

Kristallstrukturanalysen der hydratisierten Cycloamylose 26 und ihrer Einschlußkomplexe mit Trijodid und Fettsäure

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

Vorgelegt am Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie
der Freien Universität Berlin

von
Olaf Nimz

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom September 1996 bis Dezember 2000 unter Anleitung von Prof. Dr. W. Saenger im Institut für Kristallographie der Freien Universität Berlin im Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie durchgeführt.

Gutachter: 1. Prof. Dr. W. Saenger
 2. Prof. Dr. P. Luger

Datum der Promotion: 21.1.2010

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN	III
VERZEICHNIS DER TABELLEN.....	VI
ABSTRACT.....	VII
ZUSAMMENFASSUNG	IX
1. EINLEITUNG.....	1
1.1 EINFÜHRUNG.....	1
1.2 HERKUNFT DER CYCLOAMYLOSEN	1
1.3 STRUKTUR VON CYCLOAMYLOSEN	2
1.3.1 Untereinheit: α -D-Glukose.....	3
1.3.2 Konformation der Makrozyklen	4
1.3.3 Struktur von triklinem CA26.....	5
1.4 STRUKTUR VON AMYLOSE.....	7
1.5 EINSCHLUßKOMPLEXE.....	8
1.6 MODELLE FÜR DIE BLAUE FÄRBUNG DES AMYLOSE-JOD-KOMPLEXES	8
1.7 α -CYCLODEXTRIN-POLYJODID-KOMPLEXE ALS STRUKTURELLE MODELLVERBINDUNG.....	10
1.8 TRIJODIDBINDUNG IN CYCLOAMYLOSEN.....	11
1.8 PROBLEMSTELLUNG	12
2. EXPERIMENTELLE METHODEN.....	13
2.0 HERSTELLUNG, REINIGUNG UND KRISTALLISATION.....	13
2.1 KRISTALLISATION - VERWENDETE MATERIALIEN	14
2.2 SPEKTROSKOPIE.....	15
3. STRUKTURLÖSUNG UND -VERFEINERUNG.....	16
3.1 DATENSAMMLUNG.....	16
3.1.1 CA26-Hydrat-Komplex	16
3.1.2 CA26-Ammoniumjodid-Komplex	18
3.1.3 CA26-Bariumjodid-Komplex	18
3.1.4 CA26-Undekansäure-Komplex I.....	18
3.1.5 CA26-Undekansäure-Komplex II.....	18
3.1.6 CA26-Dodekanol-Komplex.....	19
3.2 STRUKTURLÖSUNG.....	19
3.2.1 Direkte Methoden.....	19
3.2.2 Molekularer Ersatz	21
3.2.3 CA26-Hydrat-Komplex	21
3.2.4 CA26-Ammoniumjodid-Komplex	22
3.2.5 CA26-Bariumjodid-Komplex	23
3.2.6 CA26-Dodekanol-Komplex.....	24
3.2.7 CA26-Undekansäure-Komplex I.....	24
3.2.8 CA26-Undekansäure-Komplex II.....	24
3.3 VERFEINERUNG.....	24
3.3.1 Generell.....	24
3.3.2 CA26-Hydrat-Komplex	25
3.3.3 CA26-Ammoniumjodid-Komplex	25
3.3.4 CA26-Bariumjodid-Komplex	25
3.3.5 CA26-Undekansäure-Komplex I.....	26
3.3.6 CA26-Undekansäure-Komplex II.....	26
3.3.7 CA26-Dodekanol-Komplex.....	26

4. ERGEBNISSE - STRUKTUR DES CA26-HYDRAT-KOMPLEXES	28
4.1 ALLGEMEINES, BEZEICHNUNG DES MOLEKÜLS UND DER GLUKOSEUNTEREINHEITEN	28
4.2 KONFORMATION DER GLUKOSEN	31
4.3 GEOMETRIE DER BAND-FLIPS	33
4.4 INTRAMOLEKULARE WASSERSTOFFBRÜCKEN	35
4.5 SCHWACHE WASSERSTOFFBRÜCKEN	36
4.6 HYDRATISIERUNG	36
4.7 HYDRATFEHLORDNUNG IM KANAL	39
4.8 KRISTALLPACKUNG, INTERMOLEKULARE WASSERSTOFFBRÜCKEN	42
4.9 ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION	46
5. ERGEBNISSE - STRUKTUR DES CA26-JODID-KOMPLEXES	47
5.1 ALLGEMEINES, BEZEICHNUNG DER MOLEKÜLE UND DER GLUKOSEUNTEREINHEITEN	47
5.2 KONFORMATION DES CA26-MOLEKÜLS	47
5.3 KONFORMATION DER GLUKOSEN	48
5.4 GEOMETRIE DER BAND-FLIP-MOTIVE	48
5.5 INTRAMOLEKULARE WASSERSTOFFBRÜCKEN	49
5.6 SCHWACHE WASSERSTOFFBRÜCKEN	50
5.7 HYDRATISIERUNG	50
5.8 INTERMOLEKULARE WASSERSTOFFBRÜCKENMUSTER UND KRISTALLPACKUNG	51
5.9 KONFORMATION DER TRIJODIDMOLEKÜLE IN DEN KANÄLEN	53
5.10 ÜBERLAGERUNG VON JODATOMLAGEN IN CA26 _{JA} UND CA26 _{JB}	55
5.11 HYDROPHOBE WECHSELWIRKUNG MIT DER UMGEBUNG IM KANAL	56
5.12 RAMANSPEKTROSKOPIE	57
5.13 ABSORPTIONSSPEKTREN	60
5.14 FREIES JODID ZWISCHEN DEN MOLEKÜLEN	60
5.14 GEGENIONEN	61
5.15 ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION	62
6. ERGEBNISSE – STRUKTUR DES CA26-FETTSÄURE-KOMPLEXES	64
6.1 ALLGEMEINES, BEZEICHNUNG DER MOLEKÜLE UND DER GLUKOSEUNTEREINHEITEN	64
6.2 KONFORMATION DES CA26-MOLEKÜLS	64
6.3 KONFORMATION DER GLUKOSEN	65
6.4 GEOMETRIE DER BAND-FLIPS	65
6.5 INTRAMOLEKULARE WASSERSTOFFBRÜCKEN	66
6.6 SCHWACHE WASSERSTOFFBRÜCKEN	66
6.7 HYDRATISIERUNG	66
6.8 INTERMOLEKULARE WASSERSTOFFBRÜCKENMUSTER UND KRISTALLPACKUNG	67
6.9 KONFORMATION DER FETTSÄURE IN DEN KANÄLEN	68
6.10 WECHSELWIRKUNG MIT DER HYDROPHOBEN UMGEBUNG IM KANAL	69
6.11 ÜBERLAGERUNG VON FETTSÄUREATOMLAGEN IN CA26 _F	72
6.12 RAMANSPEKTROSKOPIE	73
6.13 ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION	74
7. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	75
LITERATURVERZEICHNIS	77
DANKSAGUNG	86
LEBENSLAUF	87
PUBLIKATIONEN UND PATENTE	88
ANHANG	89

Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1 Herkunft der Cycloamylosen	1
Abb. 2 Bezeichnung der Atome einer Glukose mit den typischen Bindungslängen und Bindungswinkel in Cyclodextrinen nach [Szejtli82].....	2
Abb. 3 Bezeichnung der Torsionswinkel der (+)- und (-)gauche Konformation.....	3
Abb. 4 Verknüpfung von Glukosen in <i>syn</i> und <i>anti</i> Konformation	4
Abb. 5 Übersicht der Cycloamylosen unterschiedlicher Länge CA6-CA26, schematisch dargestellt anhand der gelb eingefärbten O(2) und O(3)-Atome und grauen O(6)-Atome.....	6
Abb. 6 Schematische Darstellung der unterschiedlichen Formen von Amylose: V-Amylose (oben) und A/B-Amylose (unten).....	7
Abb. 7 Modell des V-Amylose-Jod-Komplexes basierend auf Faserdiffraktionsexperimenten [Rundle44, Bluhm81].....	8
Abb. 8 Kalorimetrische Daten zur Komplexbildung von Trijodid mit Cycloamylosen verschiedener Längen [Kitamura99]	11
Abb. 9: Schematische Darstellung der Kristallisation als sitzender Tropfen	13
Abb. 10: Schematische Darstellung der Sättigungszonen bei der Kristallisation	14
Abb. 11: Flußdiagramm der Direkten Methoden.....	20
Abb. 12: Schnitt entlang der x,z-Ebene der Pattersonsichte des CA26-Ammoniumjodid-Komplexes.....	23
Abb. 13: Bezeichnung der Atome der Glukosen	28
Abb. 14: Molekulare Struktur der Cycloamylose 26	29
Abb. 15: Räumliche Struktur der Cycloamylose 26. Intermolekulare Wasserstoffbrücken und Interaktionen mit den strategischen Wasserpositionen W1-W2 sind als gestrichelte Linien (links), die zweizählige Rotationssymmetrieachse (180°) ist als Ellipse bzw. Pfeil dargestellt. Der Ausschnitt rechts zeigt die Wasserpositionen W3 und W4. Die Position W3 wird hier von O(6) eines symmetrieverwandten CA26 eingenommen wird.....	29
Abb. 16: Band-Flip der Glukosen G13-G14 in CA26 α mit Elektronendichte (2Fo-Fc) in blau auf 2.0 σ Niveau und in rot auf 7.0 σ Niveau.....	30
Abb. 17: Schema der Abweichung von der antiparallelen Orientierung der V-Amylosehelices	31
Abb. 18: Schema der mittleren Bindungslängen und Bindungswinkel der Glukosen in CA26 α	31
Abb. 19: C-C und C-O Bindungslängen der Glukosen G1-G26 in CA26 α	32
Abb. 20: Vergleich der Band-Flip-Motive der CA26-Hydratstrukturen mit Wasserstoffbrücken zu benachbarten Glukosen und Wassermolekülen.....	34
Abb. 21: Interaktionen zwischen den Helices innerhalb eines CA26-Moleküls und mittels der Wassermoleküle W1 und W2.	36
Abb. 22: Chelatisierung von Wassermolekülen zwischen Glukosen in unterschiedlichen Windungen der Amylosehelix. Die gering besetzten, fehlgeordneten Wasserpositionen (nur gelb) werden mit geringerem Radius dargestellt, während die anderen Wasserpositionen voll besetzt sind.	37
Abb. 23: Schema der Interaktionen zu Wassermolekülen zwischen CA6-Molekülen, die typisch für Kristallstrukturen mit dieser Anordnung ist.....	38

Abb. 24: Stereoabbildung der Differenzelektronendichte im Kanal B (G13-G26) überlagert mit den verfeinerten Wassermolekülen. Die sich gleichzeitig ausschließenden Gruppen fehlgeordneter Wassermoleküle werden als schwarze oder weiße Kugeln repräsentiert.	39
Abb. 25: Schematische Darstellung der Abstände zwischen Wassermolekülen in den Kanälen mit Besetzung (Bes.) und Temperaturfaktoren ($B, \text{Å}^2$).	40
Abb. 26: Interaktion an den Öffnungen des Kanals B (G13-G26, schwarz) mit Glukosen verschiedener symmetrieverwandter Moleküle (I-VII, weiß).....	41
Abb. 27: Vergleich der Ramanspektren des pulverförmigen CA26 (schwarz) mit CA26 α -Kristallen (rot) und PEG400 (blau).	41
Abb. 28: Kontakte der Wassermoleküle im Kanal B (G13-G26). Die sich gleichzeitig ausschließenden Gruppen von fehlgeordneten Wassermolekülen werden als schwarze oder weiße Kugeln repräsentiert. Die Abstände im Bereich $\text{O}\cdots\text{O}_w < 3,4 \text{ \AA}$ und $\text{C-H}\cdots\text{O}_w 2,8 - 3,6 \text{ \AA}$ mit den Glukosen werden als gestrichelte Linien dargestellt.	42
Abb. 29: Darstellung der Packung der CA26 α -Moleküle in einer Projektion auf die a,c- Ebene. Anhand der sechs symmetrieverwandten CA26-Moleküle sind die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen CA26-Molekülen als gestrichelte Linien gekennzeichnet. Interaktionen mit Wassermolekülen (rot) sind in rot hervorgehoben.	43
Abb. 30: Schema der Packungskontakte die mittels C-H \cdots O Wechselwirkungen interagieren.....	43
Abb. 31: Schema der Packungskontakte entlang der b-Achse bei CA26 α und CA26 β , die interagierende O(2)- und O(3)-Hydroxylgruppen zeigen.	44
Abb. 32: Packungsvergleich zwischen CA26 α und V-Amylose. Wasservermittelte Packungskontakte bei CA26 α (links oben) verglichen mit den Wassermolekülen in V $_H$ - Amylose [Rappenecker81] (oben rechts). Direkte intermolekulare Kontakte bei CA26 α (links unten) und V $_A$ -Amylose (rechts unten).45	45
Abb. 33: Stereographische Ansicht der Kristallpackung des CA26-Ammoniumjodidkomplexes entlang der kristallographischen a-Achse im oberen Teil und entlang der c-Achse im unteren Teil. Der Ursprung der Zelle wird mit 000 bezeichnet. Die Packung im Kristall zeichnet sich durch eine Anordnung der Jodatome in den helikalen Bereichen entlang der c-Achse aus.	52
Abb. 34: Ansicht der intermolekularen Interaktion zwischen den Glukosen G21-G26 und G1 (hell graue C-Atome) mit G108-G114 (dunkel graue C-Atome). Das Trijodid T2 (lila) sitzt im Zentrum der verknüpften Helices. Abstände $< 3,5\text{\AA}$ zwischen Sauerstoffatomen werden als Wasserstoffbrücken durch gestrichelte Linien gezeigt. Im unteren Teil werden die wasservermittelten Verbrückungen zwischen G8-G14 mit G121-G126 und G101 gezeigt.....	53
Abb. 35: Schematische Abbildung der Jodatome in den helikalen Bereichen. Die Hauptlagen der Trijodide T1-T3 in A und T4-T6 in B sind mit größeren Kugeln dargestellt und die gering besetzten Positionen mit I(#) b bezeichnet. Die Bindungslängen der Trijodide und Abstände der Van-der-Waals-Interaktionen sind entlang der Achsen aufgetragen.....	54
Abb. 36: Überlagerung der Trijodide T1, T3, T4 und T6 in den helikalen Bereichen der Cycloamylosen zeigt die bevorzugten Positionen der Jodatome. T3 ist um eine halbe I-I Bindungslänge verschoben und besetzt eine Zwischenlage, die ebenfalls von den gering besetzten Jodatomen (lila) eingenommen wird.	55
Abb. 37: Trijodide T1-T3 (links) und T4-T6 (rechts) in den hydrophoben Kanälen der Cycloamylosen, die durch intermolekulare Interaktionen von G22-G26 und G1 (weiß) zu G114-G118 (grau) bzw. G10-G13 mittels Wassermolekülen (schwarz) zu G123-G126 im Kristall gebildet werden.....	56
Abb. 38: Vergleich der Ramanspektren von α -Cyclodextrin-Trijodidkristallen (A), mit Amylose-Jod-Komplexen (B), mit den CA26-Komplexen in kristalliner Form (C), und in Wasser aufgelöster Kristalle der Barium- (D) und Ammoniumjodidkomplexe (E). Die Spektren A und B wurden aus [Saenger84a] entnommen.....	57

Abb. 39: Interaktionen der freien Jodid-Anionen I(7) (oben) und I(8) (unten) mit ihren Koordinationssphären. Die Van-der-Waals-Kontakte mit den umgebenden Atomen werden durch gestrichelte Linien angezeigt.	60
Abb. 40: Schema der Undekansäure	64
Abb. 41: Stereoskopische Ansicht der Kristallpackung und der intermolekularen Kontakte durch schematische Darstellung der Glukosen als virtuellen Bindungen $O(4)_n \cdots O(4)_{n+1}$ mit Ausnahme der interagierenden Glukosen. Die Wassermoleküle und OH, COOH-Gruppen sind in rot dargestellt.	67
Abb. 42: Die Torsionswinkel der Fettsäuren F1 (für F2 in Klammern) sind jeweils an der mittleren Bindung bezeichnet. Die aliphatische Kette der Fettsäure liegt auf der Schnittebene, die von O(4)-Atomen der Glukosen G16, G19, G22, G25 und G3, G6, G9, G12 für F2 gebildet wird. Die Verbindungslinien der O(4)-Atome sind gestrichelt markiert und führen durch die 3D Koordinaten der Atome C2, C5 und C8 der Fettsäuren.	68
Abb. 43: Stereoskopische Darstellung der Interaktion der Fettsäuren mit den Glukosen im Kanal und den Wassermolekülen. Van-der-Waals-Oberfläche der Fettsäure wird transparent dargestellt. Die $H \cdots O$ -Kontakte ($< 3,1 \text{ \AA}$) mit Hydroxylsauerstoffatomen der Glukosen und $O \cdots O$ -Kontakte ($< 3,5 \text{ \AA}$) sind als gestrichelte Linien dargestellt.	70
Abb. 44: Stereoskopische Darstellung der Position der Fettsäuren F1 (hell) und F2 (dunkel) basierend auf der Überlagerung der Glukosen G1-G13 mit G14-G26.	72
Abb. 45: Vergleich der Ramanspektren eines CA26f Kristalls (rot) und reiner Undekansäure (schwarz).	73

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1: Kristallographische Daten	17
Tabelle 2: χ Torsionswinkel O(5)-C(5)-C(6)-O(6) der teilweise fehlgeordneten Glukosen.....	33
Tabelle 3: Wellenlängen der Ramanbanden verschiedener Polyjodid-Amylose-Komplexe und Modellverbindungen	59
Tabelle 4: H...H und H...O Abstände zwischen den Fettsäuren F1, F2 und den Glukosen.....	71
Tabelle 5: Mittlere C(5) _n -H...C(3) _{n+3} -H und O(3) _n ...O(2) _{n+1} Abstände als Maß für den Innendurchmesser und Krümmung der Helices.....	71
Tabelle 6: Cambridge Structure Database (CSD) Codes der CA26-Strukturen	89
Tabelle 7: RMS der ganzen CA26-Moleküle	89
Tabelle 8: Cremer-Pople-Ringwellungsparameter für CA26o	90
Tabelle 9: Virtuelle Abstände O(4) _n ...O(4) _{n+1} für CA26o.....	90
Tabelle 10: Glykosidische Winkel C(1) _{n+1} -O(4) _n -C(4) _n in CA26o.....	91
Tabelle 11: Torsionswinkel ϕ in CA26o	92
Tabelle 12: Torsionswinkel ψ in CA26o	92
Tabelle 13: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26o	93
Tabelle 14: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26ta	93
Tabelle 15: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26tb	93
Tabelle 16: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände O(3) _n ...O(2) _{n+1} in CA26o.....	94
Tabelle 17: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände O(6) _n ...O(2/3) _{n+6} in CA26o.....	94
Tabelle 18: Cremer-Pople-Ringwellungsparameter für CA26j.....	95
Tabelle 19: Virtuelle Abstände O(4) _n ...O(4) _{n+1} für CA26j.....	96
Tabelle 20: Glykosidische Winkel C(1) _{n+1} -O(4) _n -C(4) _n in CA26j.....	97
Tabelle 21: Torsionswinkel ϕ in CA26j	98
Tabelle 22: Torsionswinkel ψ in CA26j.....	99
Tabelle 23: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26j.....	100
Tabelle 24: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände O(3) _n ...O(2) _{n+1} in CA26j.....	101
Tabelle 25: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände O(6) _n ...O(2/3) _{n+6} in CA26j.....	102
Tabelle 26: Bindungslängen und Van-der-Waals-Abstände für die Hauptlagen A und die Nebenlagen B der Trijodide in CA26j	102
Tabelle 27: Bindungswinkel für die Hauptlagen A und die Nebenlagen B der Trijodide in CA26j.....	102
Tabelle 28: Cremer-Pople-Ringwellungsparameter für CA26f	103
Tabelle 29: Virtuelle Abstände O(4) _n ...O(4) _{n+1} für CA26f.....	103
Tabelle 30: Glykosidische Winkel C(1) _{n+1} -O(4) _n -C(4) _n in CA26f.....	104
Tabelle 31: Torsionswinkel ϕ in CA26f.....	104
Tabelle 32: Torsionswinkel ψ in CA26f	105
Tabelle 33: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26f	105
Tabelle 34: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände O(3) _n ...O(2) _{n+1} in CA26f.....	106
Tabelle 35: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände O(6) _n ...O(2/3) _{n+6} in CA26f.....	106

Abstract

Carbohydrates are essential components of all living organisms and form the most abundant class of biological molecules. Polysaccharides such as starch are an important food reserve in plants and a major nutrition for animals. Amylose is a major component of starch and has very interesting structural properties.

The linear polysaccharide amylose consists of $\alpha(1\rightarrow4)$ linked D-glucose units in the common 4C_1 -chair form. It is found in starch granules as double helix with intertwined, parallel oriented strands with 6×2 D-glucoses per pitch of 21.6 Å. Depending on hydration, two packing modes of these double helices are found: the densely packed A-form in cereals and the more hydrated, loosely packed B-form in tubers. Since no crystal structure at atomic resolution is available for amylose fragments in the A- or B-form, the twist sense of the double helix (right- or left-handed) is still under discussion.

Another polymorph of amylose is the V-form (V = Verkleisterung = gelation) in which the polymer is folded into a left-handed single helix with 6 D-glucoses per turn of 8.1 Å pitch and a ~ 5 Å wide central channel. It is obtained from aqueous solution of amylose by drying or if small and/or slim molecules are added to the solution like iodine, fatty acids, alcohols, Me_2SO and many others. These molecules form inclusion complexes with V-amylose that have been studied extensively by X-ray fiber diffraction and by spectroscopic methods, with “iodine’s blue” of interest since its discovery in 1814. The only obvious requirement for inclusion formation is that these molecules as guest compounds fit into the ~ 5 Å wide channel provided by V-amylose as host.

In the absence of single crystals of amylose fragments showing V-conformation, cyclodextrins were used as model systems, the smallest α -cyclodextrin with 6 D-glucoses in the macrocycle simulating one turn of the V-amylose helix. Recently, very large cyclodextrins (cycloamyloses, CA) became available, and the first X-ray crystal structure of one member of this family of molecules, the hydrated form of CA26 (a cycloamylose with 26 D-glucoses in the macrocycle) shows that the macrocycle is folded like the figure “8”, with almost two turns long V-amylose helices in antiparallel orientation related by a pseudo-rotation axis. They are twisted into 10 D-glucoses long V-amylose left-handed single helices in antiparallel orientation that contain 6 D-glucoses per turn of 8.1 Å pitch height, the central channels being occupied by disordered water molecules. Since these features are characteristic of V-amylose, CA26 is an ideal model for this polymorph of amylose.

Isothermal titration calorimetry (ITC) studies of the complex formation between I_3^- and CA26 analogs with 21 to 32 glucoses (DP21 to DP32) have been published by Kitamura et al., which suggest that CA26 has two binding sites, each occupied by I_3^- , in agreement with the folding structure of CA26.

The present contribution describes the X-ray crystal structures of CA26 inclusion complexes with triiodide and with undecanoic acid as guests. The guest molecules are included in the V-amylose channels and provide for the first time information at atomic resolution on guest conformation and host-guest interactions. The interaction is dominated by van der Waals contacts between the guest molecules and the interior of the helical channels, which is dominantly hydrophobic in nature. Details of the orientational and positional preferences of the bound molecules reveal how the interactions induce specificity of binding.

Cycloamylose 26 could be successfully applied as a very useful tool to study complex formation at a level of atomic resolution with a variety of relevant guest molecules.

Zusammenfassung

Kohlenhydrate sind essentielle Bestandteile aller lebenden Organismen und bilden die am weitesten verbreitete Klasse von biologischen Molekülen. Polysaccharide, wie zum Beispiel Stärke, sind ein wichtiger pflanzlicher Energiespeicher und Hauptnahrung für viele Tiere. Amylose ist ein Hauptbestandteil von Stärke und besitzt sehr interessante strukturelle Eigenschaften.

Das lineare Polysaccharid Amylose besteht aus $\alpha(1\rightarrow4)$ verknüpften D-Glukoseneinheiten in der gewöhnlichen 4C_1 -Sesselform. Es liegt in Stärkekörnern als eine Doppelhelix mit verwundenen, parallel orientierten Strängen mit einer 6×2 D-Glukosen pro $21,6 \text{ \AA}$ langen Windung vor. Abhängig vom Wassergehalt finden sich zwei verschiedene Packungszustände dieser Doppelhelices: die dicht gepackte A-Form in Getreide und die größere Mengen Wasser enthaltende und weniger dicht gepackte B-Form in Gemüse. Über den Drehsinn der Helices (links- oder rechtsdrehend) wird immer noch diskutiert, da keine Kristallstrukturen mit atomarer Auflösung für Fragmente der A- oder B-Form verfügbar sind.

Eine weitere Form der Amylose ist die V-Form (V = Verkleisterung), bei der das Polymer in einer linksgängigen Helix mit 6 Glukosen pro $8,1 \text{ \AA}$ hoher Windung und mit einem ungefähr 5 \AA breiten Kanal vorliegt. Es wird aus wässriger Amyloselösung durch Trocknung oder durch Zugabe von kleinen und/oder dünnen Molekülen wie zum Beispiel Jodid, Fettsäuren, Alkoholen, DMSO und vielen anderen erhalten. Diese Moleküle bilden Einschlußkomplexe mit V-Amylose, die intensiv mit Hilfe von Röntgenfaserdiffraktionsstudien und spektroskopischen Methoden untersucht wurden. Dabei ist seit seiner Entdeckung 1814 die blaue Jod-Stärke-Reaktion von Interesse. Die einzige offensichtliche Voraussetzung für die Bildung eines Einschlußkomplexes ist die Größe des Gastmoleküls, die zum etwa 5 \AA weiten Kanal der V-Amylose passen muß.

In Abwesenheit einer Einkristallstruktur von Amylose wurden Fragmente mit V-Konformation, die Cyclodextrine, als Modellsystem benutzt. Das kleinste α -Cyclodextrin mit 6 D-Glukosen in einem Makrozyklus simuliert eine Windung der V-Amylosehelix. Erst vor kurzem sind sehr große Cyclodextrine (Cycloamylosen, CA) verfügbar geworden. Die erste Röntgenkristallstruktur eines Mitglieds dieser Familie von Molekülen, die Hydratstruktur von CA26 (eine Cycloamylose mit 26 D-Glukosen im Makrozyklus), zeigt eine Faltung die der Ziffer „8“ entspricht. Die fast zwei Windungen langen V-Amylosehelices sind in antiparalleler Orientierung und durch eine Pseudorotationsachse verbunden. Sie sind aus verwundenen Spiralen aufgebaut, die 10 D-Glukosen lang sind und linksgängige V-Amylosehelices in antiparalleler Orientierung bilden. Eine $8,1 \text{ \AA}$ hohe Windung wird aus 6 D-Glukosen gebildet und die zentralen Kanäle sind mit fehlgeordnetem Wasser gefüllt. Da diese Eigenschaften für V-Amylose charakteristisch sind, ist CA26 ein ideales Modell für dieses Amylosepolymorph.

Isothermale Titrationskalorimetriestudien (ITC) der Komplexbildung zwischen I_3^- und CA26-Analogen mit Kettenlängen von 21 bis 32 Glukosen wurden von Kitamura et al. publiziert. Diese Messungen wurden dahingehend interpretiert, daß CA26, in Übereinstimmung mit seiner Faltungsstruktur, zwei Bindungstaschen besitzt, die von I_3^- besetzt werden.

Diese Arbeit wird einen Beitrag durch die Beschreibung der Röntgenstrukturaufklärung der CA26-Einschlußkomplexe mit Trijodid und Fettsäure als Gastmoleküle leisten. Die Gastmoleküle sind in den V-Amylosekanälen eingeschlossen und bieten zum ersten Mal Informationen in atomarer Auflösung über die Gastmolekülkonformation und die Interaktion zwischen Wirt- und Gastmolekül. Die Wechselwirkung erfolgt hauptsächlich durch Van-der-Waals-Kontakte zwischen dem Gastmolekül und der Innenseite des helikalen Kanals, welcher einen vorwiegend hydrophoben Charakter besitzt. Die detaillierten Analysen der bevorzugten Orientierung und Position der gebundenen Moleküle zeigen, wie die Wechselwirkungen eine spezifische Bindung erlauben.

Cycloamylose 26 konnte erfolgreich als Werkzeug für das Studium der Bildung von Einschlußkomplexen verschiedener relevanter Gastmoleküle in atomarer Auflösung eingesetzt werden.

1. Einleitung

1.1 Einführung

Kohlenhydrate sind essentielle Substanzen für lebende Organismen. Die aus verschiedenen Pentosen und Hexosen aufgebaute Stoffklasse erhält ihre große Variabilität unter anderem durch die Polymerisierung zu Polysacchariden. Stärke ist ein weit verbreitetes Kohlenhydrat und kommt als Reservepolysaccharid praktisch nur in Pflanzen vor. Neben Amylopektin bildet Amylose den Hauptbestandteil der Stärke und stellt somit eines der wichtigsten Kohlenhydratpolymere dar.

Amylose erhält nicht nur als Nahrungsmittel eine große Bedeutung, sondern wird in großem Umfang industriell als Verdickungs- und Klebemittel eingesetzt. Sie zeichnet sich im Vergleich mit anderen Kohlenhydratpolymeren (z. B. Zellulose, Chitin) durch die ausschließliche α -(1→4)-Verknüpfung ihrer D-Glukopyranosen aus. Das ausschließliche Vorkommen dieser Art der Verknüpfung resultiert in einem linearen Aufbau der Amylosekette, in der nur D-Glukose als Kohlenhydratbaustein in das Polymer eingefügt wird. Diese Form der Verknüpfung dominiert ebenfalls das verzweigte Amylopektin, jedoch enthält dieses Polysaccharid auch geringe Anteile von α -(1→6)-Verknüpfungen, die zu einem baumartig verzweigten Aufbau führen.

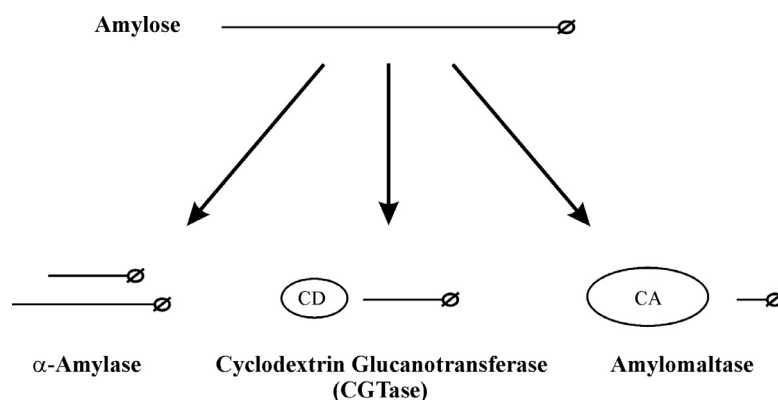


Abb. 1 Herkunft der Cycloamylosen

Die Kettenlänge der Amylose variiert je nach Herkunftsorganismus zwischen einem Polymerisationsgrad von 300 bis 900 entsprechend einer mittleren Molmasse von $M_n = 50.000\text{--}150.000$ [Ebert93]. Insbesondere durch die Beobachtung, daß sowohl Amylose als auch Amylopektin in halbkristalliner Form in den natürlich vorkommenden Stärkekörnern enthalten sind [Sarko80], erlangen die Ergebnisse der strukturellen Untersuchung mittels Kristallstrukturanalyse biologische Relevanz.

1.2 Herkunft der Cycloamylosen

Das rekombinante Kartoffelenzym Amylomaltase (4- α -Glukanotransferase E2.4.1.25) ist ein monomeres Enzym, das den Abbau von Amylose zu Cycloamylosen katalysiert [Takaha96, Terada97]. Die Zyklisierung wird durch eine *intramolekulare*

Transglykosylierung erhalten. Im Gegensatz zu Cyclodextringlycosyltransferasen (CGTasen), die ebenfalls ringförmige Cycloamylosemoleküle jedoch hauptsächlich kleinere mit 6-9 Glukosen (Cyclodextrine) in einer Zyklisierungsreaktion herstellen, liegt bei Amylomaltase (GTase) die Anzahl pro Ring bei minimal 17 bis zu mehreren hundert Glukoseresten (siehe Abb. 1).

GTasen und CGTasen haben eine funktionelle Verwandtschaft mit α -Amylase, welche die Hydrolyse in lineare Produkte katalysiert. Primärsequenzhomologien der katalytischen Bindungstaschen lassen eine strukturelle Verwandtschaft aller drei Enzymklassen erwarten. Die Röntgenstrukturaufklärung der α -Amylase [Matsuura84, Buisson87, Boel90, Brady91, Swift91], CGTasen [Hofmann89, Klein91, Kubota91, Lawson94, Harata96, Knegtel96] und GTasen [Przylas00] aus verschiedenen Organismen zeigen ein konserviertes $(\beta/\alpha)_8$ -Faßfaltungsmuster, doch besitzt jede der Klassen zusätzliche nicht homologe Domänen. In einer Struktur der Amylomaltase mit einer Tetraose als inaktives Substratanalogon konnte ein plausibler Grund für die größere minimale Ringlänge identifiziert werden. Das aktive Zentrum wird von benachbarten Proteinschleifen so abgeschirmt, daß die benötigte Mindestlänge für eine Zyklisierungsreaktion stark erhöht wird [Przylas00a].

1.3 Struktur von Cycloamylosen

Amylosen sind ausschließlich durch glykosidische (1 \rightarrow 4) Verknüpfung der α -D-Glukose-untereinheiten aufgebaut. Bei Cycloamylosen sind zusätzlich die freien Enden miteinander verbunden, so daß zyklische Moleküle unterschiedlicher Kettenlänge entstehen. Die kurzkettigen Cycloamylosen (CA6-9) werden als Cyclodextrine (CD) bezeichnet.

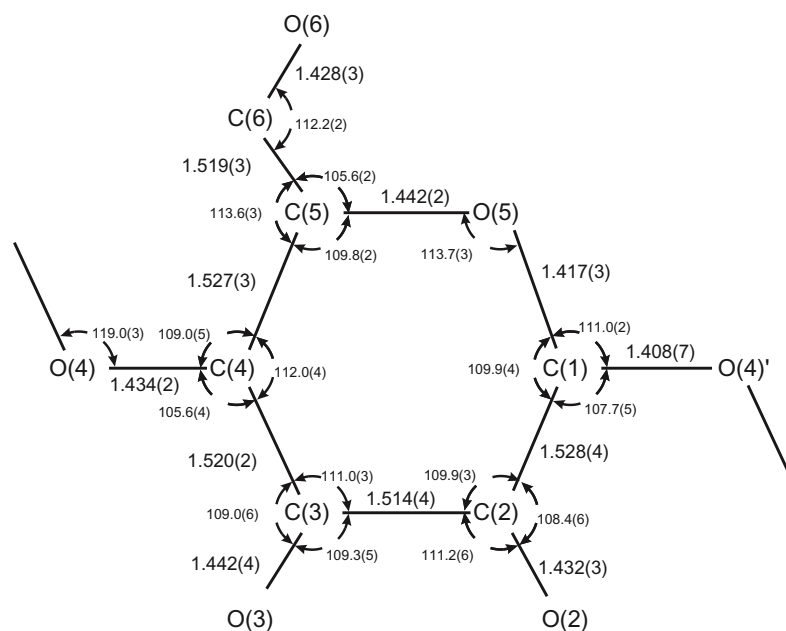


Abb. 2 Bezeichnung der Atome einer Glukose mit den typischen Bindungslängen und Bindungswinkel in Cyclodextrinen nach [Szejtli82]

Eine große Anzahl kristalliner Cyclodextrinkomplex und CD-Hydratstrukturen wurden mittels Röntgen- und Neutronendiffraktion aufgeklärt und tragen zur Charakterisierung der geometrischen Eigenschaften sowie Konformation dieser Makromoleküle bei. Die wichtigste Eigenschaft, der ringförmigen Moleküle, ist die Bildung von Einschlußkomplexen mit einer Vielzahl von Gastmolekülen und Ionen.

1.3.1 Untereinheit: α -D-Glukose

In den CD-Hydrat- und CD-Einschlußkomplexen, die bisher mit mittels Röntgen- und Neutronenbeugung aufgeklärt wurden, besitzen die einzelnen Glukosen eine ähnliche Gestalt und nehmen eine 4C_1 -Konformation ein [Saenger84, Harata91]. Neben den Bindungslängen und Winkeln der Glukoseuntereinheiten, die für Cyclodextrine (CA6-CA8) bestimmt wurden, ist die Bezeichnung der Atome, aus denen die Glukoseuntereinheiten aufgebaut sind, in Abb. 2 ersichtlich. Die Konformation des Pyranoserings kann mit Hilfe der endozyklischen Torsionswinkel beschrieben werden. Die α -D-Glukosen können als relativ starre Untereinheiten betrachtet werden. Im Gegensatz zur starren Konformation des Pyranoserings ist eine freie Rotation der primären Alkoholgruppe O(6)H um ihre Bindungsachse C(5)–C(6) möglich. In theoretischen Kraftfeldberechnungen nimmt der exozyklische Torsionswinkel drei bevorzugte Konformationen (-)gauche, (+)gauche und anti ein (siehe Abb. 3). Bei Cyclodextrinen wurden bisher ausschließlich die gauche Konformationen beobachtet mit überwiegendem Anteil (-)gauche in Abhängigkeit von Packungseffekten und Gastmolekülkomplexierung.

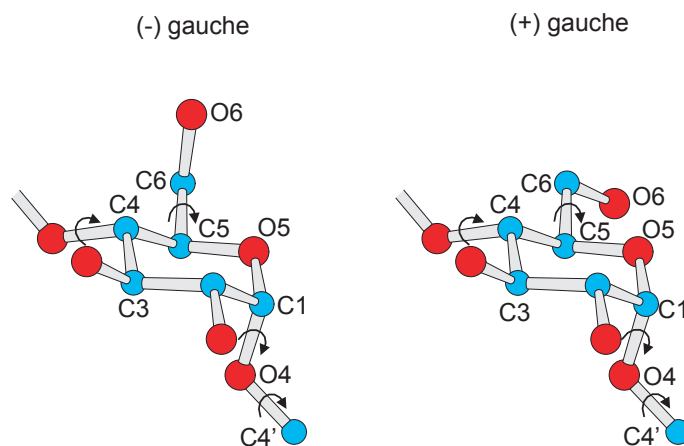


Abb. 3 Bezeichnung der Torsionswinkel der (+)- und (-)gauche Konformation.

1.3.2 Konformation der Makrozyklen

Benachbarte Glukoseuntereinheiten sind in Cyclodextrinen ausschließlich in *syn* Orientierung verknüpft. Als Konsequenz daraus sind die Hydroxylgruppen O(2)H und O(3)H auf einer Seite des Rings, hingegen die primären Alkohole O(6)H nur auf der anderen Seite lokalisiert (siehe Abb. 4). Die Gestalt der CD-Moleküle wurde als abgeschnittener Konus mit einem zentralen Hohlraum beschrieben, wobei die O(6)H-Gruppen sich auf der engeren Seite befinden.

Cyclodextrine mit sechs, sieben und acht Glukoseuntereinheiten werden auch α -CD, β -CD, γ -CD genannt. Mit steigender Anzahl der Glukoseuntereinheiten steigt auch der mittlere Durchmesser des Hohlraums an: α -CD 5.0 Å, β -CD 6.2 Å, γ -CD 7.9 Å [Szejtli82]. Die Höhe der Ringe bleibt dagegen konstant bei ca. 8 Å (siehe schematische Darstellung in Abb. 5). Der zentrale, hydrophobe Hohlraum wird durch C(3)H, C(5)H, C(6)H₂ sowie glykosidischen O(4) begrenzt. Die Stabilität der CD-Konformation wird hauptsächlich durch die Ausbildung von O(3)_n...O(2)_{n+1} Wasserstoffbrücken unterstützt.

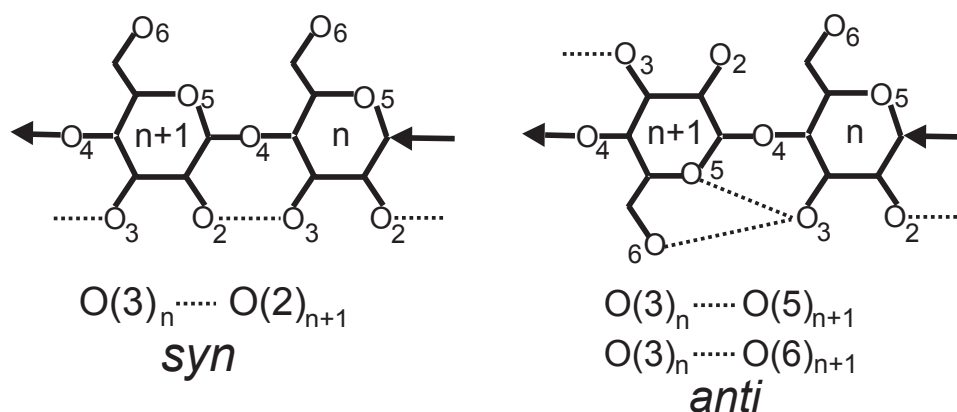


Abb. 4 Verknüpfung von Glukosen in *syn* und *anti* Konformation

Im Gegensatz zur α -CD-Hexahydratstruktur, in der alle Atome geordnet vorliegen, zeigen die Hydroxylgruppen und Wasserlagen in der Kristallstruktur von β -CD $\cdot 11$ H₂O eine ausgeprägte Fehlordnung der eingenommenen Positionen. Neutronenbeugungsexperimente zeigen die Mehrzahl der Wasserstoffbrückenbindungen im fehlgeordneten Zustand O–H(½)···H(½)–O. Diese Daten wurden als ein dynamisches Gleichgewicht zweier Zustände interpretiert



und als „Flip-Flop“-Fehlordnung bezeichnet [Saenger82]. In β -CD und wahrscheinlich auch γ -CD, jedoch nicht in α -CD-Strukturen, erscheint diese Flip-Flop-Fehlordnung der

interglukose und intramolekulare $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrückenbindung zwischen benachbarten Glukosen als charakteristisches Merkmal.

Bereits bei δ -CD (CA9) liegen die O(4)-Sauerstoffatome nicht mehr in einem Kreis, sondern bilden eine Ellipse, gleichzeitig wird die Planarität des Rings aufgehoben (siehe Abb. 5). Dieser Wölbung wird in der Beschreibung als Bootform Rechnung getragen [Fujiwara90]. Wie durch molekulares Modelling gezeigt wurde [Jacob98], resultiert die gestörte Bootformstruktur des CA9 aus der erhöhten sterischen Hinderung, die mit der Vergrößerung des Makrozyklus einhergeht. In Modellrechnungen der Bootform von CA10 mit allen Glukosen in *syn* Orientierung erhöht sich die sterische Hinderung erheblich.

CA10 und auch CA14 besitzen eine völlig neue Form (siehe Abb. 5). Diese wird ermöglicht aufgrund der Drehung um 180° zweier benachbarter Glukosen in die *anti* Orientierung. Diese Verdrehungen befinden sich im Makrozyklus jeweils diametral gegenüber. Der Ring aus intramolekularen $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrücken, der in CA9 noch ausgebildet werden konnte, ist bei CA10 und CA14 unterbrochen. Als Konsequenz sind die Moleküle klar in zwei Hälften geteilt. Die Verknüpfungsstellen werden als „Band-Flips“ bezeichnet, da die typische Bandstruktur unterbrochen wurde [Jacob98].

