8.9 \text{ Hz}$ , H-2), 2.24 (m<sub>c</sub>, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>), 1.67-1.59 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.39-1.27 (m, 8 H, 4 CH<sub>2</sub>), 0.91 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0 \text{ Hz}$ , CH<sub>3</sub>) ppm;

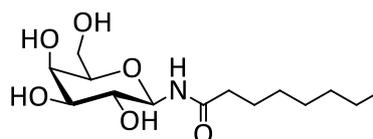
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ):  $\delta = 177.3$  (NHCO), 81.1 (C-1), 79.6 (C-5), 79.1 (C-3), 74.0 (C-2), 71.5 (C-4), 62.7 (C-6), 37.2 (NHCOCH<sub>2</sub>), 32.9, 30.3, 30.1 (3 CH<sub>2</sub>), 26.6 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 23.7 (CH<sub>2</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 328.171$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 328.173$ ) für Summenformel C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub> (M = 305.184);

**Elementaranalyse:** berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub> · 0.1 CH<sub>3</sub>OH (M = 308.57 g·mol<sup>-1</sup>): C 54.88, H 8.95, N 4.54; gefunden: C 54.78, H 8.95, N 4.92.

### ***N*-Octanoyl- $\beta$ -D-galactopyranosylamin (12)** <sup>[118,120]</sup>

Nach **AAV 3** wurde 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-*N*-octanoyl- $\beta$ -D-galactopyranosylamin (**4**) (295 mg, 623  $\mu\text{mol}$ ) in abs. Methanol (12 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 182 mg (595  $\mu\text{mol}$ , 305.37 g·mol<sup>-1</sup>, 95 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1);  $R_f = 0.37$ ;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +15.5$  ( $c = 0.8$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3322, 2930, 2859, 1658, 1555, 1075 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ):  $\delta = 8.60$  (s, 1 H, NH), 4.87 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 8.7$ , H-1), 3.92 (dd, 1 H,  $^3J_{4,5} = 1.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{3,4} = 3.2 \text{ Hz}$ , H-4), 3.75 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 6.6 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 11.3 \text{ Hz}$ , H-6a), 3.71 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 5.4 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 11.3 \text{ Hz}$ , H-6b), 3.62 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-5), 3.59 (dd~t, 1 H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 8.7 \text{ Hz}$ , H-2), 3.55 (dd, 1 H,  $^3J_{2,3} = 8.7 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{3,4} = 3.2 \text{ Hz}$ , H-3), 2.32-2.25 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>),

1.70-1.62 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.42-1.30 (m, 8 H, CH<sub>2</sub>), 0.94 (dd~t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

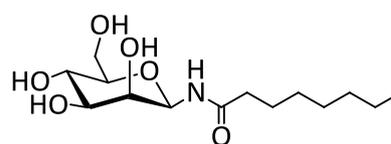
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): δ = 177.3 (NHCO), 82.0 (C-1), 78.7 (C-5), 76.3 (C-3), 71.7 (C-2), 71.0 (C-4), 63.0 (C-6), 37.6 (NHCOCH<sub>2</sub>), 33.3, 30.8, 30.6 (3 CH<sub>2</sub>), 27.1 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 24.1 (CH<sub>2</sub>), 14.9 (CH<sub>3</sub>) ppm;

ESI-MS: *m/z* = 328.170 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 328.173) für Summenformel C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub> (M = 305.184);

Elementaranalyse: berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub> · 1.2 H<sub>2</sub>O (M = 326.99 g·mol<sup>-1</sup>): C 51.42, H 9.05, N 4.28; gefunden: C 51.50, H 8.06, N 4.15.

### N-Octanoyl-β-D-mannopyranosylamin (13)

Nach **AAV 3** wurde 2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl-N-octanoyl-β-D-mannopyranosylamin (**10**) (117 mg, 162 μmol) in abs. Methanol (5 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



Ausbeute: 49.2 mg (161 μmol, 305.37 g·mol<sup>-1</sup>, 99 %);

DC: (Ethylacetat : Methanol, 3:1); R<sub>f</sub> = 0.22;

Drehwert: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 6.0 (c = 1.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3527, 3419, 3325, 2925, 2852, 1655, 1528, 1290, 1073, 1024, 956, 868, 798, 677 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 7.94 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 8.8 Hz, NH), 5.00 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 9.2 Hz, H-1), 4.81 (d, 1 H, <sup>3</sup>J = 4.6 Hz, OH), 4.73 (d, 1 H, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, OH), 4.70 (d, 1 H, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, OH), 4.40 (t, 1 H, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, OH), 3.65 (ddd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 2.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>OH,6a</sub> = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 6.1 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.8 Hz H-6a), 3.52 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-2), 3.41 (ddd~dt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 6.1 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.8 Hz H-6b), 3.37-3.26 (m, 2 H, H-3, H-4), 3.05 (ddd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 2.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 8.6 Hz, H-5), 2.14 (m<sub>c</sub>, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>), 1.54-1.38 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.29-1.18 (m, 8 H, 4 CH<sub>2</sub>), 0.85 (dd~t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

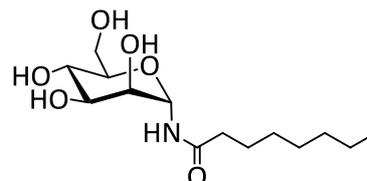
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 172.9 (NHCO), 80.0 (C-5), 77.3 (C-1), 74.0 (C-3), 70.8 (C-2), 66.8 (C-4), 61.3 (C-6), 35.1 (NHCOCH<sub>2</sub>), 31.2, 28.7, 28.5 (3 CH<sub>2</sub>), 25.0 (CHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.1 (CH<sub>2</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 328.172$   $[M+Na]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 328.173$ ) für Summenformel  $C_{14}H_{27}NO_6$  ( $M = 305.184$ ) ppm;

**Elementaranalyse:** berechnet für  $C_{14}H_{27}NO_6 \cdot 1.8 H_2O$  ( $M = 337.79 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ): C 49.78, H 9.13, N 4.15; gefunden: C 49.52, H 8.11, N 4.21.

#### ***N*-Octanoyl- $\alpha$ -D-mannopyranosylamin (14)**

Nach **AAV 3** wurde 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl-*N*-octanoyl- $\alpha$ -D-mannopyranosylamin (**9**) (41 mg, 57  $\mu\text{mol}$ ) in abs. Methanol (4 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 17 mg (57  $\mu\text{mol}$ ,  $305.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , quant);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1);  $R_f = 0.14$ ;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3310, 2925, 2856, 1662, 1534, 1377, 1224, 1107, 805, 575 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta = 8.37$  (d, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = 9.0 \text{ Hz}$ , NH), 5.31 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 2.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{NH},1} = 9.1 \text{ Hz}$ , H-1), 4.80 (d, 1 H,  $^3J = 3.6 \text{ Hz}$ , OH), 4.74 (d, 1 H,  $^3J = 4.1 \text{ Hz}$ , OH), 4.57 (d, 1 H,  $^3J = 4.3 \text{ Hz}$ , OH), 4.34 (t, 1 H,  $^3J = 5.9 \text{ Hz}$ , OH), 3.75-3.63 (m, 1 H, H-3), 3.57 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{6a,\text{OH}} = 5.9 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 11.6 \text{ Hz}$ , H-6a), 3.52-3.41 (m, 3 H, H-2, H-4, H-6b), 3.38-3.21 (m, 1 H, H-5), 2.12 (t, 2 H,  $^3J = 7.4 \text{ Hz}$ ,  $\text{NHCOCH}_2$ ), 1.52-1.43 (m, 2 H,  $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.32-1.19 (m, 8 H, 4  $\text{CH}_2$ ), 0.86 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ) ppm;

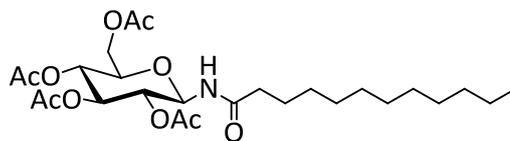
**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta = 172.9$  (NHCO), 77.9 (C-1), 75.4 (C-5), 70.9, 70.9 (C-2, C-3), 67.7 (C-4), 61.6 (C-6), 35.7 ( $\text{NHCOCH}_2$ ), 31.6, 29.0, 28.9 ( $\text{CH}_2$ ), 25.7 ( $\text{CHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 22.5 ( $\text{CH}_2$ ), 14.4 ( $\text{CH}_3$ ) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 328.35$   $[M+Na]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 328.17$ ) und  $m/z = 344.30$   $[M+K]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 344.30$ ) für Summenformel  $C_{14}H_{27}NO_6$  ( $M = 305.18$ );

**ESI-MS:**  $m/z = 328.177$   $[M+Na]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 328.173$ ) für Summenformel  $C_{14}H_{27}NO_6$  ( $M = 305.184$ ).

## 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-*N*-dodecanoyl- $\beta$ -D-glucopyranosylamin (15)<sup>[241]</sup>

Nach einer veränderten Version von **AAV 6** wurde das Azid **1** (757 mg, 2.03 mmol) mit Octanoylchlorid (722  $\mu$ L, 3.04 mmol, 1.5 eq.) und PPh<sub>3</sub> (691 mg,



2.64 mmol, 1.3 eq.), gelöst in Toluol (2.0 mL), unter Eiskühlung in Toluol (2.0 mL) umgesetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemp. und wässriger Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) gereinigt. Es wurde ein farblöses Öl als Produkt erhalten.

**Ausbeute:** 650 mg (1.23 mmol, 473.51 g·mol<sup>-1</sup>, 60 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 3:2); R<sub>f</sub> = 0.34;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +8.7$  ( $c = 1.0$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2918, 2850, 1743, 1675, 1536, 1371, 1221, 1038, 902, 721, 602$  cm<sup>-1</sup>;

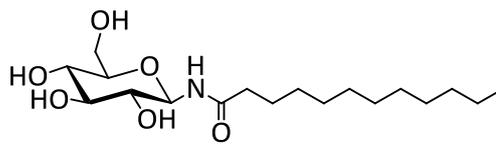
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 8.59$  (d, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = 9.6$  Hz, NH), 5.38 (dd~t, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = ^3J_{1,2} = 9.6$  Hz, H-1), 5.33 (dd~t, 1 H,  $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.6$  Hz, H-3), 4.88 (dd~t, 1 H,  $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.6$  Hz, H-4), (dd~t, 1 H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.6$  Hz, H-2), 4.15 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 4.6$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.4$  Hz, H-6a), 4.07 (ddd, 1 H  $^3J_{5,6a} = 2.2$  Hz,  $^3J_{5,b} = 4.6$  Hz,  $^3J_{4,5} = 9.6$  Hz, H-5), 3.96 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.2$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.4$  Hz, H-6b), 2.13-2.07 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>), 1.99, 1.99, 1.93, 1.92 (je s, je 3 H, COCH<sub>3</sub>), 1.52-1.39 (m, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.39-1.30 (m, 16 H, 8 CH<sub>2</sub>), 0.85 (dd~t, 3 H,  $^3J = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 172.8$  (NHCO), 170.0, 169.5, 169.3, 168.9 (4 COCH<sub>3</sub>), 76.7 (C-1), 72.8 (C-3), 72.0 (C-5), 70.7 (C-2), 67.8 (C-4), 61.7 (C-6), 35.3 (NHCOCH<sub>2</sub>), 31.3, 29.0, 29.0, 28.9, 28.7, 28.7, 28.4 (7 CH<sub>2</sub>), 25.0 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.1 (CH<sub>2</sub>), 20.5, 20.4, 20.3, 20.3 (4 COCH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 496.283$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 496.278$ ) für Summenformel C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>10</sub> (M = 529.289).

**N-Dodecanoyl-β-D-glucoopyranosylamin (16)**<sup>[241]</sup>

Nach **AAV 3** wurde 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-N-dodecanoyl-β-D-glucoopyranosylamin (**15**) (545 mg, 1.03 mmol) in abs. Methanol (10 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 367 mg (1.02 mmol, 361.47 g·mol<sup>-1</sup>, 99 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1); R<sub>f</sub> = 0.22;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -50.3$  (*c* = 0.9, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3431, 3322, 2929, 2851, 1632, 1545, 1468, 1251, 1077, 1036, 952, 890, 722, 584$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 8.22$  (d, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = 9.1$  Hz, NH), 4.93 (d, 1 H,  $^3J = 4.8$  Hz, OH), 4.84 (d, 1 H,  $^3J = 5.3$  Hz, OH), 4.78 (d, 1 H,  $^3J = 5.6$  Hz, OH), 4.70 (dd~t, 1 H,  $^3J_{\text{NH},1} = ^3J_{1,2} = 9.1$  Hz, H-1), 4.45 (t, 1 H,  $^3J = 5.8$  Hz, OH), 3.63 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 1.9$  Hz,  $^3J_{\text{OH},6a} = 5.6$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.8$  Hz, H-6a), 3.40 (ddd~dt, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 4.8$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.8$  Hz H-6b), 3.17 (ddd~dt, 1 H,  $^3J_{\text{OH},3} = 4.8$  Hz,  $^3J_{3,4} = 8.7$  Hz H-3), 3.11-3.00 (m, 3 H, H-2, H-4, H-5), 2.08 (m<sub>C</sub>, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>), 1.47 (m<sub>C</sub>, 2 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.28-1.20 (m, 16 H, 8 CH<sub>2</sub>), 0.85 (dd~t, 3 H,  $^3J = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

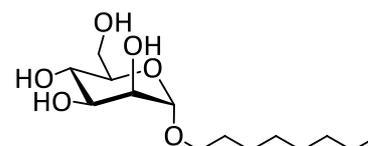
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 172.6$  (NHCO), 79.4 (C-1), 78.5 (C-5), 77.6 (C-3), 72.5 (C-2), 70.1 (C-4), 61.0 (C-6), 35.4 (NHCOCH<sub>2</sub>), 31.3, 29.0, 29.0, 28.9, 28.9, 28.8, 28.7 (7 CH<sub>2</sub>), 24.9 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.1 (CH<sub>2</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 361.237$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 361.236$ ) für Summenformel C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>6</sub> (M = 361.474);

**Elementaranalyse:** berechnet für C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>6</sub> · 0.1 CH<sub>3</sub>OH (M = 364.67 g·mol<sup>-1</sup>): C 59.51, H 9.77, N 3.86; gefunden: C 59.43, H 9.82, N 4.91.

### Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (17)<sup>[189,242]</sup>

Nach **AAV 3** wurde Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\alpha$ -D-mannopyranosid **63** (3.94 g, 8.55 mmol) in abs. Methanol (20 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 2.29 g (7.84 mol, 292.37 g·mol<sup>-1</sup>, 92 %);

**DC:** (Ethylacetat : MeOH, 6:1); R<sub>f</sub> = 0.50;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +65.3$  (*c* = 1.0, MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3345, 2913, 2850, 1467, 1416, 1355, 1140, 1084, 1063, 1009, 885, 812$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>):  $\delta = 4.73$  (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 1.7$  Hz, H-1), 3.82 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.4$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.7$  Hz, H-6a), 3.78 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 1.7$  Hz,  $^3J_{2,3} = 3.4$  Hz, H-2), 3.73 (dt, 1 H,  $^3J_{CH,CH_2} = 6.5$  Hz,  $^2J_{CH,CH} = 9.6$  Hz, Man-OCHH), 3.68 (dd, 1 H,  $^3J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $^3J_{3,4} = 9.4$  Hz, H-3), 3.70 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 5.8$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.7$  Hz, H-6b), 3.61 (dd~t, 1 H,  $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.5$  Hz, H-4), 3.51 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.4$  Hz,  $^3J_{5,6b} = 5.8$  Hz,  $^3J_{4,5} = 9.5$  Hz, H-5), 3.41 (dt, 1 H,  $^3J_{CH,CH_2} = 6.5$  Hz,  $^2J_{CH,CH} = 9.6$  Hz, Man-OCHH), 1.70-1.48 (m, 2 H, Man-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.47-1.08 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.90 (dd~t, 3 H,  $^3J = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

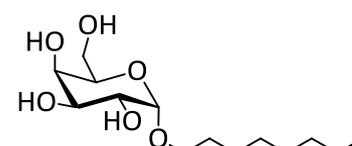
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>):  $\delta = 101.6$  (C-1), 74.6 (C-5), 72.7 (C-3), 72.3 (C-2), 68.7 (C-4), 68.6 (Man-OCH<sub>2</sub>), 62.5 (C-6), 33.0 (CH<sub>2</sub>), 30.6 (Man-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 30.5, 30.4, 27.4, 23.7 (4 CH<sub>2</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 315.1726$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 315.1778$ ) für Summenformel C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> (M = 292.1886);

**Elementaranalyse:** berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> · 0.1 CH<sub>3</sub>OH (M = 295.57 g·mol<sup>-1</sup>): C 57.29, H 9.69; gefunden: C 57.36, H 9.88.

### Octyl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (18)

Nach **AAV 3** wurde Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**55**) (923 mg, 2.00 mmol) in abs. Methanol (10 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 573 mg (1.96 mmol, 292.37 g·mol<sup>-1</sup>, 98 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1); R<sub>f</sub> = 0.55;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -135.9$  ( $c = 1.1$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3373, 2920, 2854, 1407, 1150, 1063, 1047, 971, 882, 827, 762, 723, 668 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ):  $\delta = 4.79$  (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 3.4$  Hz, H-1), 3.89 (dd, 1 H,  $^3J_{4,5} = 0.9$  Hz,  $^3J_{3,4} = 9.1$  Hz, H-4), 3.80 (td, 1 H,  $^3J_{4,5} = 0.9$  Hz,  $^3J_{5,6} = 9.1$  Hz, H-5), 3.76 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 3.4$  Hz,  $^3J_{2,3} = 10.1$  Hz, H-2), 3.74 ( $m_c$ , 1 H, H-3), 3.73 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2} = 6.6$  Hz,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}} = 9.8$  Hz, Gal-OCHH), 3.69 ( $m_c$ , 2 H, H-6a, H-6b), 3.44 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2} = 6.6$  Hz,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}} = 9.8$  Hz, Gal-OCHH), 1.63 ( $m_c$ , 2 H, Gal-OCH $_2$ CH $_2$ ), 1.45-1.23 (m, 10 H, 5 CH $_2$ ), 0.89 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH $_3$ ) ppm;

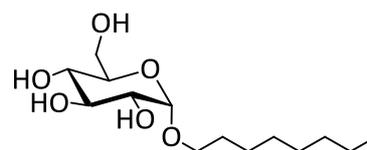
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ):  $\delta = 100.3$  (C-1), 72.3 (C-5), 71.6 (C-3), 71.1 (C-4), 70.3 (C-2), 69.2 (Gal-OCH $_2$ ), 62.7 (C-6), 33.0 (CH $_2$ ), 30.6 (Gal-OCH $_2$ CH $_2$ ), 30.6, 30.4, 27.3, 23.7 (CH $_2$ ), 14.1 (CH $_3$ ) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 315.182$  [M+Na] $^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 315.178$ ) für Summenformel C $_{14}$ H $_{28}$ O $_6$  (M = 292.189);

**Elementaranalyse:** berechnet für C $_{14}$ H $_{28}$ O $_6 \cdot 0.1$  H $_2$ O  $\cdot 0.1$  CH $_3$ OH (M = 297.34 g $\cdot$ mol $^{-1}$ ): C 56.95, H 9.69; gefunden: C 56.93, H 9.68.

### Octyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (19)<sup>[189]</sup>

Nach **AAV 3** wurde Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**54**) (580 mg, 1.26 mmol) in abs. Methanol (8 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 336 mg (1.15 mmol, 292.37 g $\cdot$ mol $^{-1}$ , 92 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1);  $R_f = 0.56$ ;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +117.4$  ( $c = 0.98$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3365, 2923, 1409, 1146, 1088, 1027, 1004, 915, 852, 767, 726, 524 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ):  $\delta = 4.79$  (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 3.8$  Hz, H-1), 5.05 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.4$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.8$  Hz, H-6a), 3.76 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2} = 6.7$  Hz,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}} = 9.7$  Hz, Glc-OCHH), 3.70 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 5.5$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.8$  Hz, H-6b), 3.66 (dd~t, 1 H,  $^3J_{2,3}$   $^3J_{3,4} = 9.3$  Hz, H-3), 3.60 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.4$  Hz,  $^3J_{5,6b} = 5.5$  Hz,  $^3J_{4,5} = 9.9$  Hz, H-5), 3.47 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2} = 6.7$  Hz,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}} = 9.7$  Hz, Glc-OCHH), 3.41 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 3.8$  Hz,  $^3J_{2,3} = 9.3$  Hz, H-2), 3.32 (dd, 1 H,  $^3J_{3,4} =$

9.3 Hz,  $^3J_{4,5} = 9.9$  Hz, H-4), 1.67 (m<sub>c</sub>, 2 H, Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.49-1.26 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.93 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

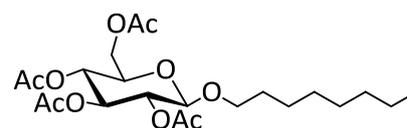
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): δ = 100.1 (C-1), 75.1 (C-3), 73.6 (C-5), 73.6 (C-2), 71.8 (C-4), 69.1 (Glc-OCH<sub>2</sub>), 62.7 (C-6), 33.0 (CH<sub>2</sub>), 30.6 (Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 30.6, 30.4, 27.3, 23.7 (4 CH<sub>2</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 315.178$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 315.178$ ) für Summenformel C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> (M = 292.189);

**Elementaranalyse:** berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> · 0.4 H<sub>2</sub>O (M = 304.18 g·mol<sup>-1</sup>): C 56.13, H 9.69; gefunden: C 56.14, H 9.45.

### Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D-glucopyranosid (31)

Nach **AAV 4** wurden 1-Octanol (1.32 mL, 10.1 mmol, 2.1 eq.), Glucosyltrichloracetimidat **29** (2.39 g, 4.85 mmol) und BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (800 μL, 810 μmol, 1.7 eq) umgesetzt. Nach



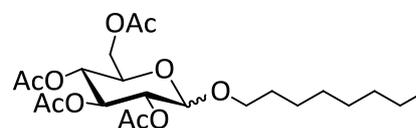
Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1) wurde das Produkt als farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute:** 1.06 g (2.30 mmol, 460.52 g·mol<sup>-1</sup>, 47 %);

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Verbindung überein, die nach Fischer-Glycosylierung, anschließender O-Acetylierung und Anomerentrennung erhalten wurde.

### Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-α- und -β-D-glucopyranosid (31, 54)<sup>[243]</sup>

Nach **AAV 2** wurde Octyl-α,β-D-glucopyranosid **52** (2.31 g, 7.90 mmol) in Pyridin (23 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (7.47 mL, 79.0 mmol, 10 eq.)



umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 4:1) zur Anomerentrennung wurden sowohl das α- als auch das β-Anomer als Reinsubstanzen in Form farbloser Öle erhalten.

#### α-Anomer (54)

**Ausbeute:** 1.91 g (4.15 mmol, 460.52 g·mol<sup>-1</sup>, 53 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 4:1); R<sub>f(α)</sub> = 0.21;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = + 35.1$  ( $c = 0.9$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 5.48$  (dd~t, 1 H,  $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.8$  Hz, H-3), 5.06 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 3.8$  Hz, H-1), 5.05 (dd~t, 1 H,  $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.8$  Hz, H-4), 4.85 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 3.8$  Hz,  $^3J_{2,3} = 9.8$  Hz, H-2), 4.26 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 4.6$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, H-6a), 4.02 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.3$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, H-6b), 4.02 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.3$  Hz,  $^3J_{5,6a} = 4.6$  Hz,  $^3J_{4,5} = 9.8$  Hz, H-5), 3.67 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH,CH}_2} = 6.6$  Hz,  $^2J_{\text{CH,CH}} = 9.8$  Hz, Glc-OCHH), 3.42 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH,CH}_2} = 6.6$  Hz,  $^2J_{\text{CH,CH}} = 9.8$  Hz, Glc-OCHH), 2.09, 2.06, 2.03, 2.01 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 1.64-1.55 (m, 2 H, Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.39-1.20 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.89 (dd~t, 3 H,  $^3J = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 170.7$ , 170.2, 170.1, 169.9 (4 COCH<sub>3</sub>), 95.6 (C-1), 70.9 (C-2), 70.3 (C-3), 68.8 (Glc-OCH<sub>2</sub>), 68.7 (C-4), 67.1 (C-5), 62.0 (C-6), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.2, 26.9, 26.0, 22.6 (4 CH<sub>2</sub>), 20.7, 20.7, 20.6, 20.6 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 483.226$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 483.220$ ) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>10</sub> (M = 460.231).

### **β-Anomer (31)**

**Ausbeute:** 490 mg (1.06 mmol, 460.52 g·mol<sup>-1</sup>, 13 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 4:1); R<sub>f</sub> = 0.14;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = - 15.1$  ( $c = 0.8$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 5.20$  (dd~t, 1 H,  $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.7$  Hz, H-3), 5.09 (dd~t, 1 H,  $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.7$  Hz, H-4), 4.98 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $^3J_{2,3} = 9.7$  Hz, H-2), 4.49 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 8.0$  Hz, H-1), 4.26 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 4.8$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, H-6a), 4.14 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.5$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, H-6b), 3.87 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH,CH}_2} = 6.6$  Hz,  $^2J_{\text{CH,CH}} = 9.6$  Hz, Glc-OCHH), 3.69 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 2.5$  Hz,  $^3J_{5,6a} = 4.8$  Hz,  $^3J_{4,5} = 9.7$  Hz, H-5), 3.47 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH,CH}_2} = 6.6$  Hz,  $^2J_{\text{CH,CH}} = 9.6$  Hz, Glc-OCHH), 2.08, 2.04, 2.02, 2.00 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 1.69-1.49 (m, 2 H, Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.38-1.17 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.88 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

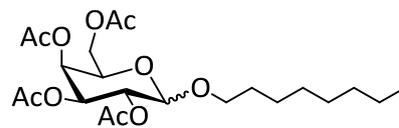
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 170.7$ , 170.3, 169.4, 169.3 (4 COCH<sub>3</sub>), 100.8 (C-1), 72.9 (C-3), 71.8 (C-5), 71.4 (C-2), 70.2 (Glc-OCH<sub>2</sub>), 68.5 (C-4), 62.0 (C-6), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.3, 29.2, 25.8, 22.6 (4 CH<sub>2</sub>), 20.7, 20.6, 20.6, 20.6 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 483.2346$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 483.2201$ ) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>10</sub> (M = 460.2308).

---

## Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\alpha$ - und - $\beta$ -D-galactopyranosid (32, 55)<sup>[244]</sup>

Nach **AAV 2** wurde Octyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranosid **53** (1.76 g, 6.02 mmol) in Pyridin (20 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (5.69 mL, 60.2 mmol, 10 eq.) umgesetzt.



Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 4:1) zur Anomerentrennung wurden sowohl das  $\alpha$ - als auch das  $\beta$ -Anomer als Reinsubstanzen in Form farbloser Öle erhalten.

### $\alpha$ -Anomer (55)

**Ausbeute:** 1.61 g (3.49 mmol, 460.52 g·mol<sup>-1</sup>, 58 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 4:1); R<sub>f</sub> = 0.20 ;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +126.4$  ( $c = 1.0$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2928, 2857, 1744, 1370, 1041, 599$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 5.48$  (dd, 1 H,  $^3J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $^3J_{4,5} = 1.2$  Hz, H-4), 5.36 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-3), 5.15-5.06 (m, 2 H, H-1, H-2), 4.22 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-5), 4.11 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 6.1$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.2$  Hz, H-6a), 4.08 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 7.0$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.2$  Hz, H-6b), 3.68 (dt, 1 H,  $^3J_{CH,CH2} = 6.6$  Hz,  $^2J_{CH,CH} = 9.8$  Hz, Gal-OCH<sub>2</sub>H), 3.42 (dt, 1 H,  $^3J_{CH,CH2} = 6.6$  Hz,  $^2J_{CH,CH} = 9.8$  Hz, Gal-OCH<sub>2</sub>H), 2.14, 2.07, 2.04, 1.99 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 1.63-1.54 (m, 2 H, Gal-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.38-1.22 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.89 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 170.4, 170.4, 170.3, 170.0$  (4 COCH<sub>3</sub>), 96.1 (C-1), 68.7 (Gal-OCH<sub>2</sub>), 68.3 (C-2), 68.2 (C-4), 67.7 (C-3), 66.2 (C-5), 61.8 (C-6), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (Gal-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.3, 26.1, 22.6, 21.0 (4 CH<sub>2</sub>), 20.7, 20.6, 20.6, 20.6 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 483.37$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 483.22$ ) und  $m/z = 499.33$  [M+K]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 499.19$ ) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>10</sub> (M = 460.231);

**ESI-MS:**  $m/z = 483.226$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 483.220$ ) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>10</sub> (M = 460.231).

**$\beta$ -Anomer (32)**

**Ausbeute:** 340 mg (738  $\mu$ mol, 460.52  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 12 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 4:1);  $R_f = 0.14$ ;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -12.3$  ( $c = 1.2$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3326, 2927, 2855, 1379, 1145, 1070, 1053, 1015, 982, 919 \text{ cm}^{-1}$ ;

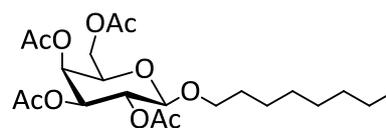
**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 5.38$  (dd, 1 H,  $^3J_{4,5} = 1.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$ , H-4), 5.20 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 8.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{2,3} = 10.5 \text{ Hz}$ , H-2), 5.02 (dd, 1 H,  $^3J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{2,3} = 10.5 \text{ Hz}$ , H-3), 4.46 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 8.0 \text{ Hz}$ , H-1), 4.19 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 6.4 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 11.2 \text{ Hz}$ , H-6a), 4.13 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 7.0 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{6a,6b} = 11.2 \text{ Hz}$ , H-6b), 3.93-3.85 (m, 1 H, Gal-OCHH), 3.90 (ddd~td, 1 H,  $^3J_{4,5} = 1.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{5,6a} = 6.4 \text{ Hz}$ , H-5), 3.47 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 6.9 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}} = 9.6 \text{ Hz}$ , Gal-OCHH), 2.15, 2.05, 2.04, 1.98 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 1.70-1.50 (m, 2 H, Gal-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.41-1.19 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.88 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0 \text{ Hz}$ , CH<sub>3</sub>) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 170.4, 170.3, 170.2, 169.4$  (4 COCH<sub>3</sub>), 101.4 (C-1), 71.0 (C-3), 70.6 (C-5), 70.3 (Gal-OCH<sub>2</sub>), 69.0 (C-2), 67.1 (C-4), 61.3 (C-6), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (Gal-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.3, 29.2, 25.8, 22.6 (4 CH<sub>2</sub>), 20.7, 20.7, 20.7, 20.6 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 483.2188$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 483.2201$ ) für Summenformel  $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$  ( $M = 460.2308$ ).

**Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\beta$ -D-galactopyranosid (32)**

Nach **AAV4** wurden 1-Octanol (1.67 mL, 12.8 mmol, 2.1 eq.), Galactosyltrichloracetimidat **30** (3.04 g, 6.17 mmol) und  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  (1.00 mL, 10.3 mmol, 1.7 eq) umgesetzt. Nach



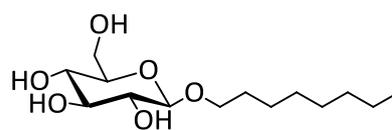
Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1) wurde das Produkt als farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute:** 1.58 g (3.43 mmol, 460.52  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 55 %);

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Verbindung überein, die nach Fischer-Glycosylierung, anschließender O-Acetylierung und Anomerentrennung erhalten wurde.

### Octyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**33**)<sup>[245]</sup>

Nach **AAV 3** wurde Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**31**) (1.06 mg, 2.30 mmol) in abs. Methanol (15 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 611 mg (2.09 mmol, 292.37 g·mol<sup>-1</sup>, 91 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1); R<sub>f</sub> = 0.40;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -23.4$  (c = 1.0, MeOH);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>):  $\delta = 4.25$  (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz, H-1), 3.90 (dt, 1 H,  $^3J_{CH,CH_2} = 6.9$  Hz,  $^2J_{CH,CH} = 9.5$  Hz, Glc-OCHH), 3.86 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.0$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.9$  Hz, H-6a), 3.67 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 5.4$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.9$  Hz, H-6b), 3.53 (dt, 1 H,  $^3J_{CH,CH_2} = 6.9$  Hz,  $^2J_{CH,CH} = 9.5$  Hz, Glc-OCHH), 3.35 (dd~t, 1 H,  $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.0$  Hz, H-3), 3.30-3.22 (m, 2 H, H-4, H-5), 3.17 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz,  $^3J_{2,3} = 9.0$  Hz, H-2), 1.62 (m<sub>c</sub>, 2 H, Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.44-1.23 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.90 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

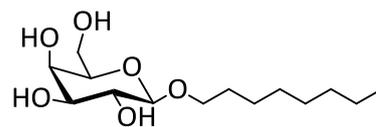
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>):  $\delta = 104.4$  (C-1), 78.2 (C-3), 77.9 (C-5), 75.2 (C-2), 71.7 (C-4), 70.9 (Glc-OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C-6), 33.0 (CH<sub>2</sub>), 30.8 (Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 30.6, 30.5, 27.5, 23.8 (4 CH<sub>2</sub>), 14.5 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 315.179$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 315.178$ ) für Summenformel C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> (M = 292.189);

**Elementaranalyse:** berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> · 0.3 H<sub>2</sub>O (M = 297.77 g·mol<sup>-1</sup>): C 56.47, H 9.68; gefunden: C 56.35, H 9.46.

### Octyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (**34**)<sup>[189,246]</sup>

Nach **AAV 3** wurde Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**32**) (1.58 g, 3.43 mmol) in abs. Methanol (20 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 871 mg (2.98 mmol, 292.37 g·mol<sup>-1</sup>, 87 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1); R<sub>f</sub> = 0.58;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -16.8$  (c = 1.1, MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 3310, 2924, 2854, 1376, 1146, 1063, 981, 919, 856, 658  $\text{cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, MeOH- $d_4$ ):  $\delta$  = 4.20 (d, 1 H,  $^3J_{1,2}$  = 7.5 Hz, H-1), 3.89 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2}$  = 6.9 Hz,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}}$  = 9.5 Hz, Gal-OCHH), 3.83 (dd, 1 H,  $^3J_{4,5}$  = 0.9 Hz,  $^3J_{3,4}$  = 3.3 Hz, H-4), 3.75 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a}$  = 6.6 Hz,  $^2J_{6a,6b}$  = 11.3 Hz, H-6a), 3.73 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b}$  = 5.6 Hz,  $^2J_{6a,6b}$  = 11.3 Hz, H-6b), 3.54 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2}$  = 6.9 Hz,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}}$  = 9.5 Hz, Gal-OCHH), 3.51-3.47 (m, 2 H, H-2, H-5), 3.45 (dd, 1 H,  $^3J_{3,4}$  = 3.3 Hz,  $^3J_{2,3}$  = 9.7 Hz, H-3), 1.62 ( $m_c$ , 2 H, Gal-OCH $_2$ CH $_2$ ), 1.44-1.21 (m, 10 H, 5 CH $_2$ ), 0.90 (dd~t, 3 H,  $^3J$  = 7.0 Hz, CH $_3$ ) ppm;

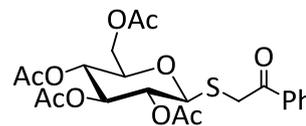
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz, MeOH- $d_4$ ):  $\delta$  = 105.0 (C-1), 76.6 (C-5), 75.1 (C-3), 72.6 (C-2), 70.9 (Glc-OCH $_2$ ), 70.3 (C-4), 62.5 (C-6), 33.1 (CH $_2$ ), 30.9 (Gal-OCH $_2$ CH $_2$ ), 30.6, 30.5, 27.2, 23.8 (4 CH $_2$ ), 14.5 (CH $_3$ ) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z$  = 315.179 [M+Na] $^+$ -Ion (ber.:  $m/z$  = 315.178) für Summenformel C $_{14}$ H $_{28}$ O $_6$  (M = 292.189);

**Elementaranalyse:** berechnet für C $_{14}$ H $_{28}$ O $_6$  · 0.3 H $_2$ O · 0.2 CH $_3$ OH (M = 304.18  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ): C 56.95, H 9.69; gefunden: C 56.93, H 9.68.

### 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosylacetophenon (37)<sup>[153]</sup>

Analog der Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup> wurden peracetylierte  $\beta$ -D-Glucopyranose **25** (5.00 g, 12.8 mmol), Thioharnstoff (1.07 g, 14.1 mmol, 1.1 eq.) und 4 Å Molsieb (200 mg) unter



Schlenkbedingungen in abs. Acetonitril (25 mL) vorgelegt. Bei 90 °C wurde BF $_3$ ·Et $_2$ O (3.31 mL, 26.9 mmol, 2.1 eq) innerhalb einer Stunde hinzugegeben und der Ansatz bei 90 °C weitere 40 min gerührt. Nach dem Abkühlen wurde Triethylamin (5.52 mL, 39.6 mmol, 3.1 eq) und 2-Bromacetophenon (5.10 g, 25.7 mmol, 3.1 eq), gelöst in abs. Acetonitril (10 mL), dazu gegeben und die Reaktionsmischung 13 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Filtrieren und Einengen des Lösungsmittels bis zur Trockene wurde der Rückstand in Ethylacetat (100 mL) aufgenommen. Die org. Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung (zweimal je 100 mL) gewaschen und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach Reinigung durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1) wurde das erhaltene Produkt aus Methanol kristallisiert. Das Thioglucosid wurde als blassgelbe Nadeln erhalten.

**Ausbeute:** 3.11 g (6.45 mmol, 482.50 g·mol<sup>-1</sup>, 51 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1); R<sub>f</sub> = 0.30;

**Smp.:** 116 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -80.3$  (*c* = 0.9, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1739, 1665, 1371, 1255, 1220, 1100, 1052, 1038, 1012, 915, 732, 689, 598$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7.96$  (dd, 2 H, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.59 (t, 1 H, <sup>3</sup>*J* = 7.6 Hz, Ar-H), 7.48 (t, 2 H, <sup>3</sup>*J* = 7.6 Hz, Ar-H), 5.22 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 9.6 Hz, H-3), 5.08 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 9.6 Hz, H-4), 5.05 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 10.1 Hz, H-2), 4.61 (d, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 10.1, H-1), 4.21 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 4.9 Hz, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 12.4 Hz, H-6a), 4.09 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 2.3 Hz, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 12.4 Hz, H-6b), 4.08 (d, 1 H, <sup>2</sup>*J* = 14.7 Hz, SCHH), 4.03 (d, 1 H, <sup>2</sup>*J* = 14.7 Hz, SCHH), 3.70 (ddd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 2.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 4.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 9.6 Hz, H-5), 2.05, 2.02, 2.00, 1.93 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>) ppm;

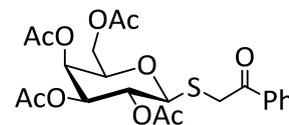
**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 194.3$  (CO), 170.6, 170.1, 169.5, 169.4 (4 C=O), 135.2 (C-Ar<sub>q</sub>), 133.6, 128.7, 128.7, 128.7, 128.7 (5 C-Ar), 82.3 (C-1), 76.0 (C-5), 73.7 (C-3), 69.7 (C-2), 68.2 (C-4), 61.9 (C-6), 35.4 (SCH<sub>2</sub>), 20.7, 20.6, 20.6, 20.5 (4 COCH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** *m/z* = 505.114 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 505.114) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>S (M = 482.125).

### 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosylacetophenon (38)<sup>[153]</sup>

Analog der literaturbekannten Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup>

wurden peracetylierte β-D-Galactopyranose **26** (5.00 g, 12.8 mmol), Thioharnstoff (1.07 g, 14.1 mmol, 1.1 eq.) und 4 Å Molsieb (200 mg)



unter Schlenkbedingungen in abs. Acetonitril (25 mL) vorgelegt. Bei 90 °C wurde BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (3.31 mL, 26.9 mmol, 2.1 eq) innerhalb einer Stunde hinzugegeben und der Ansatz bei 90 °C weitere 40 min gerührt. Nach dem Abkühlen wurde Triethylamin (5.52 mL, 39.6 mmol, 3.1 eq) und 2-Bromacetophenon (5.10 g, 25.7 mmol, 3.1 eq), gelöst in abs. Acetonitril (25 mL), dazu gegeben und die Reaktionsmischung 13 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Filtrieren und Einengen des Lösungsmittels bis zur Trockene wurde der Rückstand in Ethylacetat (100 mL) aufgenommen. Die org. Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung (zweimal je 100 mL) gewaschen und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach Reinigung durch

Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1) wurde das erhaltene Produkt als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 3.27 g (6.78 mmol, 482.50 g·mol<sup>-1</sup>, 53 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1); R<sub>f</sub> = 0.21;

**Smp.:** 86 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -50.3$  ( $c = 0.9$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2964, 1741, 1669, 1367, 1219, 1086, 1044, 1015, 922, 724, 690, 652, 597$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7.96$  (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, Ar-H), 7.59 (t, 1 H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.48 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, Ar-H), 5.42 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 0.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.3 Hz, H-4), 5.24 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.0 Hz, H-2), 5.04 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.0 Hz, H-3), 4.60 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 10.0 Hz, H-1), 4.11-4.04 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 4.09 (d, 1 H, <sup>2</sup>J = 14.6 Hz, SCHH), 4.01 (d, 1 H, <sup>2</sup>J = 14.6 Hz, SCHH), 3.93 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-5), 2.15, 2.02, 1.97, 1.93 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>) ppm;

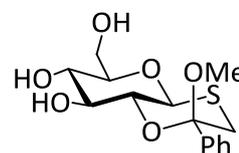
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 194.4$  (CO), 170.4, 170.2, 169.9, 169.7 (4 COCH<sub>3</sub>), 135.3 (C-Ar<sub>q</sub>), 133.6, 128.7, 128.7, 128.6, 128.6 (5 C-Ar), 82.9 (C-1), 74.6 (C-5), 71.7 (C-3), 67.2 (C-4), 67.1 (C-2), 61.2 (C-6), 35.7 (SCH<sub>2</sub>), 20.6, 20.6, 20.6, 20.5 (4 COCH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 505.31$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 505.11$ ) und  $m/z = 521.25$  [M+K]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 521.09$ ) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>S (M = 482.12);

**ESI-MS:**  $m/z = 505.113$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 505.114$ ) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>S (M = 482.125).

### 2-Methoxy-2-(S)-phenyl-(1,2-dideoxy-β-D-glucopyranoso)[1,2-e]-1,4-oxathian (39)<sup>[153]</sup>

Analog der Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup> wurde das Thioglucosid **37** (3.09 g, 6.41 mmol) in abs. Methanol (40 mL) gelöst und nach einer veränderten Version von **AAV 3** mit Natriummethanolat in Methanol (0.2 m, 5 mL, 0.9 mmol) versetzt. Der erhaltene Rückstand wurde in



Methanol (300 mL) gelöst und mit *p*-Toluolsulfonsäure (1.18 g, 6.22 mmol, 0.97 eq.) bei Raumtemp. über Nacht gerührt. Es wurde mit Triethylamin (5 mL) neutralisiert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Dichlormethan : Methanol, 9:1) wurde das Produkt als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 1.47 g (4.47 mmol, 328.38 g·mol<sup>-1</sup>, 70 %);

**DC:** (Dichlormethan : Methanol, 9:1); R<sub>f</sub> = 0.51;

**Smp.:** 76 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +125.9$  (*c* = 0.9, MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3501, 3301, 2876, 1669, 1451, 1393, 1281, 1207, 1114, 1049, 1024, 1001, 882, 750, 688$  cm<sup>-1</sup>;

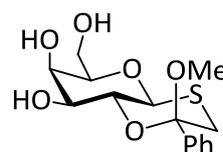
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>):  $\delta = 7.55$  (d, 2 H, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, Ar-H), 7.38 (t, 2 H, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, Ar-H), 7.33 (t, 1 H, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, Ar-H), 4.53 (d, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 9.0 Hz, H-1), 3.89 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 1.9 Hz, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 12.1 Hz, H-6a), 3.73 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 9.0 Hz, H-2), 3.69 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 5.3 Hz, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 12.1 Hz, H-6b), 3.62 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 9.0 Hz, H-3), 3.48 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 9.0 Hz, H-4), 3.43 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-5), 3.11 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>) 3.02 (d, 1 H, <sup>2</sup>*J* = 14.2 Hz, SCHH), 2.98 (d, 1 H, <sup>2</sup>*J* = 14.2 Hz, SCHH) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>):  $\delta = 141.7$  (C-Ar<sub>q</sub>), 129.4, 129.3, 129.3, 127.6, 127.6 (5 C-Ar), 98.4 (C-OMe), 83.2 (C-5), 77.0 (C-1), 76.6 (C-2), 76.5 (C-3), 71.9 (C-4), 62.8 (C-6), 50.0 (OCH<sub>3</sub>), 39.5 (SCH<sub>2</sub>) ppm;

**ESI-MS:** *m/z* = 328.101 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 351.087) für Summenformel C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>S (M = 328.098).

## 2-Methoxy-2-(S)-phenyl-(1,2-dideoxy-β-D-galactopyranoso)[1,2-e]-1,4-oxathian (40)<sup>[153]</sup>

Analog der Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup> wurde das Thiogalactosid **38** (3.19 g, 6.60 mmol) in abs. Methanol (40 mL) gelöst und nach einer veränderten Version von **AAV 3** mit Natriummethanolat in Methanol



(0.2 M, 5 mL, 0.9 mmol) versetzt. Der erhaltene Rückstand wurde in Methanol (310 mL) gelöst und mit *p*-Toluolsulfonsäure (1.21 g, 6.60 mmol, 0.97 eq.) bei Raumtemp. über Nacht gerührt. Es wurde mit Triethylamin (7 mL) neutralisiert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Dichlormethan : Methanol, 9:1) wurde das erhaltene Rohprodukt aus Dichlormethan gefällt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 1.48 g (4.51 mmol, 328.38 g·mol<sup>-1</sup>, 68 %);

**DC:** (Dichlormethan : Methanol, 9:1); R<sub>f</sub> = 0.51;

**Smp.:** 141 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +143.6$  ( $c = 1.1$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3453, 3293, 2931, 1116, 1073, 1033, 901, 883, 734, 695, 587 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.62\text{-}7.51$  (m, 2 H, 2 Ar-H), 7.42-7.22 (m, 3 H, 3 Ar-H), 4.51 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 9.1$  Hz, H-1), 4.14 (dd~t, 1 H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.1$  Hz, H-2), 3.99 (dd, 1 H,  $^3J_{4,5} = 0.8$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.4$  Hz, H-4), 3.82-3.66 (m, 4 H, H-6a, H-3, H-6b, H-5), 3.12 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.03 (d, 1 H,  $^2J = 14.2$  Hz, SCHH), 2.99 (d, 1 H,  $^2J = 14.2$  Hz, SCHH) ppm;

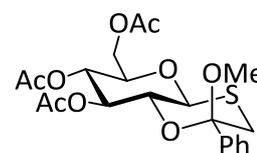
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 141.8$  (C-Ar<sub>q</sub>), 129.4, 129.3, 129.3, 127.6, 127.6 (5 C-Ar), 98.7 (C-OMe), 82.0 (C-5), 77.8 (C-1), 74.1 (C-2), 72.9 (C-3), 71.2 (C-4), 62.7 (C-6), 50.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 39.9 (SCH<sub>2</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 328.089$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 351.087$ ) für Summenformel  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{S}$  ( $M = 328.098$ ).

### 2-Methoxy-2-(S)-phenyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-dideoxy- $\beta$ -D-glucopyranoso)[1,2-e]-1,4-oxathian (41)<sup>[153]</sup>

Analog der literaturbekannten Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup> wurde

**39** (1.43 g, 4.36 mmol) in Pyridin (16 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (1.84 mL, 19.6 mmol, 4.5 eq.) versetzt. Der Ansatz



wurde über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Im Anschluss wurde mit ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (zweimal je 20 mL) gewaschen. Nach Phasentrennung wurde die wässr. Phase mit Dichlormethan (60 mL) extrahiert und die vereinigten org. Phasen wurden mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen. Die org. Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Cyclohexan : Ethylacetat, 3:1) wurde das Lösungsmittel auf ein Volumen von 10 mL eingengt. Das in der Kälte ausgefallene Produkt wurde abfiltriert als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 1.73 g (3.81 mmol,  $454.49 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 87 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 3:1);  $R_f = 0.40$ ;

**Smp.:** 155 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +89.7$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2965, 1737, 1368, 1253, 1217, 1060, 1026, 924, 734, 700, 604 \text{ cm}^{-1}$ ;

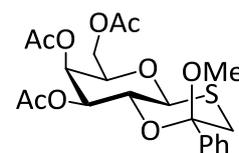
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.46 (m, 5 H, Ar-H), 5.35 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 9.6 Hz, H-3), 5.19 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.6 Hz, H-4), 4.55 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 9.6 Hz, H-1), 4.26 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.8 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.5 Hz, H-6a), 4.16 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 2.2 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.5 Hz, H-6b), 4.08 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.6 Hz, H-2), 3.82 (ddd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 2.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.6 Hz, H-5), 3.05 (s, 1 H, SCHH), 3.02 (s, 1 H, SCHH), 2.10, 2.07, 2.01 (je s, je 3 H, 3 COCH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 170.7, 170.1, 169.6 (3 C=O), 139.3 (C-Ar<sub>q</sub>), 128.6, 128.5, 128.5, 126.1, 126.1 (5 C-Ar), 97.0 (C-OMe), 77.0 (C-5), 75.8 (C-1), 72.8 (C-3), 72.6 (C-2), 68.5 (C-4), 62.0 (C-6), 49.5 (OCH<sub>3</sub>), 38.8 (SCH<sub>2</sub>), 20.7, 20.6, 20.6 (3 COCH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** *m/z* = 477.111 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 477.119) für Summenformel C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>9</sub>S (M = 454.130).

## 2-Methoxy-2-(S)-phenyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-dideoxy-β-D-galactopyranoso)[1,2-e]-1,4-oxathian (42)<sup>[153]</sup>

Analog der Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup> wurde **40** (1.48 g, 4.51 mmol) in Pyridin (17 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (1.90 mL, 20.2 mmol, 4.5 eq.) versetzt. Der Ansatz wurde 20 h bei



Raumtemp. gerührt. Im Anschluss wurde mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (zweimal je 20 mL) gewaschen. Nach Phasentrennung wurde die wässr. Phase mit Dichlormethan (60 mL) extrahiert und die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Cyclohexan : Ethylacetat, 3:1) wurde das Lösungsmittel auf ein Volumen von 10 mL eingengt. Das in der Kälte ausgefallene Produkt wurde abfiltriert als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 1.20 g (2.64 mmol, 454.49 g·mol<sup>-1</sup>, 58 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 3:1); R<sub>f</sub> = 0.38;

**Smp.:** 139 °C;

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 155.6 (c = 0.9, CHCl<sub>3</sub>);

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1743, 1369, 1216, 1087, 1038, 1007, 951, 922, 731, 702, 662, 506 cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.48-7.31 (m, 5 H, Ar-H), 5.50 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 1.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.6 Hz, H-4), 5.23 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.3 Hz, H-3), 4.58 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 9.2 Hz, H-1), 4.33 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.3 Hz, H-2), 4.19-4.11 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 4.04 (td, 1 H,

$^3J_{4,5} = 1.2$  Hz,  $^3J_{5,6a/b} = 9.7$  Hz, H-5), 3.07 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.05 (s, 1 H, SCHH), 3.04 (s, 1 H, SCHH), 2.18, 2.06, 1.99 (je s, je 3 H, 3 COCH<sub>3</sub>) ppm;

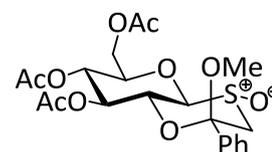
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 170.4, 170.2, 170.1$  (3 COCH<sub>3</sub>), 139.6 (C-Ar<sub>q</sub>), 128.6, 128.5, 128.5, 126.2, 126.2 (5 C-Ar), 97.4 (C-OMe), 76.7 (C-1), 75.2 (C-5), 70.5 (C-3), 69.9 (C-2), 68.0 (C-4), 61.7 (C-6), 49.6 (OCH<sub>3</sub>), 39.1 (SCH<sub>2</sub>), 20.7, 20.7, 20.6 (3 COCH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 477.40$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 477.12$ ) und  $m/z = 493.36$  [M+K]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 493.09$ ) für Summenformel C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>9</sub>S (M = 454.13).

### 2-Methoxy-2-(S)-phenyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-dideoxy- $\beta$ -D-glucopyranoso)[1,2-e]-1,4-oxathian-(R)-S-oxid (43)<sup>[153]</sup>

Analog der literaturbekannten Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup>

wurde zu einer Lösung von **41** (1.23 g, 2.70 mmol) in abs. Dichlormethan (20 mL) *m*-CPBA (743 mg, 3.23 mmol, 1.2 eq.), gelöst



in abs. Dichlormethan (15 mL), bei -78 °C innerhalb von 15 min hinzu getropft. Nach 20 min Rühren bei -78 °C wurde das Kältebad entfernt, auf Raumtemp. aufgetaut und mit wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (20 mL) gequentscht. Es wurde mit Dichlormethan (20 mL) verdünnt und die Phasen wurden getrennt. Die org. Phase wurde mit wässr. NaCl-Lösung (zweimal je 20 mL) gewaschen und die wässr. Phase mit Dichlormethan (20 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

**Ausbeute:** 983 mg (2.09 mmol, 470.49 g·mol<sup>-1</sup>, 78 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1); R<sub>f</sub> = 0.33;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +93.7$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>);

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1744, 1375, 1239, 1216, 1126, 1024, 918, 698, 603, 545$  cm<sup>-1</sup>;

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7.46$ -7.36 (m, 5 H, Ar-H), 5.52 (dd~t, 1 H,  $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.6$  Hz, H-3), 5.22 (dd~t, 1 H,  $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.6$  Hz, H-4), 4.39 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 4.3$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.7$  Hz, H-6b), 4.37 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 10.2$  Hz, H-1), 4.22 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.1$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.7$  Hz, H-6a), 3.92-3.84 (m, 3 H, H-2, H-5, SCHH), 2.95 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 2.88 (d, 1 H,  $^2J_{\text{SCHax-eq}} = 12.8$  Hz, SCHH), 2.11, 2.07, 2.01 (je s, je 3 H, 3 COCH<sub>3</sub>) ppm;

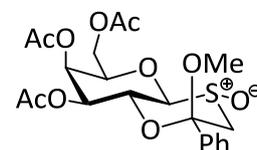
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 170.6, 169.8, 169.5 (3 C=O), 136.7 (C-Ar<sub>q</sub>), 129.3, 128.9, 128.9, 125.8, 125.8 (5 C-Ar), 101.7 (C-OMe), 95.2 (C-1), 77.1 (C-5), 72.7 (C-4), 68.0 (C-2), 67.6 (C-3), 61.5 (C-6), 60.9 (SCH<sub>2</sub>), 49.3 (OCH<sub>3</sub>), 20.7, 20.6, 20.5 (3 COCH<sub>3</sub>) ppm;

ESI-MS: *m/z* = 493.116 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 493.114) und *m/z* = 509.106 [M+K]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 509.088) für Summenformel C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>S (M = 470.125).

Die NMR-spektroskopische Auswertung wurde in Analogie zur Literatur<sup>[153]</sup> durchgeführt.

### 2-Methoxy-2-(S)-phenyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-dideoxy-β-D-galactopyranoso)[1,2-e]-1,4-oxathian-(R)-S-oxid (44)<sup>[153]</sup>

Analog der literaturbekannten Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup> wurde zu einer Lösung von **42** (1.18 g, 2.60 mmol) in abs. Dichlormethan (15 mL) *m*-CPBA (717 mg, 3.12 mmol, 1.2 eq.), gelöst in abs. Dichlormethan (12 mL), bei -78 °C innerhalb von 15 min hinzu getropft.



Nach 20 min Rühren bei -78 °C wurde das Kältebad entfernt, auf Raumtemp. aufgetaut und mit wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (20 mL) gequenscht. Es wurde mit Dichlormethan (20 mL) verdünnt und die Phasen wurden getrennt. Die org. Phase wurde mit wässr. NaCl-Lösung (zweimal je 20 mL) gewaschen und die wässr. Phase mit Dichlormethan (20 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

**Ausbeute:** 969 mg (2.06 mmol, 470.49 g·mol<sup>-1</sup>, 79 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 1:1); R<sub>f</sub> = 0.33;

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 91.0 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>);

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1740, 1364, 1252, 1218, 1061, 1028, 933, 697, 597 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.49-7.35 (m, 5 H, Ar-H), 5.53 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 1.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.6 Hz, H-4), 5.42 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, H-3), 4.38 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 9.8 Hz, H-1), 4.23 (m<sub>c</sub>, 2 H, H-6a, H-6b), 4.13 (td, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 1.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6a/b</sub> = 6.5 Hz, H-5), 4.08 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, H-2), 3.87 (d, 1 H, <sup>2</sup>J<sub>SCHax-eq</sub> = 12.8 Hz, SCHH), 2.97 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 2.88 (d, 1 H, <sup>2</sup>J<sub>SCHax-eq</sub> = 12.8 Hz, SCHH), 2.19, 2.06, 2.00 (je s, je 3 H, 3 COCH<sub>3</sub>) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 170.4, 170.0, 169.7 (3  $\text{C=OCH}_3$ ), 137.1 (C-Ar<sub>q</sub>), 129.3, 128.9, 128.9, 125.8, 125.8 (5 C-Ar), 101.6 (C-OMe), 95.7 (C-1), 75.7 (C-5), 70.4 (C-3), 67.3 (C-4), 65.0 (C-2), 61.4 ( $\text{SCH}_2$ ), 61.1 (C-6), 49.4 ( $\text{OCH}_3$ ), 20.7, 20.6, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z$  = 493.30  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.:  $m/z$  = 493.11) und  $m/z$  = 509.30  $[\text{M}+\text{K}]^+$ -Ion (ber.:  $m/z$  = 509.09) für Summenformel  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_{10}\text{S}$  (M = 470.16);

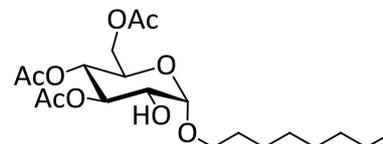
**ESI-MS:**  $m/z$  = 493.113  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.:  $m/z$  = 493.114) für Summenformel  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_{10}\text{S}$  (M = 470.125).

Die NMR-spektroskopische Auswertung wurde in Analogie zur Literatur<sup>[153]</sup> durchgeführt.

### Octyl-(3,4,6-tri-O-acetyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosid (45)

Nach einer variierten Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup>

wurden unter Schlenkbedingungen 2,6-Bis-(*tert*-butyl)-4-methylpyridin (248 mg, 121 mmol, 7.2 eq.), 1,3,5-



Trimethoxybenzol (39 mg, 0.23 mmol, 1.1 eq.), **43** (100 mg, 213  $\mu\text{mol}$ ) und 4 Å Molsieb in abs. Dichlorethan (1.5 mL) vorgelegt. Bei  $-30\text{ }^\circ\text{C}$  wurde zu dieser Lösung Trifluormethansulfonsäureanhydrid (41  $\mu\text{L}$ , 0.24 mmol, 1.1 eq.) gegeben. Innerhalb von 10 min wurde auf  $-10\text{ }^\circ\text{C}$  erwärmt und 1-Octanol (72 mg, 0.55 mmol, 2.6 eq.), hinzu gegeben. Der Ansatz wird auf Raumtemp. erwärmt und bei  $50\text{ }^\circ\text{C}$  22 h erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemp. wurde mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die org. Phase wurde mit 1 M HCl-Lösung (dreimal je 10 mL), wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (zweimal je 10 mL) und wässr. NaCl-Lösung (zweimal 10 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der ölige Rückstand wurde in abs. Dichlormethan (1 mL) gelöst mit einer katalytischen Menge  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  und Methanol (426  $\mu\text{mol}$ ) versetzt. Nach 30 min Rühren bei Raumtemp. wurde mit Dichlormethan (5 mL) verdünnt, der Ansatz mit wässr. NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und die flüchtigen Bestandteile i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute:** 23.6 mg (0.0564  $\mu\text{mol}$ ,  $418.48\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 27 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1);  $R_f$  = 0.31;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 2926, 2857, 1744, 1367, 1227, 1154, 1028  $\text{cm}^{-1}$ ;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 5.22 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 9.8 Hz, H-3), 5.00 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.8 Hz, H-4), 4.91 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.8 Hz, H-1), 4.26 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.3 Hz, H-6a), 4.07 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 2.3 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.3 Hz, H-6b), 3.96 (ddd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.8 Hz, H-5), 3.73 (dt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>CH,CH2</sub> = 6.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>CH,CH</sub> = 9.7 Hz, Glc-OCHH), 3.67 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, H-2), 3.50 (dt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>CH,CH2</sub> = 6.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>CH,CH</sub> = 9.7 Hz, Glc-OCHH), 2.09, 2.08, 2.03 (je s, je 3 H, 3 COCH<sub>3</sub>), 1.64 (m<sub>c</sub>, 2 H, Gal-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.42-1.20 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.89 (dd~t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

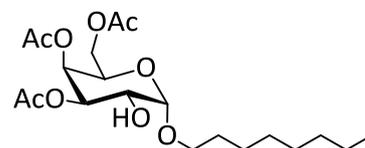
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 171.1, 170.6, 169.6 (3 C=OCH<sub>3</sub>), 98.2(C-1), 73.6 (C-3), 70.9 (C-2), 69.0 (Glc-OCH<sub>2</sub>), 68.1 (C-4), 67.6 (C-5), 62.0 (C-6), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (Glc-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.3, 29.2, 26.1, 22.6 (4 CH<sub>2</sub>), 20.9, 20.7, 20.6 (3 COCH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:** *m/z* = 441.20 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 441.21) für Summenformel C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>9</sub> (M = 418.22);

**ESI-MS:** *m/z* = 441.209 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 441.210) für Summenformel C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>9</sub> (M = 418.220).

