

Front-Affinitätschromatographie im Mikromaßstab mit massenspektrometrischer Detektion: eine neue Methode zum Screening von Substanzbibliotheken

David C. Schriemer, David R. Bundle, Liang Li und Ole Hindsgaul*

Der Einsatz der kombinatorischen Chemie zur beschleunigten Pharma-Wirkstoffsuche hat beim Screening potentieller Wirkstoffe neuartige Fragestellungen aufgeworfen. Klassische Ansätze nach dem Prinzip „eine Substanz – ein Test“ sind oft aufgrund begrenzter Zeit und Mittel nicht durchführbar, ist doch gerade die Herstellung umfangreicher Substanzbibliotheken das Ziel der kombinatorischen Chemie. Diese werden entweder an einer festen Phase (Harzkügelchen, Beads) oder in Lösung gebildet.^[1] Früher oder später muß ein Bindungstest mit einem Zielmolekül durchgeführt werden, und das bedeutet normalerweise, daß entweder eine große Zahl an Kügelchen oder ein Substanzgemisch in Lösung untersucht werden muß. Die Identifizierung und Isolierung von Rezeptoren ermöglichte den Einsatz radioaktiver Liganden und ELISA-Testmethoden als primäre Screeningstrategien für solche Gemische.^[2] Bei der Bestimmung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen sind häufig iterative Synthese und Analyse gefordert. Ideal wäre es, eine vollständige Bibliothek (oder Unterbibliothek) auf einmal untersuchen zu können, um in einer einzigen Analyse alle enthaltenen Liganden identifizieren, bewerten und für jeden die absoluten Bindungskonstanten bestimmen zu können. Die gegenwärtig eingesetzten Untersuchungsmethoden bieten keine derartigen Aussagemöglichkeiten.

Die Massenspektrometrie entwickelt sich zu einem wichtigen Werkzeug zur Untersuchung kombinatorischer Bibliotheken. Sie wurde zur Bewertung ganzer Bibliotheken^[3, 4] eingesetzt und führte in Kombination mit Methoden der molekularen Erkennung zu einigen Erfolgen bei der Isolierung und Charakterisierung aktiver Verbindungen innerhalb von Bibliotheken.^[5] Die meisten Ansätze zur Kombination der molekularen Erkennung mit der Massenspektrometrie beruhen auf dem Prinzip des „Abfangens und Freisetzens“, bei dem immobilisierte Rezeptoren mit Substanzgemischen versetzt und gewaschen werden und anschließend Liganden mit hohen Bindungsaaffinitäten mit Hilfe denaturierender Lösungen abgelöst und massenspektrometrisch untersucht werden.^[6] Als Alternative hierzu haben wir die direkte Kopplung der Front-Affinitätschromatographie (FAC) mit der Massenspektrometrie untersucht.

Bei der FAC wird ein Rezeptor auf einem geeigneten Träger immobilisiert und als stationäre Phase in eine Säule gepackt.^[7] Ein Gemisch, das potentielle Liganden enthält, wird *kontinuierlich* und nicht wie sonst üblich als einzelner Puls auf die Säule gegeben. Aktive Liganden binden an das Säulenmaterial, bis schließlich dessen Kapazität erschöpft ist,