1.3.3 Struktur von triklinem CA26

Der CA26-Makrozyklus kristallisiert in der triklinen Raumgruppe P1, und seine Struktur wurde mit Röntgenbeugung aufgeklärt [Geßler99]. Es ist die größte Oligosaccharidstruktur, die bisher mittels Einkristallröntgenstrukturaufklärung bestimmt wurde. In Abb. 5 wird CA26 schematisch im Vergleich zu den bekannten Cycloamylosestrukturen dargestellt. In der Elementarzelle befinden sich zwei unabhängige CA26-Moleküle, die zur Unterscheidbarkeit als CA26*ta* und CA26*tb* bezeichnet werden. Ihre kompakte Faltung entsteht aus zwei pseudosymmetrischen linkshändigen helikalen V-Amyloseabschnitten in antiparalleler Orientierung, die jeweils knapp zwei V-Amylosewindungen enthalten. Die Helices sind über vier Glukosen verbunden, die jeweils eine *trans* Orientierung benachbarter Glukosen des Band-Flips enthalten, vergleichbar denen in CA10 und CA14. Dieses strukturelle Motiv dient dazu, sterische Hinderung in Amyloseketten zu vermeiden und erlaubt es allen Glukosen, ihre bevorzugte 4C_1 -Sesselkonformation sowie eine *syn* Orientierung in den helikalen Bereichen einzunehmen, die mit der Ausbildung intramolekularer $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrücken einhergeht. Die Helices bilden Kanäle mit einem Durchmesser von ca. 5 Å aus, in denen sich Wasser befindet, das eine ausgeprägte Fehlordnung aufweist.

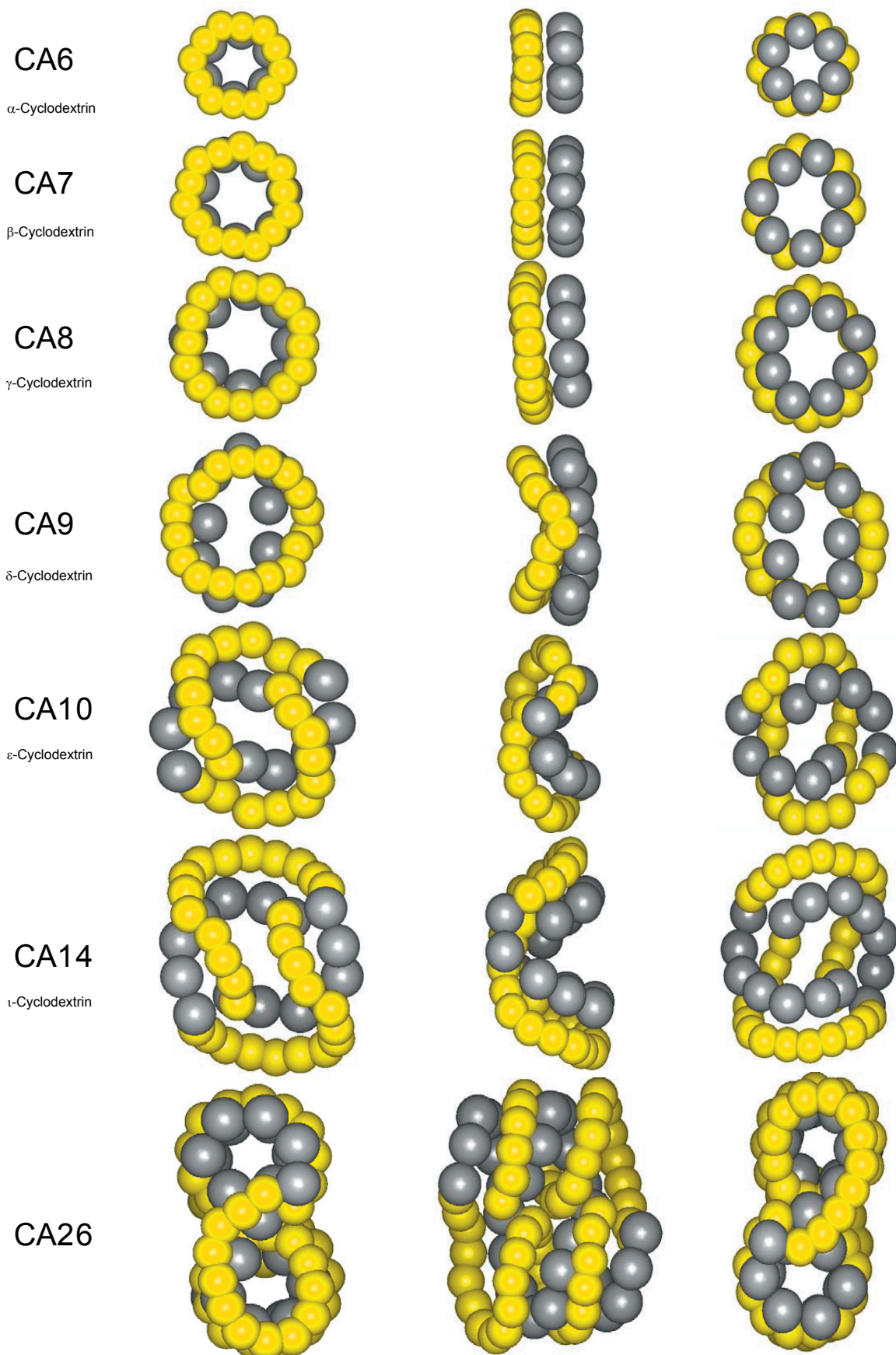


Abb. 5 Übersicht der Cycloamylosen unterschiedlicher Länge CA6-CA26, schematisch dargestellt anhand der gelb eingefärbten O(2) und O(3)-Atome und grauen O(6)-Atome.

1.4 Struktur von Amylose

Amylose tritt in mehreren polymorphen Formen als A-, B- und V-Amylose auf. In den Kristallen von A- bzw. B-Amylose liegen Doppelhelices aus parallelen, linksgängigen 6_1 -Helices vor. V-Amylose hingegen liegt als einzelne Helix mit einer Steigung von $8,1 \text{ \AA}$ vor (siehe Abb. 6).

Die Unterschiede zwischen den Modifikationen A- und B-Amylose beruhen auf der unterschiedlichen kristallinen Packung mit vergleichbarer Konformation der Doppelhelices. Eine besondere Eigenschaft von V-Amylose ist die Ausbildung des Jod-Amylose-Komplexes, der ursächlich für die blaue Färbung der Jod-Stärke-Nachweisreaktion verantwortlich ist. Neben diesem wurde hunderte von Komplexen mit Amylose untersucht [Tomasik98, Tomasik98a]. Dabei handelt es sich sowohl um anorganische Ionen als auch um organische Moleküle, darunter auch Alkohole und Fettsäuren.

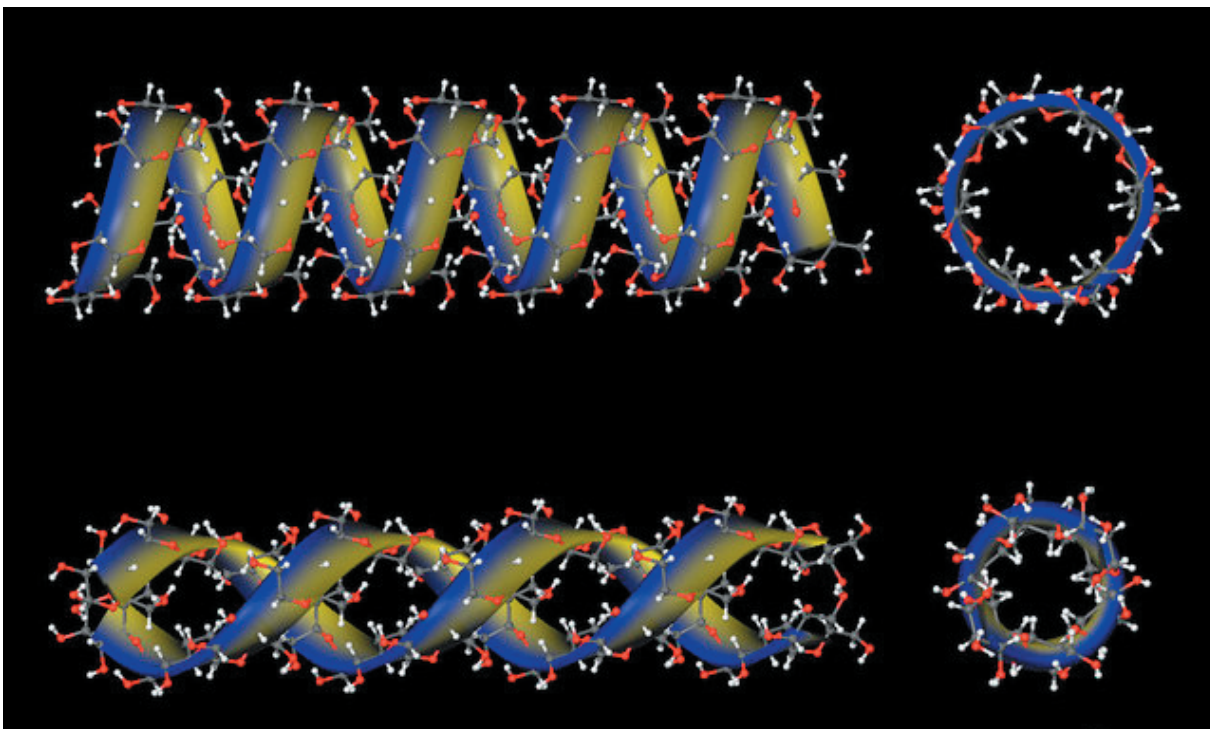


Abb. 6 Schematische Darstellung der unterschiedlichen Formen von Amylose: V-Amylose (oben) und A/B-Amylose (unten).

Kristalle von Amylosekomplexen, die für die Einkristallröntgenstrukturanalyse geeignet wären, stehen trotz vielfältiger Versuche nicht zur Verfügung, so daß die bisherigen strukturellen Untersuchungen zur Amylose auf der Basis von Faserdiffraktionsexperimenten erfolgten. Diese Methode ist aufgrund der geringen Anzahl der unabhängig gemessenen Röntgenreflexe in hohem Maß von der Wahl eines geeigneten Modells abhängig, das zur Analyse der Daten herangezogen wird.

1.5 Einschlußkomplexe

Die Untersuchung der Eigenschaften von Einschlußkomplexen der Cyclodextrine führte bereits zu einer breiten Anwendung in der Lebensmittel-, pharmazeutischen und kosmetischen Industrie. Grundlage für die verschiedenen Anwendungen ist die Eigenschaft der Cyclodextrine, verschiedene Moleküle in ihren inneren hydrophoben Hohlräumen zu komplexieren.

Dabei bewirkt die Komplexierung z.B. eines Wirkstoffs oder Aromas durch Cyclodextrin eine Erhöhung der Löslichkeit sowie bessere Stabilität gegen schädigende pH-Werte oder gegen Oxidation durch Sauerstoff.

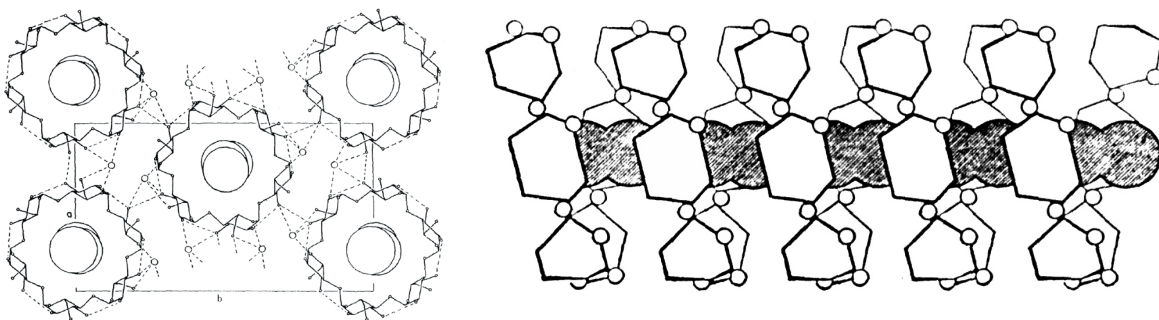


Abb. 7 Modell des V-Amylose-Jod-Komplexes basierend auf Faserdiffraktionsexperimenten [Rundle44, Bluhm81].

1.6 Modelle für die blaue Färbung des Amylose-Jod-Komplexes

Obwohl die strukturelle Charakterisierung des Amylose-Jod-Komplexes mit Faserdiffraktionsstudien durch Rundle et al. gelang (siehe Abb. 7), mußten einige Fragen nach der molekularen Organisation der Polyjodideinheit dieses Komplexes offen bleiben [Rundle47].

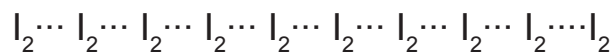
Mehrere Modelle wurden seit der Entdeckung des Jod-Stärke-Komplexes vor knapp 200 Jahren [Colin1814] zur Erklärung der blauen Färbung vorgeschlagen. Diese Modelle unterscheiden sich wesentlich in Bezug auf folgende Merkmale (i) die Kettenlänge des Polyjodides, (ii) die beteiligten Untereinheiten innerhalb dieser Ketten und deren Ladungszustände sowie (iii) den Mechanismus der Färbung.

Amylose mit einer Kettenlänge zwischen 40 und 50 Glukoseresten bildet den Jodkomplex aus, der die typische Blaufärbung mit λ_{\max} 580-620 nm im Absorptionsspektrum zeigt [Mould54, John83]. Unter der Annahme der von Rundle vorgeschlagenen Komplexstruktur können bis zu 17 Jodatome in dieser Amylosekette untergebracht werden.

Mittels potentiometrischer Titrationsexperimente [Gilbert48] konnte auf ein Verhältnis zwischen I_2 / I^- des Polyjodides im Komplex von ca. 3:2 geschlossen werden, das eine Formel für das Polyjodid von $(I_8)^{2-}$ nahe legt. Jedoch können andere Untereinheiten mit

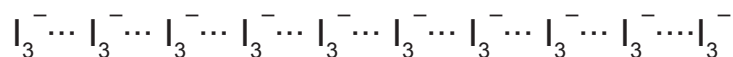
diesem I_2/I^- Verhältnis nicht ausgeschlossen werden. Neben dieser wurde noch eine Vielzahl von anderen Kettenlängen vorgeschlagen z.B. $(I_7)^-$ und $(I_9)^-$ [Cesaro81], $(I_6)^{2-}$, $(I_8)^{2-}$ und $(I_{10})^{2-}$ [Handa80], $(I_4)^{2-}$ [Murakami54] (I_6) [Minick91] sowie $(I_{24})^{2-}$ [Watanabe70]. Trotz vielfältiger Studien zur Bestimmung der Kettenlänge des Polyjodides ist diese Frage noch immer nicht endgültig beantwortet.

Eine weitere Kontroverse ist die Frage nach der Natur und dem Ladungszustand der Untereinheiten des Polyjodides. Sehr frühe Hypothesen gingen von der Annahme aus, daß sich neutrale I_2 -Moleküle im Inneren des hydrophoben Hohlraums der V-Amylose als separate Einheiten lösen [Freundenberg39, Liang74]. Unterstützt wurde diese Annahme durch die Beobachtung, daß Jod sich bevorzugt in apolaren Lösungsmitteln löst.

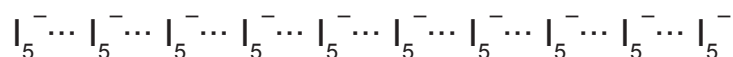


Vor wenigen Jahren wurde sogar ein weiteres Modell mit neutralen I_6 Spezies von Minick et al. [Minick91] vorgestellt, bei dem sich die Jodatome innerhalb der V-Amylosehelix als ungeladene I_6 -Moleküle mit einem Bindungsabstand von jeweils 3.1 Å befinden. Es wurde ausgeschlossen, daß eine geladene Joduntereinheit in die Farbgebung des Komplexes einbezogen ist.

Dagegen ist die generell akzeptierte Lehrmeinung, daß Jodidanionen eine große Rolle bei der Jod-Amylose-Komplexbildung spielen. Die Struktur eines Modellkomplexes $(Benzamid)_2 \cdot H^+ I_3^-$ führte zur Vorstellung eines Modells von separaten Trijodidmolekülen in der Kette des Polyjodides [Reddy64, Robin64, Handa79]. Jedoch weichen die Ramanspektren dieses Modellkomplexes von denen des Amylose-Jod-Komplexes ab [Teitelbaum80].

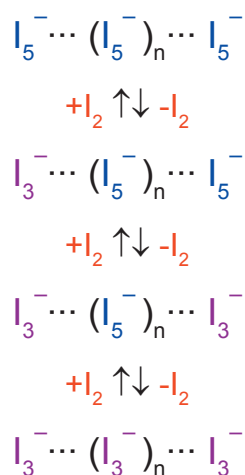


Übereinstimmung mit Mößbauer- und Ramanspektren eines Modellkomplexes $(Trimesinsäure \cdot H_2O)_{10} H^+ I_5^-$ begründeten ein weiteres Modell [Teitelbaum80], das separate Pentajodidmoleküle vorschlägt.



Obwohl dieses Modell Einzug in die Lehrbücher gefunden hat, sind neben einigen Inkonsistenzen mit anderen experimentellen Ergebnissen Zweifel an der Zuordnung der 109 cm^{-1} Hauptbande im Ramanspektrum zum Pentajodid aufgetreten. Diese Bande wird in verschiedenen Ramanuntersuchungen dem Trijodid zugeordnet [Maki67, Parret70, Nour86, Mittag89]. Die Ramanuntersuchung dieses Modellkomplexes $(\text{Trimesinsäure} \cdot \text{H}_2\text{O})_{10} \text{H}^+ \text{I}_5^-$ wurden von Nour et al. [Nour86] in Kombination mit IR-Spektroskopie und Modellrechnungen wiederholt, wobei die 109 cm^{-1} Bande auf Verunreinigungen durch I_3^- zurückgeführt wurde.

In Anbetracht dieser fraglichen Zuordnung der Ramanbande untersuchte Yu et al. [Yu96] die Abhängigkeit der relativen Intensität dieser Bande von der I_2 Konzentration. Aus ihrer Schlußfolgerung, daß im Amylose-Jod-Komplex sowohl Tri- als auch Pentajodid vorliegen können, folgte ein Model das dem Großteil der experimentellen Ergebnisse entspricht. Es beschreibt ein Gleichgewicht von Tri- und Pentajodid, das seine Lage in Abhängigkeit der äußeren Jodkonzentration durch Dissoziation oder Bildung von Pentajodid anpaßt.



1.7 α -Cyclodextrin-Polyjodid-Komplexe als strukturelle Modellverbindung

In den Komplexen zwischen α -CD und den Lithium- (Li^+) oder Cadmiumsalzen (Cd^{2+}) des Trijodides I_3^- , liegen die α -CD-Moleküle in einer gestapelten Anordnung vor. Die Innenräume bilden mit Polyjodid gefüllte Kanäle aus, während sich die Kationen in den Zwischenräumen der Stapel befinden. Das Polyjodid im Lithium-Komplex tritt als fehlgeordnetes $(\text{I}_2 \cdot \text{I}_3^-)_n$ auf, während es im Cadmium-Komplex als I_5^- vorliegt. Die I_2 , I_3^- , I_5^- Einheiten befinden sich in Abständen zueinander, die den Van-der-Waals-Abstand deutlich unterschreiten und somit Ladungstransfer zwischen den Einheiten ermöglicht. In Übereinstimmung damit wird eine tief blaue bis schwarzen Farbe dieser Komplexkristalle beobachtet [Noltemayer80].

1.8 Trijodidbindung in Cycloamylosen

Mit isothermaler Kalorimetrie wurde die Komplexbildung größer Cycloamylosen der Kettenlänge CA21-CA32 untersucht [Kitamura99]. Die Daten zeigten eine spontan ablaufende ($\Delta G < 0$) Komplexbildung von Trijodid und Cycloamylosen im Verhältnis 2 : 1 mit identischen sowie interagierenden Bindungsstellen. Insbesondere für den Komplex mit CA26 wurde ein herausragend großer $-T\Delta S_2$ und ΔH_2 Wert bestimmt (siehe Abb. 8) und einer überdurchschnittlich großen Abnahme der konformationellen Freiheit während der Komplexbildung zugeschrieben.

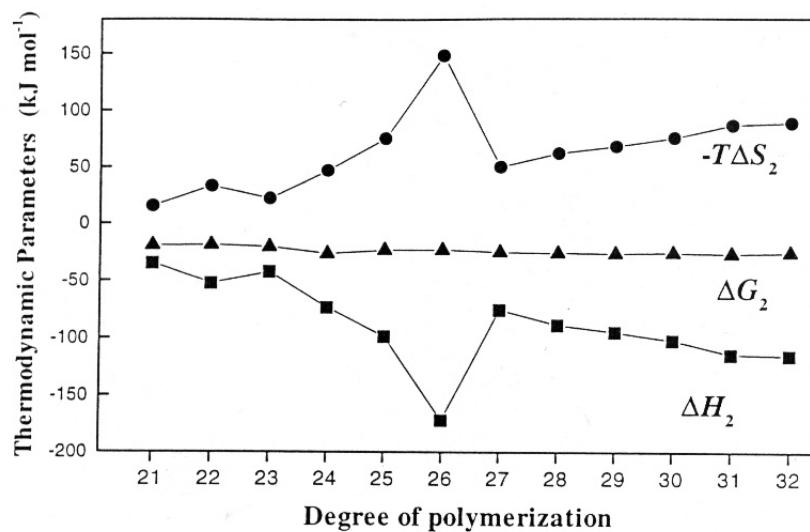


Abb. 8 Kalorimetrische Daten zur Komplexbildung von Trijodid mit Cycloamylosen verschiedener Längen [Kitamura99].

1.8 Problemstellung

Durch die modellhafte Beziehung der Struktur des CA26 zur V-Amylose wurde die Fragestellung aufgeworfen, ob sich diese Verwandtschaft ebenfalls auf das weite und intensiv untersuchte Feld der Komplexbildung von Amylose mit unterschiedlichen Ionen und Molekülen erstreckt. Neben der Vertiefung der strukturellen Kenntnisse über das CA26-Molekül als Hydratkomplex in einer zweiten Kristallform sollte die Kristallisation potentieller Komplexe mit CA26, deren strukturelle Untersuchung sowie eine detailliertere Analyse der Wirt-Gast-Beziehung im Vergleich mit Ergebnissen der Faserdiffraktion ermöglichen. Um die Frage nach dem Einfluß der Gastmoleküle auf die Gestalt des Wirtmoleküls zu beantworten, wurden Kristallisationsexperimente mit einer Vielzahl verschiedenartiger Liganden durchgeführt. Zusätzlich waren Cycloamylosen mit unterschiedlicher Kettenlänge im Bereich CA20-CA30 für die Strukturaufklärung durch Kristallisationsexperimente von Interesse.

Die erfolgreich kristallisierten Komplexe, die ausreichend große Kristalle erhalten haben, wurden mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse untersucht. Zusätzlich sollte für die jeweiligen Gastmoleküle mit alternativen Methoden eine experimentelle Bestätigung der Komplexbildung erfolgen. Mit der limitierten Substanzmenge an gereinigten Cycloamylosen standen die bereits bekannten V-Amyloseliganden wie zum Beispiel Polyjodide und Moleküle mit linearen aliphatischen Ketten im Fokus, da der Beitrag zum detaillierten Verständnis der strukturellen Eigenschaften im breiteren wissenschaftlichen Kontext betrachtet werden kann. Die Ergebnisse dieser Studien werden in den nachfolgenden Kapiteln besprochen.

2. Experimentelle Methoden

2.0 Herstellung, Reinigung und Kristallisation

Die Herstellung, Reinigung und Identifizierung der Cycloamylose wurde in Japan von H. Sanbe, Prof K. Koizumi an der School of Pharmaceutical Science (Mukogawa Women's University, 11-68 Koshien, Kyuban-cho, Hyogo 633 Japan) und Dr. T. Takaha (Biochemical Research Laboratory, Ezaki Glico Co., Ltd., 4-5-6 Utjima, Nishiyodogowa, Osaka 555, Japan) als Teil einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe Prof. Saenger durchgeführt.

Gemische von α -1,4-Glukanringen werden durch die Behandlung synthetischer Amylose AS-320 (Nakano Vinegar, Aichi, Japan) mit dem rekombinanten Kartoffelenzym Amylomaltase (4-alpha-Glukanotransferase E2.4.1.25) erzeugt [Takaha96, Terada97]. Im Gegensatz zu Cyclodextringlycosyltransferasen, die ebenfalls ringförmige Cycloamylosemoleküle, jedoch hauptsächlich kleinere mit 6-9 Glukosen (Cyclodextrine) in einer Zyklisierungsreaktion herstellen, liegt bei Amylomaltase die Anzahl pro Ring bei minimal 17 bis zu mehreren hundert Glukoseresten.

Ca. 500 mg dieser Mischung zyklischer α -1,4-Glukane wurde mit Hilfe der Gelfiltrationschromatographie durch eine 26 x 500 mm Superdex 30 Säule anhand ihrer Größe grob aufgetrennt. Die gesammelte Fraktion, die zyklische Glukane mit einem Grad an Polymerisation von 17 bis 30 enthält, wurde durch Zugabe des zehnfachen Volumens Ethanol gefällt.

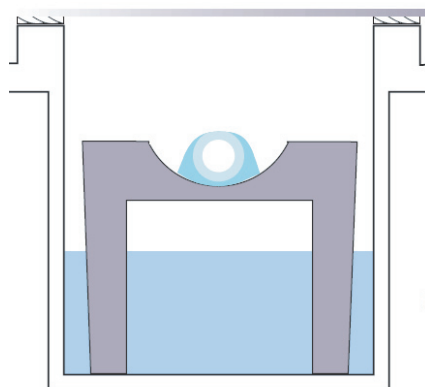


Abb. 9: Schematische Darstellung der Kristallisation als sitzender Tropfen

Das Präzipitat (25 mg) wurde in Wasser gelöst, auf eine 20 x 250 ODS Säule (Daisopak SP-120-5-ODS-BP; Daiso, Osaka, Japan) gegeben und mit 6 %vol Methanol eluiert. Das Glukan im Eluat wurde mit einem Refraktionsindexdetektor (RID-6A; Shimadzu, Kyoto, Japan) beobachtet und die aufgetrennte Fraktion von CA26 gesammelt, mit zehnfachem Volumen Ethanol gefällt und lyophilisiert. Die Reinheit der Präparation wurde mit high-performance anion-exchange Chromatographie und time-of-flight Massenspektrometrie bestätigt. Die Menge an zur Verfügung stehenden Cycloamylosen definierter Kettenlänge für die Kristallisation war auf ca. 20 mg beschränkt.

2.1 Kristallisation - verwendete Materialien

Die Kristallisation biologischer Makromoleküle wird von einer großen Anzahl von Parametern beeinflusst. Im Rahmen dieser Arbeit bestand die größte Herausforderung in der limitierten Menge an hochreinem Ausgangsmaterial. Aufgrund dieser limitierten Gesamtmenge an zur Verfügung stehendem gereinigtem Material wurde die Methode so modifiziert, daß ein weiter Konzentrationsbereich des Fällungsmittels mit einem einzigen Ansatz ohne Verlust durchlaufen werden konnte. Für die angewandte Dampfdiffusionsmethode zur Kristallisation der Cycloamylose wird die Stammlösung (20 mg/ml) mit dem gleichen Volumen Reservoirlösung gemischt. Diese 6 µl der cycloamylosehaltigen Mischung werden als sitzender Tropfen über 10 ml Reservoirlösung (eine wässrige Polyethylenglykol Lösung (PEG 400) mit einem mittleren Molekulargewicht von 400) in einem abgedichteten Plastikgefäß auf einer Brücke aus Plexiglas in einem temperierten Raum (18°C) angesetzt (siehe Abb. 9 und entsprechend Zone 1 in Abb. 10). Nach einer Äquilibrationszeit von ca. zwei Wochen wurde kontinuierlich die Konzentration des Fällungsmittels im Reservoir erhöht, um ein langsames Durchschreiten vom Bereich der ungesättigten Lösung in Richtung der Nukleationszone zu realisieren (vergleiche Übergang 1→2 in Abb. 10). Durch das Kristallwachstum sinkt die Konzentration des in Lösung befindlichen CA26 (vergleiche Übergang 2→3 in Abb. 10).

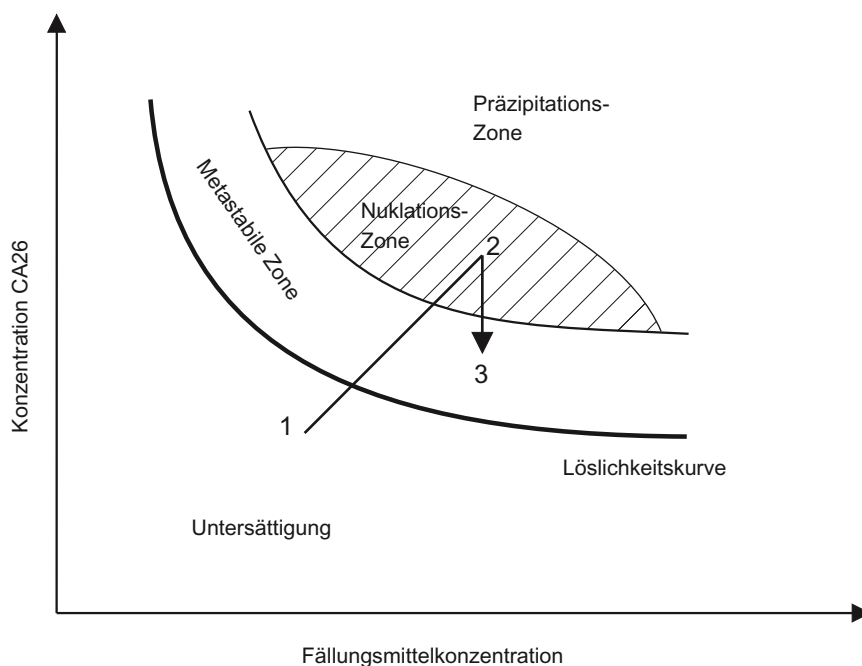


Abb. 10: Schematische Darstellung der Sättigungszonen bei der Kristallisation

Für die Kristallisation der Komplexe von CA26 mit organischen Molekülen wurde Stammlösung mit einem Überschuß des zu komplexierenden Moleküls (Fettsäure, Alkohol, etc.) versetzt, für 30 min im Ultraschallbad bei gleichzeitiger Erwärmung auf ca. 50°C gemischt und anschließend zentrifugiert.

Die jodhaltigen Komplexe wurden durch Zusatz von ca. 0,5 µl gesättigter Trijodidlösung unterschiedlicher Gegenionen (NH₄, K, Cs, Rb, Ba, Zn, Mn, Sr) zum Kristallisationstropfen erhalten.

In Ansätzen ohne zusätzliche Komplexmoleküle wuchsen neben den CA26-Kristallen in der triklinen Raumgruppe in Form von dünnen Plättchen farblose Nadeln in den maximalen Dimensionen 1,0 x 0,05 x 0,05 mm³ (35-37.5% Fällungsmittel).

Ansätze mit verschiedenen langen aliphatischen Fettsäuren zeigten besonders rasch nadelförmige Kristalle, die beim Komplex mit Undekansäure Dimensionen bis zu 1,0 × 0,05 × 0,05 mm³ erreichten. Bei Fettsäuren mit kürzeren (Dekan-, Nonan-, Oktansäure) oder längeren (Tridekansäure) Kettenlängen ist die Kristallisation zeitlich sehr verzögert, und die Dimensionen der Kristalle fallen insbesondere in der Dicke der Nadeln geringer aus.

Die Kristalle der jodhaltigen Komplexe (Ammonium, Cäsium, Barium) zeichnen sich durch eine mehr oder weniger stark ausgeprägte braune Färbung aus. Sie besitzen die Morphologie eines quadratischen Plättchens, das vor allem bei dem Gegenion Cäsium zu mechanisch nicht mehr trennbaren Aufwachsungen weiterer Schichten neigt und damit für ein Einkristalldiffraktionsexperiment nicht geeignet ist.

2.2 Spektroskopie

Für massenspektrometrische Untersuchungen wurden Kristalle im Lösungsmittel DMSO gelöst und mit der Fast-Atom-Bombardment (FAB) Methode in einer Glycerinmatrix ionisiert.

Aufgelöste Kristalle der jodhaltigen Komplexe wurden schwingungsspektroskopisch mit dem Ramanspektrometer (Jobin Yvon T64000) untersucht. Dabei wurde ein Argon Ionen Laser (Coherent Innova 90) zur Anregung sowie ein CCD Detektor verwendet. Die Wellenlänge beträgt 514,5 nm mit einer Leistung des eingehenden Laserlichts von ca. 100 mW. Die Proben wurden in 100 µl Wasser aufgelöst und in einer Glaskapillare mit einem Volumen von 20 µl in Rückstreuung gemessen.

In einem kombinierten FT-Ramanspektrometer mit Mikroskop (Bruker RFS 100) wurden Spektren von intakten CA26-Kristallen und pulverförmigem Ausgangsmaterial aufgenommen. Dabei wurde eine 50 mW Laseranregung bei einer 1064 nm Wellenlänge und eine dünnwandige Glaskapillare als Probenhalter verwendet.

Verdünnungen der zur Kristallisation eingesetzten Jodidlösungen wurden spektroskopisch mit einem Milton Roy Spectronic 3000 Absorptionsspektrometer charakterisiert. Dabei wurde eine flache Quarzküvette mit 0,98 mm Schichtdicke verwendet. Die Konzentrationen lagen im Bereich von 0,01 mol/l, dies entspricht etwa einer Verdünnung 1:1000 der gesättigten Jodidlösungen.

Die Absorption der jodhaltigen Kristalle konnte in einem kombinierten Spektrometer mit Mikroskop untersucht werden. Bei diesem Experiment lagen die Kristalle offen auf einem Quarz-Objekttträger. In der bevorzugten Durchlichtmeßanordnung konnten von sehr dünnen Kristallen Absorptionsspektren aufgenommen werden.

3. Strukturlösung und -verfeinerung

3.1 Datensammlung

Eine Voraussetzung für Experimente der Röntgenbeugung an Einkristallen ist eine Röntgenstrahlungsquelle, die im Laboreinsatz zum Beispiel durch Drehanodengeneratoren realisiert werden. Die größere Qualität und höhere Intensität der in den letzten Jahren in höherem Umfang zur Verfügung stehenden Synchrotronstrahlungsquellen stellten sich als essentiell für die Datensammlung aufgrund der zum Teil extrem geringen Dimensionen der Einkristalle (ca. 0,05 mm) und dem damit verbundenen geringeren Streuvermögen heraus.

Die Kristalle werden zum Messen der Beugungsdaten bei 4°C in einer Glaskapillare montiert, die mit Hartwachs versiegelt wurde. Ein zusätzlicher Tropfen Mutterlauge verhindert die Austrocknung des Kristalls. Für Tieftemperaturmessungen werden die Kristalle im Stickstoffkühlstrom bei -173°C schockgefroren. Dazu wurde der Kristall mit einer auf einem Magnethalter befestigten Schlaufe aus dem Kristallisationsansatz entnommen und nötigenfalls nach kurzem, einmaligem Eintauchen in Gefrierschutzmittel (30% PEG 400) direkt im Stickstoffkühlstrom des Diffraktometers eingefroren.

3.1.1 CA26-Hydrat-Komplex

An der Meßstation BW7B des European Molecular Biology Laboratories (EMBL) am Deutschen Elektronen-Synchrotron (DESY) in Hamburg wurden 151.663 Röntgendiffraktionsdaten mit Synchrotronstrahlung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 0,97 \text{ \AA}$ gemessen. Die Messung von drei überlappenden Auflösungsschalen erfolgte bei 4°C mit einem MarResearch Image-Plate-Detektor (Radius 345 mm) bis zu einer maximalen Auflösung von 0,85 Å. Die Indizierung und Auswertung wurde mit dem hkl-Paket [Otwinowski97] durchgeführt. Der CA26-Hydratkristall besitzt die Raumgruppe $P2_12_12_1$ mit folgenden Zellparametern: $a = 13,823 \text{ \AA}$, $b = 41,023 \text{ \AA}$, $c = 46,511 \text{ \AA}$. Die Reduzierung der Daten zu einem Satz von 23.556 unabhängigen Reflexen ergab einen Wert für $R_{\text{sym}} = 3,7\%$, welcher bei mehrfach gemessenen, symmetrieverwandten Reflexen ein Maß für die Abweichung ihrer Intensität vom jeweiligen Mittelwert darstellt und als Gütekriterium für die Qualität des Datensatzes Verwendung findet. Die Parameter des Datensatzes sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Kristallographische Daten

CA26-Komplex	Hydrat	Ammoniumjodid	Bariumjodid	Dodekanol	Undekansäure	Undekansäure II
Chemische Zusammensetzung	$(C_{156}H_{260}O_{130}) \cdot 37,79 H_2O$	$2(C_{156}H_{260}O_{130}) \cdot 6NH_4 \cdot 2NH_4 \cdot 91,5 H_2O$	$(C_{156}H_{260}O_{130})_{0,5} \cdot Ba_{0,5,3} \cdot glycol \cdot (PEG400)_{0,5} \cdot 23,75 H_2O$	$(C_{156}H_{260}O_{130})_{0,5} \cdot (C_{12}H_{25}O)_n \cdot 32,0 H_2O$	$(C_{156}H_{260}O_{130}) \cdot (C_{11}H_{22}O_{2,2}) \cdot 34,95 H_2O$	$(C_{156}H_{260}O_{130}) \cdot (C_{11}H_{22}O_{2,2}) \cdot 23,0 H_2O$
Formale Masse	4.820,3	12.761,0	3.113,2	2.869,7	5.217,8	4.428,2
Raumgruppe	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	C222 ₁	C2	C2	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	C2
Einheitszellen	a = 13,822(2)	a = 31,79(3)	a = 50,70(1)	a = 49,98(3)	a = 20,83(2)	a = 46,46(5)
Parameter	b = 41,02(3)	b = 44,13(4)	b = 13,853(3)	b = 13,84(1)	b = 27,22(3)	b = 23,27(2)
	c = 46,51(4)	c = 80,65(8)	c = 21,429(4)	c = 21,46(1)	c = 46,67(5)	c = 29,32(5)
	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	$\alpha = \gamma = 90^\circ$, $\beta = 114,57(3)$	$\alpha = \gamma = 90^\circ$, $\beta = 114,46(3)^\circ$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	$\alpha = \gamma = 90^\circ$, $\beta = 121,02(5)$
Volumen [Å ³]	26.374	113.113	13.687	13.516	17.012	27.165
CA26 pro asym. Einheit	1	2	½	½	1	1
Berechnete Dichte [g/cm ³]	1,29	1,35	1,46	1,09	1,12	1,09
Temperatur [°C]	4	-173	4	-173	4	4
Strahlungsquelle	BW7B	X31	X31	Mo	X31	BW7B
Wellenlänge [Å]	0,92	0,92	0,75	0,71073	0,82	0,8345
Auflösungsbereich [Å]	23 - 0,85	19,5 - 0,91	23 - 0,90	22,7 - 1,00	19 - 1,05	14,5 - 1,05
Unique Reflexe: aller Daten	23.556	36.017	8.824	7.070	23.845	10.96
$\geq 4 \sigma(F_{obs})$	19.905	35.197	7.880	5.304	15.353	8.161
Vollständigkeit [%]	97,2	92,0	98,6	100	97,8	81,8
R _{sym} [%]	3,6	10	4,3	5,3	7,0	5,8
Anzahl der Parameter	3.272	6.451	1.685	1.563	2.945	2.806
Krist. R-Faktor: aller Daten	0,090	0,099	0,088	0,102	0,137	0,167
$\geq 4 \sigma(F_{obs})$	0,084	0,099	0,081	0,077	0,095	0,139
R _{free} : aller Daten	0,105	0,112	0,100	0,124	0,164	0,199
$\geq 4 \sigma(F_{obs})$	0,095	0,111	0,090	0,093	0,119	0,171
GooF	1,226	2,233	1,898	1,000	1,523	2,353
$\Delta(\rho)_{max}; \Delta(\rho)_{min}$ [e/Å ³]	0,50; -0,59	0,99; -0,87	0,56; -0,45	0,52; -0,32	0,52; -0,48	0,56; -0,38

3.1.2 CA26-Ammoniumjodid-Komplex

Eine vorläufige Datensammlung wurde am Multiwire Proportionalzählerdetektor in der Gruppe von Prof. Sheldrick (Göttingen) bis zu einer Auflösung von 1,5 Å bei einer Wellenlänge der Drehanode von $\lambda_{\text{Cu}} = 1,5418 \text{ \AA}$ durchgeführt. Eine Strukturlösung mit diesen Daten war sowohl mit klassischen Methoden als auch direkten Methoden nicht erfolgreich, da die direkten Methoden eine atomare Auflösung ($< 1.2 \text{ \AA}$) voraussetzen.

An der Meßstation X31 (DESY, EMBL-Außenstation, Hamburg) wurden 330.709 Röntgendiffraktionsdaten mit Synchrotronstrahlung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 0,92 \text{ \AA}$ gemessen. Bei -173°C erfolgte diese Messung mit einem MarResearch Image-Plate-Detektor (Radius 300 mm) bis zu einer maximalen Auflösung von 0,91 Å. Die Indizierung und Auswertung wurde mit dem hkl-Paket [Otwinowski97] durchgeführt und ergab einen Satz von 36.017 unabhängigen Reflexen mit einem R_{sym} von 8,4 %. Die Zellparameter der orthorhombischen Raumgruppe $C22_1$ sind in Tabelle 1 aufgeführt.

3.1.3 CA26-Bariumjodid-Komplex

An der Meßstation X31 (DESY, EMBL-Außenstation, Hamburg) wurden 35.632 Röntgendiffraktionsdaten mit Synchrotronstrahlung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 0,75 \text{ \AA}$ gemessen. Bei 4°C erfolgte diese Messung mit einem MarResearch Image-Plate-Detektor (Radius 300 mm) bis zu einer maximalen Auflösung von 0,90 Å. Die Indizierung und Auswertung mit dem hkl-Paket [Otwinowski97] ergab 8.824 unabhängige Reflexe mit einem R_{sym} von 6.3 %. Die Zellparameter der monoklinen Raumgruppe C2 sind in Tabelle 1 aufgeführt.

3.1.4 CA26-Undekansäure-Komplex I

An der Meßstation X31 (DESY, EMBL-Außenstation, Hamburg) wurden 191.720 Röntgendiffraktionsdaten mit Synchrotronstrahlung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 0,82 \text{ \AA}$ gemessen. Bei 4°C erfolgte diese Messung mit einem MarResearch Image-Plate-Detektor (Radius 300 mm) bis zu einer maximalen Auflösung von 1,05 Å. Die Indizierung und Auswertung mit dem hkl-Paket [Otwinowski97] ergab 23.845 unabhängige Reflexe mit einem R_{sym} von 7,0 %. Die Zellparameter der orthorhombischen Raumgruppe $P2_12_12_1$ sind in Tabelle 1 aufgeführt.

3.1.5 CA26-Undekansäure-Komplex II

An der Meßstation BW7B (DESY, EMBL-Außenstation, Hamburg) wurden 54.172 Röntgendiffraktionsdaten mit Synchrotronstrahlung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 0,83 \text{ \AA}$ gemessen. Bei 4°C erfolgte diese Messung mit einem MarResearch Image-Plate-Detektor (Radius 300 mm) bis zu einer maximalen Auflösung von 1,05 Å. Die Indizierung und Auswertung mit dem hkl-Paket [Otwinowski97] ergab 10.814 unabhängige Reflexe mit einem R_{sym} von 5,8 %. Die Zellparameter der monoklinen Raumgruppe C2 sind in Tabelle 1 aufgeführt.

3.1.6 CA26-Dodekanol-Komplex

Die Datensammlung wurde mit einem Bruker CCD Detektor in der Gruppe von Prof. Sheldrick (Göttingen) bis zu einer Auflösung von 1,0 Å bei einer Wellenlänge von $\lambda_{\text{Mo}} = 0,71 \text{ \AA}$ durchgeführt. Die 51.157 gemessenen Reflexe wurden mit Programm Saint (Bruker) indiziert und zu 7.070 unabhängigen Daten prozessiert. Die Zellparameter der monoklinen Raumgruppe C2 sind in Tabelle 1 aufgeführt.