### Octyl-(3,4,6-tri-O-acetyl)-α-D-galactopyranosid (46)

Nach einer variierten Vorschrift von TURNBULL et al.<sup>[153]</sup> wurden unter Schlenkbedingungen 2,6-Bis-(*tert*-butyl)-4-methylpyridin (248 mg, 121 mmol, 7.2 eq.), 1,3,5-Trimethoxybenzol



(39 mg, 0.23 mmol, 1.1 eq.), **44** (100 mg, 213 μmol) und 4 Å Molsieb in abs. Dichlorethan (1.5 mL) vorgelegt. Bei -30 °C wurde zu dieser Lösung Trifluormethansulfonsäureanhydrid (41 μL, 0.24 mmol, 1.1 eq.) gegeben. Innerhalb von 10 min wurde auf -10 °C erwärmt und 1-Octanol (72 mg, 0.55 mmol, 2.6 eq.), gelöst in abs. Dichlorethan (200 μL), hinzu gegeben. Der Ansatz wird auf Raumtemp. erwärmt und bei 50 °C 23 h erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemp. wurde mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die org. Phase wurde mit 1M HCl-Lösung (dreimal je 10 mL), wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (zweimal je 10 mL) und wässr. NaCl-Lösung (zweimal je 10 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der ölige Rückstand wurde in abs. Dichlormethan (1 mL) gelöst mit einer katalytischen Menge BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O und Methanol (426 μmol) versetzt. Nach 30 min Rühren bei Raumtemp. wurde mit Dichlormethan (5 mL) verdünnt, der Ansatz mit wässr. NaCl-Lösung (zweimal je 10 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und die

flüchtigen Bestandteile i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute:** 22.3 mg (0.0533  $\mu\text{mol}$ ,  $418.48 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 25 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1);  $R_f = 0.36$ ;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2926, 2856, 1745, 1371, 1224, 1074, 1035 \text{ cm}^{-1}$ ;

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 5.40$  (dd, 1 H,  $^3J_{4,5} = 0.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{3,4} = 3.4 \text{ Hz}$ , H-4), 5.11 (dd, 1 H,  $^3J_{3,4} = 3.4 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{2,3} = 10.4 \text{ Hz}$ , H-3), 4.97 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 4.0 \text{ Hz}$ , H-1), 4.17 ( $m_c$ , 1 H, H-5), 4.10-4.07 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 3.93 (dd, 1 H,  $^3J_{1,2} = 4.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{2,3} = 10.4 \text{ Hz}$ , H-2), 3.74 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2} = 6.7 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}} = 9.7 \text{ Hz}$ , Gal-OCHH), 3.50 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH},\text{CH}_2} = 6.7 \text{ Hz}$ ,  $^2J_{\text{CH},\text{CH}} = 9.7 \text{ Hz}$ , Gal-OCHH), 2.13, 2.05, 2.05 (je s, je 3 H, 3 COCH<sub>3</sub>), 1.63 ( $m_c$ , 2 H, Gal-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.40-1.22 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.89 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0 \text{ Hz}$ , CH<sub>3</sub>) ppm;

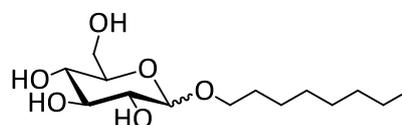
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 170.7, 170.4, 170.2$  (3 COCH<sub>3</sub>), 98.6 (C-1), 70.9 (C-3), 68.9 (Gal-OCH<sub>2</sub>), 68.3 (C-4), 67.1 (C-2), 66.7 (C-5), 61.9 (C-6), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (Gal-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.3, 29.2, 26.1, 22.6 (4 CH<sub>2</sub>), 20.8, 20.7, 20.6 (3 COCH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 441.37$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 441.21$ ) für Summenformel C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>9</sub> (M = 418.22);

**ESI-MS:**  $m/z = 441.208$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 441.210$ ) für Summenformel C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>9</sub> (M = 418.220).

### Octyl- $\alpha,\beta$ -D-glucoopyranosid (52)

Nach **AAV 1** wurde 1-Octanol (45.9 g, 353 mmol, 32 eq.) mit Acetylchlorid (2.00 mL, 27.7 mmol, 2.5 eq.) und D-Glucose (**50**) (2.00 g, 11.1 mmol) umgesetzt. Nach



säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Ethylacetat : Methanol, 10:1) wurde das Produkt als brauner Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 2.31 g (7.90 mmol,  $292.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 71 %);

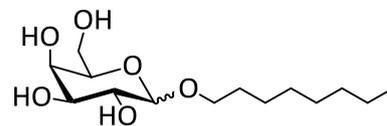
**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 10:1);  $R_{f(\alpha)} = 0.34$ ;  $R_{f(\beta)} = 0.28$ ;

Anomerenverhältnis laut  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\alpha:\beta = 3:1$ .

Die analytischen Daten des Anomerengemisches **52** wurden bereits an anderer Stelle detailliert beschrieben (s. **19** und **33**).

### Octyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranosid (**53**)

Nach **AAV 1** wurde 1-Octanol (45.9 g, 353 mmol, 32 eq.) mit Acetylchlorid (2.00 mL, 27.7 mmol, 2.5 eq.) und D-Galactose (**51**) (2.00 g, 11.1 mmol) umgesetzt. Nach



säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel, Ethylacetat : Methanol, 10:1) wurden das Produkt als brauner Feststoffe erhalten.

**Ausbeute:** 1.76 g (6.02 mmol, 292.37 g·mol<sup>-1</sup>, 54 %);

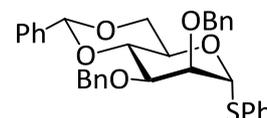
**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 10:1); R<sub>f(α)</sub> = 0.23; R<sub>f(β)</sub> = 0.14;

Anomerenverhältnis laut <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>) α:β = 3:1.

Die analytischen Daten des Anomerengemisches **53** wurden bereits an anderer Stelle detailliert beschrieben (s. **18** und **34**).

### Phenyl-(2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden)-1-desoxy-1-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**58**)<sup>[172]</sup>

In abs. DMF (12 mL) wurde Phenyl-(4,6-O-benzyliden)-1-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**66**) (278 mg, 770  $\mu$ mol) gelöst und mit Benzylchlorid (10 mL) versetzt. Nach Zugabe von Natriumhydrid (139 mg,



3.46 mmol, 4.5 eq.) wurde 2 h bei 120 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit Dichlormethan (50 mL) verdünnt. Die org. Phase wurde mit Wasser, 1M HCl-Lösung, ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und anschließend eingeeengt. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 10:1). Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 220 mg (407  $\mu$ mol, 540.67 g·mol<sup>-1</sup>, 53 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 10:1); R<sub>f</sub> = 0.50;

**Smp.:** 74 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +111.1$  ( $c = 0.9$ , CHCl<sub>3</sub>);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3033, 2865, 1454, 1102, 1087, 1041, 1022, 996, 966, 748, 695$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.53-7.49 (m, 2 H, Ar-H), 7.41-7.26 (m, 18 H, Ar-H), 5.65 (s, 1 H, Benzyliden-CH), 5.51 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.4 Hz, H-1), 4.82 (d, 1 H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 3-O-CH<sub>2</sub>HPh), 4.72 (s, 2 H, 2-O-CH<sub>2</sub>Ph), 4.65 (d, 1 H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 1 H, 3-O-CH<sub>2</sub>HPh), 4.31 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.2 Hz, H-4), 4.27 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-5), 4.22 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.6 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 10.0 Hz, H-6a), 4.04 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.4 Hz, <sup>2</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.2 Hz, H-2), 3.97 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 9.3 Hz, H-3), 3.89 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-6b) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 138.4, 137.8, 137.6, 133.8 (4 C-Ar<sub>q</sub>), 131.6, 129.1, 129.1, 128.9, 128.4, 128.4, 128.4, 128.4, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 127.9, 127.7, 127.7, 127.7, 127.6, 127.6, 126.1, 126.1 (20 C-Ar), 101.5 (Benzyliden-CH), 87.1 (C-1), 79.1 (C-4), 78.1 (C-2), 76.2 (C-3), 73.1, 73.1 (2 PhCH<sub>2</sub>), 68.5 (C-5), 65.5 (C-6) ppm;

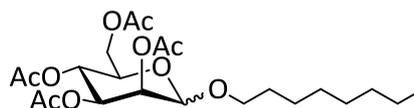
**MALDI-ToF-MS:** *m/z* = 563.27 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 563.19) und *m/z* = 579.25 [M+K]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 579.16) für Summenformel C<sub>33</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>S (M = 540.20);

**ESI-MS:** *m/z* = 563.184 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 563.186) für Summenformel C<sub>33</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>S (M = 540.197).

### Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-α- und -β-D-mannopyranosid (63, 71)<sup>[178]</sup>

Variante 1:

Nach **AAV 2** wurde Octyl-α,β-D-mannopyranosid (**70**) (6.21 g, 21.3 mmol) in Pyridin (65 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (20.1 mL, 213 mmol, 10 eq.)



umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 4:1) und einem zweiten Reinigungsschritt (Et<sub>2</sub>O : PE (30-60), 1:1) zur Anomerentrennung wurden sowohl das α- als auch das β-Anomer als Reinsubstanzen in Form farbloser Öle erhalten.

Anomerenverhältnis laut <sup>1</sup>H-NMR α:β = 95:5

#### α-Anomer (63)

**Ausbeute:** 8.98 g (19.5 mmol, 460.52 g·mol<sup>-1</sup>, 92 %);

**DC:** (Et<sub>2</sub>O : PE (30-60), 1:1); R<sub>f</sub> = 0.32;

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 44.9 (c = 1.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 2928, 2857, 1745, 1369, 1216, 1135, 1082, 1044, 977, 600 cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 5.14-5.04 (m, 3 H, H-2, H-3, H-4), 5.18 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.4 Hz, H-1), 4.17 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.2 Hz, H-6a), 4.05 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 2.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.2 Hz, H-6b), 3.95-97 (m, 1 H, H-5), 3.62 (dt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>CH,CH2</sub> = 6.6 Hz, <sup>2</sup>J<sub>CH,CH</sub> = 9.7 Hz, Man-OCH<sub>2</sub>H), 3.47 (dt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>CH,CH2</sub> = 6.6 Hz, <sup>2</sup>J<sub>CH,CH</sub> = 9.7 Hz, Man-OCH<sub>2</sub>H), 2.10, 2.02, 2.02, 1.94 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 1.63-1.49 (m, 2 H, Man-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.36-1.20 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.85 (dd~t, 3 H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 170.5, 170.1, 170.1, 170.0 (4 C=O), 97.0 (C-1), 69.3, 69.2 (C-2, C-3), 68.4 (C-5), 67.9 (Man-OCH<sub>2</sub>), 66.0 (C-4), 62.6 (C-6), 31.7 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (Man-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.1, 29.1, 26.0, 22.5 (4 CH<sub>2</sub>), 21.1, 20.9, 20.9, 20.9 (4 COCH<sub>3</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR-gated-decoupled** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 97.0 (J<sub>C-1,H-1</sub> = 173.4 Hz, C-1) ppm;

**ESI-MS:** *m/z* = 483.223 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 483.220) für Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>10</sub> (M = 460.231).

### β-Anomer (71)

**Ausbeute:** 406 mg (881 μmol, 460.52 g·mol<sup>-1</sup>, 4 %);

**DC:** (Et<sub>2</sub>O : PE (30-60), 1:1); R<sub>f</sub> = 0.23;

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -33.0 (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>);

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2956, 2928, 2857, 1747, 1731, 1372, 1228, 1212, 1177, 1072, 1044, 978, 592 cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 5.27 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.5 Hz, H-2), 5.18 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 10.0 Hz, H-3), 4.99 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 10.0 Hz, H-4), 4.93 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.0 Hz, H-1), 4.17 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.6 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.2 Hz, H-6a), 4.00 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 2.6 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.2 Hz, H-6b), 3.84 (ddd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 10.0 Hz, H-5), 3.67 (dt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>CH,CH2</sub> = 6.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>CH,CH</sub> = 9.8 Hz, Man-OCH<sub>2</sub>H), 3.47 (dt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>CH,CH2</sub> = 6.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>CH,CH</sub> = 9.8 Hz, Man-OCH<sub>2</sub>H), 2.09, 2.02, 2.01, 1.92 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 1.52-1.43 (m, 2 H, Man-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.30-1.20 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.85 (dd~t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 170.0, 169.8, 169.5, 169.4 (4 C=O), 97.6 (J<sub>C-1,H-1</sub> = 162.1 Hz, C-1), 71.0 (C-5), 70.4 (C-3), 68.9 (Man-OCH<sub>2</sub>), 68.7 (C-2), 65.9 (C-4), 62.5 (C-6), 31.2 (CH<sub>2</sub>), 28.8 (Man-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 28.6, 28.6, 25.3, 22.0 (4 CH<sub>2</sub>), 20.5, 20.5, 20.5, 20.3 (4 COCH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR-gated-decoupled** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 97.6 (J<sub>C-1,H-1</sub> = 162.1 Hz, C-1) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 483.2225$   $[M+Na]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 483.2201$ ) für Summenformel  $C_{22}H_{36}O_{10}$  ( $M = 460.2308$ ).

Variante 2 nach HINDSGAUL.<sup>[178]</sup>

Analog einer Literaturvorschrift von HINDSGAUL<sup>[178]</sup> wurde 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -D-mannopyranose (**61**) (720 mg, 2.07 mmol) und Silber(I)-oxid (2.40 g, 10.4 mmol, 5 eq.) über Nacht i. Vak. getrocknet. Das Gemisch wurde unter Schutzgasatmosphäre in abs. Toluol (10 mL) gelöst und gepulvertes 4 Å Molsieb (2.40 g) hinzu gegeben. Der Ansatz wurde 1 h bei 0 °C gerührt, Octylidid (2.49 g, 10.4 mmol, 5 eq.) hinzugegeben und 1 h bei 0 °C weitergerührt. Anschließend wurde der Ansatz 69 h bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan (50 mL) verdünnt und über Celite filtriert. Nach Waschen mit Dichlormethan (zehnmal je 25 mL) wurden die vereinigten org. Phasen über  $MgSO_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde an Kieselgel ( $Et_2O : PE$  (30-60), 1:1) gereinigt, wodurch sowohl das  $\alpha$ -Anomer als auch das  $\beta$ -Anomer als Reinsubstanzen in Form farbloser Öle getrennt erhalten wurden.

### $\alpha$ -Anomer (**63**)

**Ausbeute:** 254 mg ( 552  $\mu$ mol,  $460.52 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 27 %);

### $\beta$ -Anomer (**71**)

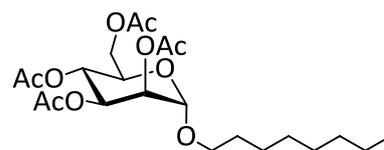
**Ausbeute:** 205 mg (445  $\mu$ mol,  $460.52 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 22 %).

Der Umsatz betrug nur 460 mg (1.32 mmol), weil 260 mg (747  $\mu$ mol) des Edukts **61** zurückgewonnen wurden.

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Verbindungen überein, die nach Variante 1 erhalten wurden.

### Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\alpha$ -D-mannopyranosid (63)

Nach **AAV4** wurden 1-Octanol (680 mL, 4.32 mmol), Mannosyltrichloracetimidat **62** (2.55 g, 5.19 mmol, 1.2 eq.) und  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (3.10 mL, 19.4 mmol, 4.5 eq) umgesetzt. Nach



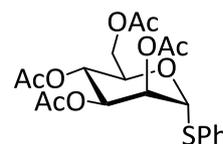
Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1) wurde das Produkt als farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute:** 916 mg (1.99 mmol,  $460.52 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 46 %).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Verbindung überein, die nach Fischer-Glycosylierung, anschließender *O*-Acetylierung und Anomerentrennung erhalten wurde.

### Phenyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio)- $\alpha$ -D-mannopyranosid (64)<sup>[247]</sup>

Das acetylierte Thiomannosid **64** wurde nach einer veränderten Literaturvorschrift von MAITY et al.<sup>[247]</sup> dargestellt. Hierzu wurde peracetylierte *D*-Mannopyranose **60** (100 mg, 255  $\mu\text{mol}$ ) unter



Schlenkbedingungen in abs. Dichlormethan (15 mL) gelöst. Anschließend wurde Thiophenol (40  $\mu\text{L}$ , 0.38 mmol, 1.5 eq.) und tropfenweise  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (48  $\mu\text{L}$ , 0.38 mmol, 1.5 eq.) hinzugegeben. Der Ansatz wurde 13 h bei Raumtemp. gerührt. Nach DC-Kontrolle wurde erneut  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (48  $\mu\text{L}$ , 0.38 mmol, 1.5 eq.) hinzu getropft und die Reaktionsmischung weitere 28 h bei Raumtemp. gerührt. Es wurde mit ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (zweimal je 25 mL) und Wasser (30 mL) gewaschen, dann die wässr. Phase mit Dichlormethan (zweimal je 25 mL) extrahiert, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1) wurde das Lösungsmittel bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde aus einem Lösungsmittelgemisch (Diethylether : Petrolether, 1:3) kristallisiert. Das Produkt wurde abfiltriert und als farblose Nadeln erhalten.

**Ausbeute:** 78.3 mg (178  $\mu\text{mol}$ ,  $440.46 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 70 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1);  $R_f = 0.23$ ;

**Smp.:** 82 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +95.2$  ( $c = 0.9$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 1743, 1439, 1371, 1215, 1069, 1032, 947, 901, 747, 692, 605 \text{ cm}^{-1}$ ;

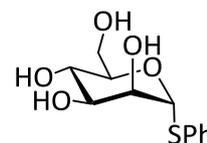
**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.49 (m<sub>c</sub>, 2 H, Ar-H), 7.35-7.27 (m, 3 H, Ar-H), 5.52-5.48 (m, 2 H, H-1, H-2), 5.34 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 10.1 Hz, H-4), 5.32 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 10.3 Hz, H-3), 4.55 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-5), 4.31 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.9 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.2 Hz, H-6a), 4.11 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 2.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.2 Hz, H-6b), 2.15, 2.08, 2.05, 2.02 (je s, je 3 H, 4 COCH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 170.5, 169.9, 169.8, 169.7 (4 C=OCH<sub>3</sub>), 132.6 (C-Ar<sub>q</sub>), 132.0, 132.0, 129.2, 129.2, 128.1 (5 C-Ar), 85.7 (C-1), 70.9 (C-2), 69.5 (C-5), 69.4 (C-3), 66.4 (C-4), 62.4 (C-6), 20.8, 20.7, 20.7, 20.6 (4 COCH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** *m/z* = 483.108 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 483.107) für Summenformel C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>S (M = 440.114).

### Phenyl-1-thio-α-D-mannopyranosid (65) <sup>[247]</sup>

Nach **AAV 3** wurde Phenyl-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio)-α-D-mannopyranosid (**64**) (720 mg, 1.64 mmol) in abs. Methanol (10 mL) umgesetzt. Es wurde als Produkt ein farbloser Schaum erhalten.



**Ausbeute:** 430 mg (1.58 mmol, 272.32 g·mol<sup>-1</sup>, 96 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 9:1); R<sub>f</sub> = 0.43;

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 232.0 (c = 1.1, MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 3355, 2877, 1581, 1480, 1325, 1256, 1065, 1021, 963, 919, 853, 795, 743, 690, 663 cm<sup>-1</sup>;

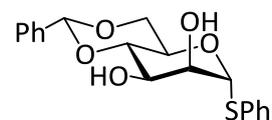
**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): δ = 7.56 (m<sub>c</sub>, 2 H, Ar-H), 7.36-7.27 (m, 3 H, Ar-H), 5.46 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.5 Hz, H-1), 4.12 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.1 Hz, H-2), 4.08 (ddd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.4 Hz, H-5), 3.85 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 2.6 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.0 Hz, H-6a), 3.80 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 12.0 Hz, H-6b), 3.76 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.4 Hz, H-4), 3.72 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 9.4 Hz, H-3) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): δ = 135.9 (C-Ar<sub>q</sub>), 132.9, 132.9, 130.1, 130.1, 128.5 (5 C-Ar), 90.4 (C-1), 75.6 (C-5), 73.8 (C-2), 73.2 (C-3), 68.7 (C-4), 62.6 (C-6) ppm;

**ESI-MS:** *m/z* = 295.065 [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.: *m/z* = 295.061) für Summenformel C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>S (M = 272.072).

**Phenyl-(4,6-O-benzyliden)-1-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (66)** [248,249]

Phenyl-1-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**65**) (218 mg, 799  $\mu$ mol) wurde in abs. DMF (12 mL) gelöst und mit Benzaldehyddimethylacetal (132  $\mu$ L, 879  $\mu$ mol) versetzt. Nach Zugabe von Tetraflourborsäure (50 -proz. in



Ether, 217  $\mu$ L, 1.60 mmol) wurde der Ansatz bei Raumtemp. 18 h gerührt. Nach DC-Kontrolle wurde erneut Tetrafluoroborsäure (60  $\mu$ L, 400  $\mu$ mol, 0.5 eq.) zugegeben und weitere 24 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von weiterer Tetrafluoroborsäure (450  $\mu$ L, 3.19 mmol, 4 eq.) und 5 h Rühren bei Raumtemp. wurde mit Triethylamin neutralisiert. Anschließend wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in Methanol (50 mL) bei 60 °C gelöst und auf Kieselgur aufgezogen. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 10:1  $\rightarrow$  2:1) wurde das Produkt als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 194 mg (538  $\mu$ mol, 360.42 g $\cdot$ mol<sup>-1</sup>, 67 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 2:1); R<sub>f</sub> = 0.24;

**Smp.:** 172°C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +139.3$  ( $c = 0.7$ , DMSO);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3197, 2894, 1370, 1078, 1032, 1007, 974, 860, 743, 700, 688, 635$  cm<sup>-1</sup>;

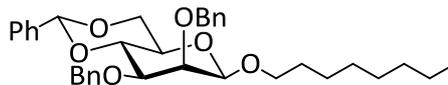
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 7.50$ -7.45 (m<sub>c</sub>, 4 H, Ar-H), 7.40-7.35 (m, 5 H, Ar-H), 7.34-7.29 (m, 1Ar-H), 5.63 (s, 1 H, Benzyliden-CH), 5.54 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,OH</sub> = 4.2 Hz, OH), 5.47 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.2 Hz, H-1), 5.21 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,OH</sub> = 6.1 Hz, OH), 4.07 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.9 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.5 Hz, H-6a), 4.10-4.03 (m, 1 H, H-3), 4.01 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-2), 3.96 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.3 Hz, H-4), 3.78 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-6a) 3.79-3.73 (m, 1 H, H-5) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 137.8, 133.6$  (C-Ar<sub>q</sub>), 131.3, 131.3, 129.2, 129.2, 128.1, 128.0, 128.0, 127.4, 126.3, 126.3 (10 C-Ar), 101.2 (Benzyliden-C), 89.2 (C-1), 78.4 (C-4), 72.4 (C-2), 68.4 (C-3), 67.6 (C-6), 65.3 (C-5) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 383.16$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 383.09$ ) und  $m/z = 399.13$  [M+K]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 399.07$ ) für Summenformel C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>S (M = 360.10).

**Octyl-(2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden)- $\beta$ -D-mannopyranosid (67)**

Nach einer Variation zur literaturbekannten Vorschrift

von CRICH und SMITH<sup>[173]</sup> wurde unter



Schutzgasatmosphäre Phenyl-(2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden)-1-desoxy-1-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**58**) (50 mg, 93  $\mu$ mol), 1-(Benzene-sulfinyl)-piperidin (19 mg, 93  $\mu$ mol) und 2,4,6-Di-*tert*-butyl-pyrimidin (46 mg, 0.19 mmol, 2 eq.) in abs. entgastem Dichlormethan (5 mL) gelöst. Trifluormethansulfonsäureanhydrid (17  $\mu$ L, 0.10 mmol, 1.1 eq.) wurde bei -60 °C zu getropft. Nach 5 min wurde 1-Octanol (22  $\mu$ L, 0.14 mmol, 1.5 eq.) hinzugegeben und weitere 2 min bei -60 °C gerührt. Anschließend wurde auf Raumtemp. erwärmt, die org. Phase mit wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (20 mL) und ges. NaCl-Lösung (30 mL) gewaschen. Die wässr. Phase wurde im Anschluss mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan : Ethylacetat, 10:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute:** 35.3 mg (63.0  $\mu$ mol, 560.72 g·mol<sup>-1</sup>, 68 %);

**DC:** (Cyclohexan : Ethylacetat, 10:1); R<sub>f</sub> = 0.55;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 2924, 2855, 1452, 1384, 1357, 1089, 1051, 1026, 746, 725, 695 cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.49 (m<sub>c</sub>, 4 H, Ar-H), 7.40-7.26 (m, 11 H, Ar-H), 5.61 (s, 1 H, Benzyliden-CH), 4.99 (d, 1 H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 2-O-CH<sub>2</sub>HPh), 4.88 (d, 1 H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 2-O-CH<sub>2</sub>HPh), 4.68 (d, 1 H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 3-O-CH<sub>2</sub>HPh), 4.55 (d, 1 H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 3-O-CH<sub>2</sub>HPh), 4.44 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 0.7 Hz, H-1), 4.31 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.9 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 10.4 Hz, H-6a), 4.21 (dd~t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.8 Hz, H-4), 3.97-3.92 (m, 2 H, H-6b, Man-O-CH<sub>2</sub>H), 3.92 (dd~d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.2 Hz, H-2), 3.58 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 9.8 Hz, H-3), (dt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>CH,CH2</sub> = 6.8 Hz, <sup>2</sup>J<sub>CH,CH</sub> = 9.2 Hz, Man-O-CH<sub>2</sub>H), 3.32 (ddd~td, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 9.8 Hz, H-5), 1.67-1.59 (m, 2 H, Man-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 1.40-1.22 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.89 (dd~t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 138.5, 138.4, 137.6 (3 C-Ar<sub>q</sub>), 129.0, 128.8, 128.7, 128.7, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 127.5, 127.5, 127.5, 126.1, 126.1 (15 C-Ar), 102.4 (Benzyliden-CH), 101.4 (*J*<sub>C-1,H1</sub> = 154.4 Hz, C-1), 78.7 (C-4), 78.0 (C-3), 75.7 (C-2), 74.6 (C2-O-CH<sub>2</sub>Ph), 72.3 (C3-O-CH<sub>2</sub>Ph), 70.3 (Man-O-CH<sub>2</sub>), 68.7 (C-6), 67.6 (C-5), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (Man-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 29.4, 29.3, 26.1, 22.7 (4 CH<sub>2</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub>) ppm;

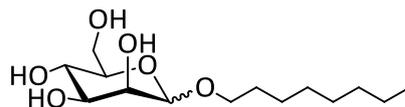
**<sup>13</sup>C-NMR-gated-decoupled** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 97.6 (*J*<sub>C-1,H1</sub> = 154.4 Hz, C-1) ppm;

**MALDI-ToF-MS:**  $m/z = 583.41$   $[M+Na]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 583.30$ ) und  $m/z = 583.39$   $[M+K]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 583.28$ ) für Summenformel  $C_{35}H_{44}O_6$  ( $M = 560.31$ );

**ESI-MS:**  $m/z = 583.3031$   $[M+Na]^+$ -Ion (ber.:  $m/z = 583.3030$ ) für Summenformel  $C_{35}H_{44}O_6$  ( $M = 560.3138$ ).

### Octyl- $\alpha,\beta$ -D-mannopyranosid (**70**)

Nach **AAV 1** wurde 1-Octanol (232 g, 178 mmol, 32 eq.) mit Acetylchlorid (10.0 mL, 138 mmol, 2.5 eq.) und D-



Mannose (**69**) (10.0 g, 55.5 mmol) umgesetzt. Nach

säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Ethylacetat : Methanol, 10:1) und einem zweiten Reinigungsschritt (Ethylacetat : Methanol, 30:1) wurde das Produkt als leicht gelblicher Schaum erhalten.

**Ausbeute:** 12.6 g (43.1 mmol,  $292.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 78 %);

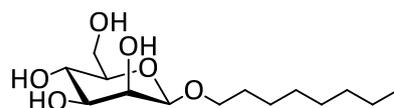
**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 10:1);  $R_f = 0.37$ ;

Anomerenverhältnis laut  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\alpha:\beta = 95:5$ .

Die analytischen Daten des Anomerenmischungs **70** wurden bereits an anderer Stelle detailliert beschrieben (s. **17** und **72**).

### Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosid (**72**)<sup>[178,250]</sup>

Nach **AAV 3** wurde Octyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)- $\beta$ -D-mannopyranosid (**71**) (750 mg, 1.63 mmol) in abs. Methanol (10 mL) umgesetzt. Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.



**Ausbeute:** 442 mg (1.51 mmol,  $292.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 92 %);

**DC:** (Ethylacetat : Methanol, 6:1);  $R_f = 0.44$ ;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -49.6$  ( $c = 0.9$ , MeOH);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3460, 3188, 2916, 2851, 1377, 1185, 1153, 1140, 1056, 1015, 946, 796, 721, 528 \text{ cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 4.70$  (d, 1 H,  $^3J = 5.1 \text{ Hz}$ , OH), 4.51 (d, 1 H,  $^3J = 6.0 \text{ Hz}$ , OH), 4.40 (t, 1 H,  $^3J = 6.0 \text{ Hz}$ , OH), 4.33 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 0.7 \text{ Hz}$ , H-1), 4.24 (d, 1 H,  $^3J = 5.0 \text{ Hz}$ , OH),

3.75 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH,CH}_2} = 6.8$  Hz,  $^2J_{\text{CH,CH}} = 9.6$  Hz, Man-OCHH), 3.67 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.2$  Hz,  $^3J_{6a,\text{OH}} = 6.0$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.6$  Hz, H-6a), 3.60 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-2), 3.44 (m<sub>c</sub>, 1 H, H-6b), 3.31-3.19 (m, 2 H, H-3, H-4), 3.40 (dt, 1 H,  $^3J_{\text{CH,CH}_2} = 6.8$  Hz,  $^2J_{\text{CH,CH}} = 9.6$  Hz, Man-OCHH), 3.00 (ddd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.2$  Hz,  $^3J_{5,6b} = 6.4$  Hz,  $^3J_{4,5} = 8.8$  Hz, H-5), 1.57-1.44 (m, 2 H, Man-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.33-1.19 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>), 0.85 (dd~t, 3 H,  $^3J = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 100.2 (C-1), 77.5 (C-5), 73.7 (C-3/4), 70.6 (C-2), 68.4 (Man-OCH<sub>2</sub>), 67.2 (C-3/4), 61.4 (C-6), 31.2 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (Man-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 28.9, 28.7, 25.6, 22.1 (4 CH<sub>2</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub>) ppm;

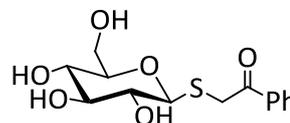
**<sup>13</sup>C-NMR-gated-decoupled** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 100.2 ( $J_{\text{C-1,H-1}} = 155.7$  Hz, C-1) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 315.1783$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 315.1778$ ) für Summenformel C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> (M = 292.1886);

**Elementaranalyse:** berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> (M = 292.37 g·mol<sup>-1</sup>): C 57.51, H 9.65; gefunden: C 57.90, H 9.79.

### 1-Thio-β-D-glucopyanosyl-acetophenon (81)<sup>[153]</sup>

Nach **AAV 3** wurde **64** (2.32 g, 4.83 mmol) in abs. Methanol (20 mL) umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Dichlormethan : Methanol, 9:1) wurde das Produkt als farbloser Feststoff erhalten.



**Ausbeute:** 1.33 g (4.24 mmol, 314.35 g·mol<sup>-1</sup>, 88 %);

**DC:** (Dichlormethan : Methanol, 9:1); R<sub>f</sub> = 0.39;

**Smp.:** 82 °C;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -101.7$  (c = 0.7, DMSO);

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 3292, 1657, 1597, 1452, 1393, 1279, 1115, 1049, 1024, 1001, 882, 746, 678, 641, 591$  cm<sup>-1</sup>;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): δ = 8.03 (dd, 2 H,  $^4J = 1.4$  Hz,  $^3J = 8.2$  Hz, Ar-H), 7.63 (tt, 1 H,  $^4J = 1.4$  Hz,  $^3J = 7.6$  Hz, Ar-H), 7.50 (t, 2 H,  $^3J = 7.6$  Hz, Ar-H), 4.43 (d, 1 H,  $^3J_{1,2} = 9.7$  Hz, H-1), 4.25 (d, 1 H,  $^2J_{\text{SCHax-eq}} = 15.1$  Hz, SCHH), 4.17 (d, 1 H,  $^2J_{\text{SCHax-eq}} = 15.1$  Hz, SCHH), 3.82 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6a} = 2.0$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.0$  Hz, H-6a), 3.64 (dd, 1 H,  $^3J_{5,6b} = 5.0$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.0$  Hz, H-6b), 3.38-3.24 (m, 3 H, H-3, H-4, H-5), 3.22 (dd, 1 H,  $^3J_{2,3} = 8.7$  Hz,  $^3J_{1,2} = 9.7$  Hz, H-2) ppm;

---

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): δ = 197.9 (CO), 137.0 (C-Ar<sub>q</sub>), 134.6, 129.9, 129.9, 129.8, 129.8 (5 C-Ar), 85.8 (C-1), 82.0 (C-5), 79.5 (C-3), 74.3 (C-2), 71.3 (C-4), 62.8 (C-6), 36.3 (SCH<sub>2</sub>) ppm;

**ESI-MS:**  $m/z = 337.078$  [M+Na]<sup>+</sup>-Ion (ber.:  $m/z = 337.072$ ) für Summenformel C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>S (M = 314.082).

## 5.4 Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC)

ITC-Messungen wurden auf einem a MicroCal VP-ITC (MicroCal, Inc., Northhampton, MA, jetzt GE Healthcare) durchgeführt.