worauf es zu einem Durchbruch der Liganden in der Konzentrationen bei der Aufgabe kommt. Alle nicht zurückgehaltenen Verbindungen brechen früher im Totvolumen des Systems durch. Diese Technik wird traditionell zur Charakterisierung stationärer Phasen für die Chromatographie und zur Bestimmung thermodynamischer und kinetischer Bindungsdaten einzelner Verbindungen eingesetzt.^[8] Die Miniaturisierung von FAC-Säulen und deren Ankopplung an Elektrospray-Massenspektrometer bietet mehrere Vorteile. Der Bedarf an wertvollem Rezeptor wird stark verringert, und die erforderlichen Mengen an Liganden gehen in gleichem Maße zurück. Die Elektrospray-Massenspektrometrie ermöglicht den empfindlichen Nachweis von Verbindungen beim Durchbruch durch die Säule in Konzentrationen $< 1 \text{ pmol } \mu\text{L}^{-1}$, und liefert, was noch wichtiger ist, das m/z -Verhältnis als zusätzliche Information. Bei der herkömmlichen FAC werden die Säulen meist mit einem bei fester Wellenlänge arbeitenden UV/Vis-Spektrophotometer verbunden. Solch ein Detektor arbeitet eindimensional in dem Sinne, daß alle Lösungskomponenten zur jeweils gemessenen Signalintensität beitragen. In diesem Falle könnten die Signale von Substanzen, die in Spuren vorhanden sind, nicht vom Hintergrundsignal unterschieden werden, das durch die im Überschuß vorhandenen anderen Komponenten hervorgerufen wird. Das Massenspektrometer als Detektor ermöglicht eine zweidimensionale Analyse, bei der selbst in Spuren vorhandene Komponenten erkannt werden können, sofern deren m/z -Verhältnis von dem der anderen Lösungskomponenten abweicht.

Um die Leistungsfähigkeit der FAC/MS-Kopplung beim Screening von Gemischen zu demonstrieren, präparierten wir eine Mikrosäule, die einen immobilisierten monoklonalen Antikörper enthielt, und koppelten diese mit einem Elektrospray-Massenspektrometer (Abb. 1). Der Kohlenhydrate bindende Antikörper erkennt das 3,6-Didesoxy-D-xylohexose-

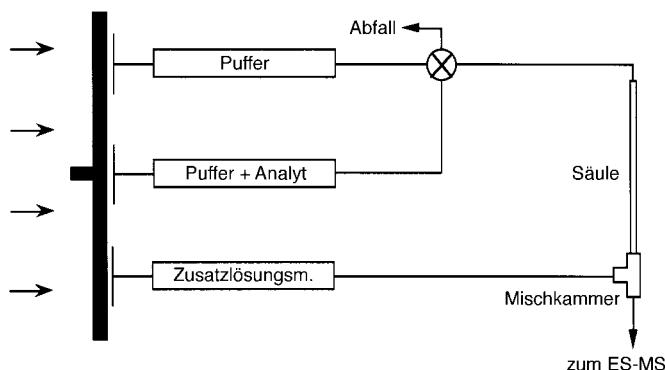
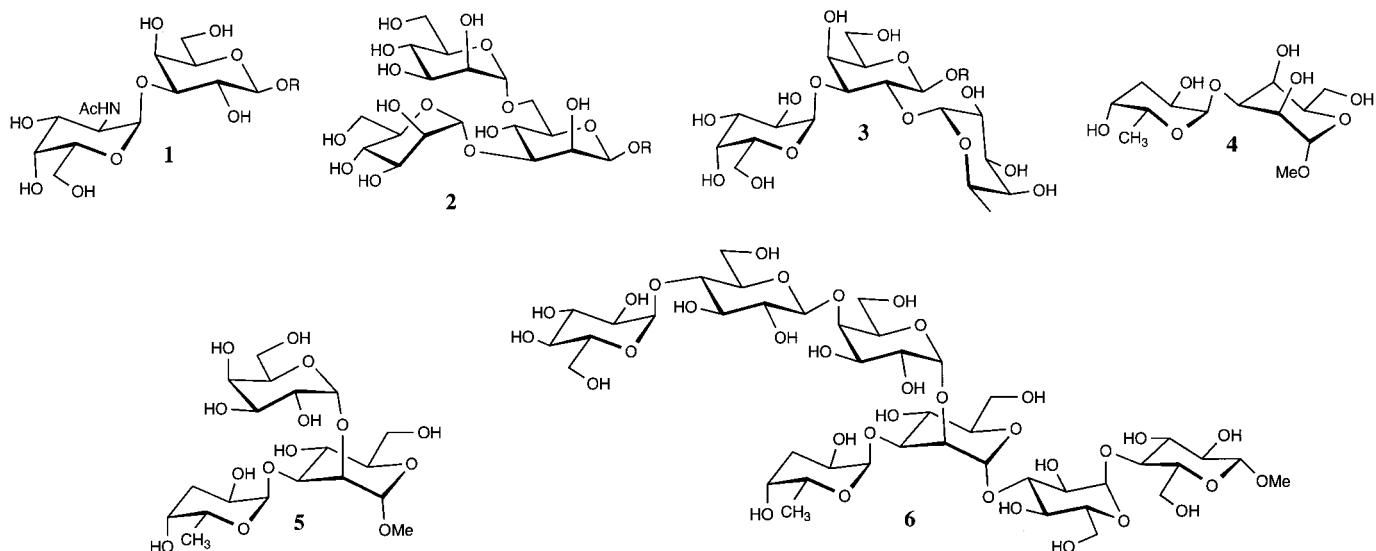