3.2 Strukturlösung

3.2.1 Direkte Methoden

Im Röntgendiffraktionsexperiment können die Intensitäten der Reflexe, jedoch nicht deren relative Phasen gemessen werden. Für die Berechnung der Elektronendichte sind diese Phasen allerdings erforderlich. Um das so genannte „Phasenproblem“ für größere Moleküle mit mehr als 100 Atomen zu lösen, sind konventionelle direkte Methoden, die auf einer hoch entwickelten Wahrscheinlichkeitstheorie basieren, nicht mehr geeignet. Ein bahnbrechender Ansatz für die Strukturlösung größerer Moleküle war eine iterative Methode namens „Shake and Bake“, bei der zwischen Optimierungsmethoden im realen und reziproken Raum zyklisch gewechselt wird [Miller93]. Damit war die Grundlage zur *ab initio* Phasierung allein auf Basis der Intensitäten eines Datensatzes geschaffen, die auch für größere Makromoleküle mit mehr als tausend Atomen erfolgreich anwendbar ist. Abb. 11 zeigt schematisch den Ablauf dieses Ansatzes. Zu Beginn eines Lösungsversuchs wird die asymmetrische Einheit mit zufällig positionierten Atomen gefüllt. Für den Prozeß können verschiedene Randbedingungen vorgegeben werden, zum Beispiel die Art und Anzahl der Atome, Kriterien für typische atomare Abstände und die Pattersonfunktion mit der die Lösung eine schlüssige Übereinstimmung haben soll. Die Phasen werden für die Startatome berechnet und können unter Anwendung verschiedener Strategien im reziproken Raum verbessert werden. Dieser Teil der Prozedur entspricht dem „Shake“. Dabei wird entweder die Minimierungsfunktion [Miller93] oder die Tangentenformel [Karle68] angewendet. Das Ziel der Minimierungsfunktion ist es, den erwarteten mit den aktuell berechneten Kosinus der Summe dreier Phasen, deren Reflexindices sich zu Null addieren, mit Hilfe der gewichteten mittleren quadratischen Differenz zu minimieren. Die Tangentenformel nutzt die am besten bestimmten Phasen aus, um die Phasen der restlichen Reflexe zu berechnen.

Diese verbesserten Phasen zusammen mit den normalisierten Strukturfaktoren (E- Werten), die aus den gemessenen Intensitäten erhalten werden, werden für die Berechnung einer Elektronendichte herangezogen. Die höchsten Maxima der Dichte werden als wahrscheinliche Atompositionen interpretiert. Diese im realen Raum stattfindende Hälfte stellt den Teil „Bake“ dar, und es werden drei verschiedene Methoden zur Optimierung angewandt.

(i) Einfache Auswahl von Dichtemaxima, die der Anzahl an gesuchten Atomen entspricht sowie deren Zuordnung zu verschiedenen erwarteten Atomtypen.

(ii) Bei der Optimierung der Liste der Dichtemaxima [Sheldrick95] wird jede einzelne Atomlage der Reihe nach eliminiert und daraufhin überprüft, ob sich dadurch eine Erhöhung des Korrelationskoeffizienten zwischen den normalisierten experimentellen Strukturformfaktoren und den berechneten Strukturformfaktoren des Modells erreichen läßt. Gegebenenfalls wird die Eliminierung dieses Atoms beibehalten.

(iii) Für die Methode der zufälligen „Omit-Dichten“ werden ca. 30% der Atome willkürlich aus der Atomliste mit den höchsten Dichtemaxima entfernt, und mittels der Tangentenformel wird ihre Zahl wieder erweitert.

Nach der Optimierung im realen Raum werden die verbleibenden Atome benutzt, um neue Startphasen zu berechnen, mit denen die Optimierung in einer weiteren Runde fortgesetzt wird. Die Anzahl der benötigten Durchläufe pro Versuch ist abhängig von der untersuchten Struktur, wobei sich die halbierte Anzahl gesuchter Atome als sinnvoll erwiesen hat. Bei dieser zyklischen Phasenoptimierung im reziproken sowie realen Raum werden nur die 10-20% stärksten normalisierten Strukturformfaktoren (E-Werten) verwendet, da sowohl Minimierungsfunktion als auch Tangentenformel nur für diese starken E-Werte Gültigkeit besitzt.

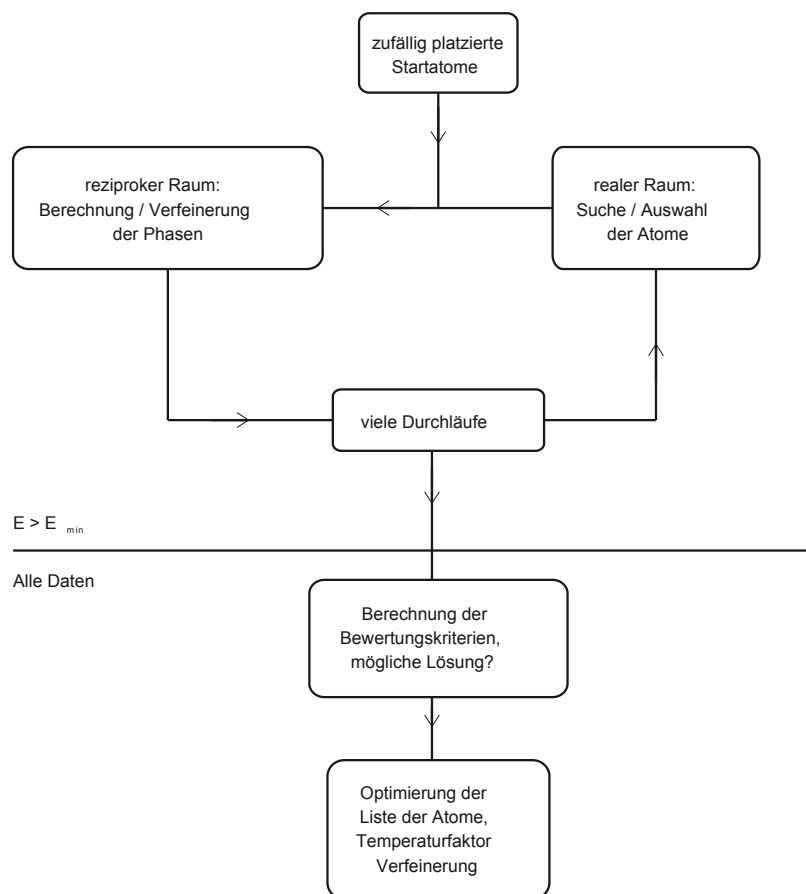


Abb. 11: Flußdiagramm der Direkten Methoden

3.2.2 Molekularer Ersatz

Die Methode des molekularen Ersatzes stellt einen sehr effizienten Phasierungsmechanismus dar, der jedoch nicht universell eingesetzt werden kann. Die limitierende Voraussetzung liegt im benötigten Suchmodell begründet, das für die erfolgreiche Anwendung eine hinreichend große Ähnlichkeit mit der gesuchten Struktur haben muß. Dabei stellt die Positionierung ein sechsdimensionales Problem dar, das in eine Rotations- und Translationssuche zerlegt werden kann.

Die Rotationssuche liefert die Orientierung des Moleküls und wird als Maximierung der Überlagerung der Pattersonfunktionen des Modells und des experimentellen Datensatzes innerhalb eines Integrationsvolumens durchgeführt.

Die sich anschließende Translationssuche bestimmt die Lage des Moleküls in der Einheitszelle. Die Translationssuche erfolgt durch die Maximierung des Überlappungsintegrals einer Überlagerung der Pattersonfunktionen von experimentellen Daten mit denen, die durch das vororientierte Suchmodell generiert wird.

Zur Bewertung der Ergebnisse stehen der kristallographische R-Wert, der Korrelationskoeffizient sowie die Packungsanalyse zur Verfügung. Die Implementierung der gleichzeitigen Optimierung aller sechs Parameter der kombinierten Rotations- und Translationssuche wurde im Programm EPMR [Kissinger99] geleistet, das erheblich mehr Rechenzeit in Anspruch nimmt, sich jedoch als sehr robust erwiesen hat.

3.2.3 CA26-Hydrat-Komplex

Die Struktur wurde mit Hilfe des Programms ShelxD [Sheldrick98, Uson99] durch einen kombinierten Ansatz von molekularem Ersatz und direkten Methoden gelöst. Dazu wurden die orthorhombischen Daten in die trikline Hemisphäre erweitert und eine Rotationsfunktionssuche mit den Koordinaten aus der triklinen Struktur CA26 t_a durchgeführt. Die Maxima der Rotationsfunktion wurden bestimmt mit den 6.819 Reflexen zwischen 1,8 Å und 1,5 Å Auflösung. Bewertet werden die verschiedenen Orientierungen anhand der Korrelationskoeffizienten [Fujinaga87], die für die Daten zwischen 1,5 Å und 1,3 Å Auflösung berechnet wurden. Die Lösung mit dem höchsten Korrelationskoeffizienten wurde ausgewählt und in 9 Runden progressiver Erweiterung laufend weitere Atome in die Struktur einbezogen. Anschließend wurde die Methode der optimierten Liste der Dichtemaxima [Sheldrick95] angewandt, bei der jede mögliche Atomposition der Liste auf ihren Beitrag für die Übereinstimmung des Strukturmodells mit den experimentellen Daten überprüft wurde. Die erzielte Lösung zeichnet sich durch einen Korrelationskoeffizienten von 83% aller Daten aus und enthielt 1.220 korrekt positionierte Atome der vier symmetrieverwandten Moleküle in der Einheitszelle. Die Lokalisierung der Symmetrieelemente der orthorhombischen Raumgruppe $P2_12_12_1$ führte zur Reduktion der vier Moleküle zu dem einen, das in der asymmetrischen Einheit vorhanden ist.

3.2.4 CA26-Ammoniumjodid-Komplex

Mit einem konventionellen Programm für Strukturlösungen mit Hilfe direkter Methoden (ShelxS) lassen sich nur die Lagen der Jodatome lokalisieren, die als unterbrochene lineare Kette durch den gesamten Kristall verläuft. Trotz verschiedener Kombinationen von Startmodellen (nur CA26, CA26 + Jod, nur Jod) scheiterten Versuche, die Struktur mit Hilfe der Jodteilstruktur, die mit den direkten Methoden bestimmt wurde, in Kombination mit der Methode des molekularen Ersatzes zu lösen. Dabei kamen verschiedene Implementierungen der Programmpakete AmoRe [Navaza94], GLRF/TF [Tong97] und EPMR [Kissinger99] zur Anwendung. Erst mit dem damals in der Entwicklung begriffenen Programm ShelxD [Sheldrick98, Usón99] war die Lösung dieser Struktur mit direkten Methoden möglich. Damit konnten die beiden unabhängigen CA26-Moleküle entlang der Jodketten identifiziert werden.

Die Struktur wurde mit einer Methode gelöst, die in ShelxD implementiert ist, zyklisch zwischen den Optimierungsmethoden im realen und im reziproken Raum hin und her wechselt und "dual-space recycling" genannt wird (siehe Abb. 9). Die gemessenen Daten wurden auf eine maximale Auflösung von 1,05 Å begrenzt. Im internen Kreisprozeß des Programms, der nur die 3.559 stärksten Reflexe ($E > 1,4$) benutzt, wurden die erwarteten 18 Jodatome lokalisiert.

Dazu wurde mit einer Auswahl von willkürlich positionierten Jodatomen begonnen, deren Lagen sich in Übereinstimmung mit der Pattersonfunktion befinden. Die Phasen werden abwechselnd im reziproken Raum mit der Tangentenformel [Karle68] verfeinert und anschließend die stärksten 30 Maxima der mit diesen Phasen berechneten Elektronendichte im realen Raum ausgewählt. Diese Auswahl wurde erst um 12 zufällig ausgewählte potentielle Atome reduziert, und mit den verbliebenen Atomen wurde der nächste Durchlauf begonnen. Nach 10 dieser iterativen Runden im reziproken und realen Raum wurden mögliche Lösungen bewertet. Dafür wurden ihre Korrelationskoeffizienten [Fujinaga87], die auf den gesamten experimentellen Daten basieren, sowie das Übereinstimmungskriterium (PATFOM) der Minimumfunktion, die eine Überlagerung der experimentellen mit der Pattersonfunktion der 18 Jodatome darstellt, herangezogen. Teillösungen mit einem Korrelationskoeffizienten größer 40% und einem PATFOM größer 15 führten unweigerlich zu einer Jodsubstruktur, die eine Lösung der gesamten Struktur herbeiführte. Nach Erweiterung der Struktur durch 8 Runden progressiver Ergänzung von Atomen und anschließender Optimierung der Liste der Dichtemaxima [Sheldrick95], zeichnete sich diese Lösungen durch einen Korrelationskoeffizienten von ungefähr 70% aus.

Auf diese Art und Weise wurde die Struktur dreimal innerhalb der ersten 100 Versuche gelöst, die jeweils zur Bestimmung von 740 richtig positionierten Atomen führte. Die Anzahl der Jodatome, die im internen Zyklus lokalisiert werden mußten, stellte sich

als der kritische Parameter dieser Strukturlösung heraus. Diese Anzahl mußte korrekt bestimmt werden, damit eine nahezu vollständige Lösung ohne Verzerrung der Geometrie zu erhalten war. Die Analyse der Pattersonfunktion (siehe Abb. 12), die von Vektoren zwischen Jodatomen dominiert wird, erwies sich als große Hilfe bei der Optimierung der Anzahl der nötigen Jodlagen. Für jedes der 18 Jodatome mit einer hohen Besetzung konnte bereits mit dieser klassischen Methode eine relative Position bestimmt werden.

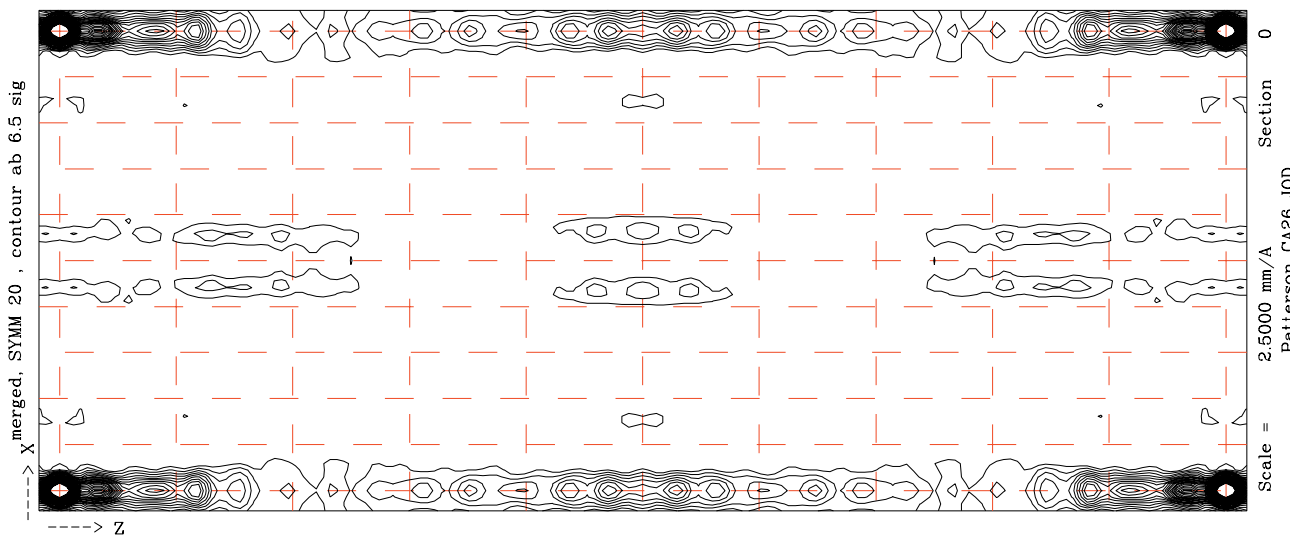


Abb. 12: Schnitt entlang der x,z-Ebene der Pattersondichte des CA26-Ammoniumjodid-Komplexes.

3.2.5 CA26-Bariumjodid-Komplex

Aus der geringen Größe der monoklinen Einheitszelle war schon vor einer Lösung dieser Struktur bekannt, daß nur eine Hälfte des CA26-Moleküls in die asymmetrische Einheit paßt und die zweite Hälfte durch den kristallographischen Symmetrieoperator in Form einer zweizähligen Rotationsachse generiert wird. Bei einem Komplex, der ein Bariumatom als Schweratom eingebaut hat, kann allein die Bestimmung seiner Position erheblich zur Lösung beitragen. Mit der klassischen Analyse der Pattersonfunktion sollten die Koordinaten des Bariumatoms zu bestimmen sein. Das erwartete prominente Maximum für die Bariumlage ist bei diesem Datensatz nicht sofort erkennbar. Erst nachdem diese Ursprungsdichte mit statistischen Methoden reduziert wurde, gelang es, die Position des Bariumatoms als $x = y = z = \frac{1}{2}$ in der Harkerebene mit $y = \frac{1}{2}$ zu identifizieren.

Der Beitrag dieses Bariumatoms zu den Phasen der gesamten Struktur reichte aus, um durch eine Erweiterung der einatomigen Bariumteilstruktur in 5 Durchläufen einer progressiven Ergänzung von Atomen und anschließender Optimierung der Liste der Maxima [Sheldrick95] die gesamte Struktur zu lösen. Diese Lösung wurde durch einen Korrelationskoeffizienten [Fujinaga87] von 76% charakterisiert und bestimmt 139 richtige Atompositionen.

3.2.6 CA26-Dodekanol-Komplex

Die Struktur wurde mit direkten Methoden des Programms ShelxD [Sheldrick98, Uson99] gelöst. Beginnend mit einer willkürlichen Verteilung der Atome in der asymmetrischen Einheit wurde eine Lösung erhalten, die einen Korrelationskoeffizienten von 86,2% aufweist und alle 140 Atome des CA26 richtig lokalisiert.

3.2.7 CA26-Undekansäure-Komplex I

Die Struktur wurde mit molekularem Ersatz unter Verwendung des CA26o-Startmodells gelöst. Die Rotations- und anschließende Translationssuche mit dem Programm AmoRe [Navaza94] zeigten eindeutig Orientierung und Lage eines ganzen Moleküls in der asymmetrischen Einheit der Zelle. Die Lösung zeichnet sich durch folgende Bewertungskriterien der experimentellen im Vergleich zu den Strukturfaktoramplituden des Modells aus. Der R-Wert liegt bei 54% (41%) und der Korrelationskoeffizient bei 44% (61%) vor bzw. nach der Verfeinerung als starrer Körper.

3.2.8 CA26-Undekansäure-Komplex II

Die Struktur wurde mit molekularem Ersatz unter Verwendung einer Hälfte (G1-G13) des CA26o Startmodells gelöst. Die Orientierung und Lage einer Hälfte des CA26-Moleküls in der asymmetrischen Einheit der Zelle konnte mit dem Programm AmoRe [Navaza94] bestimmt werden. Die zweite Hälfte des Moleküls wurde durch die kristallographische Symmetrie dieser monoklinen Raumgruppen vervollständigt. Die Lösung zeichnet sich durch einen R-Wert von 50% (49%) und einen Korrelationskoeffizienten von 63% (67%) vor bzw. nach der Verfeinerung als starrer Körper aus.

3.3 Verfeinerung

3.3.1 Generell

Vor den Verfeinerungen wurden jeweils ca. 5% der Reflexe willkürlich als Testreflexe ausgewählt. Mit Hilfe dieser für die Verfeinerung nicht berücksichtigten Daten wird der R_{free} [Brünger92] berechnet, der als direkter Vergleich zum R-Wert eine elegante Möglichkeit bietet, die Überinterpretation der Daten zu verhindern. Die erzielten Strukturösungen wurden im ersten Verfeinerungsschritt als starren Körper mit eingeschränkten Freiheitsgraden betrachtet und die Orientierung und Position mit SHELX-97 [Sheldrick97] optimiert. In den folgenden Zyklen der Verfeinerung mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate unter Berücksichtigung der gesamten Matrix wurden in der Regel alle Atome mit anisotropen Temperaturfaktoren behandelt, mit Ausnahme des Wasserstoffs. Die Lage der Wasserstoffatome wurde für alle CH bzw. CH₂ Fragmente als sp³-hybridisierte Kohlenstoffatome in idealisierter Geometrie ($d(\text{CH}) = 0.97 \text{ \AA}$) berechnet und als isotrope Beiträge einbezogen. Einige der O(6)-Atome der Glukosen besitzen eine zweifache Fehlordnung. Ihre Besetzungsfaktoren sind während der Verfeinerung auf eine Summe von 1.0 fixiert. Wasserpositionen wurden in einer Reihe von Analysen der $F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$

Differenzdichten ($\Delta\rho$) lokalisiert und anhand der Elektronendichte mit dem graphischen Darstellungsprogramm XtalView [McRee99] positioniert.

3.3.2 CA26-Hydrat-Komplex

Die Glukosen wurden in den ersten Verfeinerungszyklen mit Hilfe der Bindungen zwischen benachbarten Atomen (1-2, 1-3) in ihrer Geometrie eingeschränkt. Dabei wird jeder Kombination von Atompaaren, die in jeder der Glukosenuntereinheiten wieder vorkommt, jeweils eine Abstandsvariable zugeordnet. Für diesen variablen Abstand wird kein Wert beziffert, jedoch müssen diese mehrfach auftretenden Abstände für jede der Glukosen einen ähnlichen Wert innerhalb der Standardabweichung von 0,02 Å einhalten. Aufgrund der hohen Auflösung der gemessenen Daten und dem damit verbundenen Daten zu Parameter Verhältnis von ca. 8:1 wurden diese Einschränkungen in den letzten Verfeinerungszyklen nicht mehr angewandt. Die fehlgeordneten O(6) Hydroxylgruppen mußten davon jedoch ausgenommen werden.

20% der O-H Wasserstoffatome konnten in der Differenzdichte identifiziert werden. Im letzten Verfeinerungszyklus waren 3.272 unabhängige Parameter frei, der Goodness-of-Fit war 1,226 und der kristallographische R-Wert konvergierte bei $R = 0,084$ für 20.945 Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und für alle 23.556 Daten bei $R = 0,090$. Der freie R-Wert konvergierte bei $R_{\text{free}} = 0,095$ für die 1.040 Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und bei $R_{\text{free}} = 0,105$ für alle 1.186 Testreflexe. Die Zahl der Wassermoleküle beläuft sich auf 37,79, die über 54 Positionen verteilt sind. Davon sind lediglich 14 voll und alle anderen nur teilweise besetzt.

3.3.3 CA26-Ammoniumjodid-Komplex

Die Jodatome, die sich innerhalb der Kanäle befinden, liegen zweifach fehlgeordnet vor. Dabei wurden die Besetzungsanteile der hauptsächlich und geringer besetzten Trijodid Teilmoleküle auf eine Summe von 1,0 fixiert. Die Glukosen wurden in der gesamten Verfeinerung mit Hilfe ähnlicher Abstandsvariablen zwischen benachbarten Atomen (1-2, 1-3) in ihrer Geometrie eingeschränkt.

In der letzten Runde wurden insgesamt 6.451 unabhängige Parameter verfeinert, die einen Goodness-of-Fit von 2,233 und einen R-Wert von 0,099 für die 35.197 Reflexe mit einem $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ aufwiesen. Für alle 36.017 Daten berechnete sich der R-Wert zu 0,099. Der R_{free} liegt bei 0,111 für die 1.855 Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und bei $R_{\text{free}} = 0,112$ für alle 1.894 Testreflexe.

3.3.4 CA26-Bariumjodid-Komplex

Das Bariumatom liegt in einer speziellen Position auf der zweizähligen Rotationsachse des kristallographischen Symmetrieelements, daher muß seine Besetzung auf $\frac{1}{2}$ beschränkt werden. Das Ellipsoid des anisotropen Temperaturfaktors unterliegt der geometrischen Einschränkung, die aus der Rotationssymmetrie resultiert. Die Jodatome

liegen fehlgeordnet vor. Keinerlei geometrische Einschränkungen bezüglich ihrer Positionen wurden angewandt. Die Glukosegeometrie hingegen wurde mit Hilfe der ähnlichen Abstandsvariablen eingeschränkt.

Die Koordinationssphäre des Bariums wird durch zwei fehlgeordnete Moleküle Polyethylenglykol gebildet. Diese aus dem Fällungsmittel stammenden Moleküle (vergl. Kristallisation) besitzen eine räumliche Anordnung, die übereinstimmt mit der Struktur von Komplexen des Bariumrhodanids mit Penta- bzw. Hexaethylenglykol [Wei87, Wei87a]. Insgesamt belief sich die Zahl der unabhängigen Parameter auf 1.685, die im letzten Zyklus verfeinert wurden. Dabei ergab sich ein Goodness-of-Fit von 1,898 und ein R-Wert von 0,081 für 7.880 starke Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ während für alle 8.824 Daten ein R-Wert von 0,088 berechnet wurde. Der R_{free} ergab 0,090 für die 412 starken Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und $R_{\text{free}} = 0,100$ für alle 466 Testreflexe.

3.3.5 CA26-Undekansäure-Komplex I

Neben den Einschränkungen der Glukosegeometrie mit Hilfe der ähnlichen Abstände bei äquivalenten Atomtypen wurde die Dichte in den Kanälen mit einer Fettsäure modelliert, deren Bindungslängen auf die jeweiligen Werte entsprechend ihres Typs innerhalb einer Abweichung von 0,02 Å eingeschränkt wurde. Zum Ende wurden 2.945 unabhängige Parameter verfeinert und das Modell erreichte einen Goodness-of-Fit von 1,523. Der R-Wert beträgt 0,095 für die 15.353 stärksten Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$. Für alle 23.845 Daten ergibt sich ein R-Wert von 0,137. Der R_{free} liegt bei 0,119 für die 814 Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und bei $R_{\text{free}} = 0,164$ für alle 1.263 Testreflexe.

3.3.6 CA26-Undekansäure-Komplex II

Die geometrischen Einschränkungen der Glukose und der Fettsäure wurden in Analogie zu Komplex I übernommen. Daraus resultieren 2.806 unabhängige Parameter im letzten Verfeinerungszyklus mit einem Goodness-of-Fit von 2,353. Der R-Wert ergab 0,139 für 8.161 Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und für alle 10.796 Daten einen R-Wert von 0,167. Der R_{free} ist 0,171 für die 423 Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und $R_{\text{free}} = 0,199$ für alle 570 Testreflexe.

3.3.7 CA26-Dodekanol-Komplex

Die Einschränkung der Glukosegeometrie wurde mit Hilfe ähnlicher interatomarer Abstandsdistanzen erreicht. Die Geometrie des aliphatischen Alkohols wurde anhand der Standardbindungslängen für die jeweiligen Einfachbindungen eingeschränkt. Dabei wurden 1.563 unabhängige Parameter verfeinert und ein Goodness-of-Fit von 1,0 erreicht. Der R-Wert wurde mit 0,077 für 5.304 Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und für alle 7.070 Daten mit R-Wert = 0,102 berechnet. Der R_{free} liegt bei 0,093 für die 273 Reflexe mit $F_{\text{obs}} > 4 \sigma$ und bei $R_{\text{free}} = 0,124$ für alle 372 Testreflexe.

Aufgrund der unterschiedlichen Diffraktionseigenschaften wird der Schwerpunkt in den folgenden Abschnitten auf die qualitativ hochwertigen Datensätze gelegt. Weitergehend wird in den Publikationen auf den CA26-Bariumjodid- [Nimz03] bzw. Dodekanol-Komplex [Nimz04] detailliert eingegangen.

4. Ergebnisse - Struktur des CA26-Hydrat-Komplexes

4.1 Allgemeines, Bezeichnung des Moleküls und der Glukoseuntereinheiten

Ein zyklisches Amylosemakromolekül entsteht durch die zusätzliche Verbindung der freien O(1)H- und O(4)H-Gruppen der α -D-Glukosen an den Enden durch glykosidische α -(1 \rightarrow 4) Verknüpfung miteinander. CA26 stellt eine solche zyklische Amylose dar und ist aus 26 dieser Glukoseuntereinheiten aufgebaut, die fortlaufend von G1 bis G26 nummeriert sind. Die Hälften G1-G13 und G14-G26 sind pseudosymmetrieverwandt ($G1 \cong G14$), deshalb ergeben sich zwei Alternativen bei der Numerierung der Glukosen. Die Auswahl, welche Hälfte als G1-G13 bezeichnet wird, erfolgt so, daß die strukturelle Übereinstimmung mit CA26 ta höher ist (siehe die berechneten rms-Abweichungen im Anhang Tabelle 7).

Die Bezeichnung der Atome, aus denen die Glukoseuntereinheiten aufgebaut sind, ist in Abb. 13 ersichtlich. Zweifach fehlgeordnete O(6)-Atome werden in Abhängigkeit ihrer Besetzungsgrade als O(6)A (Hauptbesetzung) bzw. O(6)B (geringer besetzt) gekennzeichnet.

Zur eindeutigen Unterscheidung der Moleküle werden die beiden in der triklinen Raumgruppe kristallisierten als CA26 ta (G1-26) und CA26 tb (G101-126) und in der orthorhombischen Raumgruppe als CA26 o bezeichnet.

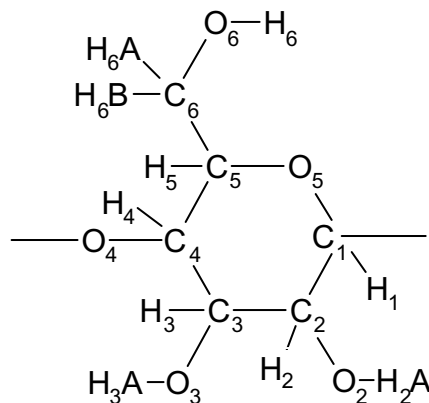


Abb. 13: Bezeichnung der Atome der Glukosen

Die orthorhombische Einheitszelle des CA26-Kristalls enthält ein CA26-Molekül und 31,94 Wassermoleküle in der asymmetrischen Einheit. Das CA26-Molekül wird in zwei Hälften unterteilt (G1-G13, G14-G26), die jeweils miteinander über eine pseudo-zweizählige Rotationssymmetrie verbunden sind. In jedem dieser beiden Oligosaccharidsegmenten befinden sich alle Glukosemoleküle in der 4C_1 -Sesselkonformation und sind zueinander *syn* orientiert, so daß sich $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrückenbindungen zwischen benachbarten Untereinheiten ausbilden können.

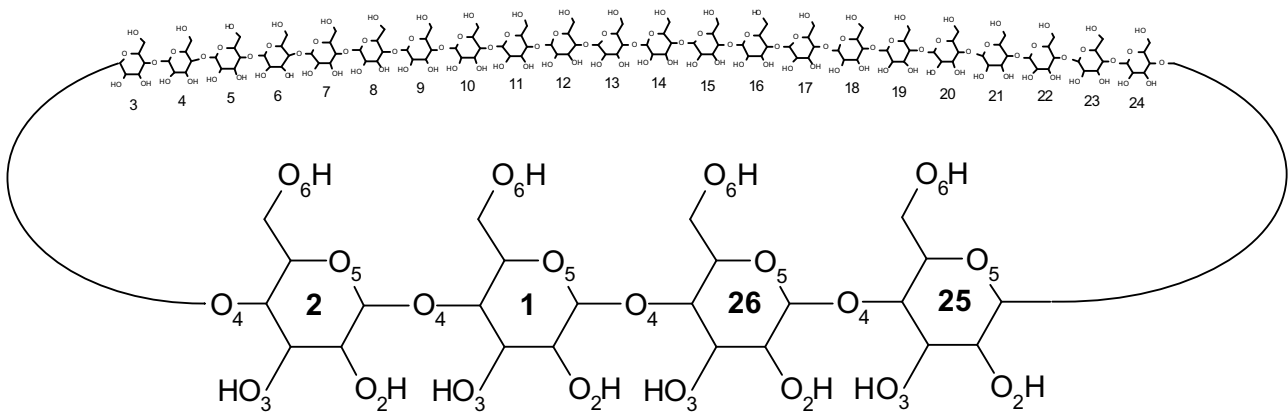


Abb. 14: Molekulare Struktur der Cycloamylose 26

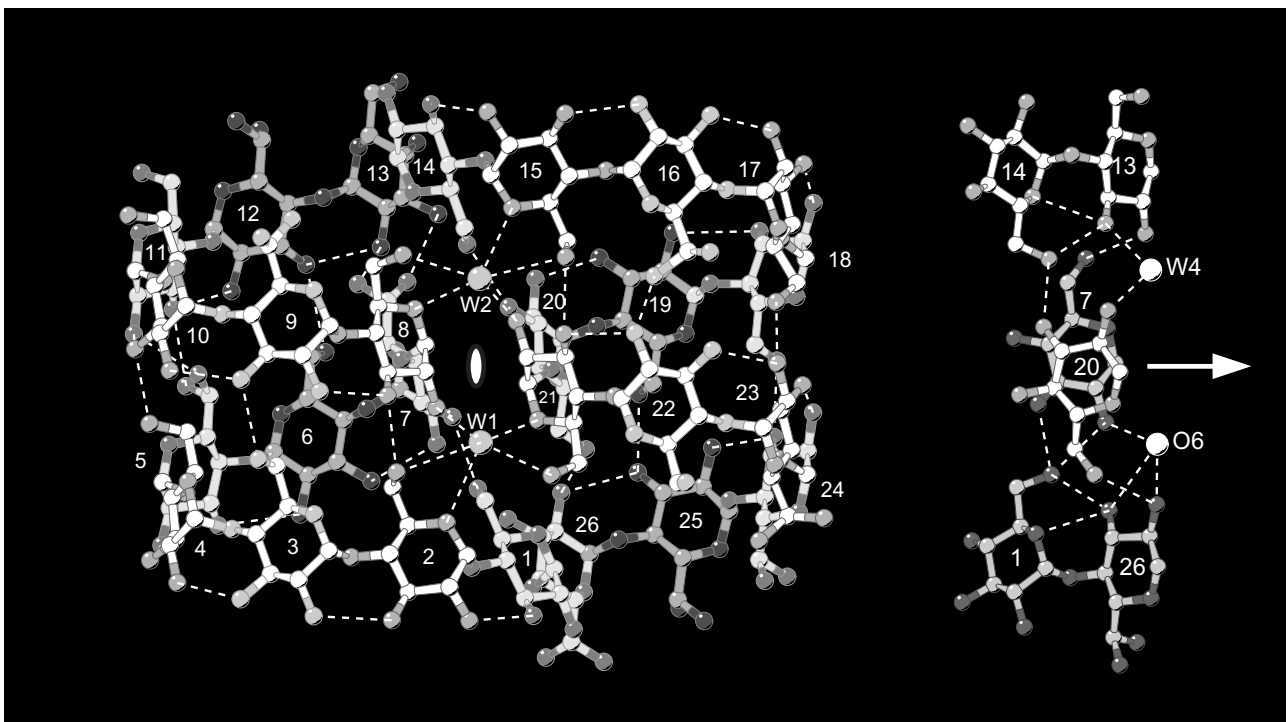


Abb. 15: Räumliche Struktur der Cycloamylose 26. Intermolekulare Wasserstoffbrücken und Interaktionen mit den strategischen Wasserpositionen W1-W2 sind als gestrichelte Linien (links), die zweizählige Rotationsachse (180°) ist als Ellipse bzw. Pfeil dargestellt. Der Ausschnitt rechts zeigt die Wasserpositionen W3 und W4. Die Position W3 wird hier von O(6) eines symmetrieverwandten CA26 eingenommen.

Im Gegensatz dazu befinden sich die Glukosepaare G13-G14 und G26-G1, welche die beiden Hälften verbinden, in der *anti* Orientierung, die als „Band-Flip“-Konformation bezeichnet wird [Jacob98]. Diese Konformationen werden durch die Ausbildung einer Drei-Zentren-Wasserstoffbrücke zwischen $O(3)_nH$ als Donor und $O(5)_{n+1}$ sowie $O(6)_{n+1}$ als Akzeptor stabilisiert [Jacob99], Abb. 16.

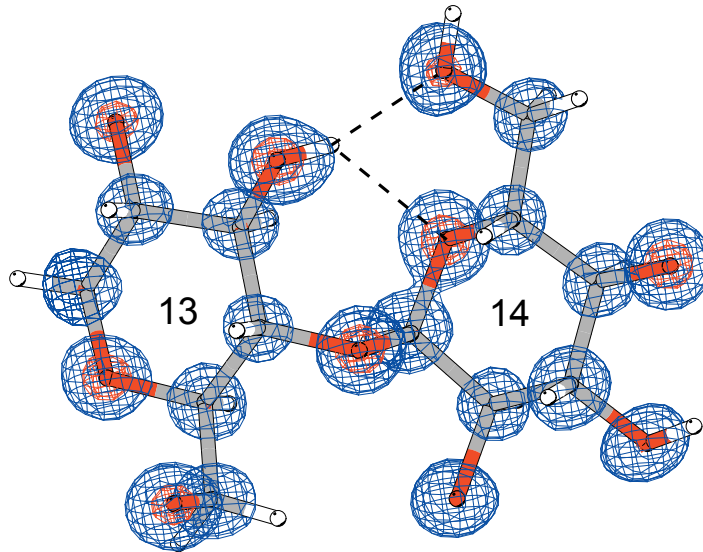


Abb. 16: Band-Flip der Glukosen G13-G14 in CA26_o mit Elektronendichte (2Fo-Fc) in blau auf 2.0 σ Niveau und in rot auf 7.0 σ Niveau.

Die Glukosen G3-G12 und G15-G25 bilden helikale Bereiche, die in einer einsträngigen, linkshändigen Helix angeordnet sind und deren Steigung bei 6 Glukosen pro Windung liegt. Die Distanz $O(4)_n-O(4)_{n+6}$ hat einen Mittelwert von 7,8 Å und charakterisiert den Abstand pro Windung der Amylosehelix.

Eine Amylosehelix mit genau diesen Eigenschaften ist von Rappenecker als charakteristisch für V-Amylose beschrieben worden [Rappenecker81]. Durch die Pseudosymmetrie in Form einer 180° Rotation sind die beiden antiparallel orientierten Hälften in CA26 miteinander verbunden, wobei die zweizählige Rotationsachse genau in der Mitte des Moleküls senkrecht zu den Helices liegt (in Abb. 15 als \rightarrow gekennzeichnet).

Im Inneren der Helices wird ein Hohlraum geschaffen, der durch die C(3)-H und C(5)-H bzw. die O(4)-Atome begrenzt wird und die Form eines Kanals mit einem Van-der-Waals-Durchmesser von ca. 5 Å annimmt, der mit statistisch fehlgeordneten Wassermolekülen gefüllt ist.

Die Faltung des CA26-Moleküls wird durch die Ausbildung intramolekularer $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrückenbindungen benachbarter Glukosen entlang der Kette und $O(6)_n \cdots O(2)_{n+6}$ bzw. $O(6)_n \cdots O(3)_{n+6}$ zwischen den helikalen Windungen stabilisiert (in Abb. 15 als gestrichelte Linien gekennzeichnet). Durch die Ausbildung mehrerer Wasserstoffbrückenbindungen zu konservierten Wassermolekülen W1 bis W4 werden in CA26_{ta} die beiden helikalen Segmente zueinander verbrückt und erfahren damit eine zusätzliche Stabilisierung. In CA26_o sind die Wasserpositionen W1, W2 und W4 besetzt, während die Position des Wassermoleküls W3 durch die Hydroxylgruppe $O(6)_{22}$ eines

symmetrieverwandten CA26-Moleküls ersetzt wurde. Bei CA26_{tb} wird diese Ersetzung der Wasserposition W3 durch O(6)₁₂₂ in Abhängigkeit von der Kristallpackung ebenfalls beobachtet.

Leichte Abweichungen zur antiparallelen Orientierung der beiden V-Amylosehelices der CA26-Moleküle (siehe Schema in Abb. 17) werden sichtbar, sobald die zentralen zehn Glukosen G3-G12 und G16-G25 mit Hilfe der Methode der kleinsten Fehlerquadrate überlagert werden. Eine deutliche Abweichung von 180° wird z. B. für CA26_o mit 172,3° sowie mit 179,8° bzw. 170,5° für CA26_{ta} und CA26_{tb} festgestellt. Strukturelle Abweichungen zwischen den drei CA26-Molekülen werden ebenso deutlich durch die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichungen (rms) bei der Überlagerung von Molekülhälften (G1-G13 auf G14-G26), bei der alle O(6)-Atome aufgrund der beobachteten konformationellen Freiheit unberücksichtigt bleiben. Die Werte für die rms-Abweichung befinden sich im Bereich 0,31 Å - 0,54 Å für die Molekülhälften bzw. 0,55 Å - 0,82 Å bei der Überlagerung der gesamten Moleküle CA26_o, CA26_{ta} und CA26_{tb} (siehe im Anhang Tabelle 7).

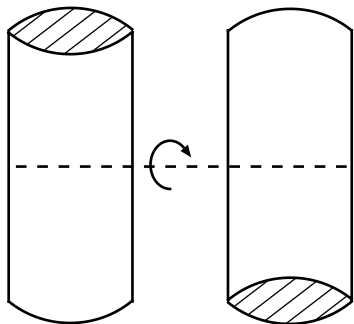


Abb. 17: Schema der Abweichung von der antiparallelen Orientierung der V-Amylosehelices

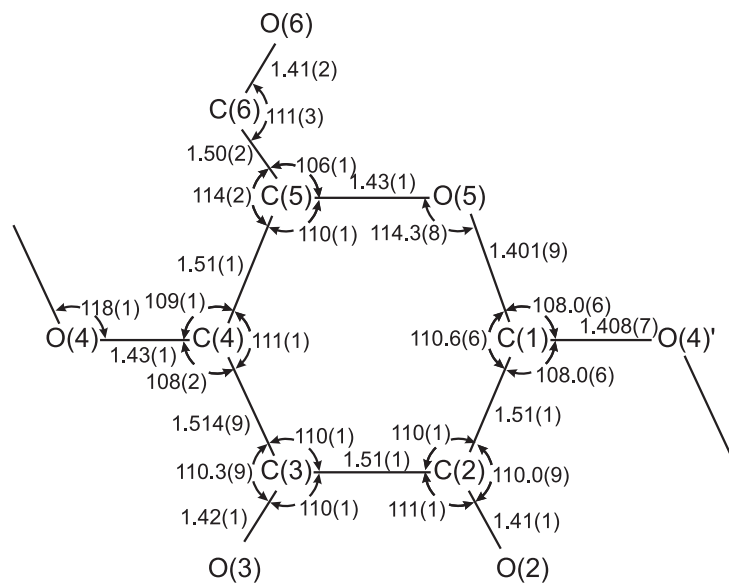


Abb. 18: Schema der mittleren Bindungslängen und Bindungswinkel der Glukosen in CA26_o

4.2 Konformation der Glukosen

Aufgrund der erzielten hohen Auflösung ist die Relation von verfügbaren Daten zu verfeinerten Parametern ausreichend groß für eine Behandlung der Glukosegeometrie ohne jegliche einschränkende Vorgabe der erwarteten Bindungslängen und Bindungswinkel, die bei der Verfeinerung der triklinen Struktur angewandt wurden [Geßler99]. Dadurch wird jegliche Einflußnahme von außen vermieden und der Vergleich mit den Bindungslängen und Bindungswinkel der bekannten Cyclodextrinstrukturen ermöglicht. Eine Ausnahme hiervon bilden nur die fehlgeordneten O(6)-Hydroxylgruppen.