### Probenvorbereitung

Für die Vermessung der jeweiligen Amphiphile wurde eine hochkonzentrierte Lösung (10-fache Konzentration der CMC) in bidest. Wasser in einem 1 oder 2-mL Messkolben hergestellt. Nach dem Lösen wurde die Probe in einem Ultraschallbad für 5 min entgast.

### Titrationdurchführung

Die Zellen (Referenzzelle und Probenzelle) wurden mit entgastem bidest. Wasser gefüllt und die Amphiphillösung über die Injektionsspritze hinzu titriert. Die Anzahl an Injektionen betrug 70 bis 93. Bei der höheren Titrationssanzahl wurde pro Injektion ein Volumen von 3  $\mu\text{L}$ , bei geringeren 4  $\mu\text{L}$  verwendet, wobei ein Intervall von 540 s zwischen den Titrationsschritten verwendet wurde. Es wurde die Spritze während der Titration mit 300 rpm gerührt. Die Durchführung des Experiments erfolgte stets bei 25 °C (shield 24 °C) und einer Referenzpower von 10  $\mu\text{cal s}^{-1}$ . Jedes Experiment wurde mindestens zweimal durchgeführt. Bei Abweichung der Ergebnisse der Titrationen wurde das Experiment dreimal durchgeführt. Im Anhang ist jeweils eine repräsentative Titrationskurve pro gemessener Substanz gezeigt.

### Reinigung der Injektionsspritze und Zellen

Nach Ablassen der Restlösung in der Spritze wurde mit 100 mL bidest. Wasser und 50 mL Methanol gespült. Es wurde dann mit Hilfe des ThermoVac die Spritze für 10 min i. Vak. getrocknet und 1 h gewartet, bis eine weitere Messung folgen konnte. Die Probenzelle wurde nach der Titration zuerst mit Contrad-70 (10-proz. Lösung in Wasser) und im Anschluss mit 300 mL bidest. Wasser unter Verwendung des ThermoVac gespült.

### Datenauswertung

Als Steuerungsprogramm sowie zur Auswertung der Messdaten wurde ORIGIN 7.2 (ORIGINLAB) mit ITC Plugin verwendet. Zuerst wurden die Referenzdaten einer Wasser-zu-Wasser-

---

Titration subtrahiert. Anschließend wurden die resultierenden Messdaten im Molmassenverhältnis gegen die Reaktionsenthalpie aufgetragen. Von den Datenpunkten wurden die erste Ableitung gebildet und zur besseren Anschaulichkeit mit einer Boltzmann-Funktion angepasst. Das Maximum der ersten Ableitung der Datenpunkte ist die gewünschte kritische Mizellbildungskonzentration (Critical Micellar Concentration, CMC).

### **Fehlerrechnung**

Die angegebene Standardabweichung (SD) ist die Wurzel der mittlere quadratische Fehler der Einzelwerte vom Mittelwert.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}_i)^2}{n}}$$

mit  $x_i$  = Messwert

$\bar{x}_i$  = Mittelwert der Messwerte,

n = Anzahl Messwerte.

## 5.5 Diffusions-NMR-Experimente

Die Diffusions-NMR-Messungen wurden an einem Bruker Avance 600 Spektrometer bei einer Temperatur von 298 K durchgeführt. Es wurde jeweils eine Konzentrationsreihe des Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosids (**17**) (11 Konzentrationen von 2.5 - 250 mM) bzw. Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosids (**72**) (12 Konzentrationen von 10 - 250 mM) in 500  $\mu$ L D<sub>2</sub>O vermessen.

Bei jeder Konzentration wurde eine Serie von <sup>1</sup>H-NMR-Spektren (32 Messungen, Datenpunkte) mit abnehmender Gradientenstärke aufgenommen. Die Parameter der Gradientendauer  $\delta$  und der Gradientenpulslänge  $\Delta$  (Diffusionszeit) wurden so bei jeder Messung angepasst, dass die Signalintensität des letzten Messpunktes noch ca. 10 % der Ausgangsintensität entsprach.

**Tabelle 7:** Parameter für die Gradientenpulsdauer  $\delta$  und Gradientenpulslänge  $\Delta$  in Abhängigkeit von der vermessenen Konzentration während des Diffusionsexperimentes von Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosids (**17**) (links) und Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosids (**72**) (rechts).

$\alpha$ OctylMan <b>17</b>			$\beta$ OctylMan <b>72</b>		
c [mM]	$\delta$ [ $\mu$ s]	$\Delta$ [s]	c [mM]	$\delta$ [ $\mu$ s]	$\Delta$ [s]
2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20	2000	0.15	10, 15, 17.5, 20	2000	0.15
40	2500	0.20	22.5, 25, 30, 40	2500	0.20
75, 100, 150, 250	3000	0.30	75, 100, 150, 250	3000	0.30

Die Auswertung der Diffusionsserien erfolgte mit dem T<sub>1</sub>/T<sub>2</sub>-Relaxationsmodell des Programms TOPSPIN 3.2 von Bruker. Die graphischen Auftragungen bzw. nichtlineare Kurvenanpassung wurden mit ORIGINPRO 8 durchgeführt.

---

## 5.6 Moleküldynamik-Simulationen

Die Moleküldynamik-Simulationen wurden mit dem Molecular Modelling-Paket AMBER 10<sup>[211]</sup> durchgeführt. Als Kraftfeld wurden die GLYCAM06-Parameter mit Lipiderweiterung<sup>[213]</sup> verwendet. Das Startsystem wurde lokal entwickelt und die anschließenden Rechnungen auf dem Linux-Cluster (rzcluster) des Rechenzentrums der CAU Kiel durchgeführt. Hierzu wurde AMBER 10 auf dem Cluster mittels MPI-Parallelisierung unter MPICH2 (gnu-compiler) kompiliert. Mit dem pmemd-Programm des AMBER-Paketes wurden dann die Rechnungen (production runs) durchgeführt.

### 5.6.1 Erstellung der Mizell-Startstrukturen

Die jeweils aus 92 Monomeren bestehenden Startstrukturen wurden in Form einer sphärischen Kugel mit PACKMOL<sup>[215]</sup> erstellt. Die Parameter und Koordinaten der Mizellen wurden mit dem XLEAP-Tool des AMBER-Paketes bestimmt, wobei die Ladungen für das Fragment der Alkylkette über die RESP-Methode<sup>[214]</sup> berechnet wurde. Nach einer Minimierungsphase wurden die Mizellsysteme in einer kubischen Wasserbox (70 Å x 70 Å x 70 Å) mit 6796 Wassermolekülen (TIP3P Wassermodell)<sup>[216]</sup> solvatisiert.

### 5.6.2 Simulationsprotokoll

Bei beiden Mizellsystemen wurden unter AMBER 10 mit folgendem identischen Simulationsprotokoll gearbeitet: Nach einer Minimierungsphase mit und anschließend ohne Fixierung der Mizelle in der Wasserbox (*restraints on the solute*) folgten eine Heizphase (40 ps, NVT-Ensemble, konstantes Volumen) und ein Äquilibrationlauf (100 ps, NPT-Ensemble). Im Anschluss wurden die 15 ns-Produktionsläufe durchgeführt, die in 2 ns-Simulationsschritte unterteilt wurden. Als Referenzdruck wurde mit 1 bar gearbeitet und die Berendsen-Temperaturmethode<sup>[251]</sup> angewendet. Während der Simulationen wurde mit PME-Bedingungen gearbeitet und ein Lennard-Jones-Wechselwirkungs-Cut off von 10 Å gewählt. Die Trajektorien wurden als Snapshots im Intervall von 2 fs (0.002 ps) gespeichert. Insgesamt standen so 75000 Snapshots für eine anschließende Analyse zur Verfügung.

### 5.6.3 Auswertung der Moleküldynamik-Simulationen

Für die Auswertung der Trajektorien wurde das ptraj- und das MMPBSA-Modul (Eigenwerte) des AMBER-Pakets verwendet sowie VMD<sup>[220,224]</sup> für die Visualisierung. Die Berechnung der SASA mit Differenzierung zwischen Kopf- und Alkylgruppe wurde weitergehend mit einem tlc-Skript<sup>[224]</sup> und einem Proberadius von 1.4 Å vorgenommen.

Im Anhang befinden sich die Input- und Outputfiles (s. Kapitel 7.2.2 und 7.4) für die durchgeführten Simulationen.

---

## 5.7 Flexibles Docking mit FlexX

Die Docking-Studien wurden mit zwei verschiedenen Kristallstrukturen durchgeführt. Zum einen wurde die Kristallstruktur, die mit  $\alpha$ -D-Mannose („*open-gate*“-Struktur: PDB-ID: 1KLF)<sup>[227]</sup> komplexiert wurde, verwendet und zum anderen die mit *n*-Butyl- $\alpha$ -D-mannosid („*closed-gate*“-Struktur: PDB-ID: 1UWF)<sup>[238]</sup> kristallisierte Struktur. Die CRD wurde ausgehend von dem Carboxylatom der Aminosäure Asp54 mit einem sphärischen Radius von 10 Å als Rezeptor festgelegt. Dieses Prozedere ergab eine CRD von 26 Aminosäuren, die zur Interaktion zur Verfügung standen. Das flexible Docking wurde durch das graphische FlexX-Modul 1.11.1L,<sup>[97,231–233]</sup> welches in Sybyl 6.9<sup>[234]</sup> implementiert ist, durchgeführt. Jede Docking-Serie bestand aus 30 Konformationen (Hits), die nach der FlexX-Scoring-Funktion ein Ranking ergab. Consensus-Scoring<sup>[237]</sup> wurde zur Validierung der gedockten Konformationen eingesetzt. Standardparameter für formelle Ladungen wurden in FlexX ausgewählt und für folgende CScore-Berechnungen folgende Scoring-Funktionen verwendet: FlexX-Original, ChemScore,<sup>[252]</sup> DockScore,<sup>[253]</sup> PMFScore<sup>[254]</sup> und GOLDScore.<sup>[96,255]</sup> Die erhaltenen Konformationen wurden relaxiert unter Verwendung des Tripos-Kraftfeldes und erneut gedockt (Zweistufige Scoring-Strategie).

Im Anhang sind tabellarisch die Scoring-Werte der gedockten Konformationen zusammen mit den Energien der relaxierten Liganden aufgeführt.

Die Molekülliganden **73-78** wurden mithilfe der *Sketch-Molecule*-Funktion erhalten und unter Verwendung von MMFF94-Parametern 1000 Schritte energieminiert (Powell-Verfahren, 0.05 kcal/mol Gradient, kein Simplex-Verfahren).

Zur Darstellung der Kristallstrukturen wurde eine Connolly-Oberfläche (Probenradius = 1.4 Å) berechnet, deren Farbe ein lipophiles Potential darstellt. Braune Färbung korreliert mit lipophilen Flächen und blaue Färbung mit hydrophilen Flächen.

## 5.8 Biologische Tests

### Herstellung der Glycoarrays<sup>[47]</sup>

Von den Glycosylamiden **11** und **16** wurde eine Stammlösung mit einer Konzentration von 50 mM in Methanol hergestellt und diese in einer Konzentrationsreihe (50, 25, 12.5 und 6.25 mM) verdünnt. In eine 96-Well-Mikrotiterplatte wurde je 60  $\mu$ L pro Well dieser verdünnten Lösungen pipetiert und durch Stehenlassen über Nacht bei Raumtemp. eingedampft.

### Phenol-Schwefelsäure-Assay<sup>[47]</sup>

Um die Stabilität der Immobilisierung von **11** und **16** gegen verschiedene Waschschrte zu testen, wurde im Anschluss an die Herstellung der Glycoarrays (s. o.) ein Phenol-Schwefelsäure-Assay<sup>[135-137]</sup> durchgeführt. Hierzu wurde die Wells der tags zuvor behandelten 96-Well-Mikrotiterplatte dreimal mit Wasser und PBST-Puffer (100  $\mu$ L pro Well) oder sechsmal mit Ethanol (100  $\mu$ L pro Well) gewaschen. Der Phenol-Schwefelsäure-Assay wurde nach einer literaturbekannten Methode durchgeführt.<sup>[136]</sup> Eine 5%-ige wässr. Phenol-Lösung (21  $\mu$ L pro Well) wurde in die Wells pipetiert und anschließend konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (21  $\mu$ L pro Well) gegeben. Das Gemisch wurde 30 min bei Raumtemp. inkubiert und der Anteil an immobilisiertem Glycosylamid durch Messung der Absorption bei 492 nm bestimmt.

### Bakterieller Adhäsionsassay mit GFP-markierten *E. coli*-Bakterien<sup>[47,133,138]</sup>

Die 96-Well-Mikrotiterplatte wurde mit den Glycosylamiden **11** und **16** (10 mM in Methanol, 100  $\mu$ L pro Well) behandelt und zum Eindampfen über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen. Der literaturbekannte Biotest wurde nach variierter Methode durchgeführt. In jedes Well wurde ein PBS-Puffer (50  $\mu$ L) und im Anschluss eine Suspension von *E. coli*-Bakterien (pPKL 1162, 2.00 mg/mL in PBS-Puffer, 50  $\mu$ L) pipetiert und 1 h bei 37 °C inkubiert. Nach Waschen mit PBS-Puffer (zweimal mit je 150  $\mu$ L pro Well) wurden in die Wells PBS-Puffer (100  $\mu$ L pro Well) gegeben und Fluoreszenz der gebundenen *E. coli*-Bakterien gemessen ( $\lambda_{\text{ex}} = 485 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 535 \text{ nm}$ ).

Puffer-Lösungen und Medien zur Durchführung der biologischen Tests wurden nach literaturbekannten Verfahren hergestellt.<sup>[47,133,138]</sup>

## 6 Literaturverzeichnis

- [1] Fritz Haake, „*Ordnung aus dem Chaos*“, <http://www.zeit.de/1982/50/ordnung-aus-dem-chaos>, **2013**.
- [2] H. Haken, *Synergetik: Eine Einführung; Nichtgleichgewichts-Phasenübergänge und Selbstorganisation in Physik, Chemie und Biologie*, 3. Aufl., Springer, Heidelberg, **1990**.
- [3] J. Berg, J. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie*, 5. Aufl., Spektrum, Heidelberg, **2005**.
- [4] R. Winter, *Methoden der Biophysikalischen Chemie*, Vieweg und Teubner, Wiesbaden, **2011**.
- [5] A. Chen, V. T. Moy, *Biophys. J.* **2000**, 78, 2814–2820.
- [6] Verfügbar unter <http://www.functionalglycomics.org/static/index.shtml>, **2013**.
- [7] M. Hartmann, *Dissertation*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2011**.
- [8] A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, H. H. Freeze, P. Stanley, C. R. Bertozzi, G. W. Hart, M. E. Etzler (Eds.), *Essentials of Glycobiology*, 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, **2009**.
- [9] T. K. Lindhorst, *Chem. Unserer Zeit* **2000**, 34, 38–52.
- [10] P. M. Rudd, T. Elliott, P. Cresswell, I. A. Wilson, R. A. Dwek, *Science* **2001**, 291, 2370–2376.
- [11] A. Varki, *Glycobiology* **1993**, 3, 97–130.
- [12] C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* **2001**, 291, 2357–2364.
- [13] P. Boullanger, *Top. Curr. Chem.* **1997**, 187, 275–312.
- [14] R. M. Epand, S. Nir, M. Parolin, T. D. Flanagan, *Biochemistry* **1995**, 34, 1084–1089.
- [15] T. K. Lindhorst, *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 3. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [16] A. H. Merrill, *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6387–6422.
- [17] L. Poppe, H. van Halbeek, D. Acquotti, S. Sonnino, *Biophys. J.* **1994**, 66, 1642–1652.
- [18] V. Wittmann, in *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology Vol III*, B. O. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem (Eds.), Springer Berlin, **2001**, S. 2253–2287.
- [19] R. G. Spiro, *Glycobiology* **2002**, 12, 43R–56R.
- [20] J. Montreuil, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1980**, 37, 157–223.
- [21] R. A. Dwek, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 683–720.

- [22] N. Jentoft, *Trends Biochem. Sci.* **1990**, *15*, 291–294.
- [23] K. Simons, E. Ikonen, *Nature* **1997**, *387*, 569–572.
- [24] K. Simons, D. Toomre, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2000**, *1*, 31–39.
- [25] S. Thomas, A. Preda-Pais, S. Casares, T.-D. Brumeanu, *Mol. Immunol.* **2004**, *41*, 399–409.
- [26] S. van Heyningen, *Science* **1974**, *183*, 656–657.
- [27] N. Sharon, H. Lis, *Science* **1989**, *246*, 227–234.
- [28] T. Feizi, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1993**, *3*, 701–710.
- [29] H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637–674.
- [30] N. Sharon, H. Lis, *Glycobiology* **2004**, *14*, 53R–62R.
- [31] R. Masaka, M. Ogata, Y. Misawa, M. Yano, C. Hashimoto, T. Murata, H. Kawagishi, T. Usui, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 621–629.
- [32] R. B. Dodd, K. Drickamer, *Glycobiology* **2001**, *11*, 71R–79R.
- [33] K. Drickamer, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1993**, *3*, 393–400.
- [34] Y. C. Lee, R. T. Lee, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321–327.
- [35] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2408–2429, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2348–2368.
- [36] M. Lahmann, *Top. Curr. Chem.* **2009**, *288*, 17–65.
- [37] T. K. Lindhorst, *Oligosaccharides and Glycoconjugates in Recognition*, in: *Carbohydrate-Modifying Biocatalysis*, P. Grunwald (Ed.), Taylor and Francis, London, **2011**, S. 119–182.
- [38] T. K. Lindhorst, S. Kubik, *Supramolecular Approaches to the Study of Glycobiology*, in: *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, P. A. Gale, J. W. Steed (Eds.), John Wiley & Sons, Chichester, **2012**, S. 1685–1712.
- [39] T. K. Dam, C. F. Brewer, *Glycobiology* **2010**, *20*, 270–279.
- [40] Y. M. Chabre, R. Roy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2010**, *63*, 165–393.
- [41] N. Röckendorf, T. K. Lindhorst, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *217*, 201–238.
- [42] M. Hartmann, P. Betz, Y. Sun, S. N. Gorb, T. K. Lindhorst, A. Krueger, *Chem. – Eur. J.* **2012**, *18*, 6485–6492.
- [43] A. Bernardi, J. Jiménez-Barbero, A. Casnati, C. D. Castro, T. Darbre, F. Fieschi, J. Finne, H. Funken, K.-E. Jaeger, M. Lahmann, T. K. Lindhorst, M. Marradi, P. Messner, A. Molinaro, P. V. Murphy, C. Nativi, S. Oscarson, S. Penadés, F. Peri, R. J. Pieters, O. Renaudet, J.-L.

- 
- Renaudet, B. Richichi, J. Rojo, F. Sansone, C. Schäffer, W. B. Turnbull, T. Velasco-Torrijos, S. Vidal, S. Vincent, T. Wennekes, H. Zuilhof, A. Imberty, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4709–4727.
- [44] M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2118–2132.
- [45] C. Grabosch, M. Kind, Y. Gies, F. Schweighöfer, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 4006–4015.
- [46] M. J. Weissenborn, R. Castangia, J. W. Wehner, R. Šardzík, T. K. Lindhorst, S. L. Flitsch, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 4444–4446.
- [47] J. W. Wehner, M. J. Weissenborn, M. Hartmann, C. J. Gray, R. Šardzík, C. E. Eyers, S. L. Flitsch, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8919–8926.
- [48] M. E. Taylor, K. Drickamer, *Glycobiology* **2009**, *19*, 1155–1162.
- [49] T. Feizi, F. Fazio, W. Chai, C.-H. Wong, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, *13*, 637–645.
- [50] N. Jayaraman, K. Maiti, K. Naresh, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4640–4656.
- [51] C. Stubenrauch, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6*, 160–170.
- [52] P. H. Thiesen, H. Rosenfeld, P. Konidala, V. M. Garamus, L. He, A. Prange, B. Niemeyer, *J. Biotechnol.* **2006**, *124*, 284–301.
- [53] J. Mares, J. U. Müller, A. Skirgailiene, A. Neumoin, C. A. Bewley, R. R. Schmidt, O. Zerbe, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1764–1773.
- [54] P. V. Santacroce, A. Basu, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 99–102; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 95–98.
- [55] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*, 3. Aufl., Academic Press, New York, **2011**.
- [56] W. Griffin, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **1949**, *1*, 311–326.
- [57] W. Griffin, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **1954**, *5*, 249–256.
- [58] C. Tanford, *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, Wiley, New York, **1980**.
- [59] V. Vill, H. M. von Minden, M. H. J. Koch, U. Seydel, K. Brandenburg, *Chem. Phys. Lipids* **2000**, *104*, 75–91.
- [60] H.-D. Dörfler, *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme: Physik und Chemie*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2002**.
- [61] W. von Rybinski, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6*, 146–147.

- [62] K. Holmberg, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6*, 148–159.
- [63] H. Heerklotz, A. Blume, *Detergent Interactions with Lipid Bilayers and Membrane Proteins*, in: *Comprehensive Biophysics, Volume 5*, E. H. Egelman (Ed.), Elsevier, Amsterdam, **2012**, S. 63–91.
- [64] He, V. M. Garamus, S. S. Funari, M. Malfois, R. Willumeit, B. Niemeyer, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 7596–7604.
- [65] L.-Z. He, V. Garamus, B. Niemeyer, H. Helmholtz, R. Willumeit, *J. Mol. Liq.* **2000**, *89*, 239–249.
- [66] V. Kocherbitov, O. Söderman, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 5262–5270.
- [67] K. S. Rosenthal, F. Koussaie, *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 1115–1117.
- [68] M. M. Bradford, *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254.
- [69] P. Garidel, A. Hildebrand, R. Neubert, A. Blume, *Langmuir* **2000**, *16*, 5267–5275.
- [70] S. Paula, W. Sues, J. Tuchtenhagen, A. Blume, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 11742–11751.
- [71] M. Keller, A. Kerth, A. Blume, *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes* **1997**, *1326*, 178–192.
- [72] P. R. Majhi, A. Blume, *Langmuir* **2001**, *17*, 3844–3851.
- [73] J. R. Livingstone, *Nature* **1996**, *384*, 491–492.
- [74] M. L. DeMarco, R. J. Woods, *Glycobiology* **2008**, *18*, 426–440.
- [75] M. Frank, S. Schloissnig, *Cell. Mol. Life Sci.* **2010**, *67*, 2749–2772.
- [76] Thematische Serie, *Synthesis in Glycoscience*, in: *Beilstein J. Org. Chem., Volume 6*, T. K. Lindhorst (Ed.), **2010**.
- [77] Thematische Serie, *Synthesis in Glycoscience II*, in: *Beilstein J. Org. Chem., Volume 8*, T. K. Lindhorst (Ed.), **2012**.
- [78] Cambridge Structural Database, [www.ccdc.cam.ac.uk](http://www.ccdc.cam.ac.uk), **2013**.
- [79] Protein Data Base, under [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org), **2013**.
- [80] GLYCOSCIENCE, [www.glycosciences.de](http://www.glycosciences.de), **2013**.
- [81] G. Widmalm, *General NMR Spectroscopy of Carbohydrates and Conformational Analysis in Solution*, in: *Comprehensive Glycoscience, Volume 2*, J. P. Kamerling (Ed.), Elsevier, Oxford, **2007**, S. 101–132.
- [82] S. Pérez, *Molecular Modeling in Glycoscience*, in: *Comprehensive Glycoscience, Volume 2*, J. P. Kamerling (Ed.), Elsevier, Oxford, **2007**, S. 347–388.
- [83] R. J. Woods, R. A. Dwek, C. J. Edge, B. Fraser-Reid, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 3832–3846.

- 
- [84] B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comput. Chem.* **1983**, *4*, 187–217.
- [85] W. R. P. Scott, P. H. Hünenberger, I. G. Tironi, A. E. Mark, S. R. Billeter, J. Fennen, A. E. Torda, T. Huber, P. Krüger, W. F. van Gunsteren, *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 3596–3607.
- [86] K. N. Kirschner, A. B. Yongye, S. M. Tschampel, J. González-Outeiriño, C. R. Daniels, B. L. Foley, R. J. Woods, *J. Comput. Chem.* **2008**, *29*, 622–655.
- [87] N. Sapay, A. Nurisso, A. Imberty, *Methods Mol. Biol.* **2013**, *924*, 469–483.
- [88] M. Eriksson, *Dissertation*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2009**.
- [89] A. Imberty, S. Pérez, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4567–4588.
- [90] P. Konidala, B. Niemeyer, *Biophys. Chem.* **2007**, *128*, 215–230.
- [91] M. Eriksson, T. K. Lindhorst, B. Hartke, *J. Chem. Phys.* **2008**, *128*, 105105–105105–10.
- [92] S. M. Tschampel, R. J. Woods, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 9175–9181.
- [93] R. Kadirvelraj, B. L. Foley, J. D. Dyekjær, R. J. Woods, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16933–16942.
- [94] R. A. Friesner, J. L. Banks, R. B. Murphy, T. A. Halgren, J. J. Klicic, D. T. Mainz, M. P. Repasky, E. H. Knoll, M. Shelley, J. K. Perry, D. E. Shaw, P. Francis, P. S. Shenkin, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1739–1749.
- [95] D. S. Goodsell, G. M. Morris, A. J. Olson, *J. Mol. Recognit.* **1996**, *9*, 1–5.
- [96] M. L. Verdonk, J. C. Cole, M. J. Hartshorn, C. W. Murray, R. D. Taylor, *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **2003**, *52*, 609–623.
- [97] M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **1996**, *261*, 470–489.
- [98] R. A. Dwek, T. D. Butters, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 283–602.
- [99] F. Wieland, *Biochimie* **1988**, *70*, 1493–1504.
- [100] R. Bordes, J. Tropsch, K. Holmberg, *Langmuir* **2010**, *26*, 3077–3083.
- [101] H. Paulsen, M. Brenken, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, *1991*, 1113–1126.
- [102] M. Shiozaki, M. Arai, W. M. Macindoe, T. Mochizuki, T. Wakabayashi, S. Kurakata, T. Tatsuta, H. Maeda, M. Nishijima, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1997**, *70*, 1149–1161.
- [103] A. Lubineau, J. Augé, B. Drouillat, *Carbohydr. Res.* **1995**, *266*, 211–219.
- [104] C. Brennerhenaff, J. F. Valdor, D. Plusquellec, H. Wroblewski, *Anal. Biochem.* **1993**, *212*, 117–127.

- [105] D. Plusquellec, C. Brenner-Hénaff, P. Léon-Ruaud, S. Duquenoy, M. Lefeuvre, H. Wróblewski, *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, *13*, 737–751.
- [106] M. D. Disney, S. Magnet, J. S. Blanchard, P. H. Seeberger, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 1618–1620; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1591–1594.
- [107] L. M. Likhoshesterov, O. S. Novikova, V. A. Derevitskaja, N. K. Kochetkov, *Carbohydr. Res.* **1986**, *146*, C1–C5.
- [108] M. A. Brun, M. D. Disney, P. H. Seeberger, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 421–424.
- [109] V. Maunier, P. Boullanger, D. Lafont, *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, *16*, 231–235.
- [110] J. Garcia, F. Urpí, J. Vilarrasa, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4841–4844.
- [111] H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635–646.
- [112] E. Saxon, C. R. Bertozzi, *Science* **2000**, *287*, 2007–2010.
- [113] E. Saxon, J. I. Armstrong, C. R. Bertozzi, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2141–2143.
- [114] M. Köhn, R. Breinbauer, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 3168–3178; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3106–3116.
- [115] S. S. van Berkel, M. B. van Eldijk, J. C. M. van Hest, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 8968–8989; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 8806–8827.
- [116] C. I. Schilling, N. Jung, M. Biskup, U. Schepers, S. Bräse, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4840–4871.
- [117] K. J. Doores, Y. Mimura, R. A. Dwek, P. M. Rudd, T. Elliott, B. G. Davis, *Chem. Commun.* **2006**, 1401–1403.
- [118] A. Schierholt, H. A. Shaikh, J. Schmidt-Lassen, T. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3783–3789.
- [119] N. Röckendorf, T. K. Lindhorst, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4441–4445.
- [120] P. Boullanger, V. Maunier, D. Lafont, *Carbohydr. Res.* **2000**, *324*, 97–106.
- [121] F. E. McDonald, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7001–7002.
- [122] B. G. Davis, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 579–602.
- [123] D. P. Gamblin, E. M. Scanlan, B. G. Davis, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 131–163.
- [124] J. P. Malkinson, R. A. Falconer, I. Toth, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5249–5252.
- [125] D. E. Shalev, S. M. Chiacchiera, A. E. Radkowsky, E. M. Kosower, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1689–1701.
- [126] A. Schierholt, *Dissertation*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2009**.
- [127] G. Zemplén, E. Pacsu, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, *62*, 1613–1614.

- 
- [128] H. A. Shaikh, *Dissertation*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2008**.
- [129] P. Garidel, A. Hildebrand, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2005**, *82*, 483–489.
- [130] M. C. Bryan, O. Plettenburg, P. Sears, D. Rabuka, S. Wacowich-Sgarbi, C.-H. Wong, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 713–720.
- [131] F. Fazio, M. C. Bryan, O. Blixt, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14397–14402.
- [132] N. Laurent, J. Voglmeir, S. L. Flitsch, *Chem. Commun.* **2008**, 4400–4412.
- [133] C. Grabosch, K. Kolbe, T. K. Lindhorst, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1874–1879.
- [134] M. Gómez-García, J. M. Benito, D. Rodríguez-Lucena, J.-X. Yu, K. Chmurski, C. Ortiz Mellet, R. Gutiérrez Gallego, A. Maestre, J. Defaye, J. M. García Fernández, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7970–7971.
- [135] M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith, *Anal. Chem.* **1956**, *28*, 350–356.
- [136] A. K. Saha, C. F. Brewer, *Carbohydr. Res.* **1994**, *254*, 157–167.
- [137] T. Masuko, A. Minami, N. Iwasaki, T. Majima, S.-I. Nishimura, Y. C. Lee, *Anal. Biochem.* **2005**, *339*, 69–72.
- [138] M. Hartmann, A. K. Horst, P. Klemm, T. K. Lindhorst, *Chem. Commun.* **2009**, *46*, 330–332.
- [139] C.-H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 453–474; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 412–432.
- [140] C.-H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 569–593; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 512–546.
- [141] X. Zhu, R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1932–1967; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1900–1934.
- [142] A. Michael, *Am. Chem. J.* **1879**, *1*, 305–312.
- [143] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1893**, *26*, 2400–2412.
- [144] W. Koenigs, E. Knorr, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, *34*, 957–981.
- [145] R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213–236, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, *25*, 212–235.
- [146] E. Fischer, K. Delbrück, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1909**, *42*, 1476–1482.
- [147] P. J. Garegg, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1997**, *52*, 179–205.
- [148] D. R. Mootoo, V. Date, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2662–2663.