Abb. 1. Schematische Darstellung der FAC/MS-Apparatur.

Epitop (Abequose) von *Salmonella-paratyphi*-B-O-Antigenen.^[9, 10] Der affinitätsgereinigte Antikörper wurde biotinyliert und dann mit Harzkügelchen inkubiert, die mit Avidin kovalent modifiziert waren. Die Kügelchen wurden dann als Aufschämmung in eine Poly(ether-etherketon)(PEEK)-Säule mit einem Innendurchmesser von 500 μm und einer Länge von 11.5 cm gepackt (ca. 23 μL Säulenvolumen). Bei diesem Aufbau diente ein T-Stück sowohl als Säulenabschluß als auch als Mischkammer für den Eluenten und ein zur Probenvor-

[*] Prof. O. Hindsgaul, Dr. D. Schriemer, Prof. D. Bundle, Prof. L. Li
Department of Chemistry, University of Alberta
Edmonton, AB, T6G 2G2 (Kanada)
Fax: (+1) 403-492-7705
E-mail: ole.hindsgaul@ualberta.ca

Schema 1. Strukturen der verwendeten Oligosaccharide ($R = O(CH_2)_8COOMe$).

bereitung zugesetztes organisches Lösungsmittel. Die Säule wurde dann direkt an ein Elektrospray-Massenspektrometer angeschlossen. Für den Front-Betrieb wurde die Säule zuerst mit Ammoniumacetat-Puffer ($(NH_4OAc, 2\text{ mM}, \text{pH } 6.7)$ gespült. Danach wurde der Zulauf auf eine zweite Lösung umgeschaltet, die ein Gemisch aus sechs Oligosacchariden (Schema 1) in Konzentrationen von jeweils $1\text{ }\mu\text{M}$ in NH_4OAc -Pufferlösung enthielt. Diese Lösung diente als Modell einer einfachen kombinatorischen „Substanzbibliothek“. Drei dieser Oligosaccharide (**1–3**) sind nicht spezifisch für den Antikörper. Die anderen drei (**4–6**) weisen die Minimalanforderung für eine Erkennung (Abequose) auf und decken einen Bereich unterschiedlicher Affinitäten für den Antikörper ab. Die K_d -Werte der aktiven Liganden wurden unabhängig durch Titrations-Mikrokalorimetrie bestimmt (Tabelle 1).