Die Glukoseuntereinheiten der CA26-Moleküle besitzen ähnliche Mittelwerte für Bindungslängen und Bindungswinkel wie die Cyclodextrine (vergleiche Abb. 18 und Abb. 2). Die Qualität des Datensatzes erlaubt auch den Blick auf die individuellen Variationen der Bindungslängen wie sie in Abb. 19 für jede der 26 Glukosen in CA26_o gezeigt werden. Als Beispiel kann die im Mittel signifikant längere Bindungslänge C(5)-O(5) (gelb in Abb. 19) mit 1,43 Å mit einer Standardabweichung von 0,01 Å in Vergleich mit 1,401 Å (0,009 Å) bei O(5)-C(1) (olivgrün in Abb. 19) herangezogen werden. Die Variabilität von Bindungslängen wird anschaulich bei der Betrachtung der Bindungslängen C(5)-O(5) und O(5)-C(1) in den Glukosen G7 und G17. Für diese Bindungslängen in G7 und G17 (gelb und olivgrün in Abb. 19) sind keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

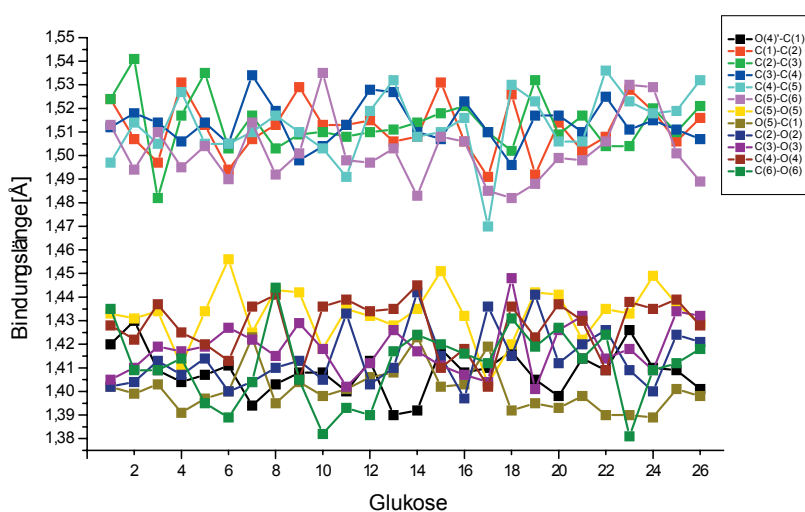


Abb. 19: C-C und C-O Bindungslängen der Glukosen G1-G26 in CA26_o

Die Glukoseuntereinheiten der CA26-Moleküle befinden sich in der ⁴C₁-Sesselkonformation, die bisher für alle Glukosen in nicht substituierten Cyclodextrinen erhalten wurde. Sie liegen in einer entspannten Konformation vor, die durch die Cremer-Pople-Parameter Q [Cremer75], die absolute Ringwellungsamplitude, im Bereich 0,52 Å – 0,58 Å und θ , dem Ringwellungswinkel, mit 0,6° - 10,8° in CA26_o angezeigt wird (siehe Anhang Tabelle 8). Weitere Parameter, welche die Glukosekonformation beschreiben, sind die virtuellen Abstände O(4)_n...O(4)_{n+1} mit einem mittleren Wert von 4,32 Å für die helikalen Bereiche und im Band-Flip (G13-G14, G26-G1) mit 4,59 Å. Damit läßt sich im letzteren Bereich eine gespanntere Konformation erkennen (siehe Anhang Tabelle 9). Die mittleren Werte des Winkels C(1)_{n+1}-O(4)_n-C(4)_n am glykosidischen Sauerstoffatom sind 117,9° in CA26_o. Diese konformationellen Werte sind in exzellenter Übereinstimmung mit den Werten aus CA26_{ta} und CA26_{tb} und stimmen im Vergleich mit den Cyclodextrinen am besten mit den entsprechenden Werten von β -CD überein [Szejtli82], das wahrscheinlich die entspannteste Glukosekette aufweist. Aufgrund der beobachteten *syn* Orientierung der Glukosen zueinander in den beiden Hälften liegen die damit verbundenen Mittelwerte für

die Torsionswinkel ϕ und ψ , die als $O(5)_{n+1}-C(1)_{n+1}-O(4)_n-C(4)_n$ bzw. $C(1)_{n+1}-O(4)_n-C(4)_n-C(3)_n$ definiert werden, in dem erwarteten Bereich von $95,5^\circ - 112,1^\circ$ und $99,7^\circ - 127,1^\circ$ für ϕ bzw. ψ in Übereinstimmung mit den Werten aus CA26ta und CA26tb (siehe Anhang Tabelle 11 und Tabelle 12). Der Torsionswinkel χ , der die Rotation um die Bindung C(5)-C(6) beschreibt und als $O(5)-C(5)-C(6)-O(6)$ definiert wird, liegt vorwiegend in dem bevorzugten Bereich (-)gauche (siehe Tabelle 2). Einige O(6)-Atome weisen eine statistische Fehlordnung auf und liegen sowohl in der (-) als auch in der (+)gauche Orientierung vor. Systematisch in (+)gauche Konformation liegen die Glukosen G1, G7, G14 und G20 aller drei CA26-Moleküle vor, während in Übereinstimmung mit den Cyclodextrinen keine *anti* Konformation eingenommen wird.

Tabelle 2: χ Torsionswinkel O(5)-C(5)-C(6)-O(6) der teilweise fehlgeordneten Glukosen.

Glucose	χ [°]	Anteil	χ [°]	Anteil
1	68,6			
2	-59,1			
3	-63,0			
4	-63,3			
5	-59,4	0,79	72,1	0,21
6	-63,3			
7	68,4	0,87	-40,8	0,13
8	-58,7			
9	-61,8	0,66	66,5	0,34
10	-57,1			
11	-60,6			
12	-60,1	0,78	61,7	0,22
13	-58,5			
14	66,5			
15	-59,4			
16	-63,2	0,78	56,6	0,22
17	60,3	0,55	-58,5	0,45
18	-67,1			
19	-63,0			
20	65,2			
21	-62,4			
22	-62,8			
23	-56,9	0,87	52,9	0,13
24	61,3	0,55	-61,5	0,45
25	-61,2	0,63	62,8	0,37
26	-54,4	0,63	64,2	0,37

4.3 Geometrie der Band-Flips

Der Band-Flip ist ein strukturelles Element der Glukosekette, das nicht in den kleineren Cyclodextrinen vorkommt. Dieser Name wurde für die 180° Rotation in Anlehnung an ein durchgetrenntes Band, das anschließend verkehrt herum wieder zusammengefügt wurde, gewählt [Jacob98]. Die elliptische Verzerrung des Makrozyklus der CA9-Struktur (siehe Abb. 5) weist auf deutliche sterische Anspannung hin, die durch Berechnungen der potentiellen Energie [Jacob98] unterstützt wurde. In den größeren Ringen von CA10 und CA14 würde diese Spannung noch weiter steigen, jedoch wird durch die beobachteten zwei Band-Flip-Motive an den gegenüberliegenden Stellen des Makrozyklus eine entspannte Konformation der Glukosen ermöglicht (siehe Abb. 5). Dabei wechselt durch eine 180° Rotation um die glykosidische Bindung die relative Orientierung zweier benachbarter Glukosen aus der gewöhnlich beobachteten *syn* in die *anti* Konformation [Jacob98].

In CA26 wird dieses Motiv ebenfalls an zwei diametral gegenüberliegenden Stellen im Makrozyklus bei G13-G14 und G26-G1 beobachtet (siehe Abb. 15). In allen drei CA26-Molekülen wird dieses Motiv durch die Ausbildung einer Drei-Zentren-Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert, bei der $O(3)_n$ -H als Donor und $O(5)_{n+1}$ sowie $O(6)_{n+1}$ als Akzeptor fungieren (siehe Abb. 20). Der kürzere Abstand von 2,73 Å der $O(3)_n \cdots O(6)_{n+1}$ Sauerstoffatome zueinander in CA26_o weist auf einen stärkeren Anteil dieser Brücke im Vergleich mit dem mittleren Abstand von 3,10 Å bei $O(3)_n \cdots O(5)_{n+1}$ hin. Die einzelnen Wasserstoffbrückenbindungsabstände von CA26_o, CA26_{ta} und CA26_{tb} sind im Anhang als Tabelle 13, Tabelle 14 und Tabelle 15 aufgeführt.

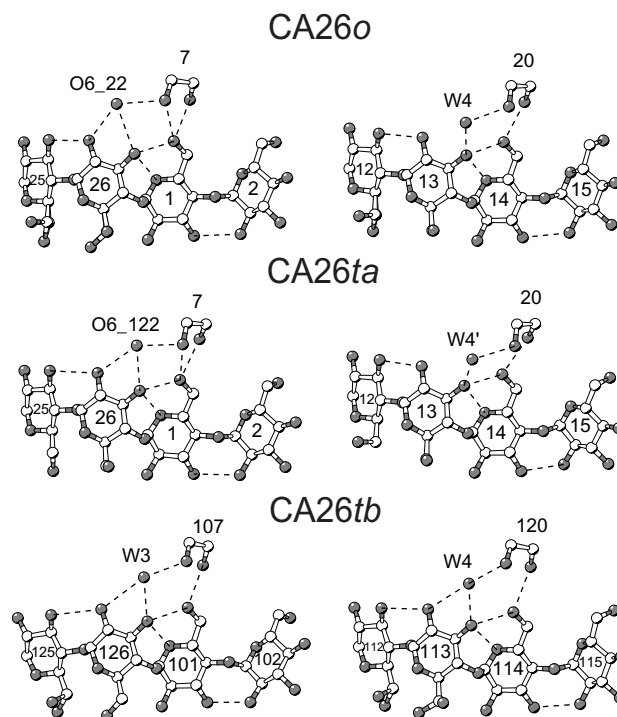


Abb. 20: Vergleich der Band-Flip-Motive der CA26-Hydratstrukturen mit Wasserstoffbrücken zu benachbarten Glukosen und Wassermolekülen

Charakteristisch für die Geometrie der glykosidischen Verknüpfungen mit Band-Flip sind die mittleren Winkel ϕ mit 88° bzw. ψ mit -48° in CA26-Molekülen. In dem kürzeren Makrozyklus CA10 ist den Band-Flip-Motiven eine Verknüpfung benachbart, die mit den Winkeln $\phi = 92^\circ$ und $\psi = 91^\circ$ eine teilweise Verdrehung der benachbarten Glukosen und damit eine außergewöhnliche Geometrie aufweisen [Jacob98]. Trotz der eingehaltenen *syn* Orientierung wird der $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstand mit 3,94 Å durch die Verkippung der benachbarten Glukosen so vergrößert, daß sich diese typische Wasserstoffbrücke nicht ausbilden kann.

In CA26 ta und CA26 tb hingegen sind diese dem Band-Flip-Motiv folgenden $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstände zwar verlängert, jedoch in geringerem Ausmaß. In CA26 o hingegen treten Verlängerungen der $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstände eine ganze Windung vom Band-Flip-Motiv entfernt auf (siehe Anhang Tabelle 16).

Daraus läßt sich schließen, daß die beobachteten Verlängerungen der $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstände nicht in allen drei CA26-Molekülen systematisch lokalisiert sind, sondern sich an verschiedenen Positionen befinden können. Mit den maximalen Abständen in CA26 o von 3,00 Å für $O(3)_5 \cdots O(2)_6$ und 3,14 Å für $O(3)_{18} \cdots O(2)_{19}$ bzw. in CA26 t von 3,28 Å für $O(3)_{25} \cdots O(2)_{26}$ liegen sie im Bereich der Abstände, die gewöhnlich bei Wasserstoffbrücken beobachtet werden. Einhergehend mit den Verlängerungen werden zwischen den Glukosen G5-G6 und G18-G19 relativ geringe Winkel ϕ mit 97,7° bzw. 95,5° beobachtet (siehe Anhang Tabelle 11). Hingegen sind die zwischen den Glukosen G5-G6 und G18-G19 bestimmten Winkel ψ mit 108,6° und 105,0° nicht außergewöhnlich klein (siehe Anhang Tabelle 12). Damit wird die These belegt, die bereits bei Jacob et al. [Jacob98] prognostiziert wurde, daß sich bei längeren Makrozyklen die induzierte Spannung, die in CA10 und CA14 zur teilweisen Verdrehung der benachbarten Glukosen führt [Jacob98], entlang der Kette verteilt und weniger ausgeprägt sein wird.

4.4 Intramolekulare Wasserstoffbrücken

Mit Ausnahme der Band-Flip-Motive sind alle Glukosen in *syn* Orientierung miteinander verknüpft und bilden $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrücke aus, die im Mittel einen Abstand von 2,84 Å in CA26 o aufweisen. Zusätzlich werden die helikalen Bereiche G3-G13 und G16-G26 jeweils durch die Ausbildung von fünf Wasserstoffbrücken $O(6)_n \cdots O(2)_{n+6}$ und/oder $O(6)_n \cdots O(3)_{n+6}$ stabilisiert (siehe Abb. 15). Die Länge der Wasserstoffbrücken ist abhängig von der Orientierung der C(6)-O(6) Gruppe, die durch den Torsionswinkel χ beschrieben wird. Bei (-)gauche Orientierung der primären Alkoholgruppe sind die $O(6)_n \cdots O(3)_{n+6}$ Abstände kürzer als $O(6)_n \cdots O(2)_{n+6}$ Abstände und bei (+)gauche Orientierung länger.

Ein bemerkenswertes Wasserstoffbrückennetzwerk verbindet die Glukosen G1, G7, G14 und G20 (siehe Abb. 15), deren Torsionswinkel χ alle (+)gauche sind. G1 bzw. G14 sind Bestandteil der Band-Flip-Motive und bilden Wasserstoffbrücken zu G7 und G20. Neben ihrer wesentlichen Funktion als Akzeptoren der Drei-Zentren-Wasserstoffbrücke, deren Donor $O(3)_{13}$ -H bzw. $O(3)_{26}$ -H sind, sind sie ebenfalls in weitere Wasserstoffbrücken $O(6)_1 \cdots O(3)_7$ bzw. $O(6)_{14} \cdots O(3)_{20}$ involviert (siehe Abb. 20). Diese Verknüpfung verleiht dem Band-Flip-Motiv weitere Stabilität, und im Kontaktbereich der beiden V-Helices werden G7 und G20 in Positionen gebracht, bei denen sich die Glukoseringe in Abb. 15 überlagern. Bemerkenswerterweise stellen diese die einzigen direkten O-H \cdots O Wasserstoffbrücken zwischen den beiden Helices dar. Für die Wechselwirkung der V-Helices weist das Fehlen weiterer direkter Wasserstoffbrücken auf die verstärkte Bedeutung der Kontakte hin, die durch Wassermoleküle vermittelt werden.

4.5 Schwache Wasserstoffbrücken

Durch die zweizählige Pseudo-Rotationsachse kommen sich die beiden kurzen Helices in CA26 gegenseitig so nahe, daß die Glukosepaare G7-G8 der einen Helix in Kontakt mit dem Paar G20-G21 der anderen Helix treten (Abb. 21). Diese Anordnung ist charakterisiert durch kurze interhelikale C-H...O Wasserstoffbrücken im Bereich H...O 2,5 Å bis 3,0 Å, zwischen C(1)-H und C(4)-H als Donor und O(2), O(3) als Akzeptoren in CA26_o. Diese Kontakte sind charakteristisch für die räumliche Struktur der CA26-Moleküle.

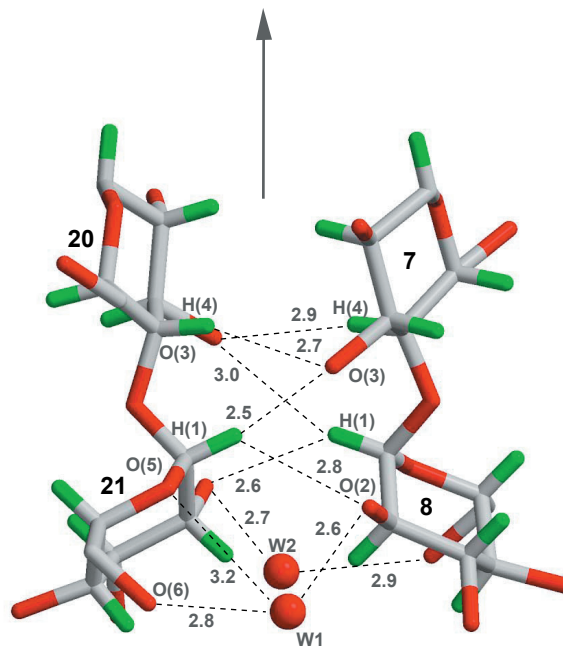


Abb. 21: Interaktionen zwischen den Helices innerhalb eines CA26-Moleküls und mittels der Wassermoleküle W1 und W2.

4.6 Hydratisierung

Die Koordination von Wassermolekülen in CA26 folgt Mustern, die bereits in früheren Arbeiten erkannt wurden [Steiner94, Saenger98]. Dabei stellt die Chelatisierung innerhalb eines fünfzähligen Ringes das bekannteste Motiv dar. Hierbei wird ein Wassermolekül im zweizähligen Modus mit O(2) und O(3) und/oder O(5) und O(6) einer einzigen Glukose gebunden.

Diese Art der Wechselwirkung wird in CA26 häufig beobachtet. Insbesondere bei den Wassermolekülen W1-W4, die sich zwischen den V-Helices befinden. W1 bildet gleichzeitig Wasserstoffbrücken zu O(5) und O(6) der Glukosen G2 und G21 und zusätzlich O(2) der Glukose G8 aus. W2 ist durch die Pseudosymmetrie mit W1 verbunden und wird in der gleichen Konfiguration durch G8, G15 und zusätzlich durch

O(2) von G21 komplexiert (siehe Abb. 15). Aus struktureller Sichtweise erfolgt eine gegenseitige Verbrückung der beiden helikalen Segmente des CA26-Moleküls durch die Vermittlung der Wassermoleküle.

Die Vermittlungsfunktion wird durch ein weiteres Paar Sauerstoffatome, das durch die Pseudosymmetrie verbunden ist, veranschaulicht. Sie vermitteln Wasserstoffbrücken zwischen O(2) und O(3) der Glukosen G13 und G26, die Teil der Band-Flip-Motive sind, zu O(2) von G7 und G20 (siehe Abb. 20 und Abb. 15). Jedoch ist die Position von W3 in CA26_o durch die O(6)₂₂'-Hydroxylgruppe eines symmetrieverwandten Moleküls ersetzt worden. Dieser durch Packungseffekte hervorgerufene Ersatz wird auch bei CA26_{tb} beobachtet, bei dem W3 durch O(6)₁₂₂' ersetzt wird. Jede dieser Wasserstoffbrücken trägt zur Stabilisierung der Band-Flip-Motive und zur Struktur des Verbindungsteils G13-15 bzw. G26, G1-2 bei.

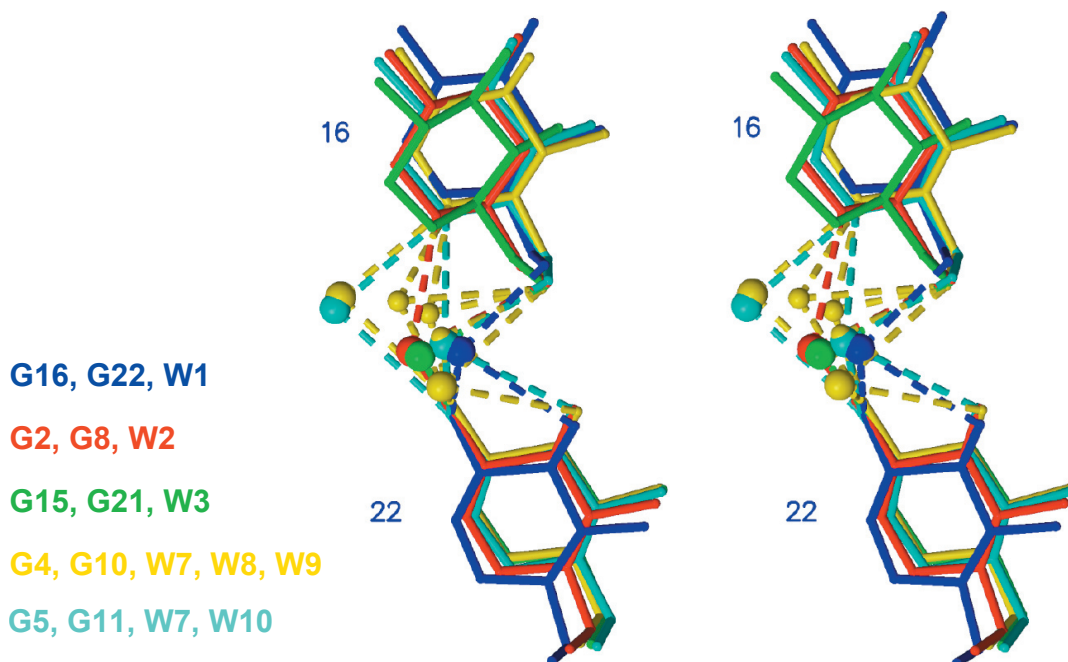


Abb. 22: Chelatisierung von Wassermolekülen zwischen Glukosen in unterschiedlichen Windungen der Amylosehelix. Die gering besetzten, fehlgeordneten Wasserpositionen (nur gelb) werden mit geringerem Radius dargestellt, während die anderen Wasserpositionen voll besetzt sind.

Die helikale Anordnung der Glukosen in CA26 erlaubt die Ausbildung von wasservermittelten Wasserstoffbrücken zwischen den Windungen der Helices. Dabei wird eine Wasserstoffbrücke zu O(5) oder O(6) der einen Glukose ausgebildet und gleichzeitig zu O(2) oder O(3) der Glukose der nächsten Windung (siehe Abb. 22). Von den 10 Wasserstoffbrücken dieser Art, die in CA26 möglich sind, wird in CA26_o in der Hälfte der Fälle deren Ausbildung beobachtet. Dabei können zwei Populationen $O(6)_n \cdots \text{Wasser} \cdots O(2)_{n+6}$ und $O(5)_n \cdots \text{Wasser} \cdots O(2)_{n+6}$ unterschieden werden, wobei die zweite nur gleichzeitig mit der ersten beobachtet wird. Alle Wasserpositionen, die

einen hinreichend geringen Abstand zu O(6) besitzen, liegen in der Überlagerung der Glukosen nahe beieinander und besitzen einen mittleren O(6)-W Abstand von 2,74 Å. Die Abstände und Winkel der $O(5)_n \cdots \text{Wasser} \cdots O(2)_{n+6}$ Brücke weisen auf eine schwache Wasserstoffbrücke mit einer gestörten Geometrie hin. Diese wasservermittelten Brücken sind jedoch zusätzlich mit $O(6)_{n-1}$ der vorherigen Glukose verknüpft, die für beiden betreffenden Fälle in Abb. 22 (gelb und zyan) allerdings nicht gezeigt werden. Die Koordinationswinkel für die Wassermoleküle der $O(5/6)_n \cdots \text{Wasser} \cdots O(2)_{n+6}$ Brücken besitzen mittlere O-W-O Winkel von 80° .

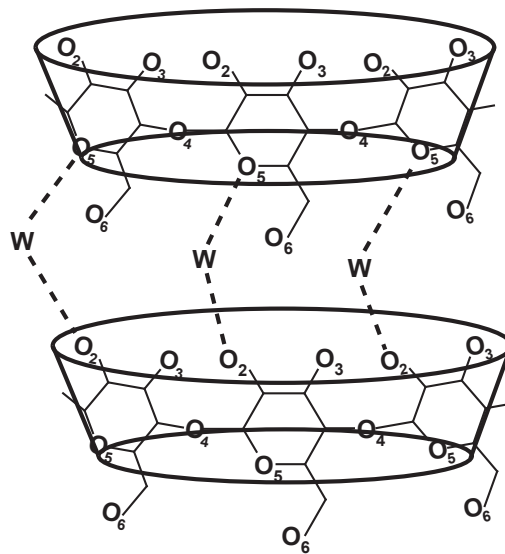


Abb. 23: Schema der Interaktionen zu Wassermolekülen zwischen CA6-Molekülen, die typisch für Kristallstrukturen mit dieser Anordnung ist.

Diese neuartige Form der wasservermittelten Brückenbildung zwischen Glukosen benachbarter Windungen in der Helix kann mit der verbrückenden Funktion der Wassermoleküle in den Kristallstrukturen von CA6 verglichen werden. Dabei ähneln der gewundenen V-Helix am meisten diejenigen CA6 Kristallformen, die in einer Kopf-an-Schwanz-Stapelung kristallisieren, dabei wird jedoch die kontinuierliche Helix durch individuelle Ringe vergleichbarer Dimension ersetzt (siehe Abb. 23). Alle bisher publizierten CA6 Kristallstrukturen mit einer Kopf-an-Schwanz-Anordnung der Stapel, die einen Kanal ausbilden [Harata77, Harata78, Harata82, Harata76, Harata76a, Tokuoka81, Steiner94a, LeBas94], zeigen einige dieser wasservermittelten Brücken, die benachbarte Moleküle entlang des Kanals verbinden. Gewöhnlich sind bei der Ausbildung der intermolekularen Brücken in CA6-Strukturen dieser Art nur O(5)-Atome und O(2)-Hydroxylgruppen beteiligt, die jeweils zu unterschiedlichen Molekülen gehören. Diese Anordnung wird in einigen Fällen durch die Ausbildung einer zusätzlichen Drei-Zentren-Wasserstoffbrücke zu O(5) und O(6) vervollständigt. Im Gegensatz dazu wird O(3) nur extrem selten in die Bildung wasservermittelter Brücken mit einbezogen.

Die strukturelle Charakterisierung der V-Amylose in einer Reihe von Faserdiffraktionsstudien weist aufgrund der begrenzten Zahl von gemessenen Reflexen eine ausgeprägte Abhängigkeit von den eingesetzten Modellen auf. Dennoch wird der Beitrag der Wassermoleküle für die Strukturen im Detail diskutiert [Rappenecker81, Bluhm81, Brisson91]. Die Wassermoleküle, von denen in diesen Studien berichtet wird, sind entweder im helikalen Hohlraum lokalisiert oder außerhalb zwischen den Helices und bilden dort intermolekulare Wasserstoffbrücken aus. Keines dieser Wassermoleküle bildet hingegen eine Verbindung aus, die Glukosen benachbarter Windungen verbrückt.

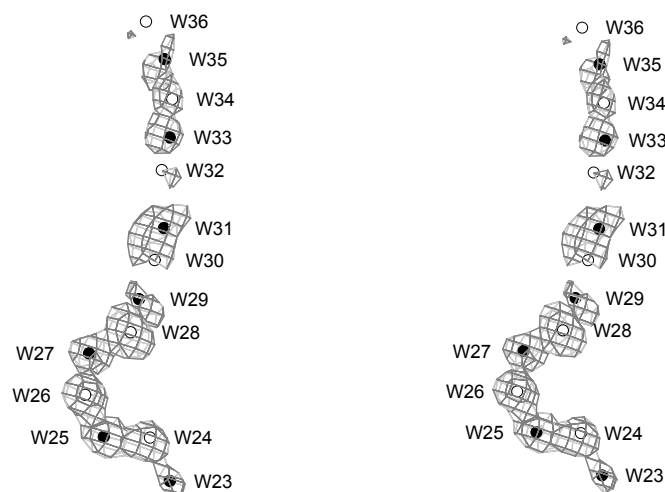


Abb. 24: Stereoabbildung der Differenzelektronendichte im Kanal B (G13-G26) überlagert mit den verfeinerten Wassermolekülen. Die sich gleichzeitig ausschließenden Gruppen fehlgeordneter Wassermoleküle werden als schwarze oder weiße Kugeln repräsentiert.

4.7 Hydratfehlordnung im Kanal

Die zentralen Kanäle, die durch die V-Amylosehelices gebildet werden, sind mit fehlgeordneten Wassermolekülen gefüllt, die halb oder geringfügig weniger besetzt sind. Die Kanäle sind mit C(3)-H, C(5)-H und C(6)-H₂ sowie O(4) der glykosidischen Bindung, deren chemische Bindung einem Ether vergleichbar ist, ausgekleidet und besitzen daher einen hydrophoben Charakter.

Die Wassermoleküle werden hauptsächlich durch die Ausbildung von zwei bis sechs schwachen C-H...O_w Wasserstoffbrücken stabilisiert. Dabei liegt in CA26_o der Abstand H...O im Bereich zwischen 3,07 Å - 3,59 Å. Wasserstoffbrücken zu O(6)-H Hydroxylgruppen der Glukosen sind innerhalb der Kanäle des CA26_o selten (O(6)₂₀...O_{w27}, 3,24 Å; O(6)₇A...O_{w108}, 3,27 Å), da sich nur O(6)-Hydroxylgruppen in (+)gauche Konformation in einer Position befinden, um mit dem Kanal interagieren zu können. Die Abstände der Wasserpositionen in den Kanälen von CA26_o werden in Abb. 25 dargestellt. Sie befinden sich im Bereich von 1,10 Å - 1,58 Å im Kanal A bzw. 1,15 Å - 1,94 Å im Kanal B. Für reguläre O_w...O_w Wasserstoffbrückenabstände, die im Bereich 2,5 Å - 3,2 Å liegen, sind diese Abstände zu kurz.

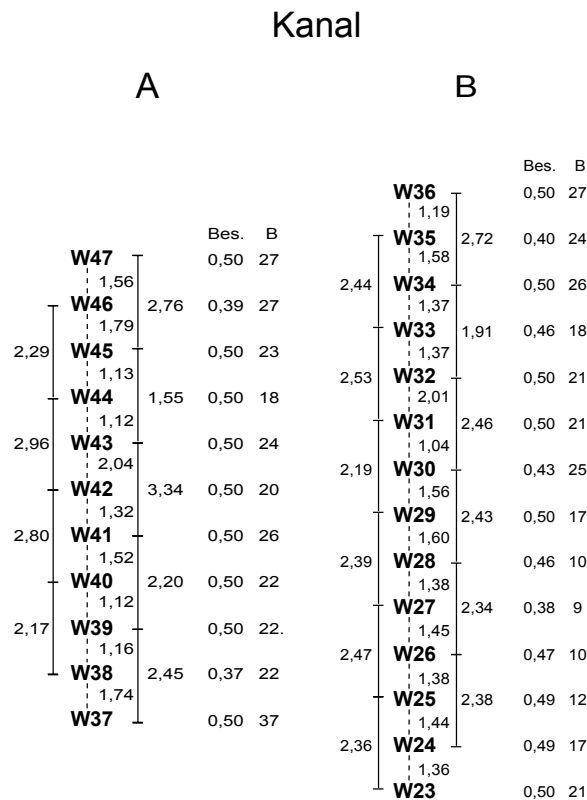


Abb. 25: Schematische Darstellung der Abstände zwischen Wassermolekülen in den Kanälen mit Besetzung (Bes.) und Temperaturfaktoren (B, Å²).

Diese Befunde legen die folgende Interpretation nahe, daß jede Position eines Wassermoleküls nur ca. halb besetzt ist, und benachbarte Wassermoleküle schließen sich wechselseitig in ihrer Besetzung aus, so daß bei voll besetzter Position n sowohl n+1 als auch n-1 unbesetzt sind und umgekehrt.

Allerdings muß eine weitere Möglichkeit der Interpretation in Betracht gezogen werden. Die Positionen, die den Wassermolekülen zugeordnet wurden, könnten auch mit Polyethylenglycol (PEG) besetzt sein, das bei der Kristallisation verwendet wurde. Diese Interpretation wird durch die Abstände unterstützt, die sich nahe der typischen Bindungsabstände für C-C (1,4 Å) und C-O (1,5 Å) befinden. Zudem ist bekannt [Harada90, Harada93], daß α -CD, das einen Ringdurchmesser vergleichbar dem der V-Helix des CA26 besitzt, mit PEG400 Einschlußkomplexe bildet. Mit Fast-Atom-Bombardment-Massenspektrometrie (FAB) ließen sich jedoch in den Kristallen nicht einmal Spuren von PEG nachweisen. Diese Beobachtung wurde durch Ramanexperimente bestätigt, bei denen zwei Schwingungsbanden (812 und 886 cm⁻¹), die im Bereich der Gerüstschwingungen (700 - 1500 cm⁻¹) von PEG liegen, nicht in den Spektren der CA26-Kristalle auftraten (siehe Abb. 27).

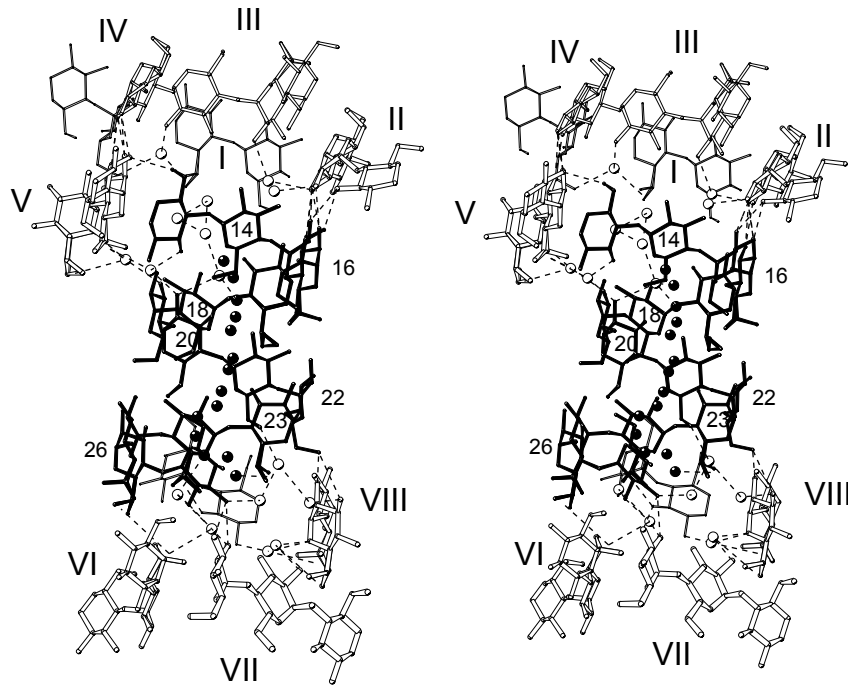


Abb. 26: Interaktion an den Öffnungen des Kanals B (G13-G26, schwarz) mit Glukosen verschiedener symmetrieverwandter Moleküle (I-VII, weiß)

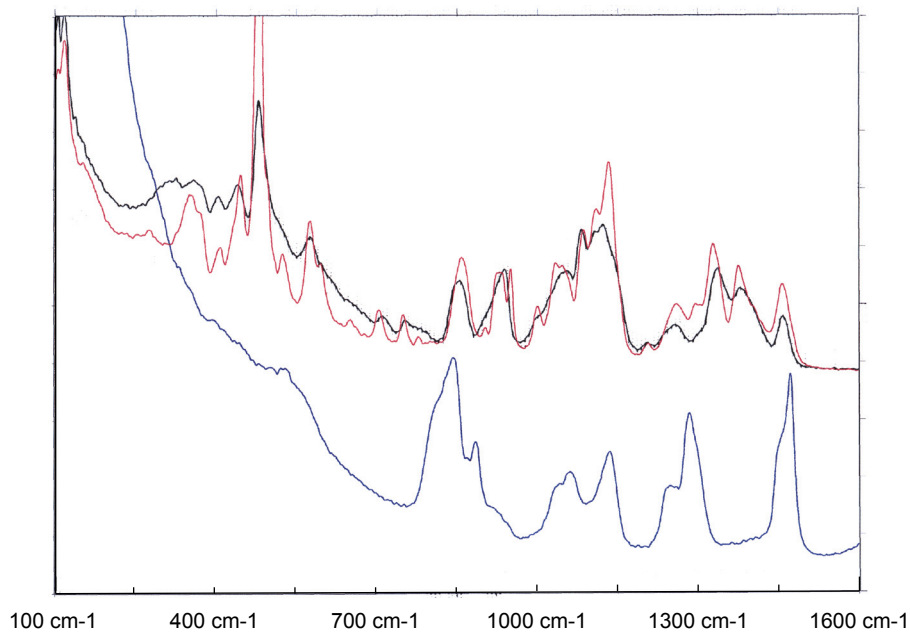


Abb. 27: Vergleich der Ramanspektren des pulverförmigen CA26 (schwarz) mit CA26-Kristallen (rot) und PEG400 (blau).

Die bevorzugte Interpretation betrachtet die Ketten von H_2O -Molekülen in Abb. 28 als Überlagerung zweier halb besetzter Ketten, deren $\text{O}_\text{W} \cdots \text{O}_\text{W}$ Wasserstoffbrückenabstände in Abb. 25 im Detail aufgeführt sind. Daraus ergibt sich in Kanal A eine Kette mit besetzten Wasserpositionen 23, 25, 27, 29, usw. und eine weitere Kette 24, 26, 28, 30, usw. Die $\text{O}_\text{W} \cdots \text{O}_\text{W}$ Abstände befinden sich dann im Bereich 2,03 Å - 2,61 Å für die eine und im Bereich 2,19 Å - 2,60 Å für die andere Kette. Im Kanal B ergeben sich $\text{O}_\text{W} \cdots \text{O}_\text{W}$ Abstände im Bereich 1,79 Å - 3,22 Å und 2,30 Å - 2,86 Å.

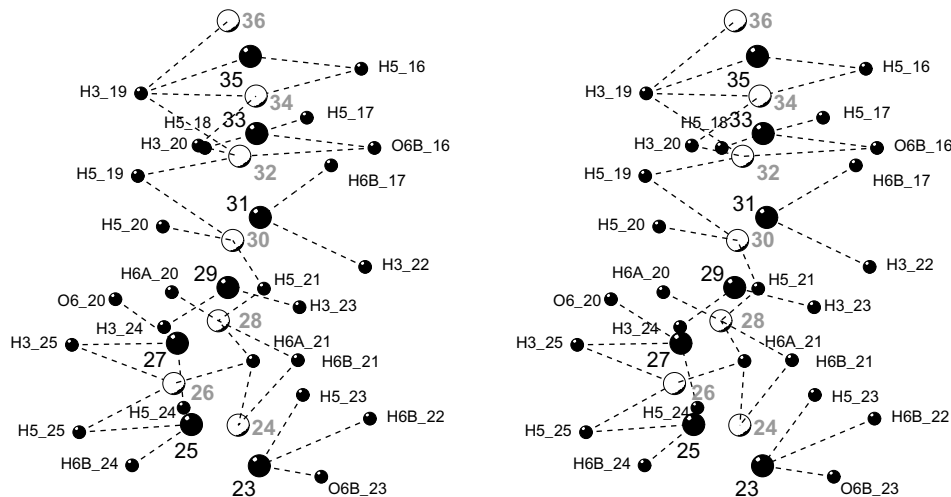


Abb. 28: Kontakte der Wassermoleküle im Kanal B (G13-G26). Die sich gleichzeitig ausschließenden Gruppen von fehlgeordneten Wassermolekülen werden als schwarze oder weiße Kugeln repräsentiert. Die Abstände im Bereich $\text{O} \cdots \text{O}_\text{W} < 3,4$ Å und $\text{C-H} \cdots \text{O}_\text{W}$ 2,8 - 3,6 Å mit den Glukosen werden als gestrichelte Linien dargestellt.

4.8 Kristallpackung, intermolekulare Wasserstoffbrücken

In der orthorhombischen Einheitszelle sind die CA26_σ -Moleküle in Schichten parallel zu der *ac*-Ebene angeordnet (Abb. 29). Die Helices bilden ein hexagonales Muster, das durch intermolekulare Kontakte in Form von direkten oder von Wassermolekülen vermittelten Wasserstoffbrücken sowie schwachen $\text{C-H} \cdots \text{O}$ Brücken stabilisiert wird. Die $\text{C-H} \cdots \text{O}$ Brücken liegen in einem Muster vor, das in seiner Art und geometrischen Merkmalen analog zu den bereits besprochenen intramolekularen Interaktionen ist. Daran beteiligt sind die Glukosen G3, G4, G9 und G10 aus zwei Windungen eines CA26_σ -Moleküls, die mit zwei weiteren Windungen G4, G5, G10 und G11 eines symmetrieverwandten CA26_σ -Moleküls, wie in Abb. 30 gezeigt, wechselwirken.

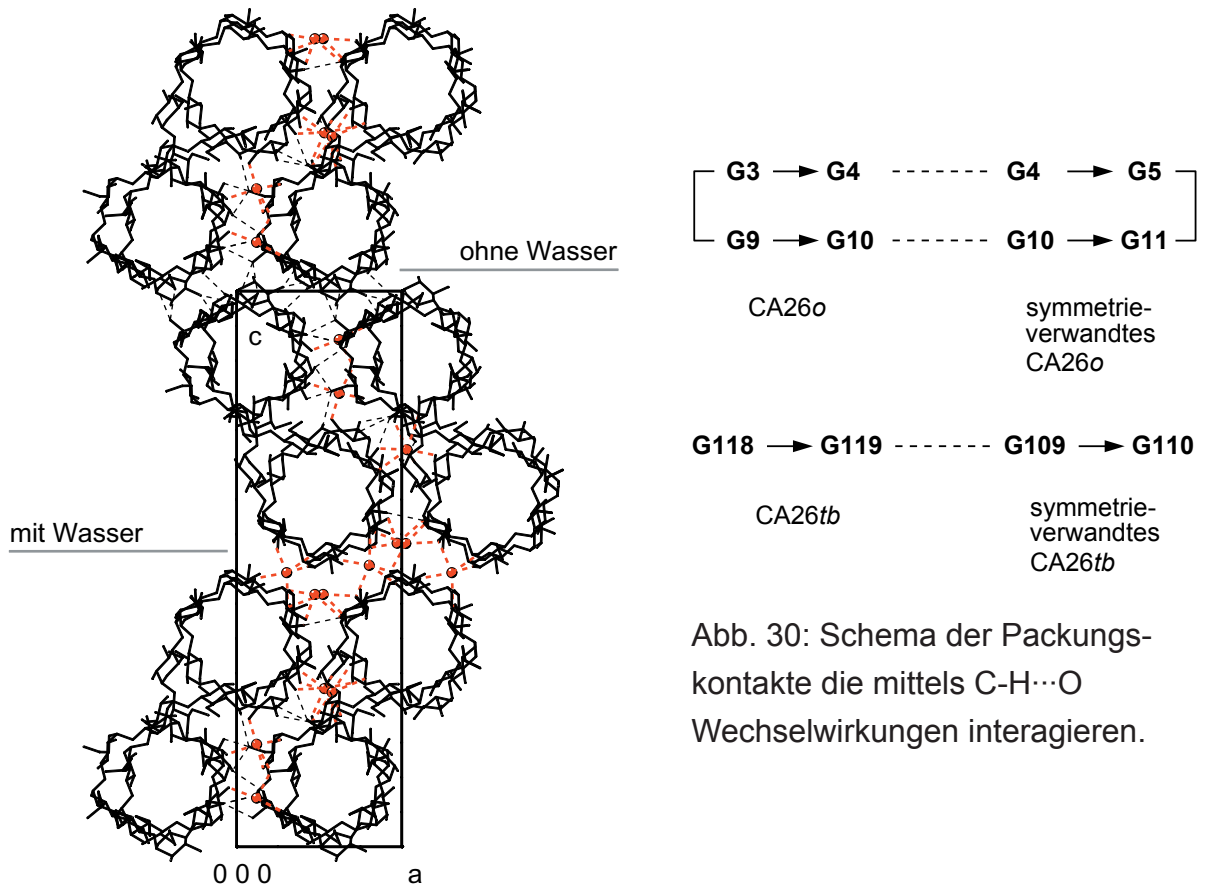


Abb. 30: Schema der Packungskontakte die mittels C-H \cdots O Wechselwirkungen interagieren.

Abb. 29: Darstellung der Packung der CA26 o -Moleküle in einer Projektion auf die a,c- Ebene. Anhand der sechs symmetrieverwandten CA26-Moleküle sind die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen CA26-Molekülen als gestrichelte Linien gekennzeichnet. Interaktionen mit Wassermolekülen (rot) sind in rot hervorgehoben.

In ähnlicher Weise interagieren CA26 tb (jedoch nicht CA26 ta) in der Kristallpackung der triklinen Raumgruppe. Bei diesen intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den kurzen V-Helices scheint es sich um Wechselwirkungen allgemeineren Charakters zu handeln, die ebenso für die intermolekulare Wechselwirkung der V-Amylose signifikant sein sollte.

Die Achsen der kurzen V-Helices der CA26 o -Moleküle sind entlang der b-Achse ausgerichtet, jedoch nicht kollinear, sondern um ca. 6 Å in Richtung der a-Achse verschoben, und sie befinden sich in einen Winkel von ca. 160° zueinander. Diese Anordnung bildet eine unendliche zickzack Helix parallel zur b-Achse. Benachbarte CA26 o -Moleküle sind dabei Kopf-an-Kopf angeordnet und in Richtung der b-Achse durch ein Netzwerk von Wasserstoffbrücken zwischen O(2)- und O(3)-Hydroxylgruppen, wie in Abb. 31 dargestellt, verknüpft.