- [149] R. U. Lemieux, K. B. Hendriks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056–4062.
- [150] G.-J. Boons, *Contemp. Org. Synth.* **1996**, *3*, 173–200.
- [151] A. V. Demchenko, N. N. Malysheva, C. De Meo, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 455–458.
- [152] J.-H. Kim, H. Yang, J. Park, G.-J. Boons, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12090–12097.
- [153] M. A. Fascione, S. J. Adshead, S. A. Stalford, C. A. Kilner, A. G. Leach, W. B. Turnbull, *Chem. Commun.* **2009**, 5841–5843.
- [154] A. V. Demchenko, *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 35–79.
- [155] M. A. Fascione, W. B. Turnbull, *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, DOI 10.3762/bjoc.6.19.
- [156] R. R. Schmidt, J. Michel, M. Roos, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, *1984*, 1343–1357.
- [157] A. J. Ross, O. V. Sizova, A. V. Nikolaev, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1954–1964.
- [158] H. Y. Lee, J.-T. Kwon, M. Koh, M.-H. Cho, S. B. Park, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6335–6339.
- [159] J. Schmidt-Lassen, *Diplomarbeit*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2008**.
- [160] P. Tiwari, G. Agnihotri, A. K. Misra, *J. Carbohydr. Chem.* **2005**, *24*, 723–732.
- [161] F. M. Winnik, J. P. Carver, J. J. Krepinsky, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2701–2707.
- [162] H. C. Brown, B. C. S. Rao, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 6423–6428.
- [163] E. S. H. El Ashry, N. Rashed, E. S. I. Ibrahim, *Curr. Org. Synth.* **2005**, *2*, 175–213.
- [164] F. W. Lichtenthaler, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5569–5609.
- [165] M. A. E. Shaban, R. W. Jeanloz, *Carbohydr. Res.* **1976**, *52*, 115–127.
- [166] H. Paulsen, O. Lockhoff, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 3102–3114.
- [167] F. Barresi, O. Hindsgaul, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9376–9377.
- [168] I. Cumpstey, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1553–1573.
- [169] L. Yan, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9239–9248.
- [170] D. Crich, S. Sun, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4506–4507.
- [171] D. Crich, S. Sun, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 435–436.
- [172] D. Crich, S. Sun, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 8321–8348.
- [173] D. Crich, M. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9015–9020.
- [174] M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1990**, *195*, 199–224.
- [175] D. Crich, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1144–1153.
- [176] H. H. Jensen, L. U. Nordstrøm, M. Bols, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9205–9213.

- 
- [177] D. Crich, N. S. Chandrasekera, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 5500–5503; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5386–5389.
- [178] K. J. Kaur, O. Hindsgaul, *Glycoconjugate J.* **1991**, *8*, 90–94.
- [179] J. Taubitz, *Dissertation*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2007**.
- [180] B. Focher, G. Savelli, G. Torri, G. Vecchio, D. C. McKenzie, D. F. Nicoli, C. A. Bunton, *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *158*, 491–494.
- [181] C. Dupuy, X. Auvray, C. Petipas, I. Rico-Lattes, A. Lattes, *Langmuir* **1997**, *13*, 3965–3967.
- [182] A. R. van Buuren, H. J. C. Berendsen, *Langmuir* **1994**, *10*, 1703–1713.
- [183] T. T. Chong, R. Hashim, R. A. Bryce, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 4978–4984.
- [184] R. Hashim, S. M. Mirzadeh, T. Heidelberg, H. Minamikawa, T. Yoshiaki, A. Sugimura, *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 2948–2956.
- [185] S. A. Galema, H. Hoeiland, *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 5321–5326.
- [186] K. Kameyama, T. Takagi, *J. Colloid Interface Sci.* **1990**, *137*, 1–10.
- [187] M. Frindi, B. Michels, R. Zana, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 8137–8141.
- [188] C. Jolicoeur, P. R. Philip, *Can. J. Chem.* **1974**, *52*, 1834–1839.
- [189] S. Matsumura, K. Imai, S. Yoshikawa, K. Kawada, T. Uchibor, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1990**, *67*, 996–1001.
- [190] I. Ribosa, J. Sanchez-Leal, F. Comelles, M. T. Garcia, *J. Colloid Interface Sci.* **1997**, *187*, 443–446.
- [191] K. Nobe, H. Aizawa, H. Ohata, K. Momose, *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *50*, 591–599.
- [192] P. del Burgo, E. Junquera, E. Aicart, *Langmuir* **2004**, *20*, 1587–1596.
- [193] A. Lainez, P. del Burgo, E. Junquera, E. Aicart, *Langmuir* **2004**, *20*, 5745–5752.
- [194] A. D. Tsamaloukas, A. Beck, H. Heerklotz, *Langmuir* **2009**, *25*, 4393–4401.
- [195] K. Schwekendiek, H. Kobarg, L. Daumlechner, F. D. Sönnichsen, T. K. Lindhorst, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9399–9401.
- [196] Y. Cohen, L. Avram, L. Frish, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 524–560; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 520–554.
- [197] E. O. Stejskal, J. E. Tanner, *J. Chem. Phys.* **1965**, *42*, 288–292.
- [198] F. Nilsson, O. Söderman, I. Johansson, *Langmuir* **1996**, *12*, 902–908.
- [199] F. Nilsson, O. Söderman, I. Johansson, *J. Colloid Interface Sci.* **1998**, *203*, 131–139.
- [200] O. Vinogradova, F. D. Sönnichsen, C. R. Sanders, *J. Biomol. NMR* **1998**, *11*, 381–386.

- [201] H. Kobarg, *Diplomarbeit*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2010**.
- [202] C. Smets, *Bachelorarbeit*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2010**.
- [203] L. G. Longsworth, *J. Phys. Chem.* **1960**, *64*, 1914–1917.
- [204] M. L. DeMarco, *Biochemistry* **2012**, *51*, 5725–5732.
- [205] V. Manickam Achari, H. S. Nguan, T. Heidelberg, R. A. Bryce, R. Hashim, *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 11626–11634.
- [206] A. Hall, T. Róg, M. Karttunen, I. Vattulainen, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 7797–7807.
- [207] P. Konidala, L. He, B. Niemeyer, *J. Mol. Graph. Model.* **2006**, *25*, 77–86.
- [208] S. Bogusz, R. M. Venable, R. W. Pastor, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 5462–5470.
- [209] S. Abel, F.-Y. Dupradeau, E. P. Raman, A. D. MacKerell, M. Marchi, *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 487–499.
- [210] D. A. Case, T. E. Cheatham, T. Darden, H. Gohlke, R. Luo, K. M. Merz, A. Onufriev, C. Simmerling, B. Wang, R. J. Woods, *J. Comput. Chem.* **2005**, *26*, 1668–1688.
- [211] D. A. Case, *AMBER 10*, San Francisco, **2008**.
- [212] R. U. Lemieux, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 373–380.
- [213] M. B. Tessier, M. L. DeMarco, A. B. Yongye, R. J. Woods, *Mol. Simul.* **2008**, *34*, 349–364.
- [214] F.-Y. Dupradeau, A. Pigache, T. Zaffran, C. Savineau, R. Lelong, N. Grivel, D. Lelong, W. Rosanski, P. Cieplak, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 7821–7839.
- [215] L. Martínez, R. Andrade, E. G. Birgin, J. M. Martínez, *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2157–2164.
- [216] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 926–935.
- [217] A. D’Aprano, R. Giordano, M. P. Jannelli, S. Magazù, G. Maisano, B. Sesta, *J. Mol. Struct.* **1996**, *383*, 177–182.
- [218] R. Todeschini, V. Consonni, *Molecular Descriptors for Chemoinformatics*, John Wiley & Sons, New York, **2009**.
- [219] Y. Cheong, G. Shim, D. Kang, Y. Kim, *J. Mol. Struct.* **1999**, *475*, 219–232.
- [220] W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, *J. Mol. Graph.* **1996**, *14*, 33–38.
- [221] B. Lee, F. M. Richards, *J. Mol. Biol.* **1971**, *55*, 379–400.
- [222] F. M. Richards, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* **1977**, *6*, 151–176.
- [223] M. L. Connolly, *Science* **1983**, *221*, 709–713.

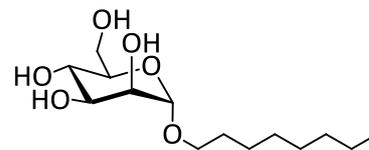
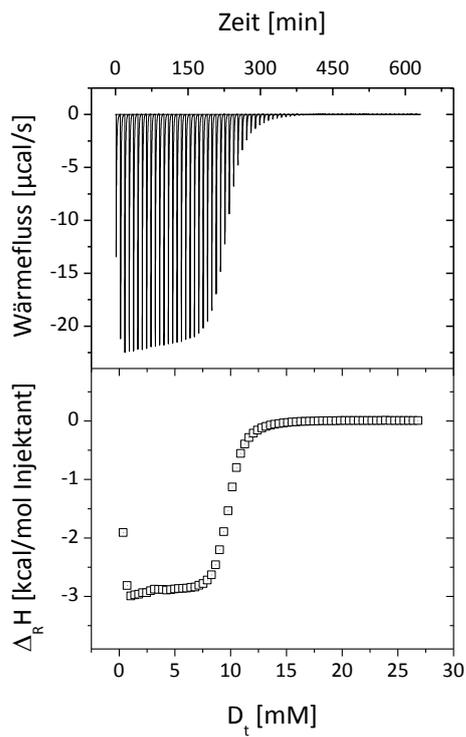
- 
- [224] [http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/mailling\\_list/vmd-l/5038.html](http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/mailling_list/vmd-l/5038.html), **2013**.
- [225] M. Hartmann, T. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011, 3583–3609.
- [226] D. Choudhury, A. Thompson, V. Stojanoff, S. Langermann, J. Pinkner, S. J. Hultgren, S. D. Knight, *Science* **1999**, 285, 1061–1066.
- [227] C.-S. Hung, J. Bouckaert, D. Hung, J. Pinkner, C. Widberg, A. DeFusco, C. G. Auguste, R. Strouse, S. Langermann, G. Waksman, S. J. Hultgren, *Mol. Microbiol.* **2002**, 44, 903–915.
- [228] T. K. Lindhorst, *Ligands for FimH*, in: *Synthesis and Biological Applications of Glycoconjugates*, O. Renaudet, N. Spinelli (Eds.), Bentham Science Publishers, Bussum, **2012**, S. 12–35.
- [229] O. Sperling, A. Fuchs, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 3913–3922.
- [230] C. Grabosch, M. Hartmann, J. Schmidt-Lassen, T. K. Lindhorst, *ChemBioChem* **2011**, 12, 1066–1074.
- [231] M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1997**, 11, 369–384.
- [232] B. Kramer, M. Rarey, T. Lengauer, *Proteins: Struct., Funct., Genet.* **1999**, 37, 228–241.
- [233] M. Rarey, S. Wefing, T. Lengauer, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1996**, 10, 41–54.
- [234] *Sybyl*, Tripos, Inc., 1699 South Hanley Road, St. Louis, MO 63144-2319.
- [235] D. Hoffmann, B. Kramer, T. Washio, T. Steinmetzer, M. Rarey, T. Lengauer, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4422–4433.
- [236] P. S. Charifson, J. J. Corkery, M. A. Murcko, W. P. Walters, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 5100–5109.
- [237] R. D. Clark, A. Strizhev, J. M. Leonard, J. F. Blake, J. B. Matthew, *J. Mol. Graph. Model.* **2002**, 20, 281–295.
- [238] J. Bouckaert, J. Berglund, M. Schembri, E. De Genst, L. Cools, M. Wuhrer, C.-S. Hung, J. Pinkner, R. Slättegård, A. Zavialov, D. Choudhury, S. Langermann, S. J. Hultgren, L. Wyns, P. Klemm, S. Oscarson, S. D. Knight, H. De Greve, *Mol. Microbiol.* **2005**, 55, 441–455.
- [239] T. Klein, D. Abgottspon, M. Wittwer, S. Rabbani, J. Herold, X. Jiang, S. Kleeb, C. Lüthi, M. Scharenberg, J. Bezençon, E. Gubler, L. Pang, M. Smiesko, B. Cutting, O. Schwaradt, B. Ernst, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 8627–8641.
- [240] Z. Györgydeák, H. Paulsen, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1977**, 1987–1991.

- [241] G. B. Thomas, L. H. Rader, J. Park, L. Abezgauz, D. Danino, P. DeShong, D. S. English, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5471–5477.
- [242] Y. Kikuchi, H. Toi, Y. Aoyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 1856–1858.
- [243] N. Ferlin, D. Grassi, C. Ojeda, M. J. L. Castro, E. Grand, A. Fernández Cirelli, J. Kovensky, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 839–847.
- [244] B. Sinha, L. J. Bose, *J. Ind. Chem. B* **1991**, *30*, 340–342.
- [245] K. Shinoda, T. Yamanaka, K. Kinoshita, *J. Phys. Chem.* **1959**, *63*, 648–650.
- [246] X. Zhang, T. Kamiya, N. Otsubo, H. Ishida, M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 225–239.
- [247] S. K. Maity, S. K. Dutta, A. K. Banerjee, B. Achari, M. Singh, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 6965–6974.
- [248] S. Cherif, J.-M. Clavel, C. Monneret, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, *17*, 1203–1218.
- [249] H. Franzyk, M. Meldal, H. Paulsen, K. Bock, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 2883–2898.
- [250] G. Lees, P. L. Chazot, H. Vankayalapati, G. Singh, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1759–1761.
- [251] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, J. R. Haak, *J. Chem. Phys.* **1984**, *81*, 3684–3690.
- [252] M. D. Eldridge, C. W. Murray, T. R. Auton, G. V. Paolini, R. P. Mee, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1997**, *11*, 425–445.
- [253] I. D. Kuntz, J. M. Blaney, S. J. Oatley, R. Langridge, T. E. Ferrin, *J. Mol. Biol.* **1982**, *161*, 269–288.
- [254] I. Muegge, Y. C. Martin, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 791–804.
- [255] G. Jones, P. Willett, R. C. Glen, *J. Mol. Biol.* **1995**, *245*, 43–53.

# 7 Anhang

## 7.1 ITC-Messungen reiner und gemischter Glycomizellen

### 7.1.1 ITC-Messkurven reiner Glycomizellen



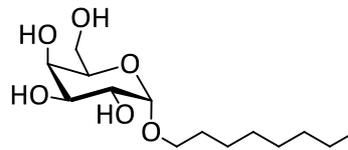
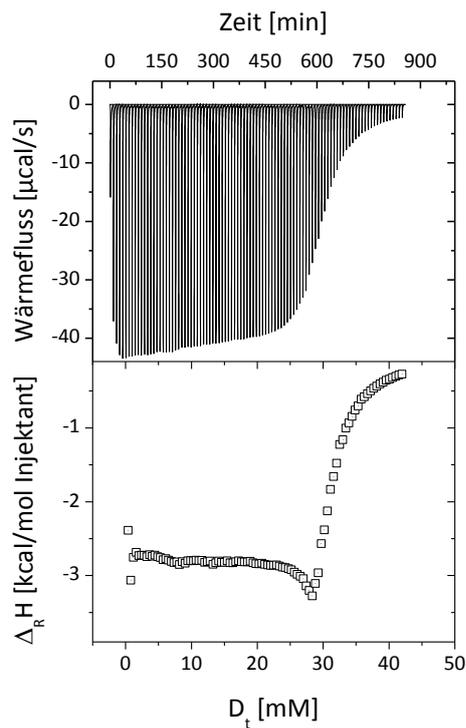
**17**

$c = 123 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

70 Injektionen mit je  $4 \mu\text{L}$

CMC = 9.8 mM

**Abbildung A1:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm von Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**17**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.

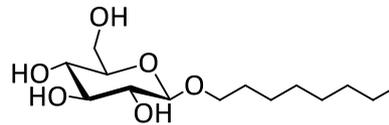
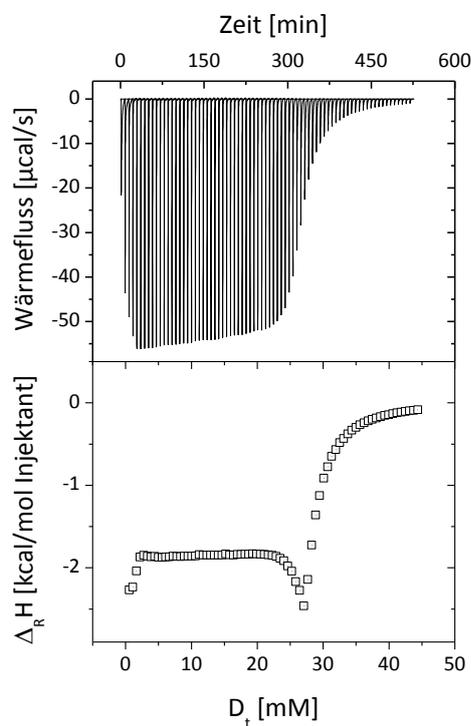
**18**

$c = 189 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

95 Injektionen mit je  $3 \mu\text{L}$

CMC = 29.7 mM

**Abbildung A2:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm von Octyl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (**18**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.

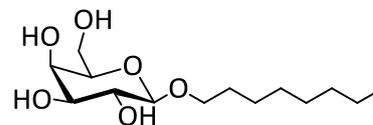
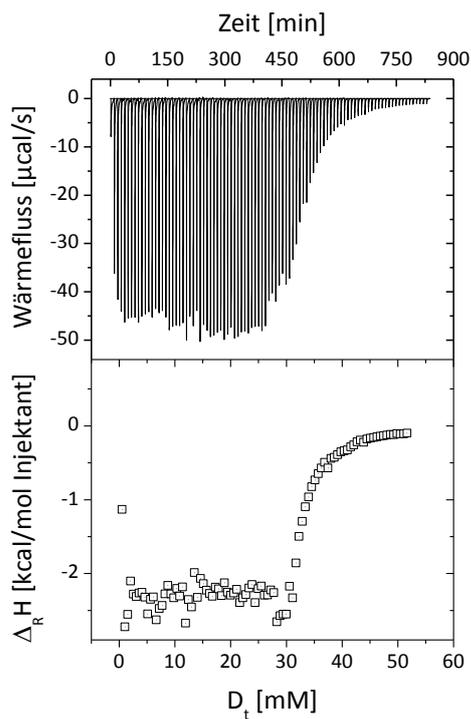
**33**

$c = 258 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

75 Injektionen mit je  $3 \mu\text{L}$

CMC = 28.3 mM

**Abbildung A3:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm von Octyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**33**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.



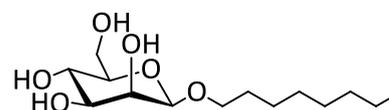
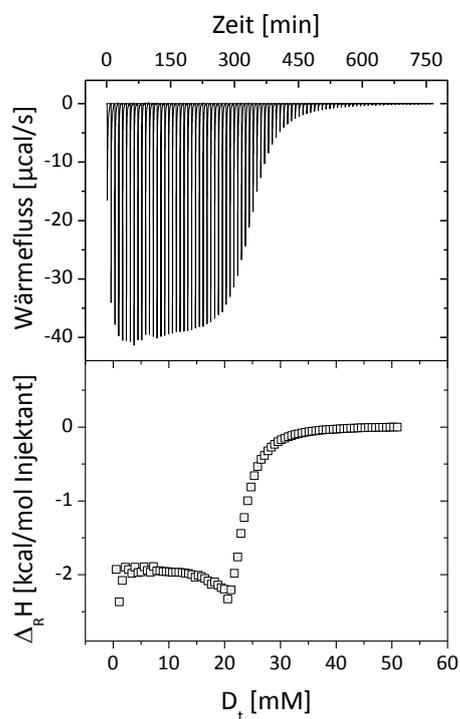
**34**

$c = 238 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

95 Injektionen mit je  $3 \mu\text{L}$

CMC = 31.5 mM

**Abbildung A4:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm von Octyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (**34**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.



**72**

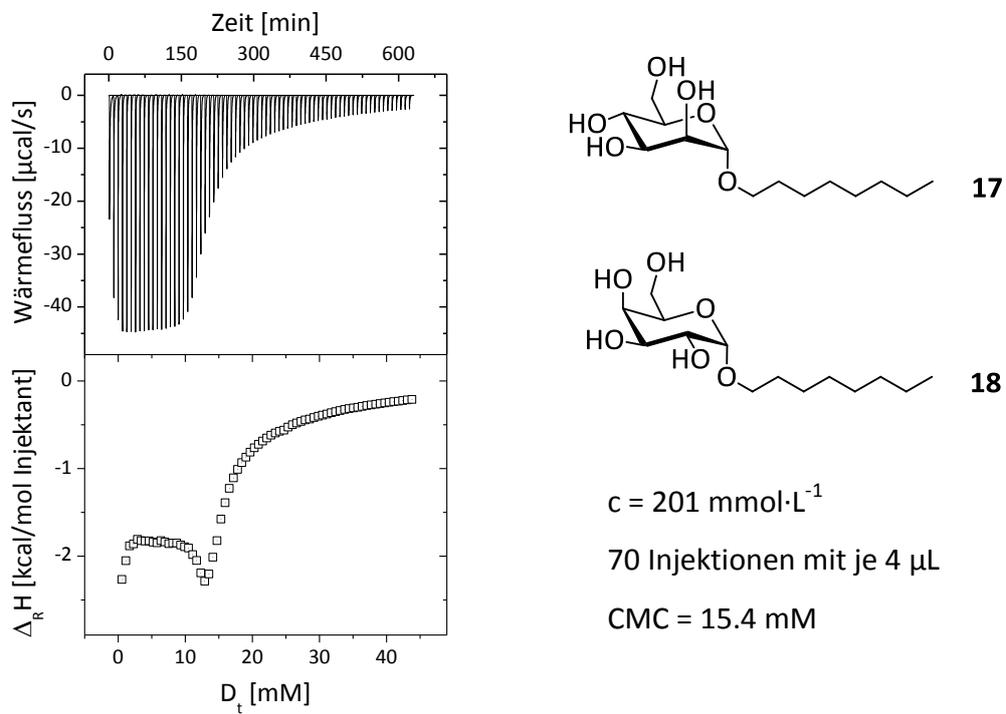
$c = 259 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

85 Injektionen mit je  $3 \mu\text{L}$

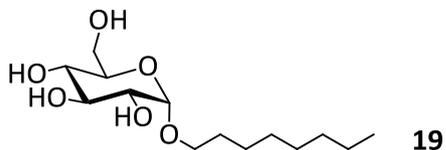
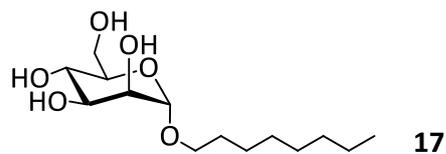
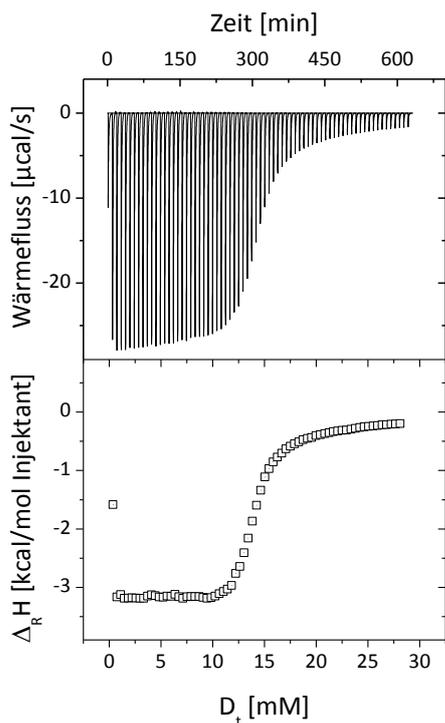
CMC = 22.9 mM

**Abbildung A5:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm von Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosid (**72**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.

## 7.1.2 ITC-Messkurven gemischter Glycomizellen



**Abbildung A6:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm einer gemischten Mizelle aus Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (17) und Octyl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (18) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.

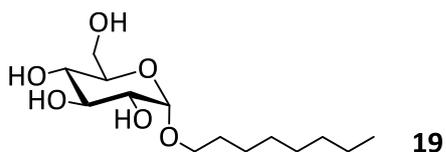
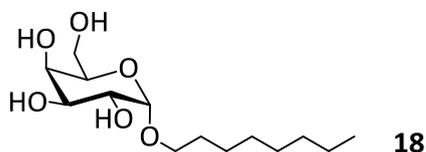
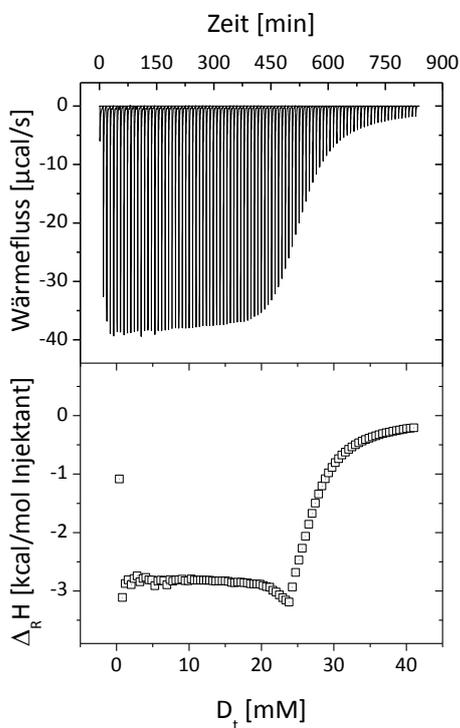


$$c = 129 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$$

70 Injektionen mit je 4  $\mu\text{L}$

$$\text{CMC} = 13.8 \text{ mM}$$

**Abbildung A7:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm einer gemischten Mizelle gemischten Mizelle aus Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**17**) und Octyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**19**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.

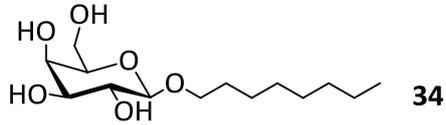
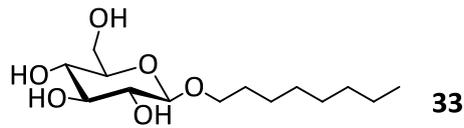
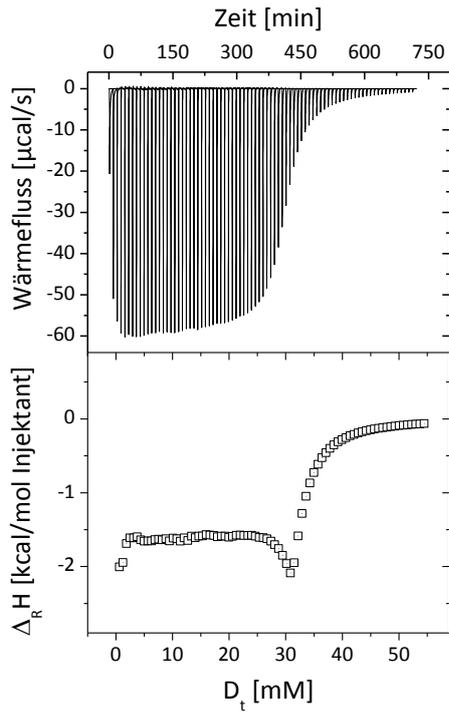


$$c = 189 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$$

95 Injektionen mit je 3  $\mu\text{L}$

$$\text{CMC} = 25.6 \text{ mM}$$

**Abbildung A8:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm einer gemischten Mizelle aus Octyl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (**18**) und Octyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**19**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.

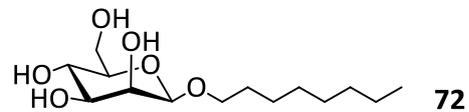
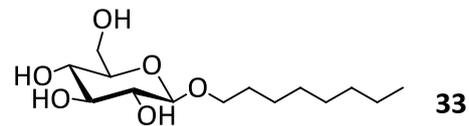
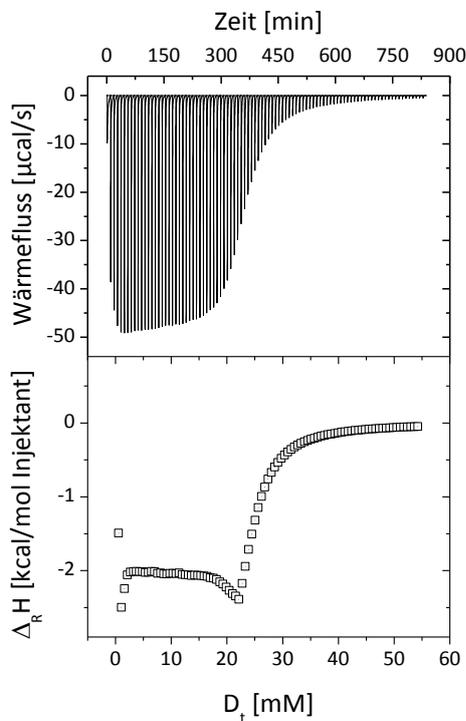


$$c = 238 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

95 Injektionen mit je 3  $\mu\text{L}$

$$\text{CMC} = 31.5 \text{ mM}$$

**Abbildung A9:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm einer gemischten Mizelle aus Octyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**33**) und Octyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (**34**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.

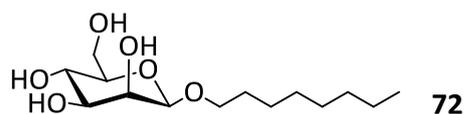
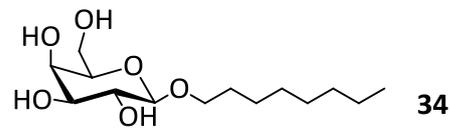
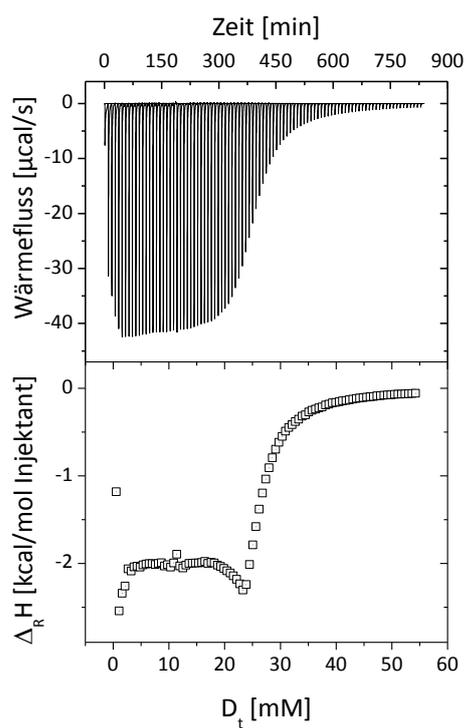


$$c = 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

95 Injektionen mit je 3  $\mu\text{L}$

$$\text{CMC} = 23.3 \text{ mM}$$

**Abbildung A10:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm einer gemischten Mizelle aus Octyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**33**) und Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosid (**72**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.