Es wurde das Totalionenstrom-Chromatogramm (TIC) eines 50 Minuten dauernden Laufs dieser Mischung durch die Säule gemessen (Abb. 2, oben), wobei von jedem Oligosaccharid lediglich 400 pmol verbraucht wurden. Signale bei spezifischen m/z -Werten konnten durch Analyse der Massenspektren, auf denen das TIC beruht, identifiziert werden und ermöglichen die Erstellung von Chromatogrammen für ausgewählte Ionen (Abb. 2, Mitte). Die aus diesem Mehr-

ionen-Chromatogramm nach unterschiedlichen Zeiten erhaltenen Massenspektren (Abb. 2, unten) geben deutlich das Vordringen der Oligosaccharide in der Säule wieder. Die Verbindungen **1–3** brechen im Totvolumen (V_0) durch, die Komponenten **4–6** dagegen später, wobei die jeweiligen Volumina V_X von den Konzentrationen der Komponenten und deren K_d -Werten abhängen. Das Durchbruchvolumen $V_X - V_0$ für einen einzelnen Liganden kann anhand von Gleichung (1) bestimmt werden, wobei B_t die dynamische

$$V_X - V_0 = \frac{B_t}{[X]_0 + (K_d)_X} \quad (1)$$

Bindungskapazität der Säule und X die jeweilige Substanz mit ihrer Dissoziationskonstanten K_d bezeichnet.^[7] Diese einfache Gleichung sagt aus, daß mit bekannten Werten für B_t und die Konzentration eines Liganden die Dissoziationskonstante durch eine einfache Messung von $V - V_0$ bestimmt werden kann. Zur Bestimmung von B_t wurde **5** in verschiedenen Konzentrationen auf die Säule gegeben, und die entsprechenden $V - V_0$ -Werte wurden gemessen. Die Auftragung von $([5](V - V_0))^{-1}$ gegen $[5]^{-1}$ (Abb. 3) liefert B_t als Kehrwert des Schnittpunkts mit der y -Achse zu 554 pmol (entsprechend einem Lineweaver-Burk-Diagramm). Jedes Antikörpermolekül enthält zwei Bindungszentren, so daß

Tabelle 1. Molekulargewichte und Dissoziationskonstanten der Oligosaccharide **1–6**.

Oligosaccharid ($R = O(CH_2)_8CO_2Me$)	m/z [(MNa) $^+$] ^[a]	mikrokalorimetrisch ^[c]	$K_d \pm s$ [μM] ^[b] FAC/MS einzeln ^[d]	$K_d \pm s$ [μM] ^[b] FAC/MS Gemisch ^[e]
α GalNAc(1→3) β Gal-OR 1	576.3	–	–	–
α Gal(1→3)[α Fuc(1→2)] β Gal-OR 2	681.3	–	–	–
α Man(1→3)[α Man(1→6)] β Man-OR 3	697.3	–	–	–
α Abe(1→3) α Tal-OMe 4	347.0	190	185 ± 17	178 ± 23
α Gal(1→2)[α Abe(1→3)] α Man-OMe 5	509.2	6.3	12.6 ± 1.3	10.2 ± 1.1
α Glc(1→4) β Glc(1→4) α Gal(1→2)[α Abe(1→3)]- α Man(1→3) α Glc(1→4) β Glc-OMe 6	1157.4	0.88	1.79 ± 0.20	1.71 ± 0.16

[a] Monoisotope Molekulmasse des einfach positiv geladenen Natrium-Addukts. [b] Dissoziationskonstante mit der zugehörigen Standardabweichung, errechnet mit Gleichung (1). Alle Werte wurden mit Ausnahme des ersten FAC/MS-Eintrags für **5** (aus Abb. 3) aus drei Messungen bestimmt. Die Standardabweichungen s beinhalten den Fehler von B_t . [c] Nicht veröffentlichte Daten, bestimmt durch in Lit. [9] beschriebene Methoden. [d] Durch Aufgabe einzelner Liganden **1–3** bestimmte Werte. [e] Durch Aufgabe der aus sechs Verbindungen bestehenden Mischung erhaltene Werte.