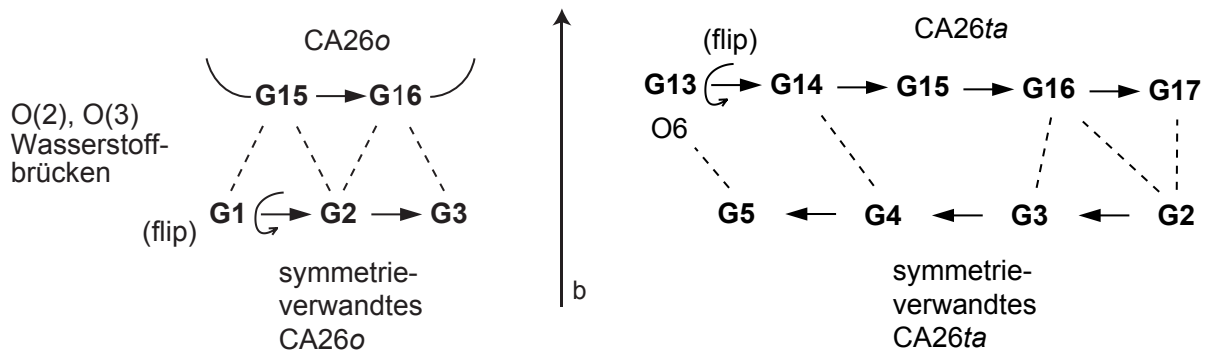


Abb. 31: Schema der Packungskontakte entlang der *b*-Achse bei CA26_o und CA26_t, die interagierende O(2)- und O(3)-Hydroxylgruppen zeigen.

Die Hauptmerkmale dieses Packungsmusters werden auch in der triklinen Raumgruppe für die Moleküle CA26_{ta} und CA26_{tb} beobachtet, inklusive der hexagonalen Anordnung der kurzen V-Helices in Form der unendlichen zickzack Helix. Jedoch befinden sich die benachbarten Moleküle in einer Kopf-an-Schwanz-Anordnung, die durch eine Translation entlang der *a*-Achse erhalten wird. Das Schema des Netzwerks aus Wasserstoffbrücken zwischen den O(2)- und O(3)-Hydroxylgruppen ähnelt dem in Abb. 31 mit Ausnahme der Richtung der Oligosaccharidkette, die durch die Richtung der Pfeile (→) symbolisiert wird. Da das Band-Flip-Motiv zwischen Glukosen G13-G14 liegt, verbrückt G13 mit O(6) zu G5 anstatt der O(2)- und O(3)-Interaktionen.

In Abb. 32 wird die Packung des CA26-Moleküls in der *ac*-Ebene mit der Packung von V-Amylosehelices in kristallinen Fasern verglichen. Die hexagonale Anordnung der kurzen (CA26) und langen (V-Amylose) Helices ist vergleichbar. Ein besonders erwähnenswertes Merkmal der intermolekularen Wechselwirkung stellen die verschiedenen Weisen der Verknüpfung dar, das in Abb. 29 auf der einen Seite des CA26_o-Moleküls als „mit Wasser“ gekennzeichnet wird. Die Kontakte zum benachbarten CA26_o-Molekül werden durch Wassermoleküle vermittelt, die zusätzlich durch direkte C-H...O Wechselwirkungen unterstützt werden, welche sich in einer vergleichbaren räumlichen Anordnung befinden, die für die Glukosen G7...G20 und G8...G21 in Abb. 21 beschrieben wurde.

Auf der anderen Seite dieser CA26_o-Moleküle, die als „ohne Wasser“ gekennzeichnet wird, bilden direkte Wasserstoffbrücken in Form von C-H...O und O-H...O-H Verknüpfungen ohne die Mitwirkung von verbrückenden Wassermolekülen aus.

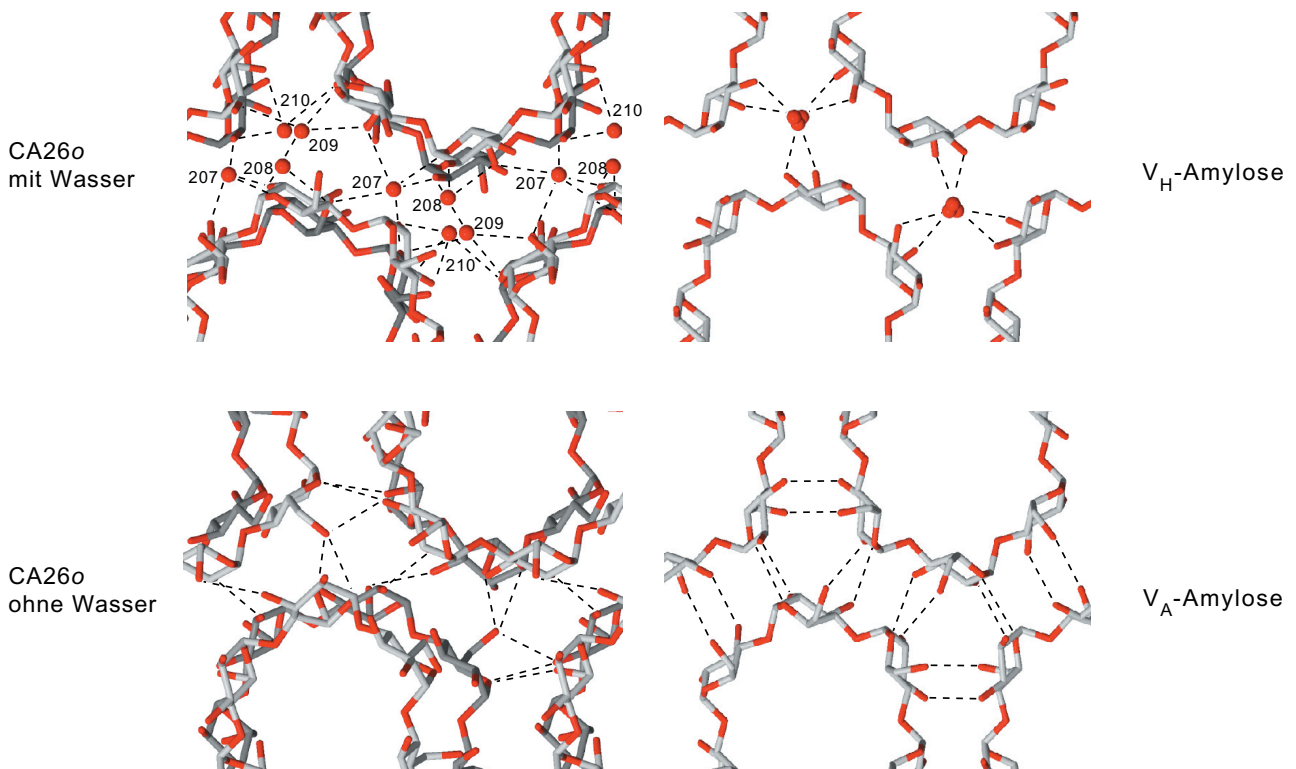


Abb. 32: Packungsvergleich zwischen CA26o und V-Amylose. Wasservermittelte Packungskontakte bei CA26o (links oben) verglichen mit den Wassermolekülen in V_H -Amylose [Rappenecker81] (oben rechts). Direkte intermolekulare Kontakte bei CA26o (links unten) und V_A -Amylose (rechts unten).

Die beiden Packungsmoden, „mit Wasser“ und „ohne Wasser“, werden in Abb. 32 mit der Packung der V-Amylose in ihrer hydratisierten (V_H) und dehydrierten Form (V_A) gegenübergestellt. Es ergeben sich erstaunliche Ähnlichkeiten in der Anordnung der CA26o und V-Amylosemoleküle und sogar in der Gruppierung der Wassermoleküle und ihrer Wechselwirkung mit den umgebenden Kohlenhydraten. In den Abständen zwischen den helikalen Achsen wird dieser Umstand ebenfalls widerspiegelt, die mit 12,9 Å in der V_A -Amylose und 13,6 Å in der V_H -Amylose in guter Übereinstimmung mit den beobachteten Abständen in CA26o von 13,3 Å bzw. 14,2 Å liegen. Zusätzlich stimmen die Längen der kristallographischen a-Achse mit $a = 13,65$ Å bei V_H -Amylose sehr gut mit $a = 13,82$ Å für CA26o überein. Des weiteren ist die kristallographische c-Achse mit $c = 46,51$ Å bei CA26o nahezu doppelt so lang wie die korrespondierende b-Achse mit $b = 23,70$ Å bei V_H -Amylose.

4.9 Zusammenfassung und Diskussion

Die Analyse der hochaufgelösten CA26-Hydrat-Struktur erlaubt einen Vergleich von Bindungslängen und Winkeln mit den bekannten Werten der Cyclodextrine, ohne bei der Verfeinerung auf Annahmen in Form von vorab definierten Abständen angewiesen zu sein. Es zeigen sich innerhalb der Fehlergrenzen ähnliche Mittelwerte, die im einzelnen auch abweichen können. Bei der Frage, ob diese Abweichungen auf signifikante Unterschiede der Glukosen im Vergleich mit denen in Cyclodextrinen hinweisen, sollte berücksichtigt werden, daß eine erhebliche Bandbreite von Bindungslängen bei den 26 Glukosen beobachtet wird. Diese Bandbreite scheint bei Cyclodextrinen wesentlich eingeschränkter zu sein. Die Qualität dieser Daten eignet sich hervorragend, zur Parametrisierung spezieller Kraftfelder [York04].

Die strukturellen Eigenschaften der helikal gewundenen CA26 weist sehr deutliche Parallelen mit der V-Amylose auf. CA26 bietet sich als Modellverbindung zum Studium der Einschlußkomplexe der V-Amylose an. Es eröffnet sich damit die Aussicht, Details der atomaren Interaktionen von Gastmolekülen im kanalförmigen Hohlraum aufzuklären.

5. Ergebnisse - Struktur des CA26-Jodid-Komplexes

5.1 Allgemeines, Bezeichnung der Moleküle und der Glukoseuntereinheiten

Cycloamylose 26 kristallisiert mit Ammoniumjodid im Komplex CA26j. Die orthorhombische Einheitszelle enthält zwei CA26-Moleküle in der asymmetrischen Einheit, die als CA26ja (G1-G26) bzw. CA26jb (G101-G126) und gemeinsam als CA26j bezeichnet werden.

Die Bezeichnung der Jodatome und Trijodide, die sich in den Kanälen befinden, wird aus Abb. 35 ersichtlich. Weitere freie Jodatome außerhalb der Kanäle werden als I(7) und I(8) bezeichnet. Zweifach fehlgeordnete Jodatome werden in Abhängigkeit ihrer Besetzungsgrade als I(1)A (Hauptbesetzung) bzw. I(1)B (geringer besetzt) gekennzeichnet.

5.2 Konformation des CA26-Moleküls

Neben den beiden CA26-Molekülen enthält der CA26 · Ammoniumjodid-Komplex 19 Jodatome und 91,5 Wassermoleküle in der asymmetrischen Einheit. Die zweizählige Pseudosymmetrie, welche die beiden Hälften (G1-G13, G14-G26 und G101-G113, G114 - G126) der CA26-Moleküle jeweils miteinander verbindet, liegt auch bei CA26ja und CA26jb vor.

Generell stimmen die Konformationen von beiden CA26j-Molekülen mit der bereits für CA26o beschriebenen hinsichtlich der 4C_1 -Sesselkonformation, der *syn* Orientierung benachbarter Glukosen mit $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrückenbindungen, der Band-Flip-Motive und der Ausbildung helikaler Bereiche mit linkshändigem Drehsinn, Steigung und der Stabilisierung durch intramolekulare $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrückenbindungen sowie $O(6)_n \cdots O(2)_{n+6}$ bzw. $O(6)_n \cdots O(3)_{n+6}$ zwischen den helikalen Windungen überein. Ebenso wird die Pseudosymmetrie mit der leichten Abweichung zur antiparallelen Orientierung der beiden V-Amylosehelices für CA26ja von $175,7^\circ$ sowie von $173,4^\circ$ für CA26jb und Interaktionen mit konservierten Wassermolekülen W1-W4 beobachtet.

Die helikalen Kanäle mit einem Van-der-Waals-Durchmesser von ca. 5 Å werden vollständig durch Jodatome ausgefüllt. Die strukturellen Eigenschaften der Helix stimmen mit den charakteristischen Eigenschaften für die Jodkomplexe der V-Amylose, die durch Bluhm et al. in einer Faserdiffraktionsstudie am Amylose-Jod-Komplex beschrieben wurden [Bluhm 81], überein.

Die geringfügigen strukturellen Abweichungen zwischen den CA26-Molekülen werden ebenso deutlich durch die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichungen (rms) bei der Überlagerung von Molekülhälften (G1-G13 auf G14-G26) bei der alle O(6)-Atome aufgrund der beobachteten konformationellen Freiheit vernachlässigt werden. Die Werte für die rms-Abweichung befinden sich im Bereich 0,37 Å – 0,56 Å für die Molekülhälften

(G1-G13 oder G14-G26) bzw. 0,60 Å - 1,14 Å bei der Überlagerung der gesamten Moleküle (siehe Anhang Tabelle 7).

5.3 Konformation der Glukosen

Die 4C_1 -Sesselkonformation der Pyranoseringe weisen Cremer-Pople-Parameter Q im Bereich 0,55 Å - 0,60 Å und θ 0,6° - 13,8° in CA26j auf (siehe Anhang Tabelle 18). Die virtuellen Abstände $O(4)_n \cdots O(4)_{n+1}$ der helikalen Abschnitte liegen im Bereich 4,11 Å - 4,74 Å (siehe Anhang Tabelle 19) mit einem Mittelwert von 4,34 Å vergleichbar dem beschriebenen V-Amylose-Jod-Komplex mit 4,35 Å. Die Band-Flip-Motive nehmen durchgängig eine gestrecktere Form ein, die durch einen längeren mittleren Abstand $O(4)_{n+1}-O(4)_n$ von 4,53 Å (4,43 Å – 4,63 Å) deutlich wird. Die glykosidischen Verknüpfungen besitzen einen mittleren $C(1)_{n+1}-O(4)_n-C(4)_n$ Winkel von 117,2° (114° - 119°) (siehe Anhang Tabelle 20). Diese konformationellen Werte sind in Übereinstimmung mit den Werten aus CA26o, CA26t und V-Amylose (120°).

Die Torsionswinkel ϕ und ψ geben Aufschluß über die relative Orientierung der benachbarten Glukosen zueinander und zeigen Mittelwerte von 102,7° in ϕ und 120,7° in ψ (siehe Anhang Tabelle 21 und Tabelle 22). Ungewöhnlich starke Abweichung von den Mittelwerten werden bei der Verknüpfung der aufeinander folgenden Glukosepaare G102-G103 und G103-G104 mit 82° bzw. 130° für ϕ und 90° bzw. 134° für ψ festgestellt. Derart stark abweichende minimale ϕ und maximale ψ -Werte der helikalen Bereiche wurden nicht bei CA26o beobachtet. Diese Abweichungen gehen einher mit der Ausbildung einer Wasserstoffbrücke von $O(6)_{103}$ zu $O(3)_{12}$ eines symmetrieverwandten CA26ja.

Die Positionen der O(6)-Hydroxylgruppe werden durch den Torsionswinkel χ beschrieben, die überwiegende Mehrheit von 41 Glukosen nimmt die (-)gauche Konformation ein, während nur 5 die (+)gauche und 6 eine zweifache Fehlordnung in (-) und (+)gauche aufweisen. Die Mittelwerte der Torsionswinkel χ in der (-)gauche und (+)gauche Konformation betragen -62,9° bzw. 61,0°.

Als Teil des Band-Flip-Motivs liegen die Glukosen G1, G14 in CA26ja und G101, G114 in CA26jb in (+)gauche Konformation vor. Zusätzlich liegen auch G107, G120 in (+)gauche Konformation vor. Hingegen weisen die entsprechenden Glukosen G7 und G20 in CA26ja Fehlordnung auf, wobei die (+)gauche Konformation zu 13% bzw. 61% eingenommen wird.

5.4 Geometrie der Band-Flip-Motive

Das Band-Flip-Motiv zeigen die Moleküle CA26ja und CA26jb ebenfalls an den zwei diametral gegenüberliegenden Stellen im Makrozyklus (G13-G14, G26-G1, G113-G114 und G126-G101). Vergleiche mit Darstellung der CA26-Hydrat-Komplexe in Abb. 20.

Der kürzere mittlere Abstand von 2,76 Å der $O(3)_n \cdots O(6)_{n+1}$ Sauerstoffatome zueinander in CA26j weist wie bei CA26o auf einen stärkeren Anteil dieser Brücke im Vergleich mit dem mittleren Abstand von 3,09 Å bei $O(3)_n \cdots O(5)_{n+1}$ hin. Charakteristisch für die Geometrie dieser glykosidischen Verknüpfung am Band-Flip sind die mittleren Winkel ϕ mit 88° bzw. ψ mit -52° in beiden CA26j-Molekülen. Die Mittelwerte stimmen sehr gut mit den in CA26o bestimmten Werten überein.

Die zwischen 2,70 Å - 3,15 Å beobachteten $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstände in den helikalen Bereichen des CA26ja (siehe Anhang Tabelle 24) erfüllen ausnahmslos die Erwartungen für die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke. Der Mittelwert ist vergleichbar dem in CA26o von 2,84 Å.

In CA26jb hingegen sind zwei der $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstände zwischen den Glukosepaaren G102-G103 und G118 - G119 mit 3,64 Å bzw. 3,61 Å soweit verlängert, daß die Bildung einer Wasserstoffbrücke ausgeschlossen werden kann. G102-G103 befindet sich im Anschluß an ein Band-Flip-Motiv, während G118 - G119 fast eine ganze Windung (5 Glukosen) davon entfernt die kontinuierliche Kette der $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrücken unterbricht.

Diese Lücken in der Kette der $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrücken treten bei CA26ja- und CA26o-Molekülen nicht auf. Bei CA26o wurden geringfügige Verlängerungen von $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abständen beobachtet und im Kontext der systematisch lokalisierten Verlängerungen bei CA10- und CA14-Molekülen diskutiert. Die Unterschiede zwischen CA26o, CA26ja und CA26jb zeigen, daß bei CA26-Molekülen keine systematische Lokalisierung der verlängerten $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstände beobachtet wird, sondern sich an variablen Positionen befinden können. Wie bei CA26ja zu beobachten ist, kann die Ursache für die Verlängerungen sogar soweit kompensiert werden, daß keine signifikanten Verlängerungseffekte in den $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abständen zu beobachten sind.

5.5 Intramolekulare Wasserstoffbrücken

Mit Ausnahme der Band-Flip-Motive sind alle Glukosen in *syn* Orientierung miteinander verknüpft, die bei hinreichend geringem $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstand ($< 3,4$ Å), der einen Mittelwert in CA26j von 2,90 Å aufweist, eine Wasserstoffbrücke ausbildet (siehe Anhang Tabelle 24). Der Mittelwert für CA26o ist mit 2,84 Å nur geringfügig kleiner.

Zusätzlich werden die helikalen Bereiche G3-G13 und G16-G26 jeweils durch die Ausbildung von $O(6)_n \cdots O(2)_{n+6}$ und/oder $O(6)_n \cdots O(3)_{n+6}$ Wasserstoffbrücken stabilisiert (siehe Anhang Tabelle 25), die auch bei CA26o auftreten. Allerdings sind die Abstände bei den Paaren G7-G13, G16-G22 und G118-G124 größer als 3,4 Å und damit zu lang für direkte Wasserstoffbrücken. Dafür werden bei diesen jeweils wasservermittelte Interaktionen beobachtet. Die Länge der direkten Wasserstoffbrücken folgt der bei CA26o

beschrieben Abhängigkeit von der Orientierung der C(6)-O(6) Gruppe.

Die bei CA26_o beschriebenen direkten Wasserstoffbrücken (siehe Abb. 15) zwischen den beiden Helices stellen auch bei CA26_{jb} die einzigen direkten Interaktionen dar. Neben dem bei CA26_o schon beschriebenen Wasserstoffbrückennetzwerk, das die Glukosen G101, G107, G114 und G120 verbindet, sind die Wasserstoffbrücken O(6)₁₀₁...O(3)₁₀₇ bzw. O(6)₁₁₃...O(3)₁₂₀ vorhanden. Dieses Muster von Wechselwirkungen der V-Helices verleiht weitere Stabilität und scheint konserviert zu sein.

Die Glukosen G1, G7, G14 und G20 weisen in CA26_{ja} ein analoges Netzwerk von Wasserstoffbrücken auf, jedoch sind die Torsionswinkel χ von G7 und G20 fehlgeordnet mit der Hauptbesetzung der (-) bzw. (+)gauche Konformation. Die Position des W2 ist nicht besetzt. Seine Funktion als Vermittler von Interaktionen zwischen den Helices wird jedoch alternativ durch zwei Wassermoleküle übernommen.

5.6 Schwache Wasserstoffbrücken

Die beiden kurzen Helices in CA26 kommen durch die zweizählige Pseudorotationsachse sehr dicht zusammen, so daß die Glukosepaare G7-G8 der einen Helix in Kontakt mit dem Paar G20-G21 der anderen Helix treten. CA26_j weist kurze interhelikale C-H...O Wasserstoffbrücken im Bereich H...O, 2,5 Å bis 3,0 Å, zwischen C(1)-H, C(4)-H bzw. C(6)-H als Donor und O(2), O(3) bzw. O(5), O(6) als Akzeptoren auf. Die Abstände sind im gleichen Bereich wie bei CA26_o. Vergleiche Abb. 21 für die im Detail dargestellten Interaktionen bei CA26_o.

5.7 Hydratisierung

Analog zu den Wassermolekülen W1-W4 des CA26_{ta} zwischen den V-Helices, deren Positionen ebenfalls bei CA26_{tb} und CA26_o konserviert sind, werden die Helices bei CA26_{ja} und CA26_{jb} durch Wassermoleküle verknüpft. Vergleiche Abb. 15 und Abb. 21 für CA26_o.

Bei CA26_{jb} füllen ebenfalls vier Wassermoleküle W5-W8 diese Positionen aus, während fünf Wassermoleküle in CA26_{ja} dieses Netzwerk ausbilden, wobei W2 nicht besetzt ist, jedoch durch zwei vollbesetzte Wassermoleküle ersetzt wird, die miteinander durch eine Wasserstoffbrücke (2,76 Å) verbunden sind.

W1 bildet analoge Wasserstoffbrücken zu CA26_{ja} aus wie W1 in CA26_o (O(5/6)₂, O(2)₈, O(5/6)₂₁). In CA26_{jb} nimmt W5 diese Position ein. W5 bildet zu den jeweils entsprechenden Sauerstoffatomen dieses Moleküls (O(5)₁₀₂, O(2)₁₀₈, O(5/6)₁₂₁) Wasserstoffbrücken aus. Allerdings ist O(6) der Glukose G102 mehr als 3,4 Å entfernt.

Das in CA26_o beschriebene Wasser W2 (siehe Abb. 21) wird in CA26_{jb} durch W6 eingenommen. W6 bildet vergleichbare Wasserstoffbrücken zu CA26_{jb} aus (O(5/6)₁₀₈,

O(5/6)₁₁₅, O(2)₁₂₁). In CA26*ja* wird diese Verbrückung mittels zweier Wassermoleküle realisiert. W2a wird durch Wasserstoffbrücken zu O(5) und O(6) der Glukose G15 sowie O(2) und O(3) der Glukose G21 komplexiert und ist gleichzeitig durch eine Wasserstoffbrücke mit W2b verbunden. Diese steht in Kontakt zur zweiten V-Helix durch Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zu O(6) der Glukose G8.

Ein weiteres Wassermolekül W3 verbrückt wie in CA26*o* (siehe Abb. 20) die beiden V-Helices mit ihren Wasserstoffbrücken zu O(2/3)₂₆ und O(2)₇. W4 bildet in analoger Weise Wasserstoffbrücken zu O(3)₁₃ und O(2)₂₀ aus. Darüber hinaus ist W3 noch mit O(6) der Glukose G20 und W4 mit Glukose G7 verbunden. Die analogen Positionen in CA26*jb* werden von W7 und W8 eingenommen, die durch die jeweils entsprechenden Glukosen komplexiert werden (siehe Anhang Tabelle 23).

Die Netzwerke der Wasserstoffbrücken, die eine Verbindung zwischen den Helices des CA26 knüpfen, folgen bei CA26*jb* den für CA26*o* beschriebenen Mustern. Bei CA26*ja* wurde die zweite der konservierten Wasserpositionen nicht besetzt und durch eine alternative Verbrückung über zwei Wassermoleküle ersetzt. Damit passen sich die Interaktionen äußeren Einflüssen wie zum Beispiel der veränderten Kristallpackung oder dem in der Nähe liegenden freien Jodidatom an.

5.8 Intermolekulare Wasserstoffbrückenmuster und Kristallpackung

Die beiden CA26-Moleküle sind in der asymmetrischen Einheit der Einheitszelle so angeordnet, daß die beiden V-Helices von CA26*ja* jeweils durch eine V-Helix von CA26*jb* verlängert wird. Durch diese Stapelung der Helices aufeinander werden zwei verlängerte Superhelices gebildet (siehe Abb. 33).

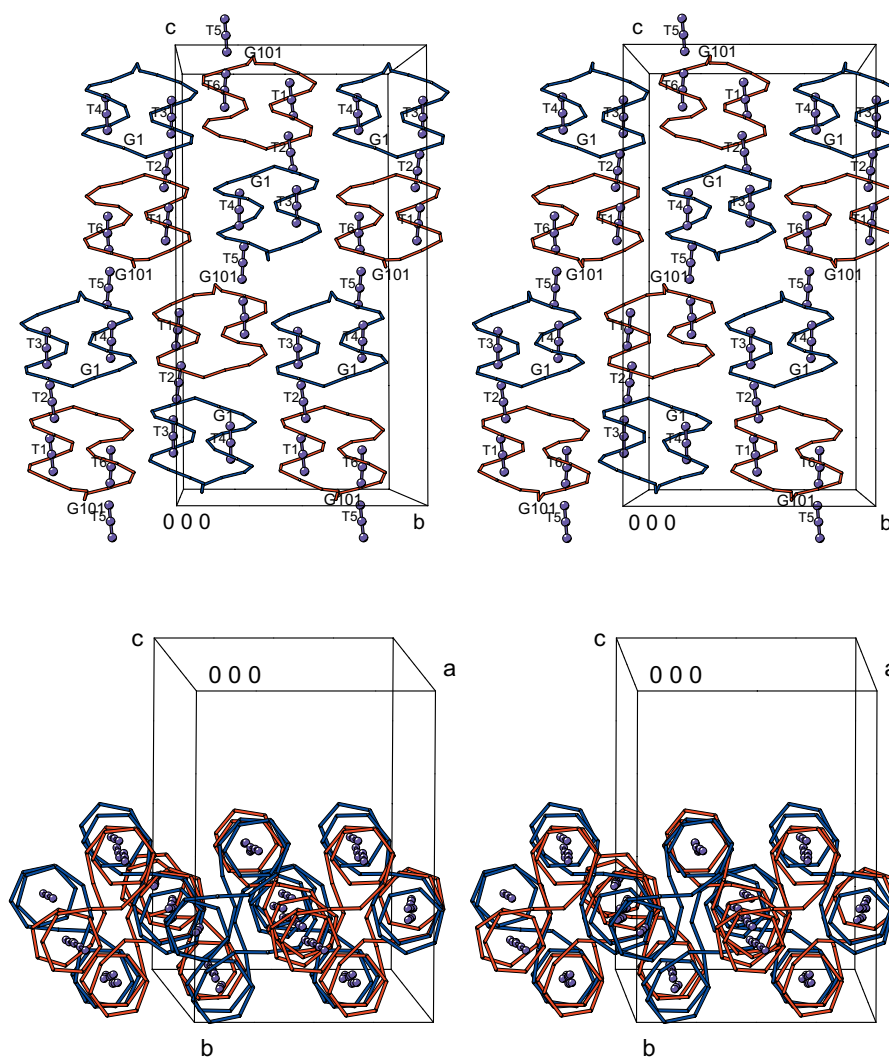


Abb. 33: Stereographische Ansicht der Kristallpackung des CA26-Ammoniumjodidkomplexes entlang der kristallographischen a-Achse im oberen Teil und entlang der c-Achse im unteren Teil. Der Ursprung der Zelle wird mit 000 bezeichnet. Die Packung im Kristall zeichnet sich durch eine Anordnung der Jodatome in den helikalen Bereichen entlang der c-Achse aus.

Die Verbindung der helikalen Bereiche wird durch Ausbildung eines ausgedehnten Netzwerkes von $O(6)\cdots O(6)$ Wasserstoffbrücken zwischen den Glukosen G21-G26 und G1 mit G108-G114 geknüpft (Abb. 34 oben). Die Verknüpfung der beiden Helices G8-G14 mit G121-G126 und G101 wird durch Wasserstoffbrücken realisiert, die durch Wassermoleküle vermittelt werden. Diese Helices nehmen im Vergleich mit der zuvor besprochenen Superhelix eine um die Helixachse rotierte Orientierung ein. Die $O(6)\cdots O(6)$ Abstände weisen eine Distanz von mehr als 3,4 Å auf und zeigen daher keine direkten Kontakte, sondern wasservermittelte Interaktionen (Abb. 34 unten). Wie groß der Unterschied der beiden Verknüpfungen ist, wird beim Vergleich der mit G1 interagierenden Glukose G114 mit der korrespondierenden Glukose G101 klar, die mit 5,2 Å deutlich zu weit von G14 entfernt ist, um eine äquivalente Interaktion auszubilden (vergleiche Abb. 34).

Die Kanäle dieser Helices sind nahezu parallel zur Kristallgitterachse *c* ausgerichtet, so daß sich zwei regelmäßig unterbrochene Polyjodidketten parallel durch den gesamten Kristall ziehen. Jeweils 9 Jodatome befinden sich in einer linearen Anordnung in der Matrix, die durch die verknüpften Kanäle der beiden CA26-Moleküle gebildet werden. Die einzelnen Teilstücke der Polyjodidkette sind parallel zu der Kristallgitterachse orientiert und durch 12 Å bzw. 19 Å lange mit Wasser gefüllte Hohlräume voneinander getrennt.

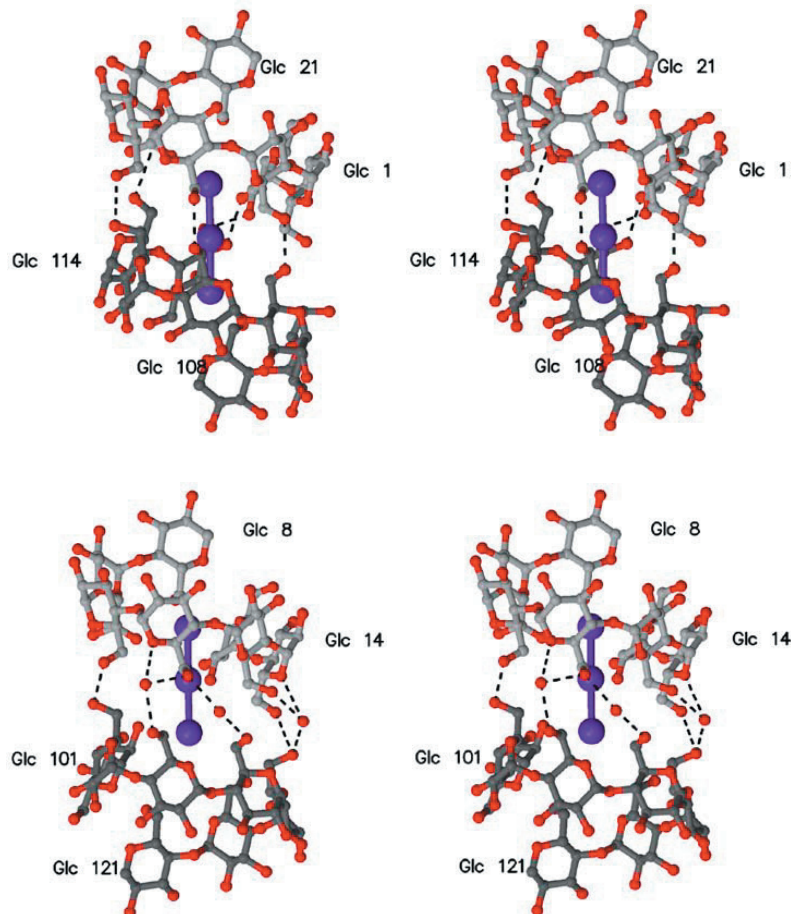


Abb. 34: Ansicht der intermolekularen Interaktion zwischen den Glukosen G21-G26 und G1 (hell graue C-Atome) mit G108-G114 (dunkel graue C-Atome). Das Trijodid T2 (lila) sitzt im Zentrum der verknüpften Helices. Abstände $< 3,5\text{\AA}$ zwischen Sauerstoffatomen werden als Wasserstoffbrücken durch gestrichelte Linien gezeigt. Im unteren Teil werden die wasservermittelten Verbrückungen zwischen G8-G14 mit G121-G126 und G101 gezeigt.

5.9 Konformation der Trijodidmoleküle in den Kanälen

Die zentralen Kanäle, die durch die V-Amylosehelices gebildet werden, sind mit Jodmolekülen gefüllt, die eine Fehlordnung zeigen. Allerdings ist die Hauptlage dominant und mit jeweils mehr als 70% besetzt. Die Bindungsabstände der Jodatome variieren im Bereich zwischen 2,81 Å bis 3,00 Å (Mittelwert 2,91 Å). Diese I-I Abstände stimmen

mit denjenigen bei Trijodidmolekülen (2,91 Å) in den entsprechenden Strukturen der anorganischen Trijodidsalze überein, so daß sich jeweils drei Trijodidmoleküle in den Kanälen befinden. Die intermolekulare Abstände der Trijodidmoleküle untereinander liegen im Bereich von 3,66 Å bis 3,85 Å und sind somit signifikant kürzer als der Van-der-Waals-Abstand von 4,3 Å. Die Trijodidmoleküle an den Enden der Kette besitzen eine höhere Asymmetrie der Bindungslängen (z.B. T(1) mit 2,81 Å; 3,00 Å), behalten jedoch ihre lineare Anordnung mit einem mittleren I-I-Winkel von $177,7^\circ$ bei. Die vier I-I-Bindungen an den Öffnungen der Kanäle sind signifikant verlängert ($\sim 3,0$ Å). Jedoch zeigen die Trijodide in der Mitte der Ketten symmetrische Bindungslängen von 2,91 Å. Sie sind durch die benachbarten Glukosen gegen den Einfluß des Solvents geschützt, obwohl sie sich genau in der Mitte zwischen zwei CA26-Molekülen befinden. Diese Abschirmung trifft ebenso für die Trijodide zu, die sich an den Enden der Kette befinden, jedoch sind diese durch die Öffnung des Kanals dem Einfluß des Kristallwassers ausgesetzt.

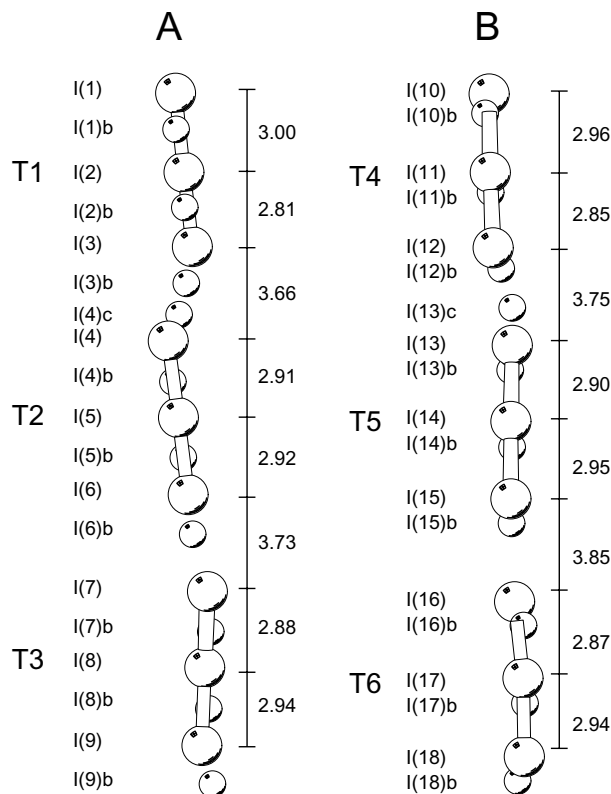


Abb. 35: Schematische Abbildung der Jodatome in den helikalen Bereichen. Die Hauptlagen der Trijodide T1-T3 in A und T4-T6 in B sind mit größeren Kugeln dargestellt und die gering besetzten Positionen mit I(#)*b* bezeichnet. Die Bindungslängen der Trijodide und Abstände der Van-der-Waals-Interaktionen sind entlang der Achsen aufgetragen.

Anzeichen für die Fehlordnung in der Polyjodidkette wurden bereits während der Datensammlung in Form von breiten Streifen auf dem Detektor beobachtet. Diese Fehlordnung wird durch gering besetzte (< 30%) sekundäre Trijodidmoleküle modelliert,

die entlang der Kanalachsen um 1,62 Å und 0,74 Å verschoben sind. Die räumliche Nähe zueinander schließt ein gleichzeitiges Vorhandensein der hauptsächlich besetzten und gering besetzten Trijodide aus. Die Bindungslängen, Bindungswinkel und Abstände der Van-der-Waals-Interaktionen der Trijodide sind für die Haupt- und Nebenlagen vergleichbar und im Anhang in Tabelle 26 und Tabelle 27 aufgeführt.

5.10 Überlagerung von Jodatolagen in CA26ja und CA26jb

Die Überlagerung der 13 Glukosen jeweils verschiedener helikaler Segmente der beiden Moleküle in CA26j mit der Methode der geringsten Fehlerquadrate zeigt eine hohe Übereinstimmung in den Positionen der Jodatome. Die beiden Trijodidmoleküle T1 und T4 (grün und rot in Abb. 36) in CA26j nehmen vergleichbare Positionen mit einer mittleren quadratischen Abweichung von 0,5 Å ein. T6 (gelb in (siehe Abb. 36) liegt um 3,0 Å also eine ganze I-I Bindungslänge verschoben im Kanal. Dabei liegen die Jodatome I(2) und I(3) auf den gleichen Positionen wie I(3) und I(2) bei T1 und T4. Allein T3 (blau in (siehe Abb. 36) im Segment G14-G26 besetzt die Zwischenlagen (lila in Abb. 36) und ist um etwa eine halbe I-I Bindungslänge (1,5 Å) entlang der helikalen Achse verschoben. Von dieser Verschiebung ist die Gesamtlänge der Trijodidkette T1-T2-T3 im Vergleich mit T4-T5-T6 mit 24,5 Å und 24,9 Å nicht beeinflusst. Sie stellt vielmehr eine Anpassung an die unterschiedliche Verknüpfung der beiden Helices wie in Abb. 34 gezeigt dar.

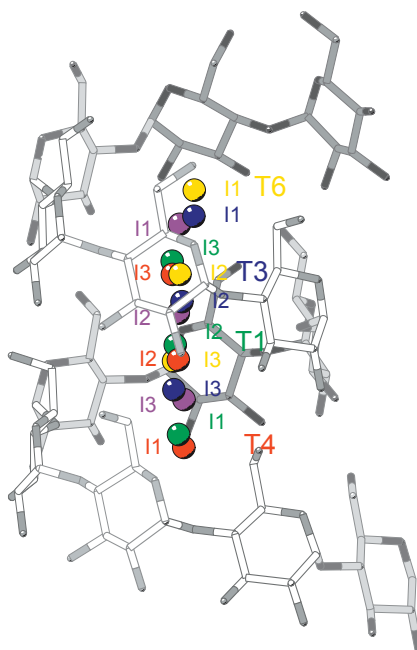


Abb. 36: Überlagerung der Trijodide T1, T3, T4 und T6 in den helikalen Bereichen der Cycloamylosen zeigt die bevorzugten Positionen der Jodatome. T3 ist um eine halbe I-I Bindungslänge verschoben und besetzt eine Zwischenlage, die ebenfalls von den gering besetzten Jodatomen (lila) eingenommen wird.

5.11 Hydrophobe Wechselwirkung mit der Umgebung im Kanal

Die Kanäle sind nach innen mit C(3)-H, C(5)-H und C(6)-H₂ sowie O(4) der glykosidischen Bindung ausgekleidet und besitzen daher einen hydrophoben Charakter. Die Jodmoleküle werden hauptsächlich durch die Ausbildung von C-H...I Van-der-Waals-Kontakten stabilisiert.

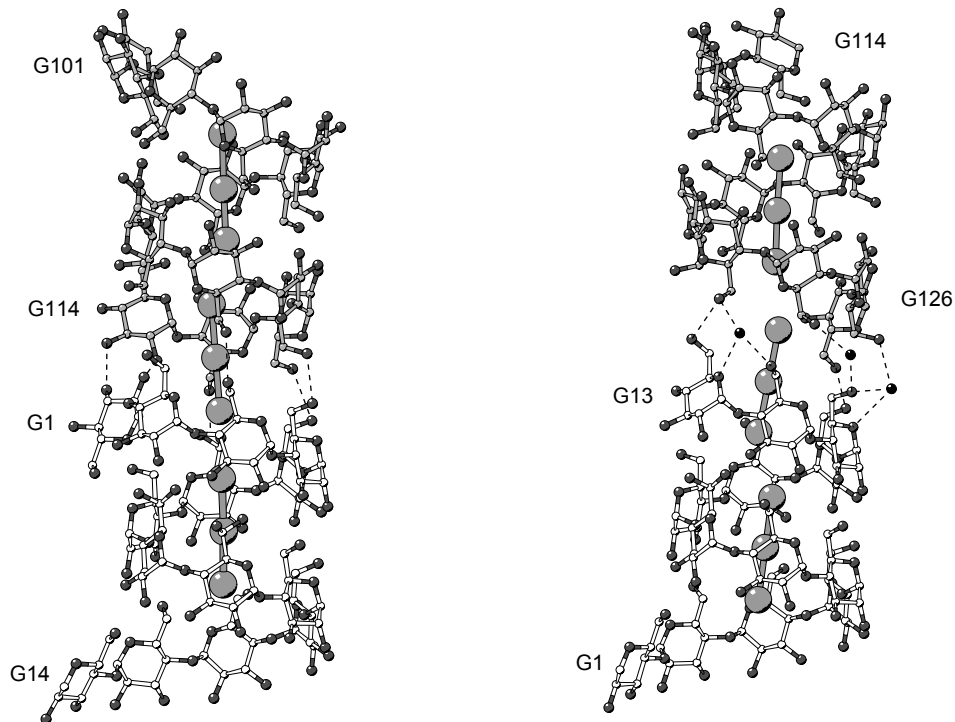


Abb. 37: Trijodide T1-T3 (links) und T4-T6 (rechts) in den hydrophoben Kanälen der Cycloamylosen, die durch intermolekulare Interaktionen von G22-G26 und G1 (weiß) zu G114-G118 (grau) bzw. G10-G13 mittels Wassermolekülen (schwarz) zu G123-G126 im Kristall gebildet werden.

Die kürzesten H...I Abstände in CA26j werden mit 3,1 Å beobachtet. Die Kontakte zu C(5)-H überwiegen zahlenmäßig im Vergleich zu den C(3)-H Kontakten, die in gleicher Weise in den Innenraum zeigen. Die O(4) Sauerstoffatome der Glukosen sind wenigstens 4,0 Å von den Jodatomen entfernt, somit ist der Van-der-Waals-Abstand O...I von 3,55 Å weit überschritten. Jedoch werden Kontakte zu O(6) Hydroxylgruppen der Glukosen in (+)gauche Konformationen innerhalb der Kanäle des CA26j im Bereich von 3,5 Å bis 4,0 Å beobachtet. Geordnete Positionen von Wassermolekülen an den Öffnungen der Kanäle sind wenigstens 5,7 Å von den Jodatomen entfernt.

5.12 Ramanspektroskopie

Ramanspektren (Abb. 38 E) von in Wasser aufgelösten CA26j Kristallen gemessen bei einer Wellenlänge von 565nm zeigen Hauptbanden bei 110, 149, 168 cm^{-1} und schwächere bei 219, 285, 333 cm^{-1} (Tabelle 3). Die schwächeren Banden können wie in der Literatur beschrieben den Obertonfrequenzen der Amylosekomplexe zugeordnet werden. Zusätzlich wurden auch Ramanmessungen bei einer Wellenlänge von 1064 nm an Kristallen CA26j durchgeführt, die Signale bei 107 und 141 cm^{-1} aufweisen (Abb. 38 C).