$c = 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

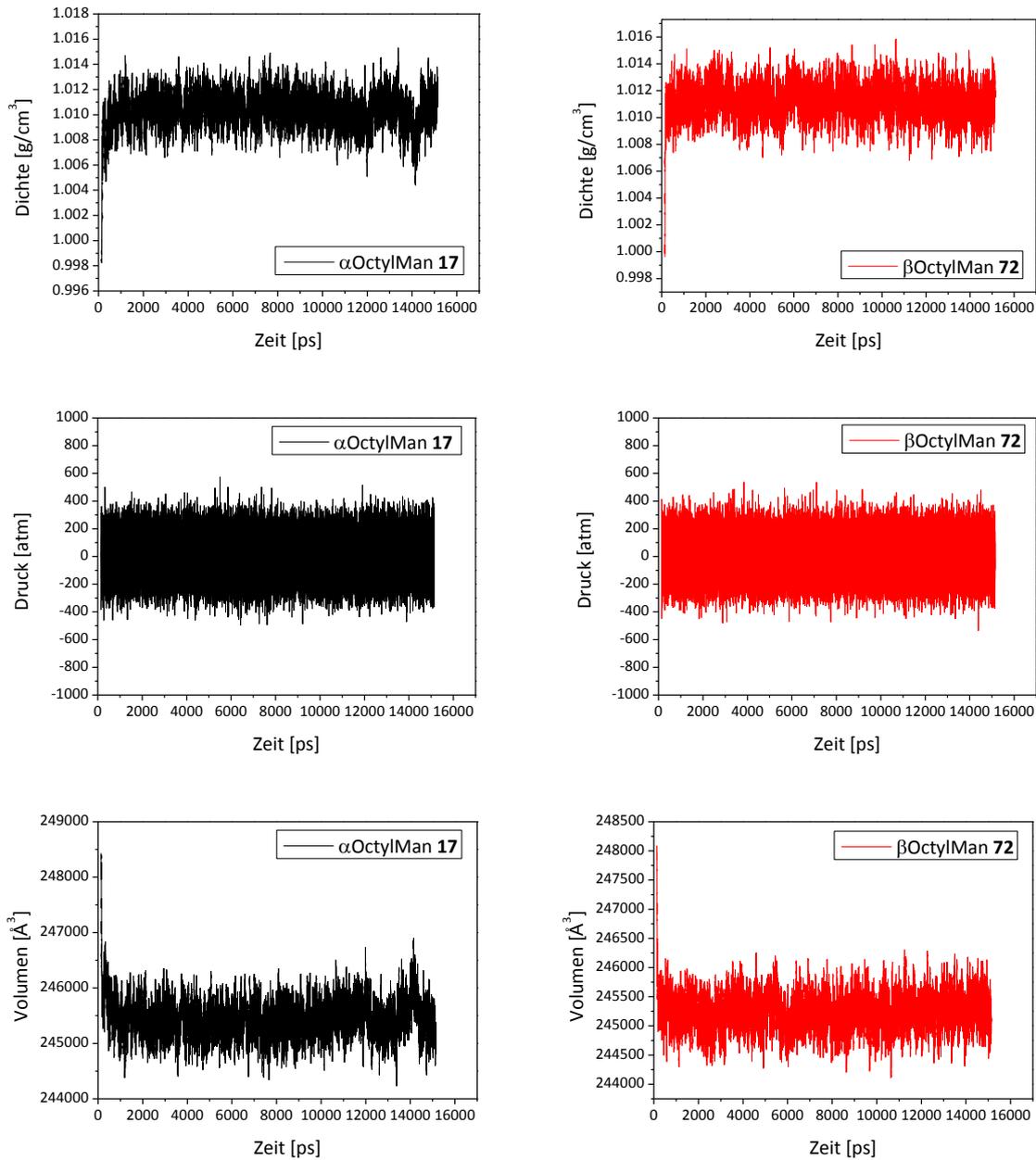
95 Injektionen mit je  $3 \mu\text{L}$

CMC = 24.5 mM

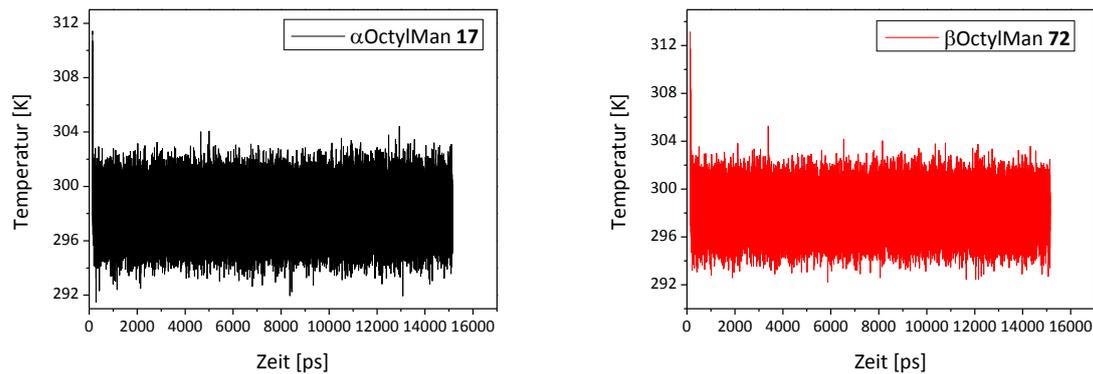
**Abbildung A11:** ITC-Titrationskurve und integriertes Enthalpogramm einer gemischten Mizelle aus Octyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (**34**) und Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosid (**72**) zur Bestimmung der CMC sowie  $\Delta H_{\text{demiz}}$  in Wasser bei 25°C.

## 7.2 Anhang zu den Moleküldynamik-Simulationen

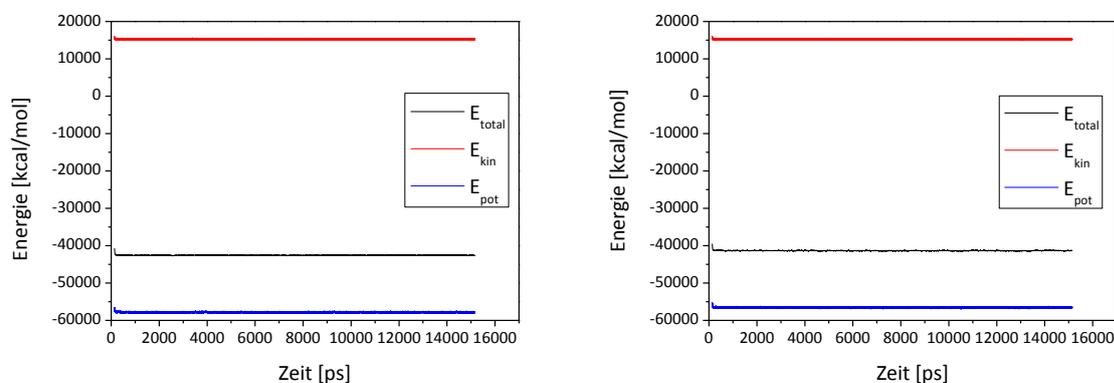
Die Analyse der Stabilität der MD-Simulationen wurde anhand System-relevanter Parameterverläufe durchgeführt.



**Abbildung A12:** Dichte-, Druck und Volumenverlauf der simulierten Mizellsysteme von  $\alpha$ OctylMan 17 (links, schwarz) und  $\beta$ OctylMan 72 (rechts, rot).



**Abbildung A13:** Temperaturverlauf der simulierten Mizellsysteme von  $\alpha$ OctylMan 17 (links, schwarz) und  $\beta$ OctylMan 72 (rechts, rot).



**Abbildung A14:** Energiedaten der simulierten Mizellsysteme von  $\alpha$ OctylMan 17 (links) und  $\beta$ OctylMan 72 (rechts).

## 7.2.1 Startkoordinaten und Input-Dateien zur Erstellung der Mizellstartstrukturen

a) Original pdb-Koordinaten der Monomere

Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid ( $\alpha$ OctylMan 17), a\_man.pdb

```

ATOM      1  C   UNK      1      3.537  1.423 -0.000  1.00  0.00
ATOM      2  H6  UNK      1      3.173  1.204  1.033  1.00  0.00
ATOM      3  H9  UNK      1      2.758  2.028 -0.524  1.00  0.00
ATOM      4  H16 UNK      1      3.655  0.454 -0.545  1.00  0.00
ATOM      5  C1  UNK      1      4.849  2.163  0.042  1.00  0.00
ATOM      6  H   UNK      1      5.624  1.529  0.548  1.00  0.00
ATOM      7  H3  UNK      1      5.208  2.351 -1.004  1.00  0.00
ATOM      8  C2  UNK      1      4.719  3.481  0.775  1.00  0.00
ATOM      9  H1  UNK      1      4.361  3.295  1.822  1.00  0.00
ATOM     10  H2  UNK      1      3.946  4.117  0.269  1.00  0.00
ATOM     11  C4  UNK      1      6.039  4.221  0.814  1.00  0.00
ATOM     12  H4  UNK      1      6.397  4.408 -0.233  1.00  0.00
ATOM     13  H5  UNK      1      6.812  3.584  1.319  1.00  0.00
ATOM     14  C8  UNK      1      5.909  5.538  1.548  1.00  0.00
ATOM     15  H7  UNK      1      5.551  5.352  2.595  1.00  0.00

```

## 7 Anhang

---

ATOM	16	H8	UNK	1	5.136	6.176	1.043	1.00	0.00
ATOM	17	C7	UNK	1	7.230	6.279	1.587	1.00	0.00
ATOM	18	H10	UNK	1	7.586	6.466	0.538	1.00	0.00
ATOM	19	1H1	UNK	1	8.003	5.640	2.091	1.00	0.00
ATOM	20	C6	UNK	1	7.096	7.594	2.321	1.00	0.00
ATOM	21	3H1	UNK	1	6.745	7.418	3.372	1.00	0.00
ATOM	22	H14	UNK	1	6.330	8.241	1.821	1.00	0.00
ATOM	23	C5	UNK	1	8.427	8.324	2.351	1.00	0.00
ATOM	24	H15	UNK	1	8.785	8.550	1.311	1.00	0.00
ATOM	25	H17	UNK	1	9.208	7.716	2.880	1.00	0.00
ATOM	26	O	UNK	1	8.211	9.544	3.058	1.00	0.00
ATOM	27	C1	OMA	2	9.434	10.336	3.150	1.00	0.00
ATOM	28	H1	OMA	2	10.213	9.766	3.681	1.00	0.00
ATOM	29	C2	OMA	2	9.124	11.617	3.914	1.00	0.00
ATOM	30	H2	OMA	2	8.646	11.352	4.875	1.00	0.00
ATOM	31	O2	OMA	2	10.365	12.261	4.131	1.00	0.00
ATOM	32	H2O	OMA	2	10.221	13.156	4.438	1.00	0.00
ATOM	33	C3	OMA	2	8.171	12.500	3.107	1.00	0.00
ATOM	34	H3	OMA	2	7.200	11.990	3.017	1.00	0.00
ATOM	35	O3	OMA	2	8.010	13.755	3.753	1.00	0.00
ATOM	36	H3O	OMA	2	7.496	13.618	4.571	1.00	0.00
ATOM	37	C4	OMA	2	8.689	12.772	1.784	1.00	0.00
ATOM	38	H4	OMA	2	9.584	13.407	1.862	1.00	0.00
ATOM	39	O4	OMA	2	7.691	13.438	1.006	1.00	0.00
ATOM	40	H4O	OMA	2	7.994	14.321	0.794	1.00	0.00
ATOM	41	C5	OMA	2	9.042	11.464	1.077	1.00	0.00
ATOM	42	H5	OMA	2	8.114	10.890	0.905	1.00	0.00
ATOM	43	O5	OMA	2	9.939	10.679	1.876	1.00	0.00
ATOM	44	C6	OMA	2	9.722	11.671	-0.263	1.00	0.00
ATOM	45	1H6	OMA	2	10.620	12.272	-0.103	1.00	0.00
ATOM	46	2H6	OMA	2	9.091	12.311	-0.884	1.00	0.00
ATOM	47	O6	OMA	2	10.066	10.454	-0.894	1.00	0.00
ATOM	48	H6O	OMA	2	9.370	10.233	-1.510	1.00	0.00
TER									
END									

## Octyl- $\beta$ -D-mannopyranosid ( $\beta$ OctylMan 72), b\_man.pdb

ATOM	1	C	UNK	1	6.537	-0.577	1.000	1.00	0.00
ATOM	2	H6	UNK	1	6.173	-0.796	2.033	1.00	0.00
ATOM	3	H9	UNK	1	5.758	0.028	0.476	1.00	0.00
ATOM	4	H16	UNK	1	6.655	-1.546	0.455	1.00	0.00
ATOM	5	C1	UNK	1	7.849	0.163	1.042	1.00	0.00
ATOM	6	H	UNK	1	8.624	-0.471	1.548	1.00	0.00
ATOM	7	H3	UNK	1	8.208	0.351	-0.004	1.00	0.00
ATOM	8	C2	UNK	1	7.719	1.481	1.775	1.00	0.00
ATOM	9	H1	UNK	1	7.361	1.295	2.822	1.00	0.00
ATOM	10	H2	UNK	1	6.946	2.117	1.269	1.00	0.00
ATOM	11	C4	UNK	1	9.039	2.221	1.814	1.00	0.00
ATOM	12	H4	UNK	1	9.397	2.408	0.767	1.00	0.00
ATOM	13	H5	UNK	1	9.812	1.584	2.319	1.00	0.00
ATOM	14	C8	UNK	1	8.909	3.538	2.548	1.00	0.00
ATOM	15	H7	UNK	1	8.551	3.352	3.595	1.00	0.00
ATOM	16	H8	UNK	1	8.136	4.176	2.043	1.00	0.00
ATOM	17	C7	UNK	1	10.230	4.279	2.587	1.00	0.00
ATOM	18	H10	UNK	1	10.586	4.466	1.538	1.00	0.00
ATOM	19	1H1	UNK	1	11.003	3.640	3.091	1.00	0.00
ATOM	20	C6	UNK	1	10.096	5.594	3.321	1.00	0.00
ATOM	21	3H1	UNK	1	9.745	5.418	4.372	1.00	0.00
ATOM	22	H14	UNK	1	9.330	6.241	2.821	1.00	0.00
ATOM	23	C5	UNK	1	11.427	6.324	3.351	1.00	0.00
ATOM	24	H15	UNK	1	11.785	6.550	2.311	1.00	0.00
ATOM	25	H17	UNK	1	12.208	5.716	3.880	1.00	0.00
ATOM	26	O	UNK	1	11.211	7.544	4.058	1.00	0.00
ATOM	27	C1	OMB	2	12.434	8.336	4.150	1.00	0.00
ATOM	28	H1	OMB	2	12.799	8.585	3.140	1.00	0.00
ATOM	29	O5	OMB	2	13.463	7.643	4.825	1.00	0.00
ATOM	30	C5	OMB	2	14.685	8.384	4.958	1.00	0.00
ATOM	31	H5	OMB	2	15.072	8.626	3.951	1.00	0.00
ATOM	32	C6	OMB	2	15.679	7.462	5.637	1.00	0.00
ATOM	33	1H6	OMB	2	16.613	8.010	5.780	1.00	0.00
ATOM	34	2H6	OMB	2	15.277	7.165	6.609	1.00	0.00
ATOM	35	O6	OMB	2	16.007	6.337	4.847	1.00	0.00
ATOM	36	H6O	OMB	2	15.200	5.864	4.653	1.00	0.00
ATOM	37	C4	OMB	2	14.497	9.616	5.718	1.00	0.00

```

ATOM 38 H4 OMB 2 14.233 9.374 6.758 1.00 0.00
ATOM 39 O4 OMB 2 15.727 10.345 5.689 1.00 0.00
ATOM 40 H4O OMB 2 15.886 10.728 6.553 1.00 0.00
ATOM 41 C3 OMB 2 13.394 10.450 5.091 1.00 0.00
ATOM 42 H3 OMB 2 13.738 10.795 4.103 1.00 0.00
ATOM 43 O3 OMB 2 13.129 11.563 5.934 1.00 0.00
ATOM 44 H3O OMB 2 13.974 12.010 6.131 1.00 0.00
ATOM 45 C2 OMB 2 12.124 9.618 4.915 1.00 0.00
ATOM 46 H2 OMB 2 11.434 10.283 4.364 1.00 0.00
ATOM 47 O2 OMB 2 11.640 9.220 6.183 1.00 0.00
ATOM 48 H2O OMB 2 11.192 8.377 6.113 1.00 0.00
TER
END

```

## b) prepin-Datei für die Ocyklkette für das Glycam06-Kraftfeld

```

0 0 2

This is a remark line
molecule.res
UNK INT 0
CORRECT OMIT DU BEG
0.0000
 1 DUMM DU M 0 -1 -2 0.000 .0 .0 .00000
 2 DUMM DU M 1 0 -1 1.449 .0 .0 .00000
 3 DUMM DU M 2 1 0 1.522 111.1 .0 .00000
 4 C CG M 3 2 1 1.540 111.208 180.000 -0.0791
 5 H6 HC E 4 3 2 1.117 70.977 -78.083 0.0133
 6 H9 HC E 4 3 2 1.117 45.866 139.197 0.0133
 7 H16 HC E 4 3 2 1.118 95.957 29.355 0.0133
 8 C1 CG M 4 3 2 1.507 150.621 -176.743 0.0667
 9 H HC E 8 4 3 1.122 109.631 149.197 -0.0147
10 H3 HC E 8 4 3 1.122 109.589 -93.564 -0.0147
11 C2 CG M 8 4 3 1.513 111.525 27.814 0.0338
12 H1 HC E 11 8 4 1.122 109.582 58.613 -0.0110
13 H2 HC E 11 8 4 1.122 109.541 -58.632 -0.0110
14 C4 CG M 11 8 4 1.514 111.336 -179.970 0.0255
15 H4 HC E 14 11 8 1.122 109.586 58.669 -0.0173
16 H5 HC E 14 11 8 1.122 109.532 -58.605 -0.0173
17 C8 CG M 14 11 8 1.513 111.286 -179.956 0.0276
18 H7 HC E 17 14 11 1.122 109.644 58.625 -0.0154
19 H8 HC E 17 14 11 1.122 109.603 -58.691 -0.0154
20 C7 CG M 17 14 11 1.515 111.270 179.991 0.0507
21 H10 HC E 20 17 14 1.123 109.528 58.662 -0.0214
22 H11 HC E 20 17 14 1.122 109.518 -58.580 -0.0214
23 C6 CG M 20 17 14 1.512 111.146 -179.991 0.0478
24 H13 HC E 23 20 17 1.122 110.263 59.053 -0.0013
25 H14 HC E 23 20 17 1.121 110.256 -59.052 -0.0013
26 C5 CG M 23 20 17 1.518 110.501 -179.983 0.1133
27 H15 H1 E 26 23 20 1.123 111.013 60.705 0.0180
28 H17 H1 E 26 23 20 1.122 111.063 -60.583 0.0180
29 O OS M 26 23 20 1.427 106.739 -179.973 -0.3940

LOOP

IMPROPER

DONE
STOP

```

## c) Input-Datei für Packmol

```

tolerance 2.0

structure b-man.pdb
number 92
atoms 1
    insinde sphere 0. 0. 0. 10.
end atoms
atoms 40

```

```
        outside sphere 0. 0. 0. 22
      end atoms
    end structure
  end structure

add_amber_ter

output spherical_b_man_92.pdb
```

### 7.2.2 Input-Dateien und Skripte für die MD-Simulationen

#### a) Energieminimierung mit Wasser

##### Stufe 1: Mit Fixierung der Mizelle

###### ***minsolv\_500.in***

```
Minimisation for solvent
&cntrl
  imin=1,
  maxcyc=500,
  ntp=10,
  ncyc=100,
  ntr=1,
  ntb=1,
  cut=10
/
Hold the micelle fixed
500.0
RES 1 184
END
END
```

###### ***minsolv\_1000.in***

```
Minimisation for solvent second
&cntrl
  imin=1,
  maxcyc=1000,
  ntp=100,
  ncyc=500,
  ntr=1,
  ntb=1,
  cut=10
/
Hold the micelle fixed
500.0
RES 1 184
END
END
```

##### Stufe 2: Ohne Fixierung der Mizelle

###### ***minwhole.in***

```
Minimisation for the entire system micelle and solvent
&cntrl
  imin=1,
  maxcyc=2500,
  ntp=100,
  ncyc=1000,
  ntr=0,
  ntb=1,
  cut=10
/
```

---

## b) Äquilibrierungsphase

### Stufe 1: Heizphase

#### ***md1\_heat.in***

```
manb92 heating 40ps md run with weak restrains on the micelle
&cntrl
  imin = 0,  irest = 0,
  ntb  = 1,
  cut  = 10,
  ntr  = 1,
  ntc  = 2,
  ntf  = 2,
  tempi = 0.0,
  temp0 = 298.15,
  ntt  = 3,
  gamma_ln = 25.0,
  nstlim = 20000, dt = 0.002,
  ntpr = 100, ntwx = 100, ntwr = 1000,
/
Keep the micelle fixed with weak restrains
10.0
RES 1 184
END
END
```

### Stufe 2: Äquilibrierung der Dichte

#### ***md\_density92.in***

```
manb92 equilibration of the density of the system

&cntrl
  imin = 0,
  irest = 1,
  ntx = 7,
  ntb = 2,
  igb = 0,
  cut = 10,
  ntr = 0,
  ntc = 2,
  ntf = 2,
  temp0 = 298.15,
  ntt = 3,
  tautp = 3.0,
  nstlim = 50000, dt = 0.002,
  ntp = 1,
  pres0 = 1,
  taup = 3.0,
  comp = 44.6,
  ntpr = 100, ntwx = 100, ntwr = 1000,
  scnb = 2.0, scee = 1.2,
  dielc = 1.0
/
```

## c) Produktionslauf (1-15ns)

### Beispiel-Input-Datei für eine 1 ns Simulation

#### ***manb92\_1ns.in***

```
manb92 1ns md run
&cntrl
  imin = 0,
  irest = 1,
  ntx = 7,
```

```

ntb = 2,
igb = 0,
cut = 10,
ntr = 0,
ntc = 2,
ntf = 2,
temp0 = 298.15,
ntt = 1,
tautp = 3.0,
nstlim = 500000, dt = 0.002,
ntp = 1,
pres0 = 1,
taup = 3.0,
comp = 44.6,
ntr = 100, ntwx = 100, ntwr = 1000,
scnb = 2.0, scee = 1.2,
dielc = 1.0
/

```

#### d) VMD-Skript zur Berechnung der Solvens-zugänglichen Moleküloberfläche

[http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/mailling\\_list/vmd-l/5038.html](http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/mailling_list/vmd-l/5038.html)

```

# version 1.2
# calculate SASA for every residue of a selection
# usage: getAllResSASA "selection" probe_radius <startframe <endframe>>

proc getAllResSASA { selection radius args } {
  puts "SASA value calculator for $selection residues, probe radius $radius"

  # get number of frames
  set numframes [molinfo top get numframes]
  puts "total number of frames in trajectory: $numframes"
  if {[llength $args] == 0} {
    set startframe 1
    set endframe $numframes
  }
  if {[llength $args] == 1} {
    set startframe [lindex $args 0]
    set endframe $numframes
    set stepframe 1
    if {$startframe <= 0 || $startframe > $numframes} {
      puts "illegal value of startframe, changing to first frame"
      set startframe 1
    }
  }
  if {[llength $args] >= 2} {
    set startframe [lindex $args 0]
    set endframe [lindex $args 1]
    if {$startframe <= 0 || $startframe > $numframes} {
      puts "illegal value of startframe, changing to first frame"
      set startframe 1
    }
    if {$endframe < $startframe || $endframe > $numframes} {
      puts "illegal value of endframe, changing to last frame"
      set endframe $numframes
    }
  }
}

set totframes [expr ($endframe - $startframe + 1)]
puts "analysis will be performed on $totframes frame(s) ($startframe to $endframe)"

# get list of residues
set allsel [atomselect top $selection]
set residlist [lsort -unique -integer [ $allsel get residue ]]

# resid map for every atom
set allResid [ $allsel get residue ]
# resname map for every atom
set allResname [ $allsel get resname ]
# create resid->resname map
foreach resID $allResid resNAME $allResname {
  set mapResidResname($resID) $resNAME
}

```

---

```

# set sasa for every residue to 0.0
foreach r $residlist {
  set resSASA($r) 0.0
  # puts "setting 0.0 for residue $r"
}

# now subtract 1 from all frame indexes - numbering starts with 0
set startframe [expr $startframe - 1]
set endframe [expr $endframe - 1]

puts "go and get coffee..."
for {set i $startframe; set d 1} {$i <= $endframe} {incr i; incr d} {
  # show activity - one dot for every frame
  puts -nonewline "."
  if { [expr $d % 50] == 0 } {
    puts " "
  }
  flush stdout

  $allsel frame $i
  $allsel update

  foreach r $residlist {
    set sel [atomselect top "residue $r" frame $i]
    set rsasa [measure sasa $radius $allsel -restrict $sel]
    # set user value for this frame
    $sel set user $rsasa
    $sel delete
    set valuesasa 0.0
    foreach {tmp valuesasa} [split [array get resSASA $r] ] break
    # puts "residue $r, sasa: $rsasa, old: $valuesasa"
    # if sasa is above threshold, store it
    #if {$rsasa >= $sasa_limit} {
    set resSASA($r) [ expr { $valuesasa + $rsasa/$totframes} ]
    # }
  }
}

set fw [open "res_sasa.dat" w]
foreach r $residlist {
  foreach {tmp resName} [split [array get mapResidResname $r] ] break
  foreach {tmp valuesasa} [split [array get resSASA $r] ] break
  puts $fw "$r $resName $valuesasa"
}
close $fw
puts "done"

# uncomment following code to change coloring method to "user based"
#mol modcolor 0 [molinfo top] User
#mol colupdate 0 [molinfo top] 1
#mol scaleminmax [molinfo top] 0 auto
}

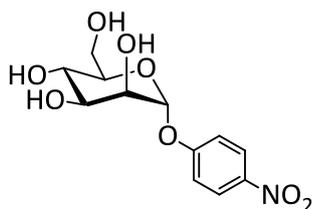
```

### 7.3 Docking-Ergebnisse von FlexX

Die Docking-Tabellen sind veröffentlicht in den Supporting Information in:

C. Grabosch, M. Hartmann, J. Schmidt-Lassen, T. K. Lindhorst, *ChemBioChem* **2011**, *12*, 1066–1074.

#### pNPMan



Energy for molecule :

```

Bond Stretching Energy :    3.873
Angle Bending Energy   :   13.389
Torsional Energy       :   13.087
Str-Bend Energy        :    1.050
Out of Plane Bending Energy :  0.001
1-4 van der Waals Energy :  35.391
van der Waals Energy   :    0.909
1-4 Electrostatic Energy : 198.453
Electrostatic Energy   : -116.700
=====

```

Total Energy : 149.453 kcal/mol

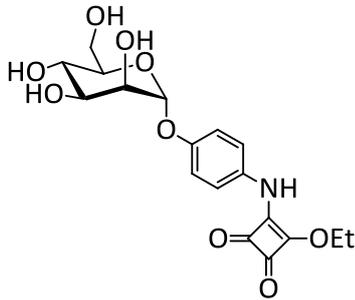
#### „open-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total	Match-	Lipo-	Ambig-	Clash-	Rot-	RMS-	Simil.	#Match	Avg.	Max.	Frag.
	Score	Score	Score	Score	Score	Score	Value	Index		Volume	Volume	No.
1	-25.041	-29.376	-5.925	-7.561	2.621	9.800	0.000	-1.000	15	0.142	0.526	1
2	-24.598	-28.966	-5.302	-7.550	2.019	9.800	0.557	-1.000	16	0.122	0.637	1
3	-24.580	-26.211	-7.595	-7.068	1.094	9.800	2.783	-1.000	12	0.055	0.324	1
4	-24.549	-26.417	-7.503	-7.116	1.288	9.800	3.161	-1.000	12	0.056	0.406	1
5	-24.463	-29.820	-5.497	-7.745	3.400	9.800	0.588	-1.000	16	0.221	1.481	1
6	-24.149	-27.161	-6.156	-6.752	0.720	9.800	3.352	-1.000	13	0.022	0.186	1
7	-23.967	-27.211	-6.200	-6.765	1.010	9.800	3.775	-1.000	13	0.037	0.236	1
8	-23.860	-27.035	-6.585	-7.528	2.088	9.800	2.986	-1.000	15	0.133	1.136	1
9	-23.721	-28.712	-4.703	-6.805	1.299	9.800	1.099	-1.000	16	0.098	0.648	1
10	-23.537	-27.480	-6.120	-7.069	1.933	9.800	2.545	-1.000	15	0.116	1.199	1
11	-23.144	-27.933	-5.587	-8.070	3.246	9.800	1.129	-1.000	15	0.242	1.108	1
12	-23.047	-28.484	-4.961	-7.195	2.393	9.800	0.425	-1.000	17	0.183	1.802	1
13	-23.010	-27.199	-7.139	-6.882	3.010	9.800	0.528	-1.000	16	0.251	1.567	1
14	-22.962	-26.554	-6.299	-6.506	1.197	9.800	3.352	-1.000	13	0.069	0.940	1
15	-22.504	-26.600	-5.815	-7.501	2.213	9.800	1.266	-1.000	16	0.159	1.655	1
16	-22.346	-26.372	-6.021	-6.517	1.364	9.800	3.648	-1.000	13	0.082	1.249	1
17	-22.287	-25.722	-5.942	-6.574	0.750	9.800	1.286	-1.000	15	0.028	0.355	1
18	-22.020	-25.051	-5.889	-6.913	0.633	9.800	2.076	-1.000	11	0.024	0.284	1
19	-22.009	-25.837	-5.447	-6.837	0.912	9.800	1.355	-1.000	16	0.038	0.380	1
20	-21.272	-25.565	-4.892	-6.704	0.689	9.800	3.203	-1.000	11	0.027	0.280	1
21	-21.267	-27.030	-4.215	-6.740	1.517	9.800	1.527	-1.000	14	0.104	0.644	1
22	-21.260	-25.445	-4.706	-6.969	0.660	9.800	2.759	-1.000	12	0.026	0.362	1
23	-21.240	-26.696	-4.660	-6.434	1.350	9.800	1.567	-1.000	15	0.094	0.633	1
24	-21.152	-25.293	-6.390	-6.916	2.247	9.800	3.145	-1.000	10	0.121	1.070	1
25	-21.019	-26.537	-3.879	-6.912	1.109	9.800	2.914	-1.000	9	0.072	0.431	1
26	-20.917	-26.510	-7.006	-5.031	2.430	9.800	1.742	-1.000	12	0.131	0.935	1
27	-20.791	-25.058	-5.117	-7.017	1.201	9.800	1.888	-1.000	13	0.054	0.336	1
28	-20.387	-24.816	-4.649	-6.868	0.746	9.800	2.426	-1.000	12	0.027	0.331	1
29	-20.280	-26.050	-6.568	-5.496	2.634	9.800	2.246	-1.000	10	0.130	0.885	1
30	-20.244	-25.255	-5.933	-7.466	3.210	9.800	1.138	-1.000	16	0.210	0.996	1

**„closed-gate“-FimH-Kristallstruktur**

No.	Total Score	Match Score	Lipo Score	Ambig Score	Clash Score	Rot Score	RMS Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-29.340	-31.628	-6.457	-7.777	1.322	9.800	0.000	-1.000	15	0.048	0.318	1
2	-28.995	-30.850	-6.891	-7.217	0.762	9.800	1.303	-1.000	13	0.034	0.279	1
3	-28.817	-30.802	-7.008	-6.905	0.698	9.800	0.580	-1.000	13	0.028	0.248	1
4	-27.601	-31.025	-6.505	-6.599	1.328	9.800	1.117	-1.000	15	0.057	0.380	1
5	-27.188	-28.649	-7.647	-8.438	2.346	9.800	2.440	-1.000	11	0.154	0.913	1
6	-26.105	-28.015	-6.895	-8.408	2.013	9.800	1.766	-1.000	11	0.129	0.835	1
7	-26.086	-29.478	-5.938	-6.725	0.855	9.800	0.700	-1.000	11	0.034	0.237	1
8	-25.990	-27.921	-7.620	-7.541	1.892	9.800	1.982	-1.000	11	0.092	0.377	1
9	-25.535	-28.108	-6.738	-8.142	2.253	9.800	1.908	-1.000	11	0.152	1.054	1
10	-25.105	-29.524	-6.104	-6.109	1.432	9.800	1.813	-1.000	14	0.064	0.381	1
11	-24.756	-29.522	-5.750	-7.085	2.401	9.800	1.331	-1.000	14	0.172	0.852	1
12	-24.604	-29.168	-5.832	-6.178	1.374	9.800	1.245	-1.000	12	0.059	0.305	1
13	-24.398	-27.499	-6.877	-8.236	3.014	9.800	1.348	-1.000	12	0.191	1.019	1
14	-24.238	-28.647	-7.382	-8.449	5.040	9.800	1.274	-1.000	14	0.356	2.291	1
15	-23.750	-28.571	-5.150	-5.919	0.691	9.800	1.245	-1.000	12	0.030	0.223	1
16	-23.377	-28.740	-5.430	-6.929	2.523	9.800	1.766	-1.000	12	0.193	0.997	1
17	-23.271	-28.830	-5.666	-5.901	1.926	9.800	2.860	-1.000	11	0.092	0.389	1
18	-23.138	-28.056	-5.052	-6.080	0.850	9.800	2.817	-1.000	9	0.034	0.192	1
19	-23.051	-28.063	-4.958	-5.975	0.745	9.800	1.640	-1.000	10	0.034	0.289	1
20	-22.748	-27.808	-4.895	-5.976	0.731	9.800	2.702	-1.000	9	0.031	0.231	1
21	-22.608	-27.656	-5.561	-6.855	2.264	9.800	1.642	-1.000	11	0.168	0.758	1
22	-22.556	-28.160	-5.805	-5.920	2.128	9.800	2.840	-1.000	11	0.102	0.396	1
23	-22.391	-28.356	-5.593	-5.798	2.156	9.800	3.190	-1.000	11	0.111	0.675	1
24	-22.315	-27.942	-5.286	-5.641	1.354	9.800	2.250	-1.000	10	0.059	0.322	1
25	-22.253	-28.103	-5.384	-5.362	1.396	9.800	1.637	-1.000	10	0.059	0.364	1
26	-22.207	-27.349	-4.624	-6.240	0.806	9.800	2.421	-1.000	8	0.034	0.227	1
27	-22.172	-27.783	-4.342	-5.964	0.717	9.800	1.297	-1.000	9	0.030	0.234	1
28	-22.165	-27.308	-4.817	-5.988	0.748	9.800	2.375	-1.000	9	0.030	0.213	1
29	-22.063	-27.794	-5.363	-5.383	1.278	9.800	2.147	-1.000	10	0.053	0.299	1
30	-21.971	-27.717	-4.235	-6.035	0.815	9.800	1.659	-1.000	8	0.036	0.263	1