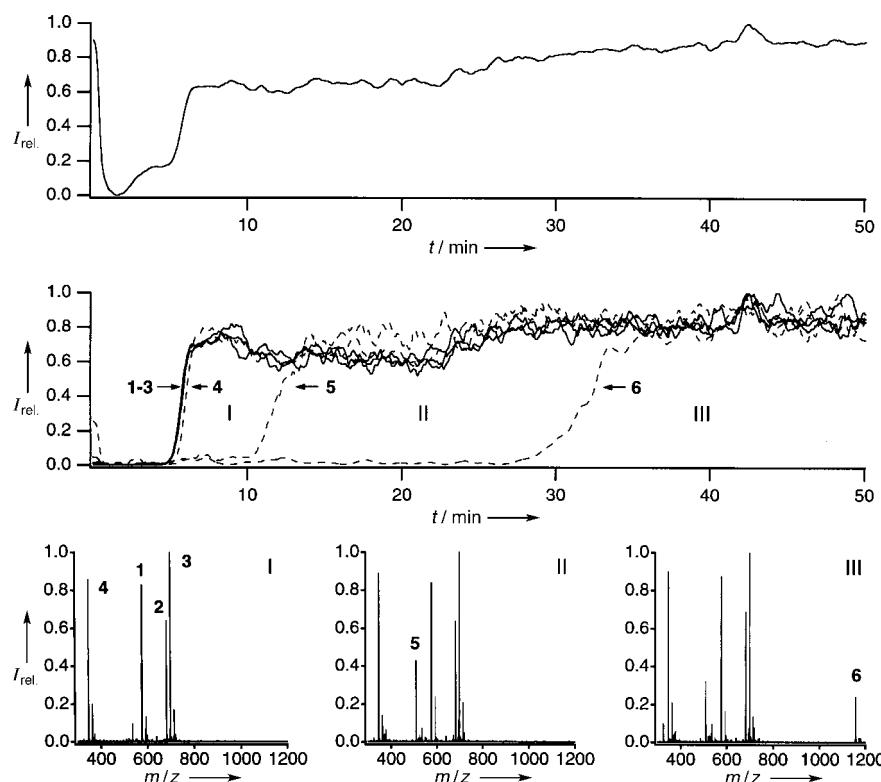


Abb. 2. Auswertung eines Front-Chromatogramms. Oben: Totalionenstrom-Chromatogramm (TIC). Mitte: Ionenstrom-Chromatogramme ausgewählter Ionen aller sechs Verbindungen. Die Verbindungen **1–3** brechen gleichzeitig durch (durchgezogene Linie). Unten: Aus dem TIC zu bestimmten Zeiten erhaltene Spektren. Ein Spektrum zu Beginn der Durchbruchs von **4** ist nicht enthalten.

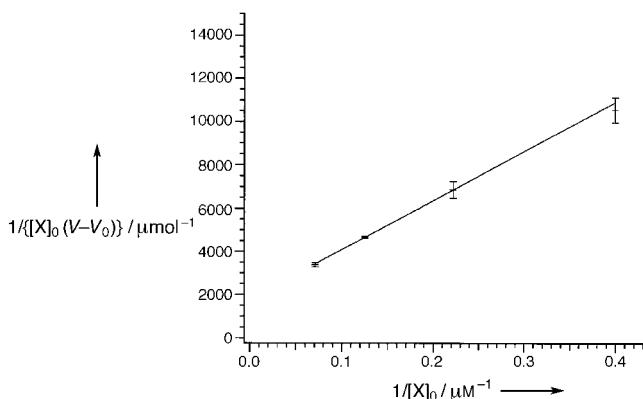


Abb. 3. Bestimmung der Säulenkapazität und der Ligandenbindungsaffinität von **5** durch FAC/MS mit linearer Regression der experimentellen Daten. Die Datenpunkte entsprechen den Mittelwerten aus drei Messungen, und die Ausgleichsfunktion ist mit dem Kehrwert ihrer Standardabweichungen gewichtet.

dieser Wert einer aktiven Proteinkapazität von 277 pmol entspricht (entsprechend ca. 100% der Gesamtmenge an gebundenem Protein). Der negative Kehrwert des Schnittpunktes mit der x -Achse entspricht einem K_d -Wert von $12.6 \mu\text{M}$ für diese Verbindung, der damit nur um den Faktor zwei von dem durch Mikrokalorimetrie bestimmten Wert abweicht (Tabelle 1).