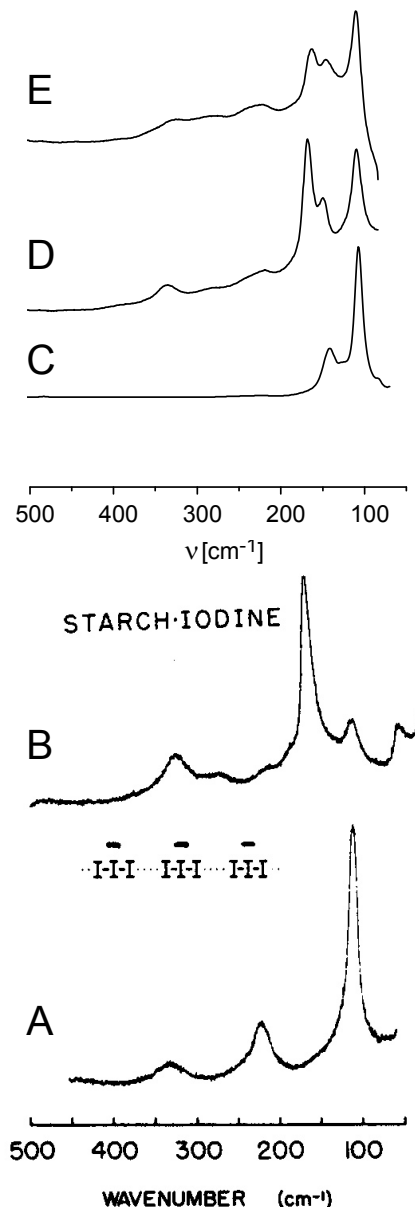


Abb. 38: Vergleich der Ramanspektren von α -Cyclodextrin-Trijodidkristallen (A), mit Amylose-Jod-Komplexen (B), mit den CA26-Komplexen in kristalliner Form (C), und in Wasser aufgelöster Kristalle der Barium- (D) und Ammoniumjodidkomplexe (E). Die Spektren A und B wurden aus [Saenger84a] entnommen.

Die Hauptbanden des V-Amylose-Jod-Komplexes wurden mit 109, 160 cm^{-1} bestimmt [Handa80, Teitelbaum80, Pfannemüller83, Ziegast82]. Die Spektren wurden bei einer Wellenlänge von 565nm gemessen. Obwohl sich die relativen Intensitäten der einzelnen Banden des Cycloamylosekomplexes vom Amylosekomplex unterscheiden, stimmen die Frequenzen der Hauptbanden sehr gut überein.

Diese Schwingungsbanden wurden von Teitelbaum et al. aufgrund der hohen Übereinstimmung mit dem Ramanspektrum einer pentajodidhaltigen Modellverbindung dem Pentajodidmolekül I_5^- zugeordnet. Allerdings ist die Zuordnung der 109 cm^{-1} Hauptbande durch mehrere Autoren in Frage gestellt worden [Yu96]. Das Ramanspektrum dieser Modellverbindung (Trimesinsäure $\cdot \text{H}_2\text{O}$)₁₀ $\text{H}^+ \text{I}_5^-$ wurde durch Nour et al. noch einmal gründlich untersucht [Nour86]. Basierend auf diesen Messungen und einer Kombination von IR-Spektroskopie und Modellrechnungen ordneten die Autoren die 109 cm^{-1} Bande Verunreinigungen von I_3^- zu anstatt dem Pentajodidmolekül I_5^- .

Im Ramanspektrum des CA26-Kristalls (Abb. 38 C) treten einige Banden im Vergleich mit den aufgelösten Kristallen (Abb. 38 D, E) nicht auf. Für das Fehlen einiger Banden müssen zwei Faktoren in Betracht gezogen werden. Entweder zeigen sich die veränderten Bedingungen in gelöster Form für die zusätzlich auftretenden Banden verantwortlich oder die unterschiedlichen experimentellen Bedingungen. Insbesondere der Wechsel zur Anregung mittels eines IR-Lasers wirkt sich sehr stark aus.

Tabelle 3: Wellenlängen der Ramanbanden verschiedener Polyjodid-Amylose-Komplexe und Modellverbindungen

Komplex	ν_5	ν_4	ν_3	ν_2	ν_1
Al a	27	55	111		159
Al b		56	109		163
Al c	24	52	112		164
Al d			109		163
Al e	33	65	114	142	165
Al i	27	57	107		158
I_3^- f		74	107	138	
I_3^- h		69	103	149	
I_5^- g		75	(105)		163
I_2 b,e					212
CA26j k			110	149	168
CA26j j			107	141	
CA26b k			110	146	163

- a) Anregung bei $\nu = 565$ nm, Polymerisationsgrad der Amylose 30 – 1000, [Handa80]
- b) Anregung bei $\nu = 565$ nm, Kartoffelamylose, reine I_2 : Lösung in Hexan 210 cm^{-1} , Benzol 207 cm^{-1} , Ether 204 cm^{-1} , t-BuOH 197 cm^{-1} [Teitelbaum80]
- c) [Pfannemüller83]
- d) [Ziegast82]
- e) Amylose mit I_2 : Lösung, $T = 10\text{K}$, I_2 : $T=300\text{K}$ in CCl_4 , [Latte97]
- f) Modellverbindung $\text{N}(\text{CH}_3)_4I_3$, [Parret70]
- g) Modellverbindung $\text{TMA}\cdot I_5$, Bande in Klammern wurde Verunreinigungen mit I_3^- zugeordnet, [Nour86]
- h) [Weidlein88]
- i) [Heyde72]
- j) Anregung bei $\nu = 1064$ nm, CA26j Kristall
- k) Anregung bei $\nu = 565$ nm, CA26j Kristall aufgelöst in Wasser

5.13 Absorptionsspektren

Die für die Kristallisation verwandten Jodidlösungen zeigen in ihrem Absorptionsspektrum Banden bei 228 nm für I^- und 288, 355 nm für I_3^- , jedoch keine Bande im Bereich um 460 nm, der typischerweise bei I_2 -Molekülen beobachtet wird.

Für ein Fragment $I_3^- \cdot I_3^- \cdot I_3^-$ im Amylose-Jod-Komplex wird von Yu et al. eine zusätzliche Bande im Bereich von λ_{\max} 480-510 nm vorhergesagt [Yu96]. Absorptionsspektren von CA26j Kristallen zeigen Banden bei den Frequenzen 287 und 368 nm, welche gut mit den Werten von Trijodid in Lösung übereinstimmen. Die vorhergesagte zusätzliche Bande wird jedoch nicht beobachtet.

5.14 Freies Jodid zwischen den Molekülen

Zwei Positionen zwischen den CA26-Molekülen konnten partiell besetzten Jodidatomen I(7) und I(8) zugeordnet werden. I(7) ist direkt auf der zweizähligen Pseudosymmetrieachse des Moleküls CA26ja lokalisiert, während I(8) in der Nähe des Band-Flip-Motivs G1-G26 liegt.

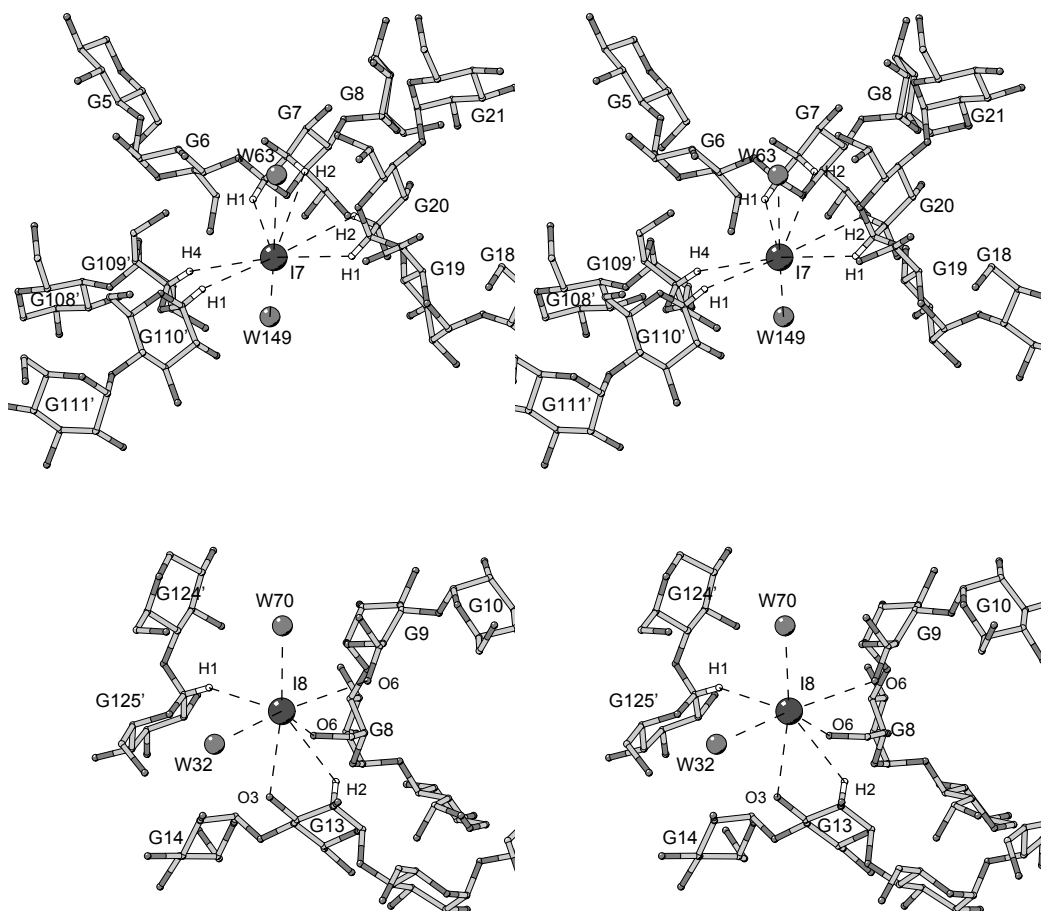


Abb. 39: Interaktionen der freien Jodid-Anionen I(7) (oben) und I(8) (unten) mit ihren Koordinationssphären. Die Van-der-Waals-Kontakte mit den umgebenden Atomen werden durch gestrichelte Linien angezeigt.

Die Koordinationssphären des freien Jodids I(7) sind dominiert von Kontakten zu Wasserstoffatomen der umgebenden Glukosen im Bereich von 2,98 Å bis zu 3,3 Å, dem H...I Van-der-Waals-Abstand. Zusätzlich treten noch Kontakte zu Wassermolekülen auf, die Abstände von 3,37 Å bis 3,79 Å aufweisen. Direkte Wechselwirkungen zu Hydroxylgruppen der Glukosen treten nur bei I(8) mit O(6) von Glukose G8 und G9 bei I...O Abständen von 3,47 Å und 3,42 Å sowie O(3) von G14 mit 3,26 Å auf.

5.14 Gegenionen

Die Ammoniumionen, die im Kristallgitter enthalten sein müssen, um die Elektroneutralität zu gewährleisten, können aufgrund der identischen Zahl von Elektronen im Vergleich zu Wassermolekülen bei dieser Auflösung nicht unterschieden werden. Der Versuch, Wasserpositionen im Kristall mit ungewöhnlicher Koordinationsumgebung zu identifizieren, war nicht erfolgreich.

In der unmittelbaren Nähe der negativ geladenen Trijodidmoleküle an den Öffnungen der Kanäle ist keine definierte Elektronendichte zu beobachten, die auf eine Ladungskopplung schließen läßt. Die nächste Position einer definierten Elektronendichte ist 5,7 Å entfernt von den Jodatomen. So kann die Verteilung der Ammoniumionen innerhalb der knapp 100 geordneten Wasserpositionen nicht näher bestimmt werden.

5.15 Zusammenfassung und Diskussion

Die generelle dreidimensionale Gestalt des CA26-Moleküls und die Konformation der Glukosen bleiben unabhängig von der Bildung des Jodkomplexes erhalten. Die Jodatome in den helikalen Hohlräumen weisen in allen vier Helices vergleichbare Positionen auf. Diese Spezifität beruht auf den Wechselwirkungen zwischen der Polyjodidkette und der Amylosehelix.

Die Interaktion zwischen CA26 und den Jodatomen basiert nicht auf Chargetransfer, Dipol-Dipol, oder Van-der-Waals-Kontakten zwischen O(4) und den Jodatomen, wie es für den Amylose-Jod-Komplex postuliert wurde. Die I \cdots O(4) Abstände sind mit mindestens 4,0 Å viel weiter entfernt als der Van-der-Waals-Abstand von 3,55 Å und sogar 1,4 Å länger als der Abstand, der für typische Chargetransfer-Komplexe wie Dioxan \cdot I₂ beobachtet wird.

Es liegen jedoch die I \cdots H Abstände zwischen Jod und den Wasserstoffatomen C(3)-H, C(5)-H und C(6)-H₂, welche die Innenseite des helikalen Hohlraums auskleiden, mit 3,1 Å - 3,35 Å im Bereich, in dem Dispersionskräfte auftreten. Die auftretenden Dispersionskräfte sind vergleichbar mit denen, die zum Beispiel bei der Lösung von Jod in flüssigen Kohlenwasserstoffen entstehen. Sie liefern zusammen mit der entropischen Energie des freigesetzten Wassers den wesentlichen Beitrag zur Stabilisierung des Amylose-Jod-Komplexes.

In den Röntgenfaserdiffraktionsarbeiten [Bluhm81] besteht die Polyjodidkette aus linear angeordneten gebundenen Jodatomen mit etwa gleichen Abständen (2,91 Å; 2,99 Å). Im CA26-Komplex mit Ammoniumjodid werden sogar kürzere I-I Abstände beobachtet, die im Bereich von 2,81 Å bis 3,86 Å liegen. Der daraus gewonnene Mittelwert liegt sehr nahe an dem 3,1 Å Abstandswert, der durch Rundle et al. vor fast 50 Jahren bestimmt wurde [Rundle43, 43a]. Für die Polyjodidkette in CA26j konnte eine Zuordnung in drei separaten Trijodiduntereinheiten bestimmt werden, die aufgrund der intermolekularen I-I Abstände, welche kürzer als Van-der-Waals-Abstand sind, miteinander in Wechselwirkung stehen. Dies bestätigt die Schlußfolgerung, die aus Amylose [Bluhm81] und α -Cyclodextrin-Komplexen [Noltemayer80] gezogen worden ist und eine Struktur aus linearen Polyjodidketten vorhersagt, die aus separaten Joduntereinheiten mit variierenden I-I Abständen besteht. Vorhersagen für lineare Polyjodidketten mit konstant bleibenden I-I Abständen in Amylosekomplexen [Minick91] konnten nicht bestätigt werden.

Dipolwechselwirkungen, die in Form der Summierung von einzelnen Dipolenbeiträgen zu einem starken Gesamtdipol vorgeschlagen wurde [Sakurai90] und zwischen der Amylosehelix und der Polyjodidkette im Amylose-Jod-Komplex wirken sollen, können für CA26j nicht ausgeschlossen werden. Allerdings ist durch die Anordnung in eine zweiteilige

Superhelix mit antiparalleler Orientierung der beiden Helixteile zueinander nur eine lokale Bedeutung möglich, da sich die einzelnen Beiträge von antiparallel orientierten Helices als Nettoeffekt aufheben.

Die Asymmetrie, die in die Bindungslängen der äußeren Trijodidmoleküle beobachtet wird, reflektiert die Asymmetrie der Wechselwirkung mit der Umgebung. Die Dispersionsinteraktion mit dem Wirtmolekül ist für alle Trijodidmoleküle gleich, allerdings sind nur die beiden Trijodidmoleküle im Zentrum komplett vom umgebenden Wasser geschützt. Auf der Seite der Kanalöffnung tritt eine Interaktion mit den polaren Lösungsmittelmolekülen auf, während auf der anderen Seite die Interaktion mit einem weiteren Trijodidmolekül auftritt.

Die rehbraune Farbe des CA26j-Komplexes zeigt, daß drei interagierende Trijodideinheiten nicht ausreichend sind, um die typische Blaufärbung des Amylose-Jod-Komplexes auszubilden. Die von Yu et al. postulierte Bande bei 480-510 nm [Yu96] konnte im Spektrum des CA26j-Komplexes nicht beobachtet werden. Im Vergleich mit dem braunen p-Nitrophenolmaltohexosekomplex, der eine ununterbrochene Kette aus I_3^- aufweist [Hinrichs87] und den α -Cyclodextrinkomplexen mit ununterbrochener Kette aus $I_3^- \cdot I_2$ Einheiten, die eine blaue Farbe aufweisen [Noltemayer80], kann geschlossen werden, daß die Interaktion von Trijodid mit I_2 einen wesentlichen Beitrag für die Ausbildung der charakteristischen blauen Absorption des Polyjodides spielt.

6. Ergebnisse – Struktur des CA26-Fettsäure-Komplexes

6.1 Allgemeines, Bezeichnung der Moleküle und der Glukoseuntereinheiten

Bei den Experimenten zur Kristallisation des Undekansäure-CA26-Komplexes wurde eine orthorhombische Kristallform bestimmt. Die Einheitszelle enthält ein CA26-Molekül in der asymmetrischen Einheit, das als CA26*f* bezeichnet wird. Die Fettsäuren, die sich in den Kanälen befinden, werden als F1 und F2 bezeichnet. Die Bezeichnung der Atome der Undekansäuren wird aus Abb. 40 ersichtlich.

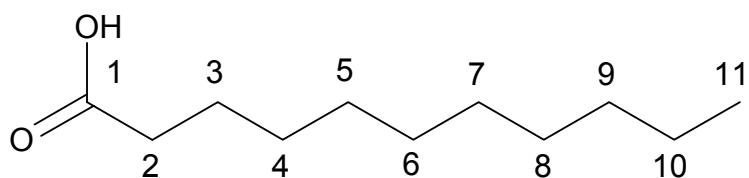


Abb. 40: Schema der Undekansäure

6.2 Konformation des CA26-Moleküls

Der CA26 · Undekansäure-Komplex enthält in jedem der Kanäle des CA26-Moleküls ein Fettsäuremolekül. Zusätzlich sind 34,95 Wassermoleküle in der asymmetrischen Einheit enthalten. Die zweizählige Pseudosymmetrie, welche die beiden Hälften (G1-G13 und G14-G26) des CA26-Moleküls miteinander verbindet, findet sich auch bei CA26*f* wieder. Die helikalen Kanäle mit Van-der-Waals-Durchmesser von ca. 5 Å werden durch die Undekansäure ausgefüllt.

Die strukturellen Eigenschaften der Helix sind vergleichbar zu dem Fettsäurekomplex der V-Amylose, die durch Godet et al. in einer Faserdiffraktionsstudie an Amylose-Fettsäure-Komplexen mit Kettenlängen im Bereich von 8 bis 16 C-Atomen beschrieben wurden [Godet95].

Die generellen Merkmale des CA26-Moleküls sind vergleichbar mit dem beschriebenen CA26-Hydrat- und CA26-Jod-Komplex. Die Pseudosymmetrie, intramolekulare Wasserstoffbrücken $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ und Wasserstoffbrücken $O(6)_n \cdots O(2)_{n+6}$ bzw. $O(6)_n \cdots O(3)_{n+6}$ zwischen den helikalen Windungen zeigen sich auch bei CA26*f*. Die Wassermoleküle W1-W4 zwischen den Helices sind ebenfalls konserviert.

Leichte Abweichungen zur antiparallelen Orientierung der beiden V-Amylosehelices der CA26-Moleküle werden sichtbar sobald die zentralen zehn Glukosen G3-G12 und G16-G25 überlagert werden. Eine deutliche Abweichung von 180° wird mit 170,8° für CA26*f* festgestellt.

Als Maß für strukturelle Abweichungen zwischen den CA26-Molekülen wird die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichungen (rms) bei der Überlagerung der ganzen Moleküle

(G1-G26) herangezogen (siehe Anhang Tabelle 7). Dabei werden alle O(6)-Atome aufgrund der beobachteten konformationellen Freiheit unberücksichtigt gelassen. Die Werte für die rms-Abweichung befinden sich im Bereich 0,44 Å – 0,79 Å bei der Überlagerung der gesamten Moleküle.

6.3 Konformation der Glukosen

Die Pyranoseringe liegen in einer entspannten 4C_1 -Sesselkonformation vor, die durch die Cremer-Pople-Parameter Q im Bereich 1,0 Å – 12,9 Å und θ 0,53° – 0,57° in CA26f angezeigt wird (siehe Anhang Tabelle 28). Die virtuellen Abstände $O(4)_n \cdots O(4)_{n+1}$ der helikalen Bereiche liegen in Bereich 4,22 Å – 4,47 Å mit einem Mittelwert von 4,32 Å während die Band-Flip-Motive durchgängig eine gestrecktere Form einnehmen, die durch einen längeren mittleren Abstand von 4,58 Å (4,47 Å – 4,76 Å) deutlich wird (siehe Anhang Tabelle 29). Die glykosidischen Verknüpfungen besitzen einen mittleren $C(1)_{n+1}-O(4)_n-C(4)_n$ Winkel von 118,2° (114° – 120°) (siehe Anhang Tabelle 30). Diese konformationellen Werte sind guter Übereinstimmung mit den Werten aus CA26t, CA26o, und CA26j.

Die Torsionswinkel ϕ und ψ geben Aufschluß über die relative Orientierung der benachbarten Glukosen zueinander und zeigen Mittelwerte in den helikalen Bereichen von 103,2° in ϕ und 113,8° in ψ (siehe Anhang Tabelle 31 und Tabelle 32). Ungewöhnlich starke Abweichung von den Mittelwerten wird bei der Verknüpfung der aufeinander folgenden Glukosepaare G1-G2 mit 86,5° für ψ festgestellt. Für das Glukosepaar G102-G103 waren bereits in CA26jb auffallend geringen Werte für ψ bestimmt worden, während in den Hydratstrukturen CA26t und CA26o sowie CA26ja keinerlei Abweichungen vom üblichen Bereich erkennbar sind.

Die überwiegende Mehrheit der O(6)-Hydroxylgruppen bei 16 Glukosen nimmt die (-)gauche Konformation ein (siehe Anhang Tabelle 35), während 6 die (+)gauche Konformation und 4 eine zweifache Fehlordnung in (-) und (+)gauche Konformation aufweisen. Die Mittelwerte der Torsionswinkel χ in der (-)gauche- und (+)gauche Konformation liegen mit -62,3° bzw. 64,1° im bekannten Bereich.

Fehlordnungen, wie sie bei dem Jodkomplex CA26ja bei den systematisch in (+)gauche Konformation liegenden Glukosen G1, G7, G14, und G20 auftreten, zeigen sich beim CA26f-Molekül nicht.

6.4 Geometrie der Band-Flips

Das Molekül CA26f zeigt das charakteristische Band-Flip-Motiv an den zwei diametral gegenüberliegenden Stellen im Makrozyklus (G13-G14, G26-G1) deren Abstände bei Wasserstoffbrücken und Torsionswinkel ϕ und ψ typische Werte wie CA26t, CA26o und CA26j aufweisen (siehe Anhang Tabelle 31 und Tabelle 32).

Die zwischen 2,72 Å - 3,18 Å beobachteten $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstände in den helikalen Bereichen des CA26*f* erfüllen ausnahmslos die Erwartungen für die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke (siehe Anhang Tabelle 34). In CA26*f* sind ebenso wie in CA26*ja* keinerlei Verlängerungseffekte in den $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abständen zu beobachten, und die kontinuierliche Kette der $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Wasserstoffbrücken wird nicht unterbrochen.

6.5 Intramolekulare Wasserstoffbrücken

Mit Ausnahme der Band-Flip-Motive sind alle Glukosen in *syn* Orientierung miteinander verknüpft. Der Mittelwert der $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstände in CA26*f* liegt bei 2,85 Å (siehe Anhang Tabelle 34). Eine Wasserstoffbrücke wird bei hinreichend geringem $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ Abstand ($< 3,4$ Å) ausgebildet.

Zusätzlich werden die helikalen Bereiche G3-G13 und G16-G26 durch die Ausbildung von $O(6)_n \cdots O(2)_{n+6}$ und/oder $O(6)_n \cdots O(3)_{n+6}$ Wasserstoffbrücken stabilisiert (siehe Anhang Tabelle 35). Die Länge der Wasserstoffbrücken folgt der bei CA26*o* und CA26*j* beschriebenen Abhängigkeit von der Orientierung der O(6)-Hydroxylgruppe.

Ebenso wie die bei CA26*j* beschriebenen Glukosen ist in CA26*f* die Glukose G3 aufgrund von Packungseffekten zu weit entfernt, um eine direkte Wasserstoffbrücke auszubilden. Die Verknüpfung dieser beiden Hydroxylgruppen wird mit Hilfe eines verbrückenden Wassermoleküls W24 realisiert $O(6)_3 \cdots W24 \cdots O(3)_9$ mit einem Abstand $O(6)_3 \cdots W24$ von 2,69 Å bzw. 3,16 Å für $W24 \cdots O(3)_9$.

Das bereits bei CA26*o* und CA26*jb* beschriebene Wasserstoffbrückennetzwerk verbindet die Glukosen G1, G7, G14 und G20 und vermittelt Stabilität durch die Wechselwirkung der V-Helices.

6.6 Schwache Wasserstoffbrücken

Das Motiv der Interaktion der beiden Helices liegt bei CA26*f* genauso vor wie für CA26*o* in Abb. 21 dargestellt. Diese Anordnung zeichnet sich aus durch interhelikale C-H \cdots O Wasserstoffbrücken im Bereich H \cdots O von 2,69 Å bis 2,82 Å, zwischen C(1)-H bzw. C(4)-H als Donoren und O(2), O(3) als Akzeptoren.

6.7 Hydratisierung

Analog zu den Wassermolekülen W1-W4 des CA26*ta* zwischen den V-Helices, deren Positionen ebenfalls bei CA26*tb*, CA26*o*, CA26*ja* und CA26*jb* konserviert sind, verknüpfen bei CA26*f* Wassermoleküle die Helices (siehe Abb. 15 und Abb. 21 für CA26*o*).

6.8 Intermolekulare Wasserstoffbrückenmuster und Kristallpackung

Die helikalen Kanäle benachbarter CA26-Moleküle sind nahezu parallel angeordnet und entlang der Kristallgitterachse *a* ausgerichtet. Die aliphatischen Enden der Fettsäuren C(10*f*)-C(11*f*) ragen aus den Kanälen heraus und befinden sich zu der Carboxylatgruppe eines symmetrieverwandten Fettsäuremoleküls in einem Abstand C(10*f*₁)...O(1*f*₁)' von 8,9 Å und C(10*f*₂)...O(1*f*₂)' von 9,8 Å. Der dazwischen liegende Raum ist mit Wasser gefüllt, die teilweise als fehlgeordnete Wassermoleküle zu erkennen sind.

Die Packung des Kristalls wird durch direkte Wasserstoffbrücken zwischen den Glukosen G1, G2 und G15', G16' eines symmetrieverwandten CA26-Moleküls stabilisiert, (O(3)₂...O(2)_{15'}, 2,73 Å, O(2)₂...O(3)_{15'}, 2,68 Å, O(3)₁...O(2)_{16'}, 3,35 Å). Auf der Seite der primären Hydroxylgruppen der Helices ist der Abstand zur nächsten Glukose größer, so daß kein direkter Kontakt mit symmetrieverwandten CA26-Molekülen vorliegt (siehe Abb. 41). Die Zwischenräume sind mit Wassermolekülen gefüllt, die mit Hilfe von Wasserstoffbrücken ein Netzwerkwerk ausbilden. Dieses Netzwerk verknüpft die CA26-Moleküle in Richtung der kristallographischen *a*-Achse.

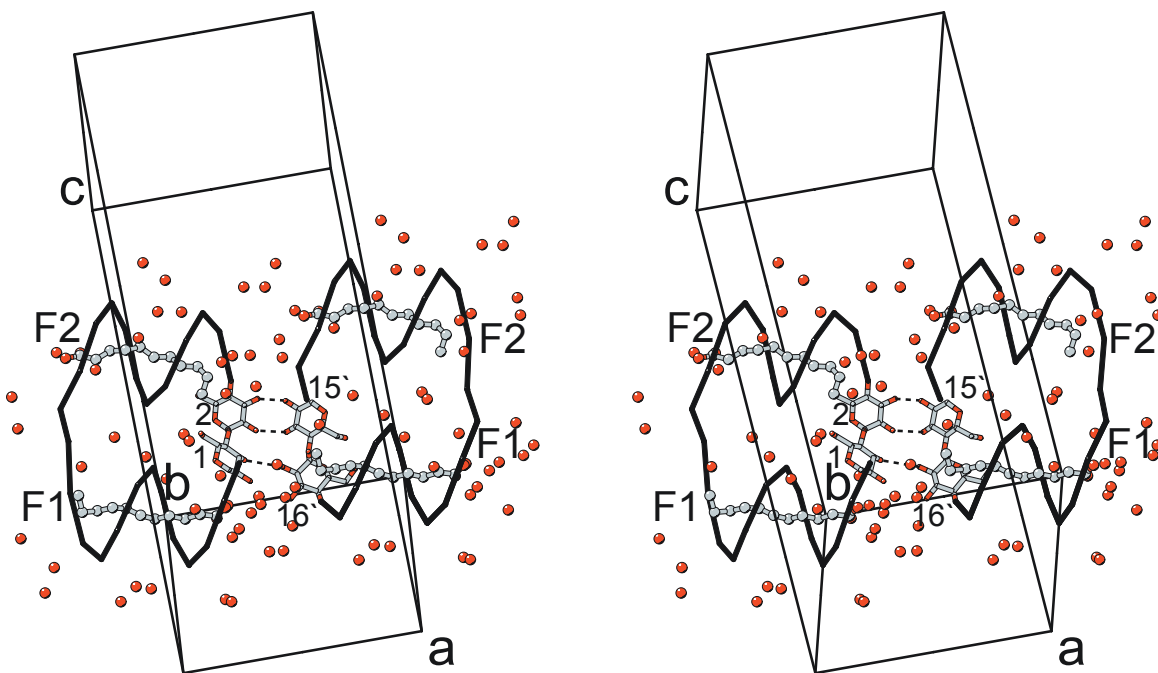


Abb. 41: Stereoskopische Ansicht der Kristallpackung und der intermolekularen Kontakte durch schematische Darstellung der Glukosen als virtuellen Bindungen O(4)_{*n*}...O(4)_{*n*+1} mit Ausnahme der interagierenden Glukosen. Die Wassermoleküle und OH, COOH-Gruppen sind in rot dargestellt.

6.9 Konformation der Fettsäure in den Kanälen

Die beiden helikalen Segmente G1-G13 und G14-G26 in CA26f bilden hydrophobe Kanäle aus, die jeweils von einem Undekanfettsäuremolekül ausgefüllt wird. Die Carboxylgruppen liegen als freie Säure vor und befinden sich auf der Seite mit den primären O(6)-Hydroxylgruppen. Sie liegen daher ebenfalls in einer antiparallelen Anordnung vor (siehe Abb. 41). Die aliphatische Kette generell in einer *anti* Konformation vor (siehe Abb. 42). Abweichungen von der *anti* Konformation liegen bei F1 (C(6 f_1)-C(7 f_1)-C(8 f_1)-C(9 f_1), 135°) und F2 (C(3 f_2)-C(4 f_2)-C(5 f_2)-C(6 f_2), 130°) sowie den Enden C10 und C11 vor.

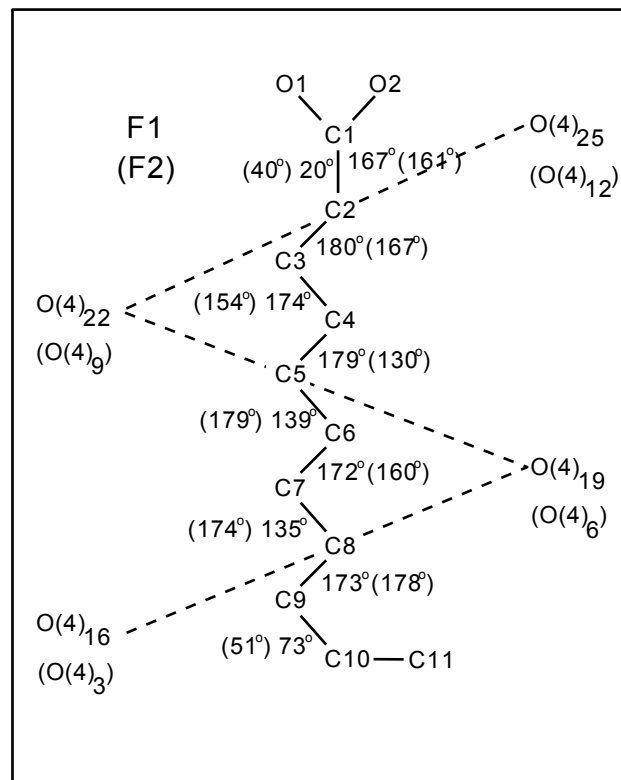


Abb. 42: Die Torsionswinkel der Fettsäuren F1 (für F2 in Klammern) sind jeweils an der mittleren Bindung bezeichnet. Die aliphatische Kette der Fettsäure liegt auf der Schnittebene, die von O(4)-Atomen der Glukosen G16, G19, G22, G25 und G3, G6, G9, G12 für F2 gebildet wird. Die Verbindungslinien der O(4)-Atome sind gestrichelt markiert und führen durch die 3D Koordinaten der Atome C2, C5 und C8 der Fettsäuren.

Die Carboxylatgruppen der beiden Fettsäuren F1 und F2 bilden C-H...O und O-H...O Wasserstoffbrücken mit CA26 aus. Hingegen befinden sich die Enden der aliphatischen Ketten C(11 f_1)H₃ und C(11 f_2)H₃ auf der O(2)/O(3) Seite der V-Helices. Die Carboxylgruppen in CA26f sind umgeben von den primären Hydroxylgruppen O(6) und hydratisiert durch Wassermoleküle O_{w29}, O_{w31} (F1) oder O_{w33} (F2) (siehe Abb. 43). Mehrfache C-H...O Wechselwirkungen werden zwischen den Carboxylsauerstoffatomen O(1 f) und den Kohlenhydratwirtmolekülen (O(1 f_1)...H-C(1)₁/H-C(5)₂₆/H-C(5)₂₅ mit 2,35 / 2,86 / 2,75 Å und O(1 f_2)...H-C(5)₁₃/H-C(1)₁₄ mit 2,97 / 3,04 Å beobachtet. Im Gegensatz

dazu bilden die $O(2f_1)$ und $O(2f_2)$ O-H...O Wasserstoffbrücken zu O(6) Hydroxylgruppen aus, $O(2f_1)\cdots O(6)_{22}$ 3,25 Å, $O(2f_2)\cdots O(6)_9$ 2,99 Å, die in (+)gauche Konformation vorliegen. Zusätzlich werden Wasserstoffbrücken zu Wassermolekülen beobachtet ($O(1f_1)\cdots O_{W29}$ 2,30 Å, $O(2f_1)\cdots O_{W31}$ 2,46 Å, $O(2f_2)\cdots O_{W33}$ 2,83 Å) (siehe Abb. 43).

6.10 Wechselwirkung mit der hydrophoben Umgebung im Kanal

Die Kanäle sind nach innen mit C(3)-H, C(5)-H und C(6)-H₂ sowie O(4) der glykosidischen Bindung ausgekleidet und besitzen daher einen hydrophoben Charakter. Die Wasserstoffatomlagen der Fettsäuren sind bestimmt durch die sp³-Hybridisierung der Kohlenstoffatome und werden mit einem C-H-Abstand von 0,97 Å berechnet. Innerhalb der Kanäle werden Van-der-Waals-Kontakte zwischen den C(5)-H bzw. C(3)-H Wasserstoffatomen des Wirtmoleküls und H-Atomen des Gastmoleküls beobachtet, deren H...H Abstände in einem Bereich von 2,2 Å bis 2,8 Å liegen (siehe Tabelle 4). In einer Modellierungstudie für den Komplex zwischen Amylose und Dodekanfettsäure haben die C(5)-H die kürzesten Abstände zu den Wasserstoffatomen der aliphatischen Kette in einem Bereich von 2,33 bis 2,38 Å. Alle weiteren Kontakte zwischen den Atomen der V-Helix und der Dodekanfettsäure liegen mit einer größeren Distanz zueinander vor [Godet93]. Die Häufigkeit von Kontakten der aliphatischen Kette zu C(5)-H bzw. C(3)-H zeigt bei F1 eine deutliche Dominanz von C(5)-H Wechselwirkungen, während F2 insgesamt mehr Kontakte mit CA26 zeigt, die gleichmäßig auf C(5)-H bzw. C(3)-H verteilt sind. Nachweisbar über die Abstände $C(5)_n\text{-H}\cdots\text{H-C}(3)_{n+3}$ ist der Kanal für F1 mit 7,45 Å um 0,2 Å weiter als für F2 mit 7,24 Å (siehe Tabelle 5). Zusätzlich sind die mittleren $O(3)_n\cdots O(2)_{n+1}$ Abstände mit 2,99 Å um 0,17 Å längerer im Kanal von F1 (G14-G26) verglichen mit 2,82 Å für G1-G13 bei F2.

Innerhalb der Kanäle von CA26 werden zusätzlich C-H...O Wechselwirkungen mit einer H...O Länge kleiner als 3,0 Å zwischen den Sauerstoffatomen O(6), O(4) der Glukosen und den aliphatischen Ketten der Undekanfettsäuremoleküle beobachtet, ($O(6)_{20}\cdots H(2f_1)$ 2,77 Å, $O(6)_{16}\cdots H(7f_1)$ 2,94 Å, $O(4)_{24}\cdots H(10f_1)$ 3,00 Å, $O(6)_7\cdots H(4f_2)$ 2,98 Å). Die beteiligten O(6)-Hydroxylgruppen liegen in der (+)gauche Orientierung vor und zeigen ins Innere der V-Helix. Die Wechselwirkung $C(7f_1)\text{-H}\cdots O(6)_{16}$ geht einher mit einer Abweichung von der *anti* Konformation ($C(6f_1)\text{-C}(7f_1)\text{-C}(8f_1)\text{-C}(9f_1)$, 135°) der aliphatischen Kette (siehe Abb. 42).

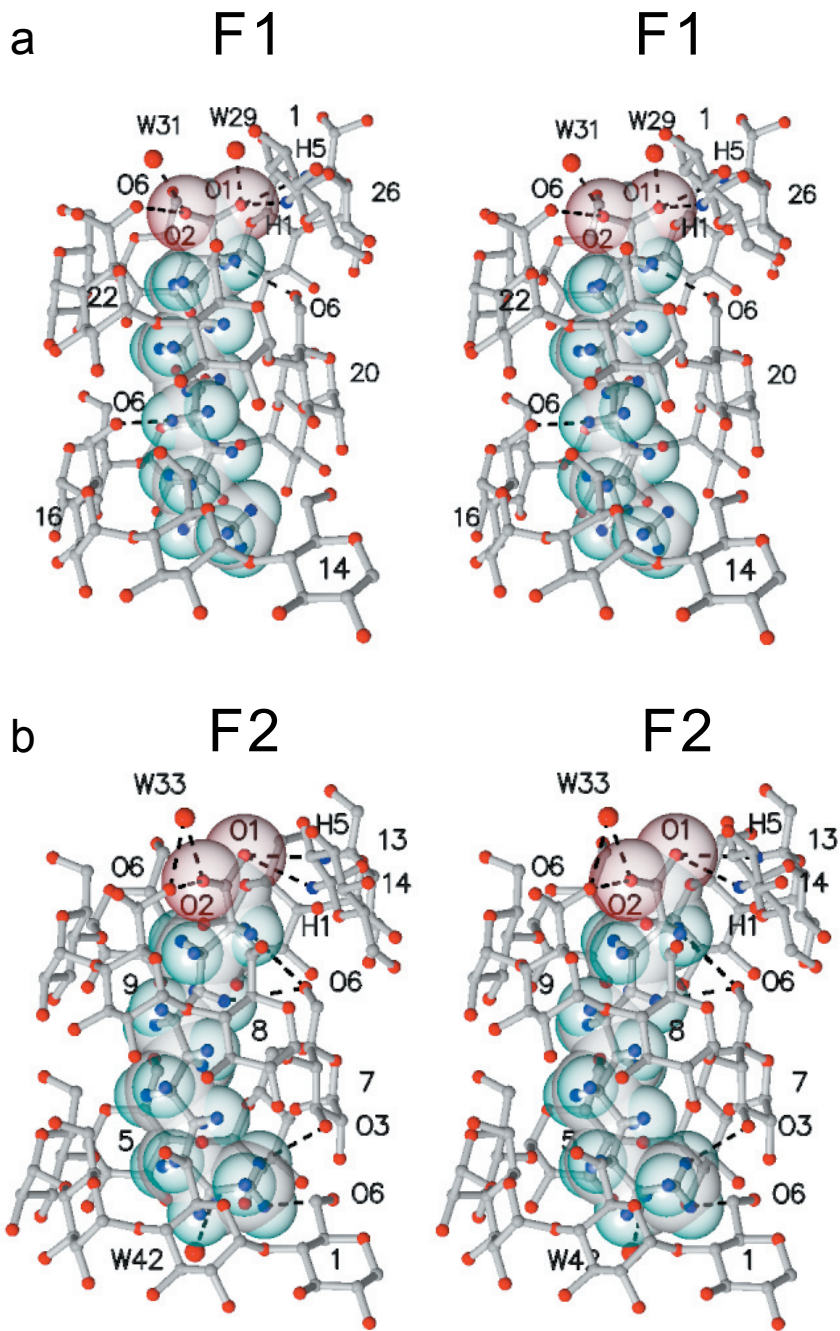


Abb. 43: Stereoskopische Darstellung der Interaktion der Fettsäuren mit den Glukosen im Kanal und den Wassermolekülen. Van-der-Waals-Oberfläche der Fettsäure wird transparent dargestellt. Die H \cdots O-Kontakte ($< 3,1 \text{ \AA}$) mit Hydroxylsauerstoffatomen der Glukosen und O \cdots O-Kontakte ($< 3,5 \text{ \AA}$) sind als gestrichelte Linien dargestellt.

Tabelle 4: H...H und H...O Abstände zwischen den Fettsäuren F1, F2 und den Glukosen.

H-atome F1	H-atome CA26	H...H	H-atome F2	H-atome CA26	H...H
C(10f ₁)-HB	C(3) ₁₈ -H	2,39	C(9f ₂)-HB	C(5) ₃ -H	2,56
C(9f ₁)-HA	C(5) ₁₇ -H	2,44	C(9f ₂)-HB	C(6) ₂ -HB	2,71
C(9f ₁)-HB	C(6) ₁₅ -HB	2,22	C(9f ₂)-HA	C(5) ₄ -H	2,71
C(9f ₁)-HB	C(5) ₁₆ -H	2,76	C(8f ₂)-HB	C(3) ₇ -H	2,69
C(8f ₁)-HA	C(5) ₁₈ -H	2,78	C(7f ₂)-HB	C(5) ₄ -H	2,61
C(6f ₁)-HA	C(5) ₁₈ -H	2,68	C(7f ₂)-HB	C(6) ₄ -HA	2,50
C(6f ₁)-HB	C(5) ₂₀ -H	2,60	C(7f ₂)-HB	C(6) ₄ -HB	2,50
C(6f ₁)-HB	C(5) ₁₉ -H	2,78	C(7f ₂)-HA	C(3) ₈ -H	2,80
C(5f ₁)-HA	C(3) ₂₃ -H	2,74	C(6f ₂)-HB	C(5) ₆ -H	2,80
C(4f ₁)-HA	C(5) ₂₀ -H	2,51	C(6f ₂)-HA	C(3) ₈ -H	2,61
C(4f ₁)-HA	C(5) ₂₁ -H	2,69	C(5f ₂)-HA	C(3) ₉ -H	2,62
C(4f ₁)-HA	C(6) ₂₀ -HA	2,74	C(5f ₂)-HB	C(3) ₁₀ -H	2,67
C(3f ₁)-HA	C(5) ₂₂ -H	2,52	C(4f ₂)-HB	C(3) ₁₁ -H	2,60
C(2f ₁)-HB	C(3) ₂₅ -H	2,69	C(3f ₂)-HA	C(5) ₉ -H	2,54
			C(3f ₂)-HB	C(5) ₁₁ -H	2,64
			C(2f ₂)-HA	C(3) ₁₂ -H	2,58
			C(2f ₂)-HA	C(5) ₁₂ -H	2,71
H-atome F1	O-atome CA26	H...O	H-atome F2	O-atome CA26	H...O
C(9f ₁)-HA	O(4) ₁₆	3,38	C(11f ₂)-HB	O(6) ₁	3,27
C(8f ₁)-HA	O(4) ₁₈	3,09	C(11f ₂)-HA	O(6) ₁	3,06
C(7f ₁)-HA	O(6) ₁₆	2,94	C(11f ₂)-HC	O(2) ₇	3,15
C(7f ₁)-HB	O(4) ₂₀	3,37	C(11f ₂)-HC	O(3) ₇	3,10
C(5f ₁)-HB	O(4) ₂₁	3,18	C(6f ₂)-HA	O(4) ₇	3,19
C(4f ₁)-HA	O(6) ₂₀	3,06	C(5f ₂)-HA	O(4) ₉	3,14
C(3f ₁)-HB	O(4) ₂₃	3,05	C(4f ₂)-HA	O(6) ₇	2,98
C(2f ₁)-HA	O(6) ₂₀	2,77	C(3f ₂)-HB	O(4) ₁₀	3,26
C(2f ₁)-HB	O(4) ₂₄	3,01	C(2f ₂)-HA	O(6) ₇	3,08
C(2f ₁)-HB	O(6) ₂₀	3,32	C(2f ₂)-HB	O(6) ₇	3,02
			C(2f ₂)-HA	O(4) ₁₂	3,25

Tabelle 5: Mittlere C(5)_n-H...C(3)_{n+3}-H und O(3)_n...O(2)_{n+1} Abstände als Maß für den Innendurchmesser und Krümmung der Helices.