## Mannosylquadratsäuremonoamid 73



Energy for molecule :

```

Bond Stretching Energy :    5.084
Angle Bending Energy :   31.606
Torsional Energy :       16.137
Str-Bend Energy :        -1.195
Out of Plane Bending Energy :    0.029
1-4 van der Waals Energy :   37.748
van der Waals Energy :     0.895
1-4 Electrostatic Energy :  226.229
Electrostatic Energy :  -114.988
=====
Total Energy :   201.546 kcal/mol

```

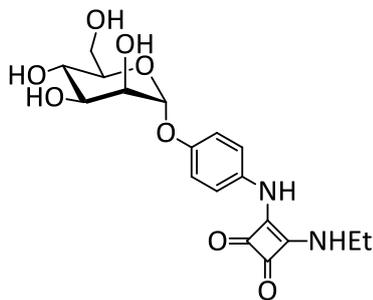
## „open-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total Score	Match Score	Lipo Score	Ambig Score	Clash Score	Rot Score	RMS Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-29.565	-35.827	-6.264	-7.641	2.168	12.600	0.000	-1.000	17	0.090	0.561	1
2	-29.523	-35.827	-6.210	-7.654	2.168	12.600	0.637	-1.000	17	0.090	0.561	1
3	-29.520	-35.827	-6.207	-7.654	2.168	12.600	0.727	-1.000	17	0.090	0.561	1
4	-29.510	-35.827	-6.210	-7.641	2.168	12.600	0.794	-1.000	17	0.090	0.561	1
5	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.771	-1.000	17	0.090	0.561	1
6	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.639	-1.000	17	0.090	0.561	1
7	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.464	-1.000	17	0.090	0.561	1
8	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.965	-1.000	17	0.090	0.561	1
9	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.950	-1.000	17	0.090	0.561	1
10	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.795	-1.000	17	0.090	0.561	1
11	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.871	-1.000	17	0.090	0.561	1
12	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.520	-1.000	17	0.090	0.561	1
13	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.355	-1.000	17	0.090	0.561	1
14	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.912	-1.000	17	0.090	0.561	1
15	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.747	-1.000	17	0.090	0.561	1
16	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.794	-1.000	17	0.090	0.561	1
17	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.670	-1.000	17	0.090	0.561	1
18	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.326	-1.000	17	0.090	0.561	1
19	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.457	-1.000	17	0.090	0.561	1
20	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.939	-1.000	17	0.090	0.561	1
21	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.482	-1.000	17	0.090	0.561	1
22	-29.508	-35.827	-6.207	-7.641	2.168	12.600	0.384	-1.000	17	0.090	0.561	1
23	-29.250	-33.865	-7.487	-9.314	3.416	12.600	2.791	-1.000	18	0.198	1.415	1
24	-29.216	-33.865	-7.291	-9.476	3.416	12.600	2.870	-1.000	18	0.198	1.415	1
25	-29.216	-33.865	-7.291	-9.476	3.416	12.600	2.882	-1.000	18	0.198	1.415	1
26	-29.216	-33.865	-7.291	-9.476	3.416	12.600	2.809	-1.000	18	0.198	1.415	1
27	-29.198	-33.865	-7.291	-9.458	3.416	12.600	2.847	-1.000	18	0.198	1.415	1
28	-29.193	-33.865	-7.457	-9.335	3.464	12.600	2.950	-1.000	18	0.198	1.415	1
29	-29.172	-33.865	-7.573	-9.335	3.601	12.600	2.790	-1.000	18	0.202	1.415	1
30	-29.163	-33.947	-7.791	-9.165	3.741	12.600	3.043	-1.000	19	0.208	1.415	1

**„closed-gate“-FimH-Kristallstruktur**

No.	Total Score	Match Score	Lipo Score	Ambig Score	Clash Score	Rot Score	RMS Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-33.086	-38.994	-7.822	-7.803	3.533	12.600	0.000	-1.000	16	0.176	1.244	1
2	-33.071	-38.994	-7.807	-7.803	3.533	12.600	0.141	-1.000	16	0.176	1.244	1
3	-33.071	-38.994	-7.807	-7.803	3.533	12.600	0.472	-1.000	16	0.176	1.244	1
4	-33.052	-38.994	-7.807	-7.785	3.533	12.600	0.646	-1.000	16	0.176	1.244	1
5	-33.052	-38.994	-7.807	-7.785	3.533	12.600	0.320	-1.000	16	0.176	1.244	1
6	-33.052	-38.994	-7.807	-7.785	3.533	12.600	0.210	-1.000	16	0.176	1.244	1
7	-33.052	-38.994	-7.807	-7.785	3.533	12.600	0.407	-1.000	16	0.176	1.244	1
8	-32.792	-35.382	-8.356	-8.062	1.009	12.600	2.331	-1.000	15	0.026	0.260	1
9	-32.549	-34.973	-8.430	-8.252	1.107	12.600	2.378	-1.000	15	0.032	0.394	1
10	-32.303	-38.406	-7.637	-8.125	3.865	12.600	0.733	-1.000	16	0.216	1.528	1
11	-32.140	-38.406	-7.637	-7.962	3.865	12.600	0.555	-1.000	16	0.216	1.528	1
12	-31.969	-35.538	-7.839	-7.648	1.056	12.600	0.885	-1.000	14	0.032	0.284	1
13	-31.906	-35.057	-7.841	-8.008	1.000	12.600	2.330	-1.000	15	0.026	0.265	1
14	-31.881	-35.538	-7.803	-7.595	1.056	12.600	0.861	-1.000	14	0.032	0.284	1
15	-31.863	-34.924	-8.342	-8.029	1.432	12.600	2.304	-1.000	16	0.035	0.259	1
16	-31.819	-34.399	-8.474	-8.070	1.124	12.600	2.353	-1.000	14	0.031	0.393	1
17	-31.799	-35.305	-7.840	-8.021	1.367	12.600	2.407	-1.000	16	0.043	0.551	1
18	-31.797	-35.538	-7.662	-7.653	1.056	12.600	1.009	-1.000	14	0.032	0.284	1
19	-31.750	-34.965	-7.996	-7.909	1.120	12.600	2.213	-1.000	15	0.030	0.301	1
20	-31.714	-34.777	-7.748	-8.185	0.996	12.600	2.480	-1.000	14	0.025	0.260	1
21	-31.709	-37.681	-8.510	-8.481	4.963	12.600	0.960	-1.000	16	0.310	2.022	1
22	-31.674	-35.341	-7.485	-8.106	1.257	12.600	2.516	-1.000	16	0.039	0.505	1
23	-31.671	-35.538	-7.705	-7.484	1.056	12.600	0.793	-1.000	14	0.032	0.284	1
24	-31.660	-37.681	-8.510	-8.432	4.963	12.600	0.686	-1.000	16	0.310	2.022	1
25	-31.657	-34.654	-7.931	-8.128	1.056	12.600	2.475	-1.000	14	0.029	0.350	1
26	-31.653	-35.316	-7.425	-8.181	1.269	12.600	2.570	-1.000	16	0.039	0.508	1
27	-31.631	-35.538	-7.633	-7.515	1.056	12.600	0.901	-1.000	14	0.032	0.284	1
28	-31.609	-35.538	-7.643	-7.484	1.056	12.600	0.844	-1.000	14	0.032	0.284	1
29	-31.529	-34.856	-7.690	-8.075	1.092	12.600	2.363	-1.000	15	0.029	0.297	1
30	-31.508	-35.110	-7.591	-8.138	1.331	12.600	1.261	-1.000	15	0.046	0.320	1

## Mannosylquadratsäurediamid 74



Energy for molecule :

```

Bond Stretching Energy :    5.257
Angle Bending Energy   :   29.811
Torsional Energy       :   16.557
Str-Bend Energy        :    -1.182
Out of Plane Bending  Energy :   -0.045
1-4 van der Waals Energy :   36.639
van der Waals Energy   :    0.422
1-4 Electrostatic Energy :  270.206
Electrostatic Energy   : -136.205
=====
Total Energy : 221.460 kcal/mol

```

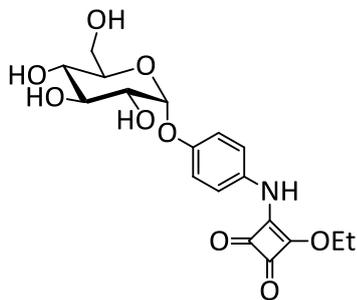
## „open-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total Score	Match-Score	Lipo-Score	Ambig-Score	Clash-Score	Rot-Score	RMS-Value	Simil.-Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag.No.
1	-30.932	-33.726	-7.872	-8.809	2.875	11.200	0.000	-1.000	17	0.128	0.751	1
2	-30.915	-35.812	-6.245	-7.628	2.170	11.200	2.276	-1.000	17	0.091	0.592	1
3	-30.915	-35.812	-6.245	-7.628	2.170	11.200	2.323	-1.000	17	0.091	0.592	1
4	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.517	-1.000	17	0.091	0.592	1
5	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.326	-1.000	17	0.091	0.592	1
6	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.215	-1.000	17	0.091	0.592	1
7	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.112	-1.000	17	0.091	0.592	1
8	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.176	-1.000	17	0.091	0.592	1
9	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.349	-1.000	17	0.091	0.592	1
10	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.528	-1.000	17	0.091	0.592	1
11	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.480	-1.000	17	0.091	0.592	1
12	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.194	-1.000	17	0.091	0.592	1
13	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.561	-1.000	17	0.091	0.592	1
14	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.545	-1.000	17	0.091	0.592	1
15	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.101	-1.000	17	0.091	0.592	1
16	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.516	-1.000	17	0.091	0.592	1
17	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.263	-1.000	17	0.091	0.592	1
18	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.582	-1.000	17	0.091	0.592	1
19	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.389	-1.000	17	0.091	0.592	1
20	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.280	-1.000	17	0.091	0.592	1
21	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.495	-1.000	17	0.091	0.592	1
22	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.537	-1.000	17	0.091	0.592	1
23	-30.895	-35.812	-6.225	-7.628	2.170	11.200	2.439	-1.000	17	0.091	0.592	1
24	-30.570	-33.330	-7.683	-9.335	3.178	11.200	1.958	-1.000	17	0.168	0.962	1
25	-30.407	-33.083	-7.072	-9.597	2.744	11.200	2.081	-1.000	19	0.122	1.015	1
26	-30.406	-33.083	-7.072	-9.596	2.744	11.200	2.029	-1.000	19	0.122	1.015	1
27	-30.392	-33.083	-7.072	-9.582	2.744	11.200	2.062	-1.000	19	0.122	1.015	1
28	-30.279	-33.083	-7.072	-9.469	2.744	11.200	1.980	-1.000	19	0.122	1.015	1
29	-30.203	-33.083	-7.217	-9.427	2.923	11.200	2.139	-1.000	19	0.126	1.015	1
30	-29.925	-33.726	-7.446	-8.704	3.352	11.200	0.276	-1.000	17	0.147	0.751	1

**„closed-gate“-FimH-Kristallstruktur**

No.	Total Score	Match-Score	Lipo-Score	Ambig-Score	Clash-Score	Rot-Score	RMS-Value	Simil.-Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag.No.
1	-35.291	-34.591	-11.003	-8.145	1.849	11.200	0.000	-1.000	15	0.073	0.653	1
2	-34.764	-34.988	-10.592	-7.399	1.615	11.200	1.011	-1.000	14	0.057	0.416	1
3	-34.482	-33.856	-10.988	-8.318	2.079	11.200	0.363	-1.000	12	0.076	0.543	1
4	-34.309	-33.856	-10.783	-8.349	2.079	11.200	0.529	-1.000	12	0.076	0.543	1
5	-34.294	-35.242	-8.436	-8.177	0.961	11.200	3.461	-1.000	15	0.023	0.194	1
6	-34.259	-36.370	-9.875	-7.145	2.531	11.200	1.093	-1.000	13	0.123	1.909	1
7	-34.089	-33.856	-10.721	-8.191	2.079	11.200	0.383	-1.000	12	0.076	0.543	1
8	-34.076	-35.198	-8.181	-8.188	0.890	11.200	3.482	-1.000	15	0.020	0.150	1
9	-33.771	-34.944	-8.129	-8.228	0.930	11.200	3.563	-1.000	14	0.023	0.181	1
10	-33.705	-34.134	-10.668	-7.814	2.311	11.200	0.236	-1.000	13	0.095	0.645	1
11	-33.654	-34.749	-10.008	-7.318	1.821	11.200	1.086	-1.000	14	0.061	0.400	1
12	-33.584	-34.036	-10.713	-7.951	2.516	11.200	1.099	-1.000	13	0.105	0.803	1
13	-33.571	-33.770	-11.218	-8.301	3.118	11.200	1.139	-1.000	13	0.121	0.598	1
14	-33.516	-34.984	-8.240	-8.081	1.189	11.200	3.548	-1.000	15	0.029	0.255	1
15	-33.388	-35.403	-10.205	-7.593	3.213	11.200	1.235	-1.000	13	0.132	1.540	1
16	-33.239	-35.059	-7.763	-7.990	0.972	11.200	3.924	-1.000	15	0.025	0.262	1
17	-33.159	-34.589	-8.034	-8.213	1.076	11.200	3.687	-1.000	14	0.029	0.363	1
18	-33.115	-34.036	-10.007	-7.711	2.040	11.200	1.064	-1.000	13	0.077	0.626	1
19	-33.020	-35.161	-7.501	-8.121	1.163	11.200	3.802	-1.000	15	0.035	0.470	1
20	-32.970	-33.770	-10.553	-7.969	2.722	11.200	1.129	-1.000	13	0.101	0.598	1
21	-32.939	-34.837	-7.722	-8.089	1.110	11.200	3.980	-1.000	15	0.030	0.308	1
22	-32.924	-34.351	-9.824	-8.075	2.725	11.200	0.803	-1.000	14	0.097	0.566	1
23	-32.896	-34.351	-10.020	-8.263	3.139	11.200	0.837	-1.000	14	0.142	1.427	1
24	-32.850	-34.534	-7.850	-8.129	1.062	11.200	3.850	-1.000	14	0.028	0.327	1
25	-32.828	-35.022	-7.578	-7.844	1.016	11.200	3.848	-1.000	15	0.026	0.274	1
26	-32.792	-34.990	-7.626	-7.884	1.107	11.200	3.868	-1.000	15	0.029	0.298	1
27	-32.783	-34.351	-9.419	-8.110	2.497	11.200	0.834	-1.000	14	0.091	0.566	1
28	-32.750	-35.112	-7.638	-7.507	0.907	11.200	4.129	-1.000	14	0.030	0.293	1
29	-32.743	-34.482	-7.889	-7.991	1.018	11.200	3.969	-1.000	14	0.025	0.242	1
30	-32.710	-31.923	-10.933	-7.386	0.933	11.200	1.057	-1.000	15	0.026	0.260	1

## Glucosylquadratsäuremonoamid 75



Energy for molecule : glc\_ph\_squaric\_ethyl\_min

```

Bond Stretching Energy :    5.153
Angle Bending Energy   :   31.525
Torsional Energy       :   16.720
Str-Bend Energy        :   -1.149
Out of Plane Bending  :    0.045
1-4 van der Waals     :   37.103
van der Waals Energy   :    1.146
1-4 Electrostatic     :  221.476
Electrostatic Energy   : -103.808
=====
Total Energy : 208.211 kcal/mol

```

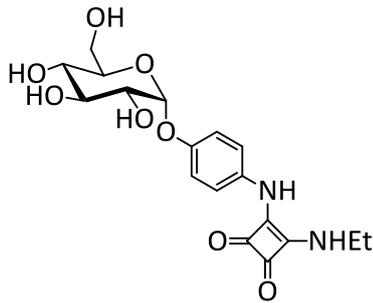
## „open-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total Score	Match- Score	Lipo- Score	Ambig- Score	Clash- Score	Rot- Score	RMS- Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-17.266	-26.133	-6.191	-4.388	1.446	12.600	0.000	-1.000	13	0.095	1.056	3
2	-15.424	-25.591	-7.013	-6.450	5.629	12.600	2.056	-1.000	14	0.404	2.216	3
3	-15.132	-24.623	-6.550	-6.103	4.144	12.600	1.787	-1.000	10	0.252	1.439	3
4	-14.966	-24.354	-6.559	-6.148	4.094	12.600	1.861	-1.000	10	0.245	1.345	3
5	-14.952	-25.475	-6.948	-6.248	5.719	12.600	1.993	-1.000	13	0.447	2.156	3
6	-14.391	-25.670	-5.432	-5.419	4.130	12.600	2.975	-1.000	13	0.294	2.001	3
7	-14.391	-25.670	-5.432	-5.419	4.130	12.600	2.852	-1.000	13	0.294	2.001	3
8	-14.335	-24.407	-5.904	-5.333	3.310	12.600	1.889	-1.000	12	0.139	0.789	3
9	-14.166	-24.702	-6.298	-5.812	4.646	12.600	1.862	-1.000	11	0.276	1.576	3
10	-14.077	-24.628	-5.958	-5.479	3.988	12.600	2.000	-1.000	14	0.203	2.352	3
11	-14.061	-24.344	-6.107	-5.989	4.379	12.600	3.225	-1.000	12	0.320	1.704	3
12	-14.060	-24.640	-7.039	-6.124	5.743	12.600	2.287	-1.000	11	0.434	2.025	3
13	-13.999	-24.222	-5.947	-5.277	3.448	12.600	2.141	-1.000	11	0.143	0.961	3
14	-13.962	-23.894	-6.679	-5.732	4.343	12.600	1.874	-1.000	10	0.256	1.414	3
15	-13.892	-24.652	-7.132	-6.292	6.184	12.600	3.177	-1.000	13	0.541	2.396	3
16	-13.884	-24.846	-5.882	-5.491	4.335	12.600	1.969	-1.000	11	0.232	1.846	3
17	-13.701	-24.838	-5.720	-5.720	4.577	12.600	1.939	-1.000	13	0.327	2.280	3
18	-13.647	-24.344	-6.107	-5.575	4.379	12.600	3.122	-1.000	12	0.320	1.704	3
19	-13.640	-25.272	-5.351	-5.190	4.173	12.600	2.979	-1.000	13	0.300	2.141	3
20	-13.640	-25.272	-5.351	-5.190	4.173	12.600	3.094	-1.000	13	0.300	2.141	3
21	-13.614	-24.050	-5.240	-5.901	3.577	12.600	2.060	-1.000	12	0.207	2.303	3
22	-13.557	-23.608	-6.669	-5.402	4.122	12.600	2.116	-1.000	10	0.245	1.563	3
23	-13.428	-24.704	-5.730	-5.217	4.224	12.600	3.111	-1.000	11	0.231	2.051	3
24	-13.417	-23.686	-6.218	-6.056	4.543	12.600	3.077	-1.000	13	0.325	1.794	3
25	-13.408	-24.750	-6.852	-5.807	6.002	12.600	2.265	-1.000	12	0.482	2.308	3
26	-13.403	-24.704	-5.730	-5.192	4.224	12.600	3.031	-1.000	11	0.231	2.051	3
27	-13.403	-24.704	-5.730	-5.192	4.224	12.600	3.086	-1.000	11	0.231	2.051	3
28	-13.277	-24.050	-5.240	-5.564	3.577	12.600	2.044	-1.000	12	0.207	2.303	3
29	-13.222	-24.155	-6.863	-6.085	5.881	12.600	3.307	-1.000	12	0.497	2.230	3
30	-13.198	-24.251	-5.574	-6.383	5.009	12.600	2.265	-1.000	10	0.311	2.188	3

**„closed-gate“-FimH-Kristallstruktur**

No.	Total Score	Match- Score	Lipo- Score	Ambig- Score	Clash- Score	Rot- Score	RMS- Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-14.253	-22.262	-5.470	-6.303	1.782	12.600	0.000	-1.000	7	0.067	0.621	2
2	-14.140	-22.262	-5.470	-6.190	1.782	12.600	0.438	-1.000	7	0.067	0.621	2
3	-13.949	-22.262	-5.300	-6.170	1.782	12.600	0.141	-1.000	7	0.067	0.621	2
4	-13.916	-22.262	-5.470	-5.966	1.782	12.600	0.438	-1.000	7	0.067	0.621	2
5	-13.836	-22.262	-5.300	-6.057	1.782	12.600	0.460	-1.000	7	0.067	0.621	2
6	-13.679	-22.262	-5.538	-6.047	2.168	12.600	0.724	-1.000	7	0.078	0.621	2
7	-13.612	-22.262	-5.300	-5.833	1.782	12.600	0.460	-1.000	7	0.067	0.621	2
8	-13.605	-22.262	-5.368	-6.038	2.063	12.600	0.378	-1.000	7	0.077	0.621	2
9	-13.566	-22.262	-5.538	-5.933	2.168	12.600	0.847	-1.000	7	0.078	0.621	2
10	-13.492	-22.262	-5.368	-5.925	2.063	12.600	0.579	-1.000	7	0.077	0.621	2
11	-13.485	-22.262	-5.362	-6.012	2.152	12.600	0.376	-1.000	7	0.074	0.621	2
12	-13.463	-22.402	-4.122	-5.668	0.728	12.600	0.741	-1.000	6	0.016	0.204	2
13	-13.432	-22.262	-5.198	-6.035	2.063	12.600	0.522	-1.000	7	0.077	0.621	2
14	-13.372	-22.262	-5.362	-5.899	2.152	12.600	0.577	-1.000	7	0.074	0.621	2
15	-13.342	-22.262	-5.538	-5.710	2.168	12.600	0.847	-1.000	7	0.078	0.621	2
16	-13.319	-22.262	-5.198	-5.921	2.063	12.600	0.681	-1.000	7	0.077	0.621	2
17	-13.293	-22.402	-4.122	-5.498	0.728	12.600	0.799	-1.000	6	0.016	0.204	2
18	-13.268	-22.262	-5.368	-5.701	2.063	12.600	0.579	-1.000	7	0.077	0.621	2
19	-13.245	-22.262	-5.300	-5.997	2.313	12.600	0.141	-1.000	7	0.087	0.621	2
20	-13.227	-22.402	-4.244	-5.309	0.728	12.600	0.797	-1.000	6	0.016	0.204	2
21	-13.161	-21.315	-4.526	-5.831	0.511	12.600	1.048	-1.000	6	0.010	0.124	2
22	-13.146	-22.402	-4.074	-5.399	0.728	12.600	0.767	-1.000	6	0.016	0.204	2
23	-13.134	-21.315	-4.381	-5.949	0.511	12.600	1.048	-1.000	6	0.010	0.124	2
24	-13.130	-22.262	-5.233	-5.698	2.063	12.600	0.616	-1.000	7	0.077	0.621	2
25	-13.122	-21.315	-4.356	-5.963	0.511	12.600	1.115	-1.000	6	0.010	0.124	2
26	-13.100	-23.102	-5.503	-5.807	3.312	12.600	24.023	-1.000	11	0.178	1.049	2
27	-13.015	-21.315	-4.647	-5.947	0.894	12.600	1.316	-1.000	6	0.029	0.528	2
28	-12.941	-22.549	-5.540	-5.689	2.836	12.600	24.019	-1.000	11	0.150	1.119	2
29	-12.927	-23.161	-5.196	-5.478	2.909	12.600	24.074	-1.000	11	0.154	1.054	2
30	-12.885	-22.118	-4.469	-5.444	1.146	12.600	1.318	-1.000	6	0.042	0.701	2

## Glucosylquadratsäurediamid 76



Energy for molecule:

```

Bond Stretching Energy :    5.320
Angle Bending Energy   :   29.616
Torsional Energy       :   17.179
Str-Bend Energy        :   -1.123
Out of Plane Bending  :   -0.031
1-4 van der Waals Energy :   36.001
van der Waals Energy   :    0.746
1-4 Electrostatic Energy :  265.482
Electrostatic Energy   : -125.007
=====
Total Energy :  228.183 kcals/mol

```

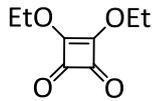
## „open-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total Score	Match- Score	Lipo- Score	Ambig- Score	Clash- Score	Rot- Score	RMS- Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-14.146	-24.664	-6.787	-5.756	6.461	11.200	0.000	-1.000	12	0.459	1.946	3
2	-13.240	-22.339	-5.939	-5.231	3.669	11.200	2.575	-1.000	14	0.221	2.385	3
3	-13.169	-24.088	-6.781	-5.711	6.812	11.200	0.961	-1.000	13	0.528	2.332	3
4	-12.839	-22.646	-6.277	-4.705	4.188	11.200	3.540	-1.000	12	0.231	2.189	3
5	-12.776	-23.227	-5.351	-4.866	4.068	11.200	2.929	-1.000	13	0.259	1.528	3
6	-12.391	-22.754	-5.759	-4.616	4.139	11.200	1.266	-1.000	14	0.279	1.774	3
7	-12.365	-21.845	-5.738	-5.220	3.838	11.200	2.530	-1.000	14	0.236	1.680	3
8	-12.104	-22.554	-4.709	-4.614	3.172	11.200	2.972	-1.000	13	0.178	1.531	3
9	-12.014	-22.926	-5.321	-5.175	4.808	11.200	3.184	-1.000	13	0.311	2.087	3
10	-12.014	-22.926	-5.321	-5.175	4.808	11.200	3.186	-1.000	13	0.311	2.087	3
11	-12.014	-22.926	-5.321	-5.175	4.808	11.200	3.162	-1.000	13	0.311	2.087	3
12	-11.941	-22.465	-5.638	-4.523	4.084	11.200	3.124	-1.000	13	0.277	1.883	3
13	-11.920	-22.098	-6.247	-5.002	4.827	11.200	2.636	-1.000	14	0.313	2.369	3
14	-11.920	-22.098	-6.247	-5.002	4.827	11.200	2.641	-1.000	14	0.313	2.369	3
15	-11.905	-21.934	-5.365	-4.510	3.304	11.200	3.444	-1.000	13	0.162	1.091	3
16	-11.905	-21.934	-5.365	-4.510	3.304	11.200	3.416	-1.000	13	0.162	1.091	3
17	-11.728	-20.940	-5.952	-5.110	3.673	11.200	2.969	-1.000	13	0.189	0.899	3
18	-11.707	-20.483	-5.427	-5.506	3.109	11.200	2.416	-1.000	13	0.196	1.329	3
19	-11.703	-22.482	-4.327	-4.713	3.219	11.200	2.801	-1.000	13	0.169	1.401	3
20	-11.662	-21.865	-6.052	-5.061	4.717	11.200	3.538	-1.000	13	0.281	2.304	3
21	-11.652	-20.996	-6.111	-4.733	3.588	11.200	3.203	-1.000	11	0.217	1.715	3
22	-11.368	-22.248	-6.121	-4.564	4.965	11.200	2.474	-1.000	11	0.292	1.876	3
23	-11.254	-21.527	-6.618	-5.424	5.715	11.200	3.030	-1.000	13	0.399	2.304	3
24	-11.244	-20.996	-6.111	-4.233	3.497	11.200	3.293	-1.000	11	0.216	1.715	3
25	-11.162	-22.215	-5.966	-5.067	5.487	11.200	3.163	-1.000	13	0.426	2.433	3
26	-11.162	-22.215	-5.966	-5.067	5.487	11.200	3.111	-1.000	13	0.426	2.433	3
27	-11.056	-20.725	-5.376	-4.681	3.126	11.200	3.165	-1.000	11	0.135	0.820	3
28	-11.056	-20.725	-5.376	-4.681	3.126	11.200	3.224	-1.000	11	0.135	0.820	3
29	-11.025	-21.034	-6.150	-4.379	3.937	11.200	3.557	-1.000	11	0.208	1.260	3
30	-11.025	-21.034	-6.150	-4.379	3.937	11.200	3.588	-1.000	11	0.208	1.260	3

**„closed-gate“-FimH-Kristallstruktur**

No.	Total Score	Match Score	Lipo Score	Ambig Score	Clash Score	Rot Score	RMS Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-18.983	-27.157	-4.857	-6.037	2.468	11.200	0.000	-1.000	7	0.105	0.990	3
2	-18.422	-27.157	-4.941	-6.217	3.293	11.200	0.540	-1.000	7	0.161	1.478	3
3	-18.225	-27.157	-4.425	-6.253	3.010	11.200	0.140	-1.000	7	0.117	0.990	3
4	-17.160	-24.118	-5.402	-5.509	1.268	11.200	11.436	-1.000	6	0.083	1.081	1
5	-17.071	-23.852	-5.053	-6.199	1.433	11.200	11.097	-1.000	7	0.084	0.900	1
6	-16.987	-24.147	-4.463	-6.111	1.134	11.200	11.141	-1.000	6	0.079	1.104	1
7	-16.742	-24.311	-4.524	-6.332	1.826	11.200	11.038	-1.000	6	0.099	1.006	1
8	-16.670	-24.118	-5.033	-5.418	1.298	11.200	11.410	-1.000	6	0.083	1.081	1
9	-16.538	-21.783	-6.519	-5.838	1.003	11.200	12.140	-1.000	7	0.037	0.353	2
10	-16.529	-21.783	-6.565	-5.783	1.003	11.200	12.151	-1.000	7	0.037	0.353	2
11	-16.528	-23.791	-4.501	-5.872	1.037	11.200	11.149	-1.000	6	0.077	1.010	1
12	-16.502	-26.774	-3.419	-5.325	2.416	11.200	2.880	-1.000	8	0.127	1.566	3
13	-16.502	-26.774	-3.419	-5.325	2.416	11.200	2.898	-1.000	8	0.127	1.566	3
14	-16.502	-26.774	-3.419	-5.325	2.416	11.200	2.882	-1.000	8	0.127	1.566	3
15	-16.493	-24.147	-4.449	-5.631	1.134	11.200	11.163	-1.000	6	0.079	1.104	1
16	-16.474	-24.118	-4.783	-5.442	1.268	11.200	11.379	-1.000	6	0.083	1.081	1
17	-16.419	-21.783	-6.507	-5.732	1.003	11.200	12.184	-1.000	7	0.037	0.353	2
18	-16.417	-26.774	-3.550	-5.469	2.777	11.200	2.924	-1.000	8	0.145	1.566	3
19	-16.417	-26.774	-3.550	-5.469	2.777	11.200	2.922	-1.000	8	0.145	1.566	3
20	-16.389	-21.783	-6.588	-5.621	1.003	11.200	12.186	-1.000	7	0.037	0.353	2
21	-16.335	-21.783	-6.483	-5.672	1.003	11.200	12.165	-1.000	7	0.037	0.353	2
22	-16.292	-21.783	-6.519	-5.592	1.003	11.200	12.029	-1.000	7	0.037	0.353	2
23	-16.283	-21.783	-6.565	-5.538	1.003	11.200	12.041	-1.000	7	0.037	0.353	2
24	-16.280	-24.118	-4.777	-5.254	1.268	11.200	11.419	-1.000	6	0.083	1.081	1
25	-16.248	-24.154	-4.043	-5.832	1.182	11.200	11.304	-1.000	6	0.077	0.914	1
26	-16.244	-24.147	-4.456	-5.496	1.254	11.200	11.122	-1.000	6	0.081	1.104	1
27	-16.239	-21.783	-6.621	-5.521	1.087	11.200	12.147	-1.000	7	0.037	0.353	2
28	-16.213	-24.154	-4.161	-5.680	1.182	11.200	11.247	-1.000	6	0.077	0.914	1
29	-16.198	-21.783	-6.519	-5.498	1.003	11.200	12.115	-1.000	7	0.037	0.353	2
30	-16.189	-21.783	-6.565	-5.443	1.003	11.200	12.126	-1.000	7	0.037	0.353	2