	C(5) _n -H...H-C(3) _{n+3} (Å)	O(3) _n ...O(2) _{n+1} (Å)
F1	7,45	2,99
F2	7,24	2,82

6.11 Überlagerung von Fettsäureatomlagen in CA26f

Mit der Methode der geringsten Fehlerquadrate wird die Überlagerung der Glukosen G1-G13 und G14-G26 der beiden helikalen Segmente unter Vernachlässigung der O(6)- Hydroxylgruppen in CA26f erzeugt (rms = 0,30). Dabei wird in Bezug auf die Positionen der Atome der Fettsäuren eine hohe Übereinstimmung erzielt. Der Bindungsmodus der Fettsäuren in den Kanälen stimmt bis auf geringfügige Abweichungen überein. Die Abweichung von der idealen *anti* Konformation der aliphatischen Kette werden bei F1 (C(6_{f1})-C(7_{f1})-C(8_{f1})-C(9_{f1}), 135°) und F2 (C(3_{f2})-C(4_{f2})-C(5_{f2})-C(6_{f2}), 130°) sichtbar. Die größten Abweichungen werden für die Enden der aliphatischen Ketten beobachtet, die ohne spezifische Wechselwirkungen aus den Kanälen in den Solventbereich hineinreichen.

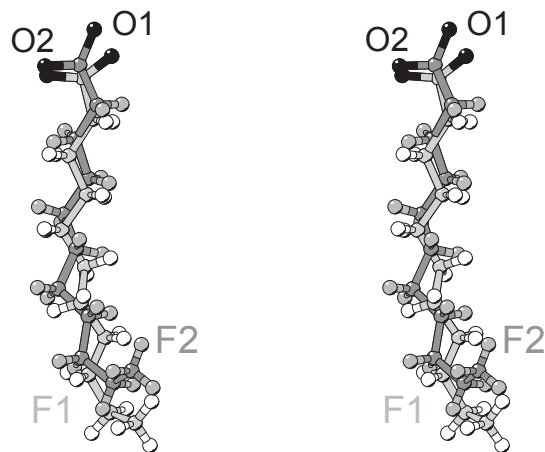


Abb. 44: Stereoskopische Darstellung der Position der Fettsäuren F1 (hell) und F2 (dunkel) basierend auf der Überlagerung der Glukosen G1-G13 mit G14-G26.

6.12 Ramanspektroskopie

Ramanspektren von CA26f-Kristallen zeigen charakteristische Banden bei 1610 cm^{-1} und 1649 cm^{-1} . In diesem Frequenzbereich wurden bei Kristallen der CA26-Hydrat- und Jodkomplexe keine Banden beobachtet, während die Spektren der reinen Undekansäure ebenfalls eine Bande bei 1657 cm^{-1} zeigen. Diese Banden werden den freien Carboxylgruppen zugeordnet, die typischerweise Schwingungen in diesem Bereich aufweisen [Schrader95]. Die Unterschiede der Banden in relativer Intensität, Frequenz und Aufspaltung der Bande zwischen Reinsubstanz und Komplex im Kristall kann durch die Veränderung der chemischen Bindungen der protonierten Säure in Vergleich mit dem deprotonierten und damit negativ geladenen Carboxylat im Kristall verursacht werden. Zusätzlich wird die Bande durch die unterschiedlichen lokalen Umgebungen und der Orientierung des Kristalls bei der Messung beeinflusst sein.

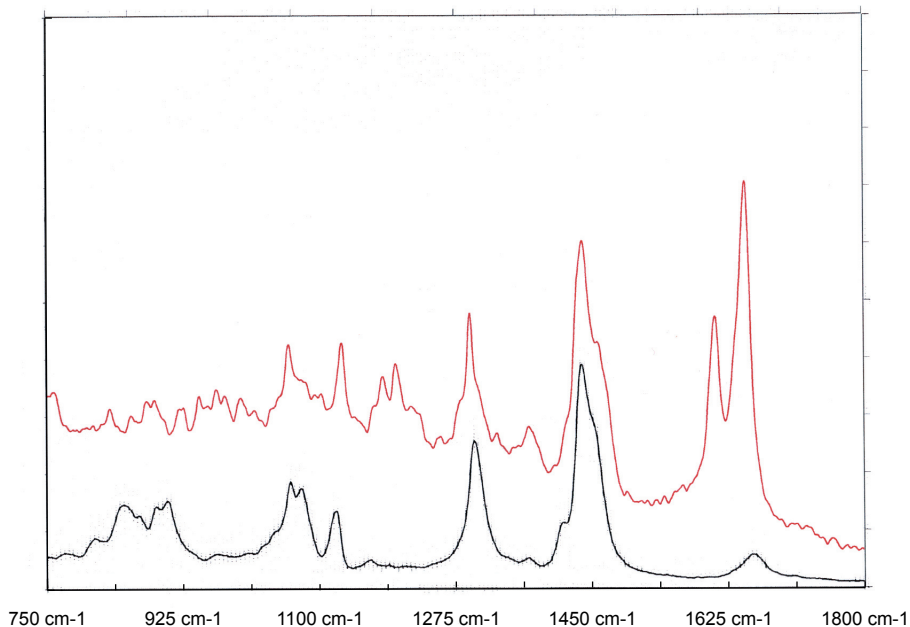


Abb. 45: Vergleich der Ramanspektren eines CA26f Kristalls (rot) und reiner Undekansäure (schwarz).

6.13 Zusammenfassung und Diskussion

CA26 stellt eine sehr gute Modellverbindung zum Studium der V-Amylose-Fettsäure-Komplexe dar. Strukturelle Unterschiede der CA26-Moleküle durch die Bildung der Fettsäurekomplexe sind geringfügig, wenn die Moleküle überlagert werden. Die Wechselwirkung zwischen den Fettsäuren und der Amylosehelix läßt eine Spezifität sowohl in der Orientierung als auch in der Position der Fettsäuren erkennen. Jeweils ein Carboxylsauerstoffatom (O2 in Abb. 43) bildet eine Wasserstoffbrücke zu einer primären Hydroxylgruppe O(6) aus, während das Carboxylsauerstoffatom O1 multiple schwache Wasserstoffbrücken vom Typ C-H...O zeigt. Die größte Anzahl von H...H-Kontakten besteht zu den Wasserstoffatomen H5 und im geringeren Maß zu H3 in F1 und in gleicher Anzahl bei F2. Der Kanal im Bereich des Schwanzendes der Fettsäuren ist sterisch weniger eingengt. Daher führen geringfügige Veränderung wie ein weiteres geordnetes Wassermolekül zu zwei unterschiedlichen Konformationen der aliphatischen Kette, die insbesondere in einer Abweichung der CH₃-Gruppe zu beobachten ist. Allerdings ist das letzte Atom C11 der aliphatischen Kette in der Elektronendichte weniger genau definiert.

Die Wasserstoffatome in den Kanälen der V-Amylose, C(3)-H und C(5)-H und in einem geringeren Ausmaß C(6)-H, tragen zu Van-der-Waals-Wechselwirkungen mit den aliphatischen Ketten der Fettsäuren bei, jedoch in unterschiedlicher Anzahl für F1 und F2. Die Modellstudie eines Dodekansäurekomplexes mit polymerer V-Amylose in einer idealen Geometrie, die aus Faserdiffraktionsuntersuchungen abgeleitet wurde und einer in *anti* fixierten aliphatischen Kette, weist auf die dominante Rolle der C(5)-H Wasserstoffatome in den V-Amylose Kanälen hin, welche die Position der Fettsäure bestimmen.

Der CA26-Fettsäure-Komplex bestätigt diesen bestimmenden Einfluß bei F1, jedoch trägt bei F2 die Interaktion mit C(3)-H in ebenso großer Anzahl bei (siehe Tabelle 4). Zusätzlich wird O(6)₇, O(6)₁₆, O(6)₂₀ in der (+)gauche Konformation und O(4)₂₄ bei Wechselwirkungen vom Typ C-H...O beobachtet, die im Fall der Wechselwirkung C(7_{f1})-H...O(6)₁₆ zu einer Abweichung (C(6_{f1})-C(7_{f1})-C(8_{f1})-C(9_{f1}), 135°) von der idealen *anti* Konformation der aliphatischen Kette führt (vergl. Abb. 43). Der Abweichung von der idealen *anti* Konformation in F2 (C(3_{f2})-C(4_{f2})-C(5_{f2})-C(6_{f2}), 130°) hat keinen so offensichtlichen Grund und muß den Unterschieden in den H...H und C-H...O Wechselwirkungen zugeschrieben werden (siehe Tabelle 4). Im Kanal hat F2 viel mehr Wechselwirkungen mit C(3)-H als F1. Das geht einher mit einem rund 0,2 Å geringeren Durchmesser des Kanals, der für F2 weniger Raum zur Verfügung stellt, und damit die zusätzlichen C(3)-H Kontakte bei F2 verursacht.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Die Experimente zur Kristallisation von Cycloamylose 26 führten zur Bestimmung einer hochaufgelösten Hydratstruktur sowie der Komplexe mit Trijodid und aliphatischer Fettsäure. Durch Analyse dieser Einschlußkomplexe wurden die Details der Wechselwirkung auf der atomaren Ebene erkennbar. Cycloamylose stellt mit seiner helikalen Faltung ein ideales Modell für die natürlichen Einschlußkomplexe der Amylose dar. Die Versuche zur direkten Strukturaufklärung der Amylosekomplexe mit Jodid gelangen Rundle und der Fettsäurekomplexe Brisson mittels Faserdiffraktionsstudien [Rundle44, Brisson91]. Diese sind durch die geringe Neigung von Amylose, Einkristalle auszubilden, in ihrer Auflösung limitiert.

Im Wesentlichen wird bei der Komplexbildung der Kanal der Cycloamylose, der durch die Auskleidung mit C-H Wasserstoffen einen hydrophoben Charakter besitzt, mit einem Gastmolekül ausgefüllt. Die Ausbildung von Van-der-Waals-Wechselwirkungen mit den Atomen der Glukosen gibt Aufschluß darüber, wie gut die Gastmoleküle in die Kanäle passen. Diese attraktive Interaktion stellt einen Teil der treibenden Kraft für die Komplexbildung dar. Wie aus kalorimetrischen Untersuchungen der Trijodidkomplexe durch Takahara erkannt wurde, ist der Hauptteil der freien Energie allerdings den entropischen Anteilen zuzuschreiben. Die Steigerung der Entropie des Systems wird plausibel, wenn man die freigesetzten Wassermoleküle aus dem Kanal mit einbezieht.

Die Spezifität der Wechselwirkungen des Trijodids wird deutlich, wenn die Positionen der Jodatome in den Kanälen miteinander verglichen werden. Die geringe rms-Abweichung nach der Überlagerung der Helices weist bereits auf die Bevorzugung bestimmter Positionen entlang der Helix des Kohlenhydrates hin. Die sterischen Wechselwirkungen der Jodatome mit den C(5)-H Wasserstoffen, die am weitesten in das Helixinnere hinein reichen, sind dabei entscheidend für die Positionierung.

Für die Fettsäuren erfolgt die Komplexbildung ausschließlich in eine Richtung, so daß das Carboxylat mit den primären Hydroxylgruppen O(6) des Kohlenhydrates eine Wasserstoffbrücke bildet. Innerhalb der Helix bestimmt die sterische Interaktion mit den C(5)-H und C(3)-H Wasserstoffen die Konformation der aliphatischen Kohlenstoffkette.

Im Gegensatz zum Amylose-Jod-Komplex, der eine tiefblaue Farbe aufweist, ist der CA26-Trijodid-Komplex braun gefärbt. Über die molekulare Zusammensetzung des Amylose-Jod-Komplexes herrscht Unklarheit in der Literatur. Es wurden verschiedene Kombinationen von interagierenden Di-, Tri- und Pentajodideinheiten als minimale Voraussetzung für die blaue Färbung diskutiert. Von Yu wurde basierend auf spektroskopischen Untersuchungen vorgeschlagen, daß das Absorptionsspektrum des Amylose-Jod-Komplexes aus Trijodideinheiten aufsummiert [Yu96]. Dabei wurde eine

grüne Farbe für einen Komplex aus drei Trijodideinheiten geschlossen. Genau diese Situation liegt im CA26-Kristall vor, allerdings konnten die spektroskopischen Ergebnisse diese Voraussage nicht bestätigen.

Generell zeigen die beschriebenen Einschlußkomplexe, daß CA26 eine ideale Modellverbindung für V-Amylose-Komplexe darstellt, die nur sehr gering von der Natur des Gastmoleküls beeinflusst wird.

Literaturverzeichnis

Bluhm81

T.L. Bluhm, P. Zugenmaier, Detailed Structure of the Vh-Amylose-Iodine Complex: A Linear Polyiodine Chain, **1981**, Carbohydr. Res. *89*, 1-10

Boel90

E. Boel, L. Brady, A.M. Brzozowski, Z. Derewenda, G.G. Dodson, V.J. Jensen, S.B. Petersen, H. Swift, L. Thim, H.F. Woldike, Calcium Binding in α -Amylases: An X-ray Diffraction Study at 2.1-Å. Resolution of two Enzymes from *Apergillus*, **1990**, Biochemistry *29*, 6244-6249

Brady91

R.L. Brady, A.M. Brzozowski, Z.S. Derewenda, E.J. Dodson, G.G. Dodson, Solution of the structure of *Aspergillus niger* acid α -amylase by combined molecular replacement and multiple isomorphous replacement methods, **1991**, Acta Cryst. B *47*, 527-535

Brisson91

J. Brisson and H. Chanzy, W. T. Winter, The Crystal and Molecular Structure of the Vh Amylose by electron diffraction analysis, **1991**, Int. J. Biol. Macromol. *13*, 31-39

Brünger92

A.T. Brünger, The free R value: a novel statistical quantity for assessing the accuracy of crystal structures, **1992**, Nature *355*, 472-474

Buisson87

G. Buisson, E. Duee, R. Haser, F. Payan, Three dimensional structure of porcine pancreatic alpha-amylase at 2.9 Å resolution. Role of calcium in structure and activity, **1987**, EMBO J. *6*, 3909-3916

Cesaro81

A. Cesaro, W. Konic, **1981**, Hrsg.: American Chemical Society, ACS Symp. Ser. Band 150, Washington DC, Oxford University Press, 477-490

Colin1814

J.J. Colin, H.G. de Claubry, Note sur Quelques Combinaisons de l'Iode, **1814**, Ann. Chim. *90*, 87-100

Cremer75

D. Cremer, J.A. Pople, General Definition of Ring Puckering Coordinates, **1975**, J. Am. Chem. Soc. *97*, 1354-1358

Ebert93

G. Ebert, Biopolymere: Struktur und Eigenschaften, **1993**, Teubner, Stuttgart

Freudenberg39

K. Freudenberg, E. Schaaf, G. Dumpert, T. Plötz, Neue Ansichten über Stärke, **1939**, Naturwissenschaften *22*, 850-853

Fujinaga87

M. Fujinaga, R.J. Read, Experiences with a new translation-function program, **1987**, J. Appl. Cryst. *20*, 517-521

Fujiwara90

T. Fujiwara, N. Tanaka, S. Kobayashi, Structure of d-cyclodextrin 13.75 H₂O, **1990**, Chem. Lett., 739 - 742

Gilbert48

G.A. Gilbert, J.V.R. Marriott, Starch-iodine complexes. Part I, **1948**, Trans. Faraday. Soc. *44*, 84-93

Geßler99

K. Geßler, I. Usón, T. Takaha, N. Krauss, S. M. Smith, S. Okada, G. M. Sheldrick, W. Saenger, V-Amylose at atomic resolution: X-ray structure of a cycloamylose with 26 glucose residues (cyclomaltohexaicosaoase), **1999**, PNAS *96*, 4246-4251

Godet93

M.C. Godet, V. Tran, M.M. Delage, A. Buléon, Molecular modelling of the specific interactions involved in the amylose complexation by fatty acids, **1993**, Int J Biol Macromol. *15*, 11-16

Godet95

M.C. Godet, V. Tran, P. Colonna, A. Buleon, M. Pezolet, Inclusion/exclusion of fatty acids in amylose complexes as a function of the fatty acid chain length, **1995**, Int J Biol Macromol. *17*, 405-408

Handa79

T. Handa, H. Yajima, On the Blue Color of Triiodide Ions in Starch and Starch Fractions. I. Characterization and Assignment of Absorption and Circular Dichroism Spectra of Triiodide Ions in Amylose, **1979**, Biopolymers *18*, 873-886

Handa80

T. Handa, H. Yajima, On the Blue Color of Triiodide Ions in Starch and Starch Fractions: III. Resonance Raman Spectra of Bluing Species in Amylose, **1980**, Biopolymers *19*, 1723-1741

Harada90

A. Harada, M. Kamachi, Complex Formation between Poly(ethylene glycol) and α -Cyclodextrin, **1990**, Macromolecules *23*, 2821-2823

Harada93

A. Harada, J. Li, M. Kamachi, Preparation and Properties of Inclusion Complexes of Poly(ethylene glycol) with α -Cyclodextrin, **1993**, Macromolecules *26*, 5698-5703

Harata76

K. Harata, The Structure of the Cyclodextrin Complex. III. The Crystal Structure of alpha-Cyclodextrin-Sodium Benzenesulfonate Complex, **1976**, Bull. Chem. Soc. Jpn. *49*, 2066-2072

Harata76a

K. Harata, The Structure of the Cyclodextrin Complex. II. The Crystal Structure of alpha-Cyclodextrin-Methyl Orange (2:1) Complex, **1976**, Bull. Chem. Soc. Jpn. *49*, 1493-1501

Harata77

K. Harata, The Structure of the Cyclodextrin Complex. IV. The Crystal Structure of alpha-Cyclodextrin-Sodium 1-Propanesulfonate Nonahydrate, **1977**, Bull. Chem. Soc. Jpn. *50*, 1259-1266

Harata78

K. Harata, H. Uedaira, J. Tanaka, The Structure of the Cyclodextrin Complex. VI. The Crystal Structure of alpha-Cyclodextrin-m-Nitrophenol (1:2) Complex, **1978**, Bull. Chem. Soc. Jpn. *51*, 1627-1634

Harata82

K. Harata, The Structure of the Cyclodextrin Complex. XII. Crystal Structure of alpha-Cyclodextrin-1-Phenylethanol (1:1) Tetrahydrate, **1982**, Bull. Chem. Soc. Jpn. *55*, 1367-1371

Harata91

K. Harata, **1991**, Hrsg.: J.L. Atwood, J.E.D. Davies, D.D. MacNicol, Inclusion Compounds Band 5, Oxford, Oxford University Press, 311-344

Harata96

K. Harata, K. Haga, A. Nakamura, M. Aoyagi, K. Yamane, X-ray structure of cyclodextrin glucanotransferase from alkalophilic Bacillus Sp. 1011. Comparison of two independent molecules at 1.8 Å resolution, **1996**, Acta Cryst. D *52*, 1136-1145

Heyde72

M.E. Heyde, L. Rimai, R.G. Kilponen, D. Gill, Resonance-enhanced Raman spectra of iodine complexes with amylose and poly(vinyl alcohol), and of some iodine-containing trihalides, **1972**, *J. Am. Chem. Soc.* *94*, 5222-5227

Hinrichs87

W. Hinrichs, G. Büttner, M. Steifa, C. Betzel, V. Zabel, B. Pfannemüller, W. Saenger, An amylose antiparallel double helix at atomic resolution, **1987**, *Science* *238*, 205-208

Hofmann89

B.E. Hofmann, H. Bender, G.E. Schulz., Three-dimensional structure of cyclodextrin glycosyltransferase from Bacillus circulans at 3.4 Å resolution, **1989**, *J Mol Biol.* *209*, 793-800

Jacob98

J. Jacob, K. Geßler, D. Hoffmann, H. Sanbe, K. Koizumi, S.M. Smith, T. Takaha, W. Saenger, Strain-Induced Band Flips in Cyclodecaamylose and Higher Homologues, **1998**, *Angewandte Chemie Int. Ed.* *37*, 605-609

Jacob99

J. Jacob, K. Geßler, D. Hoffmann, H. Sanbe, K. Koizumi, S. M. Smith, T. Takaha, W. Saenger, Band-flip and kink as novel structural motifs in alpha-(1->4)-d-glucose oligosaccharides. Crystal structures of cyclodeca- and cyclotetradecaamylose, **1999**, *Carbohydr. Res.* *246*, 322-328

John83

M. John, J. Schmidt, H. Kneifel, Iodine-Maltosaccharide Complexes: relations between chain-length and colour, **1983**, *Carbohydr. Res.* *119*, 254-255

Karle68

J. Karle, Partial structural information combined with the tangent formula for noncentrosymmetric crystals, **1968**, *Acta Cryst. B* *24*, 182-186

Kissinger99

C.R. Kissinger, D.K. Gehlhaar, D.B. Fogel, Rapid automated molecular replacement by evolutionary search, **1999**, *Acta Cryst. D* *55*, 484-491

Kitamura99

S. Kitamura, K. Nakatani, T. Takaha, S. Okada, Complex formation of large-ring cyclodextrins with iodine in aqueous solution as revealed by isothermal titration calorimetry, **1999**, *Macromol. Rapid Comm.* *20*, 612-615

Klein91

C. Klein, G.E. Schulz, Structure of cyclodextrin glycosyltransferase refined at 2.0 Å resolution, **1991**, *J. Mol. Biol.* *217*, 737-750

Knegtel96

R.M. Knegt, R.D. Wind, H.J. Rozeboom, K.H. Kalk, R.M. Buitelaar, L. Dijkhuizen, B.W. Dijkstra, Crystal structure at 2.3 Å resolution and revised nucleotide sequence of the thermostable cyclodextrin glycosyltransferase from *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* EM1, **1996**, *J. Mol. Biol.* *256*, 611-622

Kubota91

M. Kubota, Z. Matsuura, S. Sakai, Z. Katsube, Molecular structure of *B. stearothermophilus* cyclodextrin glucanotransferase and analysis of substrate binding site, **1991**, *Denpun Kagaku* *38*, 141-146

Latte97

B. Latte, A. Kienast, C. Bruhn, A. Loidl, H. Homborg, Resonance Raman spectra and crystal structure of lithium phthalocyaninate(1-) iodine: a realistic model for the starch-iodine complex, **1997**, *J. Porphyrins Phthalocyanines* *1*, 267-273

Lawson94

C.L. Lawson, R. van Montfort, B. Strokopytov, H.J. Rozeboom, K.H. Kalk, G.E. de Vries, D. Penninga, L. Dijkhuizen, B.W. Dijkstra, Nucleotide sequence and X-ray structure of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 in a maltose-dependent crystal form, **1994**, *J. Mol. Biol.* *236*, 590-600

LeBas94

G. LeBas, S.A. Mason, Neutron diffraction structure of alpha-cyclodextrin cyclopentanone hydrate at 20 K: Host-guest interactive disorder, **1994**, *Acta Cryst. B* *50*, 717-724

Liang74

J.N. Liang, C.J. Knauss, R.R. Myers, Conformational study by intrinsic viscosities of the starch-iodine complex, **1974**, *Rheol. Acta* *13*, 740-744

Maki67

A.G. Maki, R. Forneris, Infrared and Raman spectra of some trihalide ions: ICl_2^- , IBr_2^- , I_3^- , I_2Br^- , and BrICl^- , **1967**, *Spectrochim. Acta* **23**, 867-880

Matsuura84

Y. Matsuura, M. Kusunoki, W. Harada, M. Kakudo, Structure and possible catalytic residues of Taka-amylase A, **1984**, *J. Biochem.* **95**, 697-702

McRee99

D.E. McRee, XtalView/Xfit - A Versatile Program for Manipulating Atomic Coordinates and Electron Density, **1999**, *J. Struct. Biol.* **125**, 156-165

Miller93

R. Miller, G.T. DeTitta, R. Jones, D.A. Langs, C.M. Weeks, H.A. Hauptman, On the application of the minimal principle to solve unknown structures, **1993**, *Science* **259**, 1430-1433

Minick91

M. Minick, K. Fotta, A. Khan, Polyiodine units in starch-iodine complex: INDO CI study of spectra and comparison with experiments, **1991**, *Biopolymers* **31**, 57-63

Mittag89

H. Mittag, H. Stegemann, H. Füllbier, G. Irmer, Raman spectroscopic investigation of N-alkylurotropinium polyiodides, **1989**, *J. Raman Spectrosc.* **20**, 251-255

Mould54

D.L. Mould, Potentiometric and spectrophotometric studies of complexes of hydrolysis products of amylose with iodine and potassium iodide, **1954**, *Biochem J.* **58**, 593-600

Murakami54

H. Murakami, Electronic Structure of the Amylose-Iodine Complex, **1954**, *J. Chem. Phys.* **22**, 367-374

Navaza94

J. Navaza, AMoRe: an automated package for molecular replacement, **1994**, *Acta Cryst. A* **50**, 157-163

Nimz03

O. Nimz, K. Geßler, I. Usón, S. Lättig, H. Welfle, G. M. Sheldrick, W. Saenger, X-ray structure of the cyclomaltohexaosaose triiodide inclusion complex provides a model for amylose-iodine at atomic resolution, **2003**, *Carbohydrate Research* **338**, 977-986.

Nimz04

O. Nimz, K. Geßler, I. Usón, G.M. Sheldrick, W. Saenger, Inclusion complexes of V-amylose with undecanoic acid and dodecanol at atomic resolution: X-ray structures with cycloamylose containing 26-glucoses (cyclohexaicaosaose) as host, **2004**, *Carbohydrate Research* **339**, 1427-1437

Noltemayer80

M. Noltemayer, W. Saenger, Topography of cyclodextrin inclusion complexes. 12. Structural chemistry of linear α -cyclodextrin-polyiodide complexes. X-ray crystal structures of $(\alpha\text{-cyclodextrin})_2\cdot\text{LiI}_3\cdot\text{I}_2\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ and $(\alpha\text{-cyclodextrin})_2\cdot\text{Cd}_{0.5}\cdot\text{I}_5\cdot 27\text{H}_2\text{O}$. Models for the blue amylose-iodine complex, **1980**, J. Am. Chem. Soc. *102*, 2710-2722

Nour86

E.M. Nour, L.H. Chen, J. Laane, Far-infrared and Raman spectroscopic studies of polyiodides, **1986**, J. Phys. Chem. *90*, 2841-2846

Otwinowski97

Z. Otwinowski, W. Minor, Processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode, **1997**, Hrsg.: C.W. Carter, Jr., R.M. Sweet, Methods in Enzymology Band 276, Academic Press, 307-326

Parret70

F.W. Parrett and N.J. Taylor, Spectroscopic studies on some polyhalide ions, **1970**, J. Inorg. Nucl. Chem. *32*, 2458-2461

Pfannemüller83

B. Pfannemüller, G. Ziegast, Resonance Raman spectroscopy of amylose-iodine complexes, **1983**, Stärke *35*, 7-11

Przylas00

I. Przylas, K. Tomoo, Y. Terada, T. Takaha, K. Fujii, W. Saenger, N. Strater, Crystal structure of amyloamylase from thermus aquaticus, a glycosyltransferase catalysing the production of large cyclic glucans, **2000**, J. Mol. Biol. *296*, 873-886

Przylas00a

I. Przylas, Y. Terada, K. Fujii, T. Takaha, W. Saenger, N. Strater, X-ray structure of acarbose bound to amyloamylase from Thermus aquaticus. Implications for the synthesis of large cyclic glucans, **2000**, Eur. J. Biochem. *267*, 6903-6913

Rappenecker81

G. Rappenecker, P. Zugenmaier, Detailed refinement of the crystal structure of Vh-amylose, **1981**, Carbohydr. Res. *89*, 11-19

Reddy64

J.M. Reddy, K. Knox, M.B. Robin, Crystal Structure of $\text{HI}_3\cdot 2\text{C}_6\text{H}_5\text{CONH}_2$: A Model of the Starch-Iodine Complex, **1964**, J. Chem. Phys. *40*, 1082-1089

Robin64

M.B. Robin, Optical Spectra of Benzamide-Triiodide Ion Complexes: A Model of the Starch-Iodine Complex, **1964**, J. Chem. Phys. *40*, 3369-3377

Rundle43

R.E. Rundle, A.D. French, The Configuration of Starch and the Starch--Iodine Complex. II. Optical Properties of Crystalline Starch Fractions, **1943**, J. Am. Chem. Soc. *65*, 558-561

- Rundle43a
R.E. Rundle, A.D. French, The Configuration of Starch in the Starch--Iodine Complex. III. X-Ray Diffraction Studies of the Starch--Iodine Complex, **1943**, J. Am. Chem. Soc. *65*, 1707-1710
- Rundle44
R.E. Rundle, J.F. Foster, R.R. Baldwin, On the Nature of the Starch-Iodine Complex, **1944**, J. Am. Chem. Soc. *66*, 2116-2120
- Rundle47
R.E. Rundle, The Configuration of Starch in the Starch-Iodine Complex. V. Fourier Projections from X-Ray Diagrams, **1947**, J. Am. Chem. Soc. *69*, 1769-1772
- Saenger82
W. Saenger, Ch. Betzel, B. Hingerty, G. M. Brown, Flip-flop hydrogen bonding in a partially disordered system, **1982**, Nature *296*, 581 - 583
- Saenger84
W. Saenger, Structural Aspects of Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes, **1984**, Hrsg.: J.L. Atwood, J.E.D. Davies, D.D. MacNicol, Inclusion Compounds Band 2, London, Academic Press, 231-260
- Saenger84a
W. Saenger, The Structure of the Blue Starch-Iodine Complex, **1984**, Naturwissenschaften *71*, 31-36
- Saenger98
W. Saenger, T.Steiner, Cyclodextrin Inclusion Complexes: Host-Guest Interactions and Hydrogen-Bonding Networks, **1998**, Acta Cryst. *A54*, 798-805
- Sakurai90
M. Sakurai, M. Kitagawa, H. Hoshi, Y. Inoue, R. Chujo, A Molecular Orbital Study of the Cyclodextrin (Cyclomalto-Oligosaccharide) Inclusion Complex. III. Dipole Moments of Cyclodextrins in various types of Inclusion Complex, **1990**, Carbohydr. Res. *198*, 181-191
- Sarko80
A. Sarko, P. Zugenmaier, Crystal Structures of Amylose and Its Derivatives, **1980**, Hrsg.: A.D. French, K.C.H. Gardner, ACS Symposium Series American Chem. Soc., 459-482
- Schrader95
B. Schrader (ed.), Infrared and Raman Spectroscopy: Methods and Applications, **1995**, VCH, Weinheim
- Sheldrick95
G.M. Sheldrick, R.O. Gould, Structure solution by iterative peaklist optimization and tangent expansion in space group P1, **1995**, Acta Cryst. B *51*, 423-431
- Sheldrick97
G.M. Sheldrick, T.R. Schneider, ShelXL: high-resolution refinement, **1997**, Hrsg.: C.W. Carter, Jr., R.M. Sweet, Methods Enzymol. Band 277, San Diego, CA, Academic Press, 319-343

Sheldrick98

G.M. Sheldrick, SHELX: Applications to macromolecules, **1998**, Hrsg.: S. Fortier, Direct Methods for Solving Macromolecular Structures Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 401-411

Steiner94

T. Steiner, W. Saenger, Reliability of O-H...O hydrogen bonds to short intermolecular O...O separations in cyclodextrin and oligosaccharide crystal structures, **1994**, Carbohydr. Res. 259, 1-12

Steiner94a

T. Steiner, W. Saenger, Crystal Structure of the Inclusion Complex alpha-Cyclodextrin Hydrochinon-Hexahydrat, **1994**, Carbohydr. Lett. 1, 143-150

Swift91

H.J. Swift, L. Brady, Z.S. Derewenda, E.J. Dodson, G.G. Dodson, J.P. Turkenburg, A.J. Wilkinson, Structure and molecular model refinement of Aspergillus oryzae (TAKA) α -amylase: an application of the simulated-annealing method, **1991**, Acta Cryst. B 47, 535-544

Szejtli82

J. Szejtli, **1982**, Cyclodextrins and their inclusion compounds Budapest, Akadémiai Kiadó,

Takaha96

T. Takaha, M. Yanase, H. Takata, S. Okada, S.M. Smith, Potato D-enzyme catalyzes the cyclization of amylose to produce cycloamylose, a novel cyclic glucan, **1996**, J. Biol. Chem. 271, 2902-2908

Teitelbaum80

R.C. Teitelbaum, S.L. Ruby, T.J. Marks, A resonance Raman/iodine Moessbauer investigation of the starch-iodine structure. Aqueous solution and iodine vapor preparations, **1980**, J. Am. Chem. Soc. 102, 3322-3328

Terada97

Y. Terada, K. Fujii, T. Takaha, S. Okada, Thermus aquaticus ATCC 33923 Amylomaltase Gene Cloning and Expression and Enzyme Characterization: Production of Cycloamylose, **1999**, Appl. Environ. Microbiol. 65, 910-915

Terada97

Y. Terada, M. Yanase, H. Takata, T. Takaha, S. Okada., Cyclodextrins are not the major cyclic alpha-1,4-glucans produced by the initial action of cyclodextrin glucanotransferase on amylose, **1997**, J Biol Chem. 272, 15729-15733

Tokuoka81

R. Tokuoka, M. Abe, K. Matsumoto, K. Shirakawa, T. Fujiwara, K.-I. Tomita, Structure of the alpha-Cyclodextrin (alpha-CD) Inclusion Complex with the Potassium Salt of gamma-Aminobutyric Acid (GABA), **1981**, Acta Cryst. B 37, 445-447

Tomasik98

P. Tomasik, Ch.H. Schilling, Complexes of Starch with Inorganic Guests, **1998**, Hrsg.: D. Horton, Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry Band 53, San Diego, Academic Press, 236-342

Tomasik98a

P. Tomasik, Ch.H. Schilling, Complexes of Starch with Organic Guests, **1998**, Hrsg.: D. Horton, Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry Band 53, San Diego, Academic Press, 345-426

Tong97

L. Tong, M.G. Rossmann, Rotation Function Calculations with GLRF Program, **1997**, Methods in Enzymol. 276, 594-611

Uson99

I. Uson, G.M. Sheldrick, Advances in direct methods for protein crystallography, **1999**, Curr. Opin. Struct. Biol. 9, 643-648

Watanabe70

T. Watanabe, K. Ogawa, S. Ono, Amylose-Iodine Complex. V. An Estimation of Number of Anhydroglucose Units of Helical Segments in Amylose-Iodine Complex, **1970**, Bull. Chem. Soc. Jpn. 43, 950-952

Wei87

Y.Y. Wie, B. Tinant, J.-P. Declercq, M. Van Meerssche, J. Dale, Oligoether complexes of alkaline-earth metal ions. III. Structures of 2,5,8,11,14,17-hexaoxaoctadecane (‘pentaglyme’) complexed with calcium, strontium and barium thiocyanates, **1987**, Acta Cryst. C43, 1270-1274

Wei87a

Y.Y. Wie, B. Tinant, J.-P. Declercq, M. Van Meerssche, J. Dale, Oligoether complexes of alkaline-earth metal ions. IV. Structures of 2,5,8,11,14,17,20-heptaohaxahenicane (‘hexaglyme’) complexed with calcium and strontium thiocyanates, **1987**, Acta Cryst. C43, 1274-1278

Weidlein88

J. Weidlein, U. Müller, K. Dehnicke, Schwingungsspektroskopie, **1988**, 2. überarb. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart

York04

W.S. York, X. Yi, CONDORR – Constrained Dynamics of Rigid Residues: a molecular dynamics program for constrained molecules, **2004**, J. Mol. Model. 10, 271-289

Yu96

X. Yu, C. Houtman, R. Atalla, The Complex of Amylose and Iodine, **1996**, Carbohydr. Res. 292, 129-141

Ziegast82

G. Ziegast, B. Pfannemüller, Resonance Raman studies of amylose-iodine complexes, **1982**, Int J Biol Macromol. 4, 419-424

Danksagung

Meinem Betreuer Prof. Dr. W. Saenger danke ich für das Thema, für Vorschläge und Kritik, die guten Arbeitsmöglichkeiten in seinem Labor und die Unterstützung bei Kooperationen und Meßreisen. Die vielfältigen Anregungen und Hilfestellungen die sich fast automatisch in einer großen und interdisziplinären Arbeitsgruppe mit breit gefächelter internationaler Zusammensetzung ergeben, kann ich nicht alle einzeln aufführen. Besonderer Dank gebührt jedoch:

Katrin Geßler für die Möglichkeiten, die sie mir mit der Weiterführung ihres Projektes eröffnete. Insbesondere profitierte ich von den laufenden Kooperationen mit Prof. Sheldricks Gruppe und ihren langjährigen guten Beziehungen zur Quelle des Materials. Unschätzbar wertvoll waren für mich Ihr Mitdenken und das Sie den Überblick jenseits der täglichen Arbeit förderte.

Takeshi Takaha für die Überlassung von gereinigter Cycloamylose unterschiedlicher Kettenlänge.

Isabel Uson für den Durchbruch bei der ersten Cycloamylose 26 Struktur, ohne die alles weitergehende nicht durchführbar gewesen wäre. Und nicht zuletzt dafür, das sie ihre Erfahrungen bei der Lösung von Strukturen mit direkten Methoden mit uns geteilt hat.

Prof. Sheldrick für die Messungen, die in seinem Labor durchgeführt wurden.

Claudia Alings für ihre Einführung und praktische Hilfe bei der Kristallisation.

Norbert Krauß und Norbert Sträter für fundiertes Wissen über die Methoden in der Proteinkristallographie und die Bereitschaft, immer zuzuhören und Hilfe anzubieten.

Timo Niedenzu, der immer bereit war zu helfen, wenn die Programme mal wieder Schwierigkeiten machen.

Carsten Jakob für prompte Hilfe bei Problemen mit der Infrastruktur.

Neben allen anderen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, gebührt mein Dank der Unterstützung durch meine Familie und Eltern, die oftmals sehr geduldig waren.

Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Publikationen und Patente

K. Imamura, O. Nimz, J. Jacob, D. Myles, S.A. Mason, S. Kitamura, T. Aree, W. Saenger
Hydrogen-bond network in cyclodecaamylose hydrate at 20 K; neutron diffraction study of
novel structural motifs band-flip and kink in alpha-(1-->4)-D-glucoside oligosaccharides.
Acta Cryst. B **57**, **2001**, 833-841.

O. Nimz, K. Geßler, I. Usón, W. Saenger
An orthorhombic crystal form of cyclohexaicosaoose, CA26·32.59 H₂O: comparison with
the triclinic form
Carbohydrate Research **336**, **2001**, 141-153.

O. Nimz, K. Geßler, I. Usón, S. Lättig, H. Welfle, G. M. Sheldrick, W. Saenger
X-ray structure of the cyclomaltohexaicosaoose triiodide inclusion complex provides a
model for amylose–iodine at atomic resolution
Carbohydrate Research **338**, **2003**, 977-986.

O. Nimz, K. Geßler, I. Usón, G.M. Sheldrick, W. Saenger
Inclusion complexes of V-amylose with undecanoic acid and dodecanol at
atomic resolution: X-ray structures with cycloamylose containing 26-glucoses
(cyclohexaicosaoose) as host
Carbohydrate Research **339**, **2004**, 1427-1437.

D.J. Bennett, E.L. Carswell, A.J. Cooke, A.S. Edwards, O.Nimz
Design, Structure Activity Relationship and X-Ray co-Crystallography of Non-Steroidal
LXR Agonists
Current Medicinal Chemistry **15**, **2008**, 195-209.

D.J. Bennett, A. Cooke, H.J. McKinnon and O. Nimz
LXR Agonists for the Treatment of Atherosclerosis - Recent Highlights
in *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, vol. 43, **2008**, 103-117

Beta-Secretase Inhibitors, WO2003059346A1, Filed 2003, EP1467729 A1.

9-azabicyclo [3.3.1] nonane derivatives as monoamine reuptake inhibitors,
WO2007039563, Filed 2007.

Anhang

Aufgrund des Umfangs der Tabellen mit Koordinaten, Bindungsabständen, Bindungswinkeln und anisotroper Temperaturfaktoren wird auf dem Abdruck verzichtet mit dem Hinweis darauf, daß sie über die Cambridge Structure Database (www.ccdc.cam.ac.uk) verfügbar sind. Die jeweiligen Nummern sind in der folgenden Tabelle angegeben.

Tabelle 6: Cambridge Structure Database (CSD) Codes der CA26-Strukturen

	CA26o	CA26j	CA26f	CA26ba	CA26do
CSD	167755	177578	197411	177894	197410

Tabelle 7: RMS der ganzen CA26-Moleküle

	CA26ta	CA26tb	CA26o	CA26ja	CA26jb	CA26f
CA26ta	(0,39)	0,82	0,58	0,93	1,14	0,80
		(0,98)	(0,82)	(1,07)	(1,21)	(0,86)
CA26tb	0,82	(0,38)	0,56	0,69	0,73	0,58
	(0,83)		(0,71)	(0,85)	(0,80)	(0,64)
CA26o	0,58	0,56	(0,66)	0,76	0,80	0,63
	(0,68)	(0,55)		(0,87)	(0,82)	(0,64)
CA26ja	0,93	0,69	0,76	(0,38)	0,60	0,85
	(0,94)	(0,69)	(0,76)		(0,74)	(0,87)
CA26jb	1,14	0,73	0,80	0,60	(0,53)	0,80
	(1,13)	(0,70)	(0,76)	(0,65)		(0,86)
CA26f	0,70	0,44	0,56	0,76	0,71	(0,34)
	(0,72)	(0,50)	(0,50)	(0,77)	(0,79)	

Die rms Berechnung in den weißen Feldern wurden ohne Berücksichtigung der O(6)-Atome durchgeführt. Die grauen Felder zeigen die rms Werte inklusive O(6)-Atome. Die Werte in Klammern ergeben sich nach Vertauschung der Numerierung aufgrund der Pseudosymmetrie (G1-13 → G14-26).