## DES



Energy for molecule : eto\_sa\_oet

```

Bond Stretching Energy :    1.633
Angle Bending Energy   :   19.463
Torsional Energy       :   -5.573
Str-Bend Energy        :   -1.408
Out of Plane Bending  :    0.000
1-4 van der Waals Energy :    8.814
van der Waals Energy   :    0.040
1-4 Electrostatic Energy :  61.827
Electrostatic Energy   :   -5.248
=====
Total Energy :    79.549 kcal/mol

```

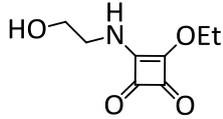
## „open-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total Score	Match-Score	Lipo-Score	Ambig-Score	Clash-Score	Rot-Score	RMS-Value	Simil.-Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-10.056	-13.546	-6.513	-6.842	5.845	5.600	0.000	-1.000	5	0.805	2.107	1
2	-10.055	-13.546	-6.514	-6.841	5.847	5.600	0.001	-1.000	5	0.805	2.106	0
3	-9.740	-13.546	-5.700	-6.613	5.120	5.600	0.503	-1.000	5	0.741	2.107	1
4	-9.738	-13.546	-5.699	-6.613	5.121	5.600	0.503	-1.000	5	0.741	2.106	0
5	-9.639	-13.728	-5.447	-6.775	5.311	5.600	0.347	-1.000	6	0.754	2.107	1
6	-9.635	-13.724	-5.447	-6.773	5.310	5.600	0.347	-1.000	6	0.754	2.106	0
7	-9.557	-14.246	-5.875	-6.460	6.024	5.600	0.734	-1.000	6	0.924	2.107	1
8	-9.555	-14.246	-5.874	-6.460	6.025	5.600	0.735	-1.000	6	0.924	2.106	0
9	-9.330	-12.350	-5.415	-5.909	3.344	5.600	3.859	-1.000	4	0.634	2.332	1
10	-9.330	-12.346	-5.419	-5.910	3.345	5.600	3.859	-1.000	4	0.634	2.332	0
11	-9.327	-14.274	-5.746	-6.460	6.153	5.600	0.670	-1.000	7	0.994	2.474	0
12	-9.321	-14.271	-5.743	-6.460	6.154	5.600	0.670	-1.000	7	0.995	2.483	1
13	-9.216	-13.930	-6.128	-6.543	6.386	5.600	0.719	-1.000	3	0.963	2.114	3
14	-9.213	-13.930	-6.128	-6.542	6.387	5.600	0.719	-1.000	6	0.963	2.117	2
15	-9.022	-13.666	-5.947	-6.195	5.786	5.600	0.705	-1.000	6	0.856	2.114	3
16	-9.017	-13.662	-5.949	-6.194	5.788	5.600	0.706	-1.000	6	0.856	2.117	2
17	-9.000	-12.579	-5.837	-6.122	4.539	5.600	3.936	-1.000	4	0.853	2.332	0
18	-8.996	-12.579	-5.835	-6.122	4.541	5.600	3.936	-1.000	4	0.853	2.332	1
19	-8.948	-13.770	-5.613	-6.796	6.231	5.600	0.435	-1.000	6	0.880	2.106	0
20	-8.944	-13.770	-5.615	-6.796	6.236	5.600	0.435	-1.000	6	0.881	2.107	1
21	-8.898	-11.967	-5.339	-6.062	3.470	5.600	3.871	-1.000	3	0.648	2.332	0
22	-8.897	-11.967	-5.338	-6.062	3.470	5.600	3.871	-1.000	3	0.648	2.332	1
23	-8.766	-12.226	-5.735	-6.062	4.257	5.600	4.009	-1.000	4	0.773	2.332	0
24	-8.763	-12.226	-5.734	-6.062	4.259	5.600	4.009	-1.000	4	0.774	2.332	1
25	-8.687	-13.787	-5.644	-6.831	6.575	5.600	0.357	-1.000	6	0.963	2.106	0
26	-8.686	-13.787	-5.646	-6.833	6.580	5.600	0.358	-1.000	6	0.964	2.107	1
27	-8.640	-11.967	-5.597	-5.892	3.815	5.600	3.924	-1.000	3	0.709	2.332	1
28	-8.535	-12.155	-5.613	-5.990	4.223	5.600	3.836	-1.000	4	0.820	2.332	0
29	-8.495	-12.175	-5.741	-6.072	4.493	5.600	4.056	-1.000	4	0.863	2.332	0
30	-8.492	-12.174	-5.739	-6.072	4.493	5.600	4.056	-1.000	4	0.863	2.332	1

**„closed-gate“-FimH-Kristallstruktur**

No.	Total Score	Match- Score	Lipo- Score	Ambig- Score	Clash- Score	Rot- Score	RMS- Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-9.088	-15.722	-3.725	-3.860	3.219	5.600	0.000	-1.000	6	0.787	2.113	3
2	-9.084	-15.720	-3.726	-3.858	3.219	5.600	0.001	-1.000	6	0.788	2.113	2
3	-9.060	-15.654	-3.764	-4.033	3.390	5.600	0.483	-1.000	6	0.763	1.952	3
4	-9.060	-15.654	-3.764	-4.032	3.390	5.600	0.483	-1.000	6	0.763	1.953	2
5	-8.958	-13.298	-5.130	-5.299	3.769	5.600	6.814	-1.000	3	0.626	2.394	3
6	-8.955	-13.293	-5.132	-5.301	3.771	5.600	6.813	-1.000	3	0.626	2.387	2
7	-8.945	-15.722	-3.582	-3.787	3.146	5.600	0.433	-1.000	6	0.787	2.113	3
8	-8.941	-15.720	-3.581	-3.787	3.147	5.600	0.433	-1.000	6	0.787	2.113	2
9	-8.835	-15.722	-3.603	-3.702	3.192	5.600	0.589	-1.000	6	0.787	2.113	3
10	-8.832	-15.720	-3.604	-3.701	3.193	5.600	0.589	-1.000	6	0.787	2.113	2
11	-8.807	-15.654	-3.486	-3.954	3.287	5.600	0.762	-1.000	6	0.767	1.953	2
12	-8.805	-15.654	-3.485	-3.954	3.288	5.600	0.762	-1.000	6	0.767	1.952	3
13	-8.760	-15.654	-3.807	-4.064	3.764	5.600	0.749	-1.000	6	0.838	1.952	3
14	-8.759	-15.654	-3.807	-4.064	3.764	5.600	0.749	-1.000	6	0.838	1.953	2
15	-8.748	-15.654	-3.587	-3.850	3.342	5.600	0.869	-1.000	6	0.758	1.953	2
16	-8.746	-15.654	-3.586	-3.850	3.343	5.600	0.870	-1.000	6	0.757	1.952	3
17	-8.741	-15.722	-3.467	-3.782	3.230	5.600	0.789	-1.000	6	0.789	2.113	3
18	-8.740	-15.720	-3.468	-3.782	3.230	5.600	0.789	-1.000	6	0.789	2.113	2
19	-8.731	-15.722	-3.518	-3.637	3.146	5.600	0.347	-1.000	6	0.787	2.113	3
20	-8.727	-15.720	-3.517	-3.637	3.147	5.600	0.347	-1.000	6	0.787	2.113	2
21	-8.726	-15.654	-3.723	-3.635	3.286	5.600	0.539	-1.000	6	0.750	1.953	2
22	-8.705	-15.654	-3.883	-4.081	3.913	5.600	0.522	-1.000	6	0.814	1.952	3
23	-8.675	-15.722	-3.602	-3.888	3.537	5.600	0.434	-1.000	6	0.831	2.113	3
24	-8.671	-15.720	-3.602	-3.887	3.538	5.600	0.434	-1.000	6	0.831	2.113	2
25	-8.639	-13.298	-5.563	-5.186	4.408	5.600	6.769	-1.000	3	0.627	2.394	3
26	-8.628	-13.293	-5.564	-5.188	4.417	5.600	6.768	-1.000	3	0.629	2.387	2
27	-8.401	-15.654	-3.533	-3.979	3.764	5.600	0.746	-1.000	6	0.838	1.953	2
28	-8.329	-15.722	-3.300	-3.499	3.192	5.600	0.417	-1.000	6	0.787	2.113	3
29	-8.325	-15.720	-3.300	-3.498	3.193	5.600	0.417	-1.000	6	0.787	2.113	2
30	-8.296	-15.654	-3.428	-3.979	3.764	5.600	0.730	-1.000	6	0.838	1.952	3

## Quadratsäuremonoamid 77



Energy for molecule:

```

Bond Stretching Energy :    1.972
Angle Bending Energy   :   18.485
Torsional Energy       :   -2.756
Str-Bend Energy        :   -1.363
Out of Plane Bending  :   -0.113
1-4 van der Waals Energy :    7.887
van der Waals Energy   :   -0.274
1-4 Electrostatic Energy : 159.348
Electrostatic Energy   :  -55.821
=====
Total Energy : 127.363 kcals/mol

```

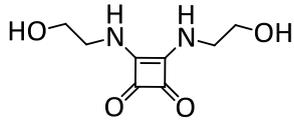
## „open-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total Score	Match-Score	Lipo-Score	Ambig-Score	Clash-Score	Rot-Score	RMS-Value	Simil.-Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-17.470	-22.285	-4.097	-5.132	1.644	7.000	0.000	-1.000	6	0.245	0.905	0
2	-17.123	-22.176	-4.337	-4.905	1.896	7.000	0.564	-1.000	7	0.271	1.393	0
3	-16.930	-21.601	-4.421	-5.346	2.037	7.000	0.774	-1.000	5	0.298	1.027	0
4	-16.376	-22.271	-4.466	-5.133	3.094	7.000	0.722	-1.000	7	0.426	1.326	0
5	-16.244	-22.112	-3.765	-4.542	1.776	7.000	0.599	-1.000	6	0.316	2.290	0
6	-16.181	-22.493	-4.150	-5.044	3.106	7.000	0.702	-1.000	7	0.395	1.420	0
7	-16.002	-19.688	-5.943	-5.794	3.022	7.000	4.014	-1.000	7	0.428	1.812	2
8	-15.963	-22.435	-4.389	-5.017	3.478	7.000	0.596	-1.000	7	0.449	1.341	0
9	-15.560	-22.298	-4.813	-5.049	4.201	7.000	0.818	-1.000	7	0.640	2.283	0
10	-15.211	-21.482	-4.556	-4.424	2.851	7.000	0.674	-1.000	7	0.353	1.612	0
11	-14.979	-21.513	-4.256	-4.381	2.770	7.000	0.546	-1.000	7	0.349	1.632	0
12	-14.684	-21.651	-4.291	-5.382	4.240	7.000	0.549	-1.000	7	0.662	2.450	0
13	-14.646	-18.537	-6.350	-5.991	3.833	7.000	4.450	-1.000	6	0.461	2.294	2
14	-14.634	-21.177	-4.561	-4.805	3.510	7.000	0.604	-1.000	8	0.487	1.746	0
15	-14.544	-21.113	-4.235	-5.624	4.029	7.000	0.889	-1.000	7	0.612	1.985	0
16	-14.541	-18.926	-6.035	-5.998	4.018	7.000	4.470	-1.000	7	0.474	2.294	2
17	-14.490	-20.477	-4.822	-4.855	3.263	7.000	0.798	-1.000	7	0.469	1.746	0
18	-14.260	-21.599	-4.596	-5.109	4.645	7.000	3.100	-1.000	6	0.651	1.953	1
19	-14.245	-19.287	-4.494	-4.619	1.755	7.000	0.696	-1.000	7	0.231	1.028	0
20	-14.203	-20.782	-3.974	-4.855	3.008	7.000	0.628	-1.000	7	0.381	1.909	0
21	-14.049	-21.258	-3.929	-5.275	4.014	7.000	1.033	-1.000	7	0.713	2.336	0
22	-13.935	-20.775	-4.144	-4.854	3.438	7.000	0.471	-1.000	7	0.454	1.909	0
23	-13.779	-20.070	-4.390	-6.049	4.330	7.000	3.954	-1.000	6	0.678	1.861	2
24	-13.756	-20.008	-4.421	-5.447	3.721	7.000	3.920	-1.000	6	0.643	1.954	2
25	-13.738	-18.856	-5.208	-5.296	3.223	7.000	4.090	-1.000	6	0.488	1.885	2
26	-13.701	-19.543	-4.723	-6.062	4.228	7.000	3.975	-1.000	6	0.646	1.823	2
27	-13.682	-19.961	-3.933	-4.563	2.374	7.000	0.841	-1.000	6	0.296	1.303	0
28	-13.662	-20.629	-3.670	-4.618	2.856	7.000	0.632	-1.000	7	0.434	2.120	0
29	-13.557	-18.681	-4.873	-6.271	3.869	7.000	3.998	-1.000	6	0.552	1.848	2
30	-13.485	-21.591	-4.493	-5.185	5.384	7.000	3.017	-1.000	5	0.805	2.226	1

**„closed-gate“-FimH-Kristallstruktur**

No.	Total Score	Match-Score	Lipo-Score	Ambig-Score	Clash-Score	Rot-Score	RMS-Value	Simil.-Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-18.184	-26.519	-3.115	-4.823	3.873	7.000	0.000	-1.000	7	0.584	2.388	3
2	-17.337	-25.159	-2.989	-4.411	2.822	7.000	0.480	-1.000	6	0.339	1.330	3
3	-17.075	-23.555	-4.980	-5.017	4.078	7.000	16.733	-1.000	7	0.588	2.169	2
4	-16.735	-19.649	-6.697	-6.068	3.279	7.000	15.895	-1.000	7	0.382	1.821	2
5	-16.609	-23.657	-4.853	-5.015	4.516	7.000	16.717	-1.000	7	0.661	2.169	2
6	-16.214	-24.865	-3.177	-4.603	4.031	7.000	0.375	-1.000	7	0.580	2.274	3
7	-15.561	-20.524	-5.846	-4.763	3.172	7.000	16.843	-1.000	9	0.583	1.434	2
8	-15.271	-20.141	-6.296	-4.818	3.585	7.000	16.837	-1.000	9	0.669	1.434	2
9	-15.268	-20.923	-6.062	-4.893	4.210	7.000	16.803	-1.000	9	0.712	1.434	2
10	-14.935	-22.726	-3.219	-3.951	2.561	7.000	1.083	-1.000	6	0.383	1.688	3
11	-14.929	-20.207	-5.506	-4.725	3.110	7.000	16.832	-1.000	8	0.582	1.434	2
12	-14.830	-23.258	-3.205	-4.853	4.086	7.000	1.421	-1.000	6	0.775	2.190	3
13	-14.561	-19.936	-5.387	-5.217	3.580	7.000	16.727	-1.000	8	0.665	1.434	2
14	-14.557	-22.319	-3.290	-3.970	2.622	7.000	1.368	-1.000	6	0.433	1.823	3
15	-14.499	-21.586	-2.836	-4.118	1.642	7.000	3.779	-1.000	5	0.174	1.019	0
16	-14.497	-20.223	-5.244	-4.725	3.294	7.000	16.785	-1.000	8	0.590	1.434	2
17	-14.432	-19.523	-5.251	-5.108	3.050	7.000	16.617	-1.000	7	0.581	1.434	2
18	-14.405	-22.601	-2.673	-4.069	2.538	7.000	3.431	-1.000	6	0.288	1.114	0
19	-14.393	-21.586	-3.052	-3.944	1.789	7.000	3.732	-1.000	5	0.180	1.019	0
20	-14.360	-22.897	-3.274	-4.320	3.730	7.000	0.947	-1.000	6	0.385	1.140	3
21	-14.354	-19.688	-5.269	-4.987	3.191	7.000	16.710	-1.000	8	0.585	1.434	2
22	-14.352	-19.523	-6.090	-4.725	3.585	7.000	16.773	-1.000	7	0.669	1.434	2
23	-14.346	-19.523	-5.117	-5.157	3.050	7.000	16.677	-1.000	7	0.581	1.434	2
24	-14.320	-22.129	-3.176	-3.911	2.495	7.000	1.020	-1.000	6	0.406	1.823	3
25	-14.301	-22.601	-2.673	-3.965	2.538	7.000	3.596	-1.000	6	0.288	1.114	0
26	-14.265	-18.788	-5.331	-5.641	3.095	7.000	16.257	-1.000	6	0.348	1.520	2
27	-14.263	-19.523	-5.313	-4.878	3.050	7.000	16.767	-1.000	7	0.581	1.434	2
28	-14.222	-21.586	-2.669	-4.009	1.642	7.000	3.817	-1.000	5	0.174	1.019	0
29	-14.204	-21.586	-2.778	-3.882	1.642	7.000	3.798	-1.000	5	0.174	1.019	0
30	-14.134	-20.883	-4.011	-4.883	3.243	7.000	8.421	-1.000	8	0.837	2.110	3

## Quadratsäurediamid 78



Energy for molecule:

```

Bond Stretching Energy :    2.339
Angle Bending Energy   :   17.496
Torsional Energy       :    0.020
  Str-Bend Energy      :   -1.294
Out of Plane Bending Energy :  -0.219
  1-4 van der Waals Energy :    6.906
    van der Waals Energy :   -0.507
  1-4 Electrostatic Energy :  277.030
    Electrostatic Energy : -128.993
=====
Total Energy : 172.777 kcal/mol

```

## „open-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total Score	Match-Score	Lipo-Score	Ambig-Score	Clash-Score	Rot-Score	RMS-Value	Simil-Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-18.526	-25.281	-5.019	-6.433	4.406	8.400	0.000	-1.000	6	0.449	1.528	3
2	-18.354	-24.351	-5.243	-5.765	3.205	8.400	3.790	-1.000	8	0.464	1.894	3
3	-18.332	-24.348	-5.243	-5.763	3.223	8.400	3.791	-1.000	8	0.466	1.895	2
4	-18.329	-22.902	-5.141	-7.193	3.107	8.400	3.970	-1.000	7	0.338	1.394	3
5	-17.919	-26.133	-4.166	-4.602	3.181	8.400	4.316	-1.000	8	0.743	2.438	3
6	-17.552	-22.258	-5.215	-6.557	2.677	8.400	3.742	-1.000	6	0.244	1.328	3
7	-17.437	-23.015	-4.876	-7.167	3.821	8.400	4.161	-1.000	7	0.423	1.382	3
8	-17.306	-23.561	-4.957	-6.028	3.441	8.400	3.728	-1.000	7	0.505	1.894	3
9	-17.280	-23.556	-4.955	-6.028	3.459	8.400	3.729	-1.000	7	0.502	1.895	2
10	-17.276	-23.109	-5.020	-5.974	3.027	8.400	3.744	-1.000	6	0.360	1.491	3
11	-16.966	-24.955	-4.198	-4.910	3.298	8.400	4.257	-1.000	8	0.746	2.438	3
12	-16.825	-23.584	-3.880	-5.568	2.407	8.400	3.467	-1.000	6	0.271	1.114	3
13	-16.710	-23.561	-4.769	-5.620	3.441	8.400	3.828	-1.000	7	0.520	1.894	3
14	-16.684	-23.556	-4.767	-5.620	3.459	8.400	3.828	-1.000	7	0.517	1.895	2
15	-16.562	-23.302	-4.809	-5.643	3.391	8.400	3.779	-1.000	6	0.473	1.878	3
16	-16.481	-23.584	-3.970	-5.471	2.744	8.400	3.958	-1.000	6	0.288	1.114	3
17	-16.323	-23.118	-4.955	-5.516	3.466	8.400	3.846	-1.000	7	0.505	1.894	3
18	-16.288	-23.103	-4.953	-5.515	3.483	8.400	3.847	-1.000	7	0.502	1.895	2
19	-16.158	-24.135	-4.526	-5.026	3.729	8.400	4.473	-1.000	7	0.810	2.438	3
20	-16.126	-24.489	-4.540	-5.851	4.953	8.400	3.874	-1.000	8	0.712	2.298	3
21	-16.101	-24.481	-4.545	-5.849	4.973	8.400	3.874	-1.000	8	0.714	2.298	2
22	-15.982	-21.581	-4.917	-6.423	3.139	8.400	3.925	-1.000	6	0.298	1.386	3
23	-15.738	-22.825	-4.852	-6.406	4.545	8.400	4.150	-1.000	7	0.477	1.603	3
24	-15.647	-22.074	-3.907	-5.861	2.395	8.400	3.677	-1.000	7	0.212	1.125	3
25	-15.488	-21.013	-6.208	-6.425	4.359	8.400	3.881	-1.000	7	0.578	2.412	3
26	-15.382	-21.840	-3.923	-5.826	2.407	8.400	3.888	-1.000	6	0.276	1.114	3
27	-15.341	-21.420	-5.514	-5.509	3.302	8.400	3.893	-1.000	7	0.436	1.910	2
28	-15.334	-23.545	-3.921	-5.959	4.290	8.400	4.708	-1.000	7	0.739	2.093	1
29	-15.243	-21.202	-4.664	-5.497	2.320	8.400	0.711	-1.000	5	0.187	0.975	3
30	-15.013	-23.278	-4.562	-4.819	3.846	8.400	3.791	-1.000	7	0.781	2.446	2

## „closed-gate“-FimH-Kristallstruktur

No.	Total Score	Match Score	Lipo Score	Ambig Score	Clash Score	Rot Score	RMS Value	Simil. Index	#Match	Avg. Volume	Max. Volume	Frag. No.
1	-21.155	-26.084	-5.561	-6.173	2.862	8.400	0.000	-1.000	6	0.391	1.949	3
2	-20.254	-28.117	-3.463	-4.315	1.841	8.400	14.374	-1.000	7	0.182	1.022	0
3	-19.271	-26.991	-4.823	-5.592	4.336	8.400	4.785	-1.000	8	0.746	2.437	3
4	-18.643	-26.635	-4.823	-5.320	4.336	8.400	4.639	-1.000	8	0.746	2.437	3
5	-18.330	-26.520	-2.822	-4.156	1.368	8.400	17.458	-1.000	6	0.119	0.859	0
6	-18.215	-25.988	-4.989	-5.778	4.740	8.400	0.753	-1.000	6	0.565	2.250	3
7	-18.141	-27.024	-2.415	-4.626	2.125	8.400	17.277	-1.000	7	0.253	2.204	0
8	-17.885	-26.597	-2.837	-4.108	1.857	8.400	17.202	-1.000	6	0.193	1.089	0
9	-17.866	-25.310	-5.167	-5.936	4.747	8.400	4.669	-1.000	8	0.700	2.489	3
10	-17.841	-26.462	-2.458	-4.662	1.942	8.400	17.089	-1.000	7	0.207	1.644	0
11	-17.839	-26.272	-3.119	-4.473	2.224	8.400	16.842	-1.000	6	0.245	1.089	0
12	-17.706	-26.462	-2.494	-4.492	1.942	8.400	16.997	-1.000	7	0.209	1.644	0
13	-17.694	-26.149	-4.587	-5.306	4.548	8.400	5.069	-1.000	7	0.654	2.187	2
14	-17.596	-25.971	-4.585	-5.613	4.773	8.400	4.891	-1.000	7	0.688	2.188	3
15	-17.588	-25.972	-4.587	-5.612	4.783	8.400	4.892	-1.000	7	0.689	2.187	2
16	-17.566	-28.192	-2.215	-4.461	3.502	8.400	16.908	-1.000	7	0.674	2.498	1
17	-17.546	-24.443	-5.914	-5.568	4.580	8.400	0.517	-1.000	6	0.793	2.117	3
18	-17.459	-24.799	-4.795	-5.222	3.557	8.400	5.031	-1.000	7	0.480	2.188	3
19	-17.419	-24.026	-5.076	-6.521	4.404	8.400	3.670	-1.000	8	0.502	1.217	3
20	-17.365	-25.052	-4.881	-5.568	4.336	8.400	4.839	-1.000	8	0.746	2.437	3
21	-17.361	-25.492	-3.514	-4.299	2.143	8.400	14.410	-1.000	6	0.204	0.896	0
22	-17.361	-21.546	-5.223	-5.775	1.384	8.400	1.128	-1.000	6	0.251	1.963	3
23	-17.343	-26.651	-2.897	-4.293	2.698	8.400	17.090	-1.000	8	0.277	2.270	0
24	-17.203	-27.146	-2.755	-4.023	2.922	8.400	17.119	-1.000	7	0.310	2.480	0
25	-17.166	-26.167	-2.449	-4.291	1.942	8.400	16.822	-1.000	7	0.209	1.644	0
26	-17.165	-23.626	-5.089	-5.309	3.059	8.400	3.969	-1.000	8	0.539	1.340	3
27	-17.064	-26.350	-2.014	-4.501	2.002	8.400	16.663	-1.000	7	0.312	1.913	1
28	-16.949	-27.516	-2.215	-4.520	3.502	8.400	16.820	-1.000	7	0.632	2.498	1
29	-16.923	-25.514	-2.485	-4.665	1.942	8.400	17.078	-1.000	8	0.207	1.644	0
30	-16.811	-23.831	-3.435	-4.224	0.879	8.400	14.457	-1.000	6	0.074	0.721	0

## 7.4 Inhalt der beiliegenden CD

Auf der beiliegenden CD sind die Batch- und Outputdateien für die durchgeführten Rechnungen auf den rzcluster des Rechenzentrums der CAU Kiel enthalten. Weiterhin sind die Restart-, Parameter- und Koordinatendateien (.rst, .prmtop und .inpcrd) der Mizellsimulationen auf der CD vorhanden.

## Abkürzungsverzeichnis

Å	Angström
abs.	absolut
AFM	Atomic Force Microscopy
AMBER	Assisted Model Building with Energy Refinement
ATR	Attenuated Total Reflectance
BSP	1-Benzenesulfinylpiperidin
CPP	kritischer Packparameter
CFB	Cell Current Feedback
CIP	Contact Ion Pair
CMC	kritische Mizellbildungskonzentration
COSY	Correlated Spectroscopy
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
d (NMR)	Dublett
D	Diffusionskoeffizient
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCE	Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
dd (NMR)	doppeltes Dublett
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DES	Diethylsquadrat
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DLS	Dynamic Light Scattering
DMF	Dimethylformamid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DSC	Differential Scanning Calorimetry
dt (NMR)	Dublett vom Triplett
DTBMP	2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-4-methylpyridin
EDA	Ethylendiamin
ESI	Electron Spray Ionisation
Et <sub>2</sub> O	Diethylether
eq.	Äquivalent
FT	Fourier Transformation
Gal	Galactose
GFP	Grün Fluoreszierendes Protein
Glc	Glucose
h	Stunde
HLB	Hydrophobic Lipophilic Balance
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation
Hz	Hertz
IRRAS	Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy
IR	Infrarot
ITC	Isotherme Titrationskalorimetrie
i. Vak.	im Vakuum

<i>J</i>	Kopplungskonstante
konz.	konzentriert
m (NMR)	Multipllett
M	Molar
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation
Man	Mannose
$m_c$	zentriertes Multipllett
MD	Moleküldynamik
MHz	Megahertz
min	Minute
MS	Massenspektrometrie
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
OAc	<i>O</i> -Acetyl
org.	organisch
PBST	Phosphate Buffered Saline mit Tween
PE	Petrolether
PGSE	Pulsed-Gradient-Spin-Echo
pNPMAN	<i>para</i> -Nitrophenyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid
Raumtemp. (Text)	Raumtemperatur
rdf	Radial pair Distribution Function
RIP	relative inhibitorische Potenz
$R_f$	Refentionsfaktor
RP	Reversed Phase
rt (Abbildungen)	Raumtemperatur
s (NMR)	Singulett
SAM	Self-Assembled Monolayers
SANS	Small-Angle Neutron Scattering
SASA	Solvent-Accessible Surface Area
SAXS	Small-Angle X-ray Scattering
SBox	<i>S</i> -Benzoazolyl
Sdp.	Siedepunkt
SESA	Solvent-Excluded Surface Area
Smp.	Schmelzpunkt
SPR	Surface Plasmon Resonance
SSIP	Solvent Seperated Ion Pair
t (NMR)	Tripllett
TBABr	Tetra- <i>n</i> -butylammoniumbromid
THF	Tetrahydrofuran
ToF	Time-of-Flight
TTBP	2,4,6-Tri- <i>tert</i> -butylpyrimidin
UV	Ultraviolett
Vis	Visible (sichtbar)
VMD	Visual Molecular Dynamics
wässr.	wässrig
XDP	5'-Nucleosiddiphosphatpyranosen

### **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, Jörn Schmidt-Lassen, an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe. Die Arbeit entstand unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der deutschen Forschungsgemeinschaft. Inhalt und Form dieser Arbeit - abgesehen von der Beratung durch meine Betreuerin Frau Prof. Dr. T. K. Lindhorst - sind von mir eingeständig erarbeitet und verfasst worden. Weder die gesamte Arbeit noch Teile davon habe ich an habe ich anderer Stelle im Rahmen eines Prüfungsvorhabens eingereicht. Dies ist mein erster Promotionsversuch.

Jörn Schmidt-Lassen

## **Danksagung**

Frau Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst möchte ich sehr herzlich für die interessante und anspruchsvolle Themenstellung, die freundliche Betreuung, die stets guten Diskussionen und die Unterstützung während der letzten Jahre danken.

Den Mitarbeitern der spektroskopischen Abteilung um Prof. Dr. Frank D. Sönnichsen danke ich für die Mühe bei der Aufnahme meiner Spektren und der Erfüllung so mancher Sonderwünsche.

Den ehemaligen und aktuellen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Lindhorst danke ich für die kollegiale Aufnahme und das offene Arbeitsklima, was einen großen Anteil zum Gelingen dieser Arbeit beigesteuert hat. Meinen LaborkollegInnen Bianca, Tobias, Sören, Christian und Vijay danke ich für die engagierte und großartige Zusammenarbeit sowie viel Spaß in den letzten Jahren. Für tolle Stunden rund um die Chemie und außerhalb des Instituts bedanke ich mich besonders bei Carsten, Johannes und Mirja.

Alexander Schierholt und Mats Eriksson danke ich dafür, dass sie stets ein ‚offenes Ohr‘ für meine Fragen zu Computer- und Rechenproblemen hatten.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei meinen früheren AssistentenkollegInnen Jens Kubitschke, Dennis Stoltenberg, Frank Schleef und Kirsten Schwekendiek für die große Hilfe rund um das Thema Praktikantenbetreuung.

Bei allen Institutsangehörigen möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit und schöne Zeit bedanken.

Meiner Familie danke ich für die stete Hilfsbereitschaft, ohne die mein Studium und diese Arbeit nicht möglich gewesen wären.

Mein größtes und herzlichstes Dankeschön gilt Annika, die mit ihrer Geduld und Zuversicht mir stets den Rücken frei gehalten hat. Vielen Dank!!

# Curriculum Vitae

## Persönliche Daten

Name	Jörn Schmidt-Lassen
Adresse	Tönniesstraße 4, 24106 Kiel
Geburtstag	15. Juli 1981
Geburtsort	Kiel
Staatsangehörigkeit	deutsch
E-mail	j.schmidt-lassen@web.de

## Akademischer Werdegang

10.2008 bis 07.2013	Promotion in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. T. K. Lindhorst, Otto Diels-Institut für Organische Chemie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
11.2007 bis 09.2008	Anfertigung der Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. T. K. Lindhorst: „Synthese amphiphiler Zuckerderivate und mikrokalorimetrische Untersuchung ihrer Überstrukturbildung“, Otto Diels-Institut für Organische Chemie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
09.2007	Diplom-Hauptprüfung
12.2004	Diplom-Vorprüfung
10.2002 bis 09.2008	Studium der Chemie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

## Zivildienst

08.2001 bis 05.2002	Johanniter-Unfall-Hilfe e. V., Kiel
---------------------	-------------------------------------

## Abitur

2001	Friedrich-Schiller-Gymnasium Preetz
------	-------------------------------------