Tabelle 8: Cremer-Pople-
Ringwellungsparameter für CA26o

Glukose	Amplitude Q	θ [°]
1	0,577	10,2
2	0,560	8,0
3	0,543	3,9
4	0,548	5,2
5	0,560	7,8
6	0,544	1,0
7	0,565	7,0
8	0,541	2,3
9	0,559	6,8
10	0,524	7,9
11	0,543	1,5
12	0,544	0,6
13	0,543	3,6
14	0,581	8,1
15	0,575	5,3
16	0,577	6,3
17	0,520	4,5
18	0,542	10,8
19	0,569	2,4
20	0,547	7,9
21	0,552	4,5
22	0,547	9,5
23	0,566	8,6
24	0,560	3,3
25	0,552	2,8
26	0,543	3,2

Tabelle 9: Virtuelle Abstände
 $O(4)_n \cdots O(4)_{n+1}$ für CA26o

$O(4)_n$	$O(4)_{n+1}$	$O_n \cdots O_{n+1}$ [Å]
O(4)1	O(4)2	4,70
O(4)2	O(4)3	4,52
O(4)3	O(4)4	4,21
O(4)4	O(4)5	4,13
O(4)5	O(4)6	4,34
O(4)6	O(4)7	4,24
O(4)7	O(4)8	4,35
O(4)8	O(4)9	4,24
O(4)9	O(4)10	4,25
O(4)10	O(4)11	4,37
O(4)11	O(4)12	4,39
O(4)12	O(4)13	4,51
O(4)13	O(4)14	4,59
O(4)14	O(4)15	4,59
O(4)15	O(4)16	4,57
O(4)16	O(4)17	4,30
O(4)17	O(4)18	4,05
O(4)18	O(4)19	4,40
O(4)19	O(4)20	4,20
O(4)20	O(4)21	4,32
O(4)21	O(4)22	4,14
O(4)22	O(4)23	4,23
O(4)23	O(4)24	4,49
O(4)24	O(4)25	4,37
O(4)25	O(4)26	4,42
O(4)26	O(4)1	4,50

Tabelle 10: Glykosidische Winkel $C(1)_{n+1}-O(4)_n-C(4)_n$
in CA26o

$C(1)_{n+1}$	$O(4)_n$	$C(4)_n$	C-O-C [°]
C(1)2	O(4)1	C(4)1	117,0
C(1)3	O(4)2	C(4)2	115,2
C(1)4	O(4)3	C(4)3	118,0
C(1)5	O(4)4	C(4)4	119,5
C(1)6	O(4)5	C(4)5	118,9
C(1)7	O(4)6	C(4)6	119,1
C(1)8	O(4)7	C(4)7	117,3
C(1)9	O(4)8	C(4)8	118,1
C(1)10	O(4)9	C(4)9	120,6
C(1)11	O(4)10	C(4)10	119,0
C(1)12	O(4)11	C(4)11	116,1
C(1)13	O(4)12	C(4)12	115,4
C(1)14	O(4)13	C(4)13	116,9
C(1)15	O(4)14	C(4)14	117,2
C(1)16	O(4)15	C(4)15	114,5
C(1)17	O(4)16	C(4)16	117,6
C(1)18	O(4)17	C(4)17	121,4
C(1)19	O(4)18	C(4)18	116,8
C(1)20	O(4)19	C(4)19	117,8
C(1)21	O(4)20	C(4)20	118,5
C(1)22	O(4)21	C(4)21	117,9
C(1)23	O(4)22	C(4)22	120,5
C(1)24	O(4)23	C(4)23	118,6
C(1)25	O(4)24	C(4)24	117,5
C(1)26	O(4)25	C(4)25	118,3
C(1)1	O(4)26	C(4)26	117,3

Tabelle 11: Torsionswinkel ϕ in CA26o

O(5) _{n+1}	C(1) _{n+1}	O(4) _n	C(4) _n	ϕ [°]
O(5)2	C(1)2	O(4)1	C(4)1	102,4
O(5)3	C(1)3	O(4)2	C(4)2	99,8
O(5)4	C(1)4	O(4)3	C(4)3	106,8
O(5)5	C(1)5	O(4)4	C(4)4	107,3
O(5)6	C(1)6	O(4)5	C(4)5	97,7
O(5)7	C(1)7	O(4)6	C(4)6	105,6
O(5)8	C(1)8	O(4)7	C(4)7	106,4
O(5)9	C(1)9	O(4)8	C(4)8	104,4
O(5)10	C(1)10	O(4)9	C(4)9	101,9
O(5)11	C(1)11	O(4)10	C(4)10	104,1
O(5)12	C(1)12	O(4)11	C(4)11	104,8
O(5)13	C(1)13	O(4)12	C(4)12	102,3
O(5)14	C(1)14	O(4)13	C(4)13	87,8
O(5)15	C(1)15	O(4)14	C(4)14	105,7
O(5)16	C(1)16	O(4)15	C(4)15	101,2
O(5)17	C(1)17	O(4)16	C(4)16	107,2
O(5)18	C(1)18	O(4)17	C(4)17	110,5
O(5)19	C(1)19	O(4)18	C(4)18	95,5
O(5)20	C(1)20	O(4)19	C(4)19	103,4
O(5)21	C(1)21	O(4)20	C(4)20	107,9
O(5)22	C(1)22	O(4)21	C(4)21	105,1
O(5)23	C(1)23	O(4)22	C(4)22	112,1
O(5)24	C(1)24	O(4)23	C(4)23	110,8
O(5)25	C(1)25	O(4)24	C(4)24	103,2
O(5)26	C(1)26	O(4)25	C(4)25	101,1
O(5)1	C(1)1	O(4)26	C(4)26	89,6

Tabelle 12: Torsionswinkel ψ in CA26o

C(1) _{n+1}	O(4) _n	C(4) _n	C(3) _n	ψ [°]
C(1)2	O(4)1	C(4)1	C(3)1	112,9
C(1)3	O(4)2	C(4)2	C(3)2	115,7
C(1)4	O(4)3	C(4)3	C(3)3	120,4
C(1)5	O(4)4	C(4)4	C(3)4	114,8
C(1)6	O(4)5	C(4)5	C(3)5	108,6
C(1)7	O(4)6	C(4)6	C(3)6	126,2
C(1)8	O(4)7	C(4)7	C(3)7	108,9
C(1)9	O(4)8	C(4)8	C(3)8	114,0
C(1)10	O(4)9	C(4)9	C(3)9	117,9
C(1)11	O(4)10	C(4)10	C(3)10	117,1
C(1)12	O(4)11	C(4)11	C(3)11	114,9
C(1)13	O(4)12	C(4)12	C(3)12	109,2
C(1)14	O(4)13	C(4)13	C(3)13	-51,0
C(1)15	O(4)14	C(4)14	C(3)14	123,3
C(1)16	O(4)15	C(4)15	C(3)15	99,7
C(1)17	O(4)16	C(4)16	C(3)16	114,6
C(1)18	O(4)17	C(4)17	C(3)17	127,1
C(1)19	O(4)18	C(4)18	C(3)18	105,0
C(1)20	O(4)19	C(4)19	C(3)19	116,8
C(1)21	O(4)20	C(4)20	C(3)20	114,3
C(1)22	O(4)21	C(4)21	C(3)21	102,3
C(1)23	O(4)22	C(4)22	C(3)22	111,8
C(1)24	O(4)23	C(4)23	C(3)23	126,6
C(1)25	O(4)24	C(4)24	C(3)24	109,0
C(1)26	O(4)25	C(4)25	C(3)25	119,2
C(1)1	O(4)26	C(4)26	C(3)26	-47,6

Tabelle 13: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26o

O_x	O_y	$O_x \cdots O_y$ [Å]
O(3)1	O(2)2	2,83
O(5)1	O(3)26	3,12
O(6)1	O(2)7	3,03
O(6)1	O(3)7	2,78
O(6)1	O(3)26	2,74
O(2)13	O(3)12	2,90
O(2)13	O(6)7	2,81
O(2)13	O(6)7	2,77
O(3)13	O(6)14	2,67
O(3)13	O(5)14	3,08
O(3)13	O(6)7	2,76
O(3)13	W4	2,71
O(2)20	W4	2,77
O(6)14	O(3)20	2,69
O(6)14	O(6)7	2,95
O(3)14	O(2)15	2,78
O(2)26	O(3)25	2,93
O(2)26	O(6)20	3,02
O(3)26	O(6)22'	3,20
O(2)7	O(6)22'	2,91

Die Position des W3 wird durch das symmetrieverwandte O(6)22' mit (x+1,y,z) eingenommen.

Tabelle 15: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26tb

O_x	O_y	$O_x \cdots O_y$ [Å]
O(3)101	O(2)102	2,70
O(5)101	O(3)126	3,04
O(6)101	O(3)107	2,75
O(6)101	O(3)126	2,78
O(2)113	O(3)112	3,15
O(2)113	O(6)107	2,77
O(3)113	O(6)114	2,74
O(3)113	O(5)114	3,05
O(3)113	W8	2,73
O(2)120	W8	2,59
O(6)114	O(3)120	2,90
O(3)114	O(2)115	2,78
O(2)126	O(3)125	3,12
O(2)126	O(6)120	2,82
O(3)126	W7	2,77
O(2)107	W7	2,73

Tabelle 14: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26ta

O_x	O_y	$O_x \cdots O_y$ [Å]
O(3)1	O(2)2	2,78
O(5)1	O(3)26	3,12
O(6)1	O(2)7	3,17
O(6)1	O(3)7	2,71
O(6)1	O(3)26	2,72
O(2)13	O(3)12	2,98
O(2)	O(6)7	2,96
O(3)13	O(6)14	2,66
O(3)13	O(5)14	3,08
O(3)13	W4	2,70
O(2)20	W4	2,69
O(6)14	O(3)220	2,68
O(3)14	O(2)15	2,70
O(2)26	O(3)25	3,28
O(2)26	O(6)20	2,83
O(3)26	O(6)122'	2,90
O(2)7	O(6)122'	2,75

Die Position des W3 wird durch das symmetrieverwandte O(6)122' mit (x,y,z-1) eingenommen

Tabelle 16: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ in CA26o

$O(3)_n$	$O(2)_{n+1}$	$O_n \cdots O_{n+1}$ [Å]
O(3)1	O(2)2	2,82
O(3)2	O(2)3	2,86
O(3)3	O(2)4	2,74
O(3)4	O(2)5	2,80
O(3)5	O(2)6	3,00
O(3)6	O(2)7	2,95
O(3)7	O(2)8	2,72
O(3)8	O(2)9	2,84
O(3)9	O(2)10	2,94
O(3)10	O(2)11	2,86
O(3)11	O(2)12	2,75
O(3)12	O(2)13	2,89
O(3)14	O(2)15	2,78
O(3)15	O(2)16	2,76
O(3)16	O(2)17	2,75
O(3)17	O(2)18	2,89
O(3)18	O(2)19	3,14
O(3)19	O(2)20	2,84
O(3)20	O(2)21	2,72
O(3)21	O(2)22	2,79
O(3)22	O(2)23	2,78
O(3)23	O(2)24	2,87
O(3)24	O(2)25	2,78
O(3)25	O(2)26	2,92

Tabelle 17: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände $O(6)_n \cdots O(2/3)_{n+6}$ in CA26o

$O(6)_n$	gauche	$O(2/3)_{n+6}$	$O_n \cdots O_{n+6}$ [Å]
O(6)1	+	O(2)7	3,03
O(6)1	+	O(3)7	2,78
O(6)2	-	O(3)8	2,75
O(6)3	-	O(2)9	3,32
O(6)3	-	O(3)9	2,93
O(6)4	-	O(2)10	3,35
O(6)4	-	O(3)10	2,72
O(6)5A	-	O(3)11	2,81
O(6)5B	+	O(2)11	2,81
O(6)5B	+	O(3)11	2,99
O(6)6	-	O(3)12	3,21
O(6)7A	+	O(2)13	2,81
O(6)7B	-	O(2)13	2,77
O(6)7B	-	O(3)13	2,76
O(6)14	+	O(3)20	2,69
O(6)15	-	O(3)21	2,75
O(6)16B	+	O(2)22	2,85
O(6)17A	+	O(2)23	2,65
O(6)17A	+	O(3)23	3,25
O(6)17B	-	O(3)23	2,82
O(6)18	-	O(2)24	3,19
O(6)18	-	O(3)24	2,72
O(6)19	-	O(2)25	3,28
O(6)19	-	O(3)25	2,81
O(6)20	+	O(2)26	3,02

Tabelle 18: Cremer-Pople-Ringwellungsparameter für CA26j

Glukose	Amplitude Q	θ [°]	Glukose	Amplitude Q	θ [°]
1	0,578	7,8	101	0,562	5,7
2	0,561	11,3	102	0,591	3,2
3	0,553	6,2	103	0,556	4,6
4	0,579	0,6	104	0,561	3,8
5	0,573	1,6	105	0,551	7,7
6	0,568	4,9	106	0,560	3,2
7	0,570	1,6	107	0,559	1,2
8	0,558	4,1	108	0,562	7,0
9	0,571	6,3	109	0,576	5,3
10	0,560	2,3	110	0,584	2,1
11	0,559	3,5	111	0,550	5,4
12	0,595	3,1	112	0,584	4,2
13	0,537	2,3	113	0,565	6,7
14	0,573	1,1	114	0,553	4,1
15	0,596	13,1	115	0,578	9,4
16	0,550	6,9	116	0,552	13,8
17	0,566	2,6	117	0,569	4,9
18	0,589	2,1	118	0,563	7,3
19	0,584	2,4	119	0,597	4,2
20	0,565	3,7	120	0,574	2,7
21	0,577	3,4	121	0,570	7,3
22	0,552	3,4	122	0,589	4,1
23	0,573	5,0	123	0,580	3,0
24	0,569	1,4	124	0,562	3,3
25	0,581	3,5	125	0,567	2,0
26	0,550	7,9	126	0,549	6,2

Tabelle 19: Virtuelle Abstände $O(4)_n \cdots O(4)_{n+1}$ für CA26j

$O(4)_n$	$O(4)_{n+1}$	$O_n \cdots O_{n+1}$ [Å]	$O(4)_n$	$O(4)_{n+1}$	$O_n \cdots O_{n+1}$ [Å]
O(4) 2	O(4) 1	4,60	O(4) 102	O(4) 101	4,47
O(4) 3	O(4) 2	4,47	O(4) 103	O(4) 102	4,49
O(4) 4	O(4) 3	4,27	O(4) 104	O(4) 103	4,27
O(4) 5	O(4) 4	4,29	O(4) 105	O(4) 104	4,18
O(4) 6	O(4) 5	4,25	O(4) 106	O(4) 105	4,26
O(4) 7	O(4) 6	4,37	O(4) 107	O(4) 106	4,37
O(4) 8	O(4) 7	4,25	O(4) 108	O(4) 107	4,20
O(4) 9	O(4) 8	4,19	O(4) 109	O(4) 108	4,17
O(4) 10	O(4) 9	4,29	O(4) 110	O(4) 109	4,28
O(4) 11	O(4) 10	4,31	O(4) 111	O(4) 110	4,28
O(4) 12	O(4) 11	4,41	O(4) 112	O(4) 111	4,38
O(4) 13	O(4) 12	4,50	O(4) 113	O(4) 112	4,51
O(4) 14	O(4) 13	4,42	O(4) 114	O(4) 113	4,38
O(4) 15	O(4) 14	4,74	O(4) 115	O(4) 114	4,62
O(4) 16	O(4) 15	4,48	O(4) 116	O(4) 115	4,67
O(4) 17	O(4) 16	4,17	O(4) 117	O(4) 116	4,23
O(4) 18	O(4) 17	4,26	O(4) 118	O(4) 117	4,11
O(4) 19	O(4) 18	4,33	O(4) 119	O(4) 118	4,41
O(4) 20	O(4) 19	4,18	O(4) 120	O(4) 119	4,36
O(4) 21	O(4) 20	4,31	O(4) 121	O(4) 120	4,17
O(4) 22	O(4) 21	4,26	O(4) 122	O(4) 121	4,33
O(4) 23	O(4) 22	4,21	O(4) 123	O(4) 122	4,25
O(4) 24	O(4) 23	4,29	O(4) 124	O(4) 123	4,26
O(4) 25	O(4) 24	4,45	O(4) 125	O(4) 124	4,38
O(4) 26	O(4) 25	4,63	O(4) 126	O(4) 125	4,46
O(4) 1	O(4) 26	4,64	O(4) 101	O(4) 126	4,43

Tabelle 20: Glykosidische Winkel $C(1)_{n+1}-O(4)_n-C(4)_n$ in CA26j

$C(1)_{n+1}$	$O(4)_n$	$C(4)_n$	C-O-C [°]	$C(1)_{n+1}$	$O(4)_n$	$C(4)_n$	C-O-C [°]
C(1)2	O(4)1	C(4)1	115,5	C(1)102	O(4)101	C(4)101	117,3
C(1)3	O(4)2	C(4)2	115,7	C(1)103	O(4)102	C(4)102	114,9
C(1)4	O(4)3	C(4)3	118,1	C(1)104	O(4)103	C(4)103	117,7
C(1)5	O(4)4	C(4)4	117,9	C(1)105	O(4)104	C(4)104	117,3
C(1)6	O(4)5	C(4)5	118,5	C(1)106	O(4)105	C(4)105	118,0
C(1)7	O(4)6	C(4)6	118,7	C(1)107	O(4)106	C(4)106	117,4
C(1)8	O(4)7	C(4)7	117,7	C(1)108	O(4)107	C(4)107	117,0
C(1)9	O(4)8	C(4)8	118,7	C(1)109	O(4)108	C(4)108	118,1
C(1)10	O(4)9	C(4)9	118,7	C(1)110	O(4)109	C(4)109	118,8
C(1)11	O(4)10	C(4)10	117,7	C(1)111	O(4)110	C(4)110	117,9
C(1)12	O(4)11	C(4)11	117,7	C(1)112	O(4)111	C(4)111	118,4
C(1)13	O(4)12	C(4)12	117,5	C(1)113	O(4)112	C(4)112	116,2
C(1)14	O(4)13	C(4)13	117,9	C(1)114	O(4)113	C(4)113	117,0
C(1)15	O(4)14	C(4)14	116,1	C(1)115	O(4)114	C(4)114	117,5
C(1)16	O(4)15	C(4)15	114,1	C(1)116	O(4)115	C(4)115	115,5
C(1)17	O(4)16	C(4)16	118,2	C(1)117	O(4)116	C(4)116	118,8
C(1)18	O(4)17	C(4)17	118,4	C(1)118	O(4)117	C(4)117	118,0
C(1)19	O(4)18	C(4)18	116,5	C(1)119	O(4)118	C(4)118	118,0
C(1)20	O(4)19	C(4)19	118,3	C(1)120	O(4)119	C(4)119	115,8
C(1)21	O(4)20	C(4)20	116,9	C(1)121	O(4)120	C(4)120	117,0
C(1)22	O(4)21	C(4)21	116,3	C(1)122	O(4)121	C(4)121	118,1
C(1)23	O(4)22	C(4)22	117,5	C(1)123	O(4)122	C(4)122	118,0
C(1)24	O(4)23	C(4)23	117,6	C(1)124	O(4)123	C(4)123	118,9
C(1)25	O(4)24	C(4)24	117,4	C(1)125	O(4)124	C(4)124	116,7
C(1)26	O(4)25	C(4)25	116,7	C(1)126	O(4)125	C(4)125	117,4
C(1)1	O(4)26	C(4)26	116,7	C(1)101	O(4)126	C(4)126	118,2

Tabelle 21: Torsionswinkel ϕ in CA26j

O(5) _{n+1}	C(1) _{n+1}	O(4) _n	C(4) _n	ϕ [°]	O(5) _{n+1}	C(1) _{n+1}	O(4) _n	C(4) _n	ϕ [°]
O(5)2	C(1)2	O(4)1	C(4)1	101,8	O(5)102	C(1)102	O(4)101	C(4)101	106,9
O(5)3	C(1)3	O(4)2	C(4)2	103,3	O(5)103	C(1)103	O(4)102	C(4)102	82,2
O(5)4	C(1)4	O(4)3	C(4)3	108,2	O(5)104	C(1)104	O(4)103	C(4)103	129,8
O(5)5	C(1)5	O(4)4	C(4)4	104,0	O(5)105	C(1)105	O(4)104	C(4)104	103,1
O(5)6	C(1)6	O(4)5	C(4)5	95,1	O(5)106	C(1)106	O(4)105	C(4)105	92,4
O(5)7	C(1)7	O(4)6	C(4)6	98,6	O(5)107	C(1)107	O(4)106	C(4)106	100,9
O(5)8	C(1)8	O(4)7	C(4)7	103,8	O(5)108	C(1)108	O(4)107	C(4)107	101,7
O(5)9	C(1)9	O(4)8	C(4)8	106,2	O(5)109	C(1)109	O(4)108	C(4)108	110,1
O(5)10	C(1)10	O(4)9	C(4)9	102,0	O(5)110	C(1)110	O(4)109	C(4)109	111,2
O(5)11	C(1)11	O(4)10	C(4)10	99,8	O(5)111	C(1)111	O(4)110	C(4)110	102,5
O(5)12	C(1)12	O(4)11	C(4)11	99,1	O(5)112	C(1)112	O(4)111	C(4)111	103,8
O(5)13	C(1)13	O(4)12	C(4)12	104,0	O(5)113	C(1)113	O(4)112	C(4)112	102,5
O(5)14	C(1)14	O(4)13	C(4)13	87,5	O(5)114	C(1)114	O(4)113	C(4)113	88,0
O(5)15	C(1)15	O(4)14	C(4)14	102,5	O(5)115	C(1)115	O(4)114	C(4)114	97,8
O(5)16	C(1)16	O(4)15	C(4)15	98,5	O(5)116	C(1)116	O(4)115	C(4)115	92,0
O(5)17	C(1)17	O(4)16	C(4)16	106,3	O(5)117	C(1)117	O(4)116	C(4)116	111,6
O(5)18	C(1)18	O(4)17	C(4)17	105,3	O(5)118	C(1)118	O(4)117	C(4)117	109,7
O(5)19	C(1)19	O(4)18	C(4)18	97,7	O(5)119	C(1)119	O(4)118	C(4)118	90,0
O(5)20	C(1)20	O(4)19	C(4)19	104,7	O(5)120	C(1)120	O(4)119	C(4)119	100,4
O(5)21	C(1)21	O(4)20	C(4)20	101,2	O(5)121	C(1)121	O(4)120	C(4)120	104,7
O(5)22	C(1)22	O(4)21	C(4)21	108,4	O(5)122	C(1)122	O(4)121	C(4)121	100,7
O(5)23	C(1)23	O(4)22	C(4)22	100,0	O(5)123	C(1)123	O(4)122	C(4)122	105,5
O(5)24	C(1)24	O(4)23	C(4)23	99,2	O(5)124	C(1)124	O(4)123	C(4)123	100,8
O(5)25	C(1)25	O(4)24	C(4)24	100,3	O(5)125	C(1)125	O(4)124	C(4)124	101,0
O(5)26	C(1)26	O(4)25	C(4)25	97,6	O(5)126	C(1)126	O(4)125	C(4)125	105,3
O(5)1	C(1)1	O(4)26	C(4)26	88,0	O(5)101	C(1)101	O(4)126	C(4)126	87,9

Tabelle 22: Torsionswinkel ψ in CA26j

$C(1)_{n+1}$	$O(4)_n$	$C(4)_n$	$C(3)_n$	ψ [°]	$C(1)_{n+1}$	$O(4)_n$	$C(4)_n$	$C(3)_n$	ψ [°]
C(1)2	O(4)1	C(4)1	C(3)1	114,3	C(1)102	O(4)101	C(4)101	C(3)101	115,6
C(1)3	O(4)2	C(4)2	C(3)2	106,7	C(1)103	O(4)102	C(4)102	C(3)102	89,9
C(1)4	O(4)3	C(4)3	C(3)3	120,7	C(1)104	O(4)103	C(4)103	C(3)103	133,9
C(1)5	O(4)4	C(4)4	C(3)4	119,0	C(1)105	O(4)104	C(4)104	C(3)104	119,5
C(1)6	O(4)5	C(4)5	C(3)5	124,7	C(1)106	O(4)105	C(4)105	C(3)105	114,9
C(1)7	O(4)6	C(4)6	C(3)6	118,2	C(1)107	O(4)106	C(4)106	C(3)106	124,4
C(1)8	O(4)7	C(4)7	C(3)7	114,9	C(1)108	O(4)107	C(4)107	C(3)107	112,3
C(1)9	O(4)8	C(4)8	C(3)8	116,0	C(1)109	O(4)108	C(4)108	C(3)108	100,6
C(1)10	O(4)9	C(4)9	C(3)9	123,6	C(1)110	O(4)109	C(4)109	C(3)109	128,6
C(1)11	O(4)10	C(4)10	C(3)10	119,5	C(1)111	O(4)110	C(4)110	C(3)110	116,8
C(1)12	O(4)11	C(4)11	C(3)11	122,9	C(1)112	O(4)111	C(4)111	C(3)111	119,5
C(1)13	O(4)12	C(4)12	C(3)12	131,6	C(1)113	O(4)112	C(4)112	C(3)112	131,0
C(1)14	O(4)13	C(4)13	C(3)13	-51,8	C(1)114	O(4)113	C(4)113	C(3)113	-52,9
C(1)15	O(4)14	C(4)14	C(3)14	110,9	C(1)115	O(4)114	C(4)114	C(3)114	118,5
C(1)16	O(4)15	C(4)15	C(3)15	108,8	C(1)116	O(4)115	C(4)115	C(3)115	105,9
C(1)17	O(4)16	C(4)16	C(3)16	123,8	C(1)117	O(4)116	C(4)116	C(3)116	124,4
C(1)18	O(4)17	C(4)17	C(3)17	118,4	C(1)118	O(4)117	C(4)117	C(3)117	114,0
C(1)19	O(4)18	C(4)18	C(3)18	116,1	C(1)119	O(4)118	C(4)118	C(3)118	131,9
C(1)20	O(4)19	C(4)19	C(3)19	118,2	C(1)120	O(4)119	C(4)119	C(3)119	122,4
C(1)21	O(4)20	C(4)20	C(3)20	114,5	C(1)121	O(4)120	C(4)120	C(3)120	112,6
C(1)22	O(4)21	C(4)21	C(3)21	120,3	C(1)122	O(4)121	C(4)121	C(3)121	114,9
C(1)23	O(4)22	C(4)22	C(3)22	119,2	C(1)123	O(4)122	C(4)122	C(3)122	123,2
C(1)24	O(4)23	C(4)23	C(3)23	122,2	C(1)124	O(4)123	C(4)123	C(3)123	124,5
C(1)25	O(4)24	C(4)24	C(3)24	125,0	C(1)125	O(4)124	C(4)124	C(3)124	107,4
C(1)26	O(4)25	C(4)25	C(3)25	127,3	C(1)126	O(4)125	C(4)125	C(3)125	132,0
C(1)1	O(4)26	C(4)26	C(3)26	-53,6	C(1)101	O(4)126	C(4)126	C(3)126	-49,1

Tabelle 23: Wasserstoffbrückenabstände der Band-Flips in CA26j

O_x	O_y	$O_x \cdots O_y [\text{Å}]$	O_x	O_y	$O_x \cdots O_y [\text{Å}]$
O(3)1	O(2)2	2,76	O(3)101	O(2)102	2,72
O(5)1	O(3)26	3,06	O(5)101	O(3)126	3,09
O(6)1	O(2)7	3,21	O(6)101	O(3)107	2,69
O(6)1	O(3)7	2,78	O(6)101	O(3)126	2,73
O(6)1	O(3)26	2,75	O(6)101	O(6)120	2,78
O(2)13	O(3)12	2,85	O(2)113	O(3)112	2,95
O(3)13	O(6)14	2,80	O(3)113	O(6)114	2,74
O(3)13	O(5)14	3,09	O(3)113	O(5)114	3,12
O(3)13	W4	3,34	O(2)113	W8	2,78
O(2)20	W4	2,79	O(3)113	W8	3,30
O(6)7	W4	2,68	O(2)120	W8	2,75
O(6)14	O(3)20	2,78	O(6)107	W8	2,67
O(6)14	O(2)20	3,02	O(6)114	O(3)120	2,67
O(6)14	O(6)7	2,78	O(6)114	O(2)120	3,31
O(3)14	O(2)15	2,75	O(6)114	O(6)107	2,72
O(2)26	O(3)25	3,04	O(3)114	O(2)115	2,97
O(2)26	O(6)20	2,99	O(2)126	O(3)125	2,93
O(2)26	O(6)20	3,38	O(3)126	O(6)120	3,30
O(3)26	O(6)20	3,10	O(3)126	W7	3,15
O(2)26	W3	2,75	O(2)126	W7	2,76
O(3)26	W3	3,22	O(2)107	W7	2,75
O(6)20	W3	2,74	O(6)120	W7	2,74
O(2)7	W3	2,70			

Tabelle 24: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ in CA26j

$O(3)_n$	$O(2)_{n+1}$	$O_n \cdots O_{n+1} [\text{Å}]$	$O(3)_n$	$O(2)_{n+1}$	$O_n \cdots O_{n+1} [\text{Å}]$
O(3)1	O(2)2	2,76	O(3)101	O(2)102	2,72
O(3)2	O(2)3	2,71	O(3)102	O(2)103	3,64
O(3)3	O(2)4	2,75	O(3)103	O(2)104	2,73
O(3)4	O(2)5	2,79	O(3)104	O(2)105	2,93
O(3)5	O(2)6	3,15	O(3)105	O(2)106	3,27
O(3)6	O(2)7	3,08	O(3)106	O(2)107	3,00
O(3)7	O(2)8	2,79	O(3)107	O(2)108	2,81
O(3)8	O(2)9	2,81	O(3)108	O(2)109	2,69
O(3)9	O(2)10	2,89	O(3)109	O(2)110	2,83
O(3)10	O(2)11	2,86	O(3)110	O(2)111	2,82
O(3)11	O(2)12	2,96	O(3)111	O(2)112	2,84
O(3)12	O(2)13	2,85	O(3)112	O(2)113	2,95
O(3)14	O(2)15	2,75	O(3)114	O(2)115	2,97
O(3)15	O(2)16	2,73	O(3)115	O(2)116	3,08
O(3)16	O(2)17	2,85	O(3)116	O(2)117	2,72
O(3)17	O(2)18	2,77	O(3)117	O(2)118	2,72
O(3)18	O(2)19	2,95	O(3)118	O(2)119	3,61
O(3)19	O(2)20	2,81	O(3)119	O(2)120	2,85
O(3)20	O(2)21	2,84	O(3)120	O(2)121	2,74
O(3)21	O(2)22	2,73	O(3)121	O(2)122	2,96
O(3)22	O(2)23	3,10	O(3)122	O(2)123	2,84
O(3)23	O(2)24	2,93	O(3)123	O(2)124	2,97
O(3)24	O(2)25	2,92	O(3)124	O(2)125	2,86
O(3)25	O(2)26	3,04	O(3)125	O(2)126	2,92

Tabelle 25: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände $O(6)_n \cdots O(2/3)_{n+6}$ in CA26j

$O(6)_n$	gauche	$O(2/3)_{n+6}$	$O_n \cdots O_{n+6} [\text{Å}]$	$O(6)_n$	gauche	$O(2/3)_{n+6}$	$O_n \cdots O_{n+6} [\text{Å}]$
O(6) 1	+	O(2) 7	3,21	O(6) 101	+	O(3) 107	2,69
O(6) 1	+	O(3) 7	2,78	O(6) 102A	-	O(3) 108	2,70
O(6) 2	-	O(2) 8	3,36	O(6) B102	+	O(2) 108	2,62
O(6) 2	-	O(3) 8	2,63	O(6) 102B	+	O(3) 108	3,32
O(6) 3	-	O(3) 9	2,89	O(6) 103	+	O(2) 109	2,60
O(6) 4	-	O(2) 10	3,25	O(6) 104	-	O(2) 110	3,19
O(6) 4	-	O(3) 10	2,76	O(6) 104	-	O(3) 110	2,88
O(6) 5	-	O(2) 11	3,17	O(6) 105	-	O(2) 111	3,29
O(6) 5	-	O(3) 11	2,68	O(6) 105	-	O(3) 111	2,68
O(6) 6	-	O(2) 12	2,79	O(6) 106	-	O(2) 112	3,15
O(6) 6	-	O(3) 12	2,94	O(6) 106	-	O(3) 112	2,81
O(6) 14	+	O(2) 20	3,02	O(6) 114	+	O(2) 120	3,31
O(6) 14	+	O(3) 20	2,79	O(6) 114	+	O(3) 120	2,67
O(6) 15	-	O(3) 21	2,73	O(6) 115	-	O(3) 121	2,58
O(6) 17	-	O(3) 23	2,82	O(6) 116	-	O(2) 122	3,28
O(6) 18	-	O(3) 24	2,73	O(6) 116	-	O(3) 122	2,73
O(6) 19A	-	O(2) 25	3,34	O(6) 117	-	O(3) 123	2,72
O(6) 19A	-	O(3) 25	2,77	O(6) 119	-	O(3) 125	2,75
O(6) 19B	+	O(2) 25	2,73	O(6) 120	-	O(3) 126	3,31
O(6) 20A	+	O(2) 26	2,99				
O(6) 20B	-	O(2) 26	3,38				
O(6) 20B	-	O(3) 26	3,10				

Tabelle 26: Bindungslängen und Van-der-Waals-Abstände für die Hauptlagen A und die Nebenlagen B der Trijodide in CA26j

I	I	$I_A \cdots I_A [\text{Å}]$	$I_B \cdots I_B [\text{Å}]$
I(1) T1	I(2) T1	3,00	2,95
I(2) T1	I(3) T1	2,81	2,86
I(3) T1	I(1) T2	3,66	3,73
I(1) T2	I(2) T2	2,91	2,88
I(2) T2	I(3) T2	2,92	2,90
I(3) T2	I(1) T3	3,73	3,75
I(1) T3	I(2) T3	2,88	2,90
I(2) T3	I(3) T3	2,94	2,84
I(1) T4	I(2) T4	2,96	2,97
I(2) T4	I(3) T4	2,85	2,91
I(3) T4	I(1) T5	3,75	3,82
I(1) T5	I(2) T5	2,90	2,91
I(2) T5	I(3) T5	2,95	2,87
I(3) T5	I(1) T6	3,85	3,85
I(1) T6	I(2) T6	2,87	2,92
I(2) T6	I(3) T6	2,94	2,91

Tabelle 27: Bindungswinkel für die Hauptlagen A und die Nebenlagen B der Trijodide in CA26j

T	$I(1)_A - I(3)_A [^\circ]$	$I(1)_B - I(3)_B [^\circ]$
T1	178,7	174,4
T2	178,5	178,4
T3	177,2	175,2
T4	178,7	176,0
T5	179,1	178,1
T6	174,7	173,4

Tabelle 28: Cremer-Pople-
Ringwellungsparameter für CA26f

Glukose	Amplitude Q	θ [°]
1	0,559	7,2
2	0,559	10,3
3	0,558	4,7
4	0,540	3,5
5	0,542	9,3
6	0,558	1,0
7	0,537	5,5
8	0,569	3,8
9	0,555	4,6
10	0,553	4,7
11	0,570	3,1
12	0,540	6,2
13	0,542	4,2
14	0,555	6,6
15	0,573	12,9
16	0,528	7,3
17	0,546	7,3
18	0,543	5,5
19	0,554	1,8
20	0,554	3,7
21	0,546	1,3
22	0,545	6,0
23	0,542	5,0
24	0,551	4,9
25	0,546	1,1
26	0,528	6,3

Tabelle 29: Virtuelle Abstände
 $O(4)_n \cdots O(4)_{n+1}$ für CA26f

$O(4)_n$	$O(4)_{n+1}$	$O_n \cdots O_{n+1}$ [Å]
O(4) 1	O(4) 2	4,70
O(4) 2	O(4) 3	4,50
O(4) 3	O(4) 4	4,31
O(4) 4	O(4) 5	4,19
O(4) 5	O(4) 6	4,37
O(4) 6	O(4) 7	4,22
O(4) 7	O(4) 8	4,32
O(4) 8	O(4) 9	4,25
O(4) 9	O(4) 10	4,26
O(4) 10	O(4) 11	4,31
O(4) 11	O(4) 12	4,43
O(4) 12	O(4) 13	4,55
O(4) 13	O(4) 14	4,55
O(4) 14	O(4) 15	4,76
O(4) 15	O(4) 16	4,53
O(4) 16	O(4) 17	4,22
O(4) 17	O(4) 18	4,30
O(4) 18	O(4) 19	4,29
O(4) 19	O(4) 20	4,33
O(4) 20	O(4) 21	4,40
O(4) 21	O(4) 22	4,23
O(4) 22	O(4) 23	4,24
O(4) 23	O(4) 24	4,47
O(4) 24	O(4) 25	4,35
O(4) 25	O(4) 26	4,42
O(4) 26	O(4) 1	4,47

Tabelle 30: Glykosidische Winkel

 $C(1)_{n+1}-O(4)_n-C(4)_n$ in CA26f

$C(1)_{n+1}$	$O(4)_n$	$C(4)_n$	C-O-C [°]
C(1)2	O(4)1	C(4)1	117,0
C(1)3	O(4)2	C(4)2	116,0
C(1)4	O(4)3	C(4)3	118,7
C(1)5	O(4)4	C(4)4	117,9
C(1)6	O(4)5	C(4)5	119,1
C(1)7	O(4)6	C(4)6	119,3
C(1)8	O(4)7	C(4)7	118,4
C(1)9	O(4)8	C(4)8	118,4
C(1)10	O(4)9	C(4)9	119,4
C(1)11	O(4)10	C(4)10	120,6
C(1)12	O(4)11	C(4)11	118,5
C(1)13	O(4)12	C(4)12	117,9
C(1)14	O(4)13	C(4)13	117,6
C(1)15	O(4)14	C(4)14	114,9
C(1)16	O(4)15	C(4)15	114,2
C(1)17	O(4)16	C(4)16	118,8
C(1)18	O(4)17	C(4)17	119,0
C(1)19	O(4)18	C(4)18	119,1
C(1)20	O(4)19	C(4)19	120,1
C(1)21	O(4)20	C(4)20	118,6
C(1)22	O(4)21	C(4)21	118,1
C(1)23	O(4)22	C(4)22	119,6
C(1)24	O(4)23	C(4)23	119,2
C(1)25	O(4)24	C(4)24	117,0
C(1)26	O(4)25	C(4)25	117,7
C(1)1	O(4)26	C(4)26	117,9

Tabelle 31: Torsionswinkel ϕ in CA26f

$O(5)_{n+1}$	$C(1)_{n+1}$	$O(4)_n$	$C(4)_n$	ϕ [°]
O(5)2	C(1)2	O(4)1	C(4)1	108,4
O(5)3	C(1)3	O(4)2	C(4)2	101,5
O(5)4	C(1)4	O(4)3	C(4)3	114,8
O(5)5	C(1)5	O(4)4	C(4)4	106,6
O(5)6	C(1)6	O(4)5	C(4)5	96,3
O(5)7	C(1)7	O(4)6	C(4)6	106,0
O(5)8	C(1)8	O(4)7	C(4)7	106,5
O(5)9	C(1)9	O(4)8	C(4)8	105,7
O(5)10	C(1)10	O(4)9	C(4)9	109,1
O(5)11	C(1)11	O(4)10	C(4)10	107,1
O(5)12	C(1)12	O(4)11	C(4)11	104,1
O(5)13	C(1)13	O(4)12	C(4)12	101,2
O(5)14	C(1)14	O(4)13	C(4)13	89,5
O(5)15	C(1)15	O(4)14	C(4)14	101,9
O(5)16	C(1)16	O(4)15	C(4)15	94,6
O(5)17	C(1)17	O(4)16	C(4)16	108,4
O(5)18	C(1)18	O(4)17	C(4)17	111,2
O(5)19	C(1)19	O(4)18	C(4)18	101,1
O(5)20	C(1)20	O(4)19	C(4)19	104,3
O(5)21	C(1)21	O(4)20	C(4)20	105,8
O(5)22	C(1)22	O(4)21	C(4)21	97,8
O(5)23	C(1)23	O(4)22	C(4)22	106,2
O(5)24	C(1)24	O(4)23	C(4)23	105,2
O(5)25	C(1)25	O(4)24	C(4)24	98,9
O(5)26	C(1)26	O(4)25	C(4)25	103,7
O(5)1	C(1)1	O(4)26	C(4)26	88,4

Tabelle 32: Torsionswinkel ψ in CA26f

$C(1)_{n+1}$	$O(4)_n$	$C(4)_n$	$C(3)_n$	ψ [°]
C(1)2	O(4)1	C(4)1	C(3)1	86,5
C(1)3	O(4)2	C(4)2	C(3)2	114,9
C(1)4	O(4)3	C(4)3	C(3)3	124,1
C(1)5	O(4)4	C(4)4	C(3)4	117,1
C(1)6	O(4)5	C(4)5	C(3)5	110,9
C(1)7	O(4)6	C(4)6	C(3)6	120,5
C(1)8	O(4)7	C(4)7	C(3)7	108,0
C(1)9	O(4)8	C(4)8	C(3)8	113,7
C(1)10	O(4)9	C(4)9	C(3)9	110,6
C(1)11	O(4)10	C(4)10	C(3)10	122,3
C(1)12	O(4)11	C(4)11	C(3)11	112,8
C(1)13	O(4)12	C(4)12	C(3)12	121,0
C(1)14	O(4)13	C(4)13	C(3)13	-43,2
C(1)15	O(4)14	C(4)14	C(3)14	110,0
C(1)16	O(4)15	C(4)15	C(3)15	103,1
C(1)17	O(4)16	C(4)16	C(3)16	122,8
C(1)18	O(4)17	C(4)17	C(3)17	102,7
C(1)19	O(4)18	C(4)18	C(3)18	117,2
C(1)20	O(4)19	C(4)19	C(3)19	119,8
C(1)21	O(4)20	C(4)20	C(3)20	112,7
C(1)22	O(4)21	C(4)21	C(3)21	115,8
C(1)23	O(4)22	C(4)22	C(3)22	110,8
C(1)24	O(4)23	C(4)23	C(3)23	124,3
C(1)25	O(4)24	C(4)24	C(3)24	113,4
C(1)26	O(4)25	C(4)25	C(3)25	115,9
C(1)1	O(4)26	C(4)26	C(3)26	-38,0

Tabelle 33: Wasserstoffbrücken-
abstände der Band-Flips in CA26f

O_x	O_y	$O_x \cdots O_y$ [Å]
O(3)1	O(2)2	2,78
O(5)1	O(3)26	3,01
O(6)1	O(2)7	3,38
O(6)1	O(3)7	2,71
O(6)1	O(3)26	2,80
O(2)13	O(3)12	2,97
O(2)13	O(6)7	2,88
O(3)13	O(6)14	2,80
O(3)13	O(5)14	2,99
O(3)13	W4	2,88
O(2)20	W4	2,72
O(6)14	O(3)20	2,73
O(6)14	O(2)20	3,35
O(3)14	O(2)15	2,79
O(2)26	O(3)25	2,85
O(2)26	O(6)20	2,93
O(3)26	W3	2,79
O(2)7	W3	2,65

Tabelle 34: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände $O(3)_n \cdots O(2)_{n+1}$ in CA26f

$O(3)_n$	$O(2)_{n+1}$	$O_n \cdots O_{n+1}$ [Å]
O(3)1	O(2)2	2,78
O(3)2	O(2)3	2,81
O(3)3	O(2)4	2,73
O(3)4	O(2)5	2,83
O(3)5	O(2)6	3,10
O(3)6	O(2)7	2,81
O(3)7	O(2)8	2,72
O(3)8	O(2)9	2,74
O(3)9	O(2)10	2,81
O(3)10	O(2)11	2,78
O(3)11	O(2)12	2,78
O(3)12	O(2)13	2,97
O(3)14	O(2)15	2,79
O(3)15	O(2)16	3,04
O(3)16	O(2)17	2,82
O(3)17	O(2)18	2,75
O(3)18	O(2)19	2,97
O(3)19	O(2)20	2,88
O(3)20	O(2)21	2,73
O(3)21	O(2)22	3,18
O(3)22	O(2)23	2,83
O(3)23	O(2)24	2,81
O(3)24	O(2)25	2,92
O(3)25	O(2)26	2,85

Tabelle 35: Intramolekulare Wasserstoffbrückenabstände $O(6)_n \cdots O(2/3)_{n+6}$ in CA26f

$O(6)_n$	gauche	$O(2/3)_{n+6}$	$O_n \cdots O_{n+6}$ [Å]
O(6)1	+	O(2)7	3,38
O(6)1	+	O(3)7	2,71
O(6)2	-	O(3)8	3,36
O(6)4	-	O(2)10	3,28
O(6)4	-	O(3)10	2,87
O(6)5	-	O(3)11	2,82
O(6)6	-	O(3)12	2,74
O(6)7	+	O(2)13	2,88
O(6)14	+	O(2)20	3,35
O(6)14	+	O(3)20	2,73
O(6)15	-	O(3)21	2,78
O(6)16	+	O(2)22	2,75
O(6)17	-	O(3)23	2,73
O(6)18B	+	O(2)24	2,99
O(6)18B	+	O(3)24	2,77
O(6)18A	-	O(3)24	2,99
O(6)19	-	O(3)25	2,77
O(6)20	+	O(2)26	2,93