Die Kenntnis der Säulenkapazität vor Beginn des Screenings eines Gemisches sowie der Konzentrationen in einem Gemisch ermöglicht die Bestimmung der Dissoziationskon-

stanten aller Liganden mit einem einzigen Front-Chromatogramm. Bei Substanzen mit $[X] \ll (K_d)_X$ kann K_d einfach anhand von Gleichung (1) auch in Gegenwart stärker bindender Komponenten bestimmt werden. Beispielsweise wurde K_d von **4** anhand des Chromatogramms der Mischung verschiedener Liganden (Abb. 2) zu $178 \pm 23 \mu\text{M}$ bestimmt, was mit dem an der Einzelsubstanz bestimmten Wert ($185 \pm 17 \mu\text{M}$, Tabelle 1) gut übereinstimmt. Die Konzentration von **5** war auch ausreichend niedriger als der K_d -Wert ($12.6 \mu\text{M}$), so daß K_d auch mit Gleichung (1) aus Chromatogrammen der Ligandenmischung bestimmt werden kann. Dieser Wert stimmt mit dem an der Reinsubstanz gemessenen im Rahmen der 95%-Fehlergrenze gut überein (Tabelle 1). Des weiteren liegen die beiden Verbindungen **4** und **5** nicht in ausreichend hohen Konzentrationen vor, um mit dem stärksten Liganden (**6**) um Bindungsstellen konkurrieren zu können, weshalb dessen K_d -Wert im Gemisch direkt mit Gleichung (1) errechnet werden kann. Dies bestätigt sich auch durch die Äquivalenz der Werte der Mischung und der Reinsubstanz (Tabelle 1). Da

im Fall einer Konkurrenzsituation mehrerer Liganden die Mischung nach Verdünnung erneut untersucht werden kann, können so die hier beschriebenen Bedingungen im allgemeinen eingehalten werden.

Selbstverständlich würden auch Substanzen, die unspezifisch an Säulelemente (Wände, Harzkügelchen, Protein) binden, Durchbruchvolumina aufweisen, welche größer wären als das Totvolumen des Systems, was zu einer falschen Aussage über ihre Aktivität führen würde. Dies kann jedoch leicht kontrolliert werden. Komponenten einer Bibliothek, die unter Beeinträchtigung der Aktivität des immobilisierten Rezeptors binden, werden den B_i -Wert erniedrigen. Trägt man auf eine Säule nach Einstellung des dynamischen Gleichgewichts mit der Substanzbibliothek eine bekannte Substanz auf, so erhält man für diesen Liganden einen verminderten $V - V_0$ -Wert wegen des kleineren B_i -Werts. Der bekannte Ligand liefert auf einer vollständig aktiven Säule den Erwartungswert für $V - V_0$. Unspezifisch gebundene Spezies würden zu keiner Verminderung von $V - V_0$ für diesen Liganden führen, so daß eine beobachtete Verringerung eindeutig auf Liganden in der Bibliothek hinweist.

Die FAC/MS-Technik ist besonders vorteilhaft, da ein Protein-Ligand-Denaturierungsschritt im Screening der Mischung oder bei der Bestimmung von Dissoziationskonstanten entfällt. Die Säule kann losgelöst von der Meßapparatur durch Waschen mit großen Mengen an Pufferlösung mit oder ohne einen Konkurrenzliganden regeneriert werden, wodurch der Rezeptor erhalten bleibt. Die in dieser Untersuchung verwendete Säule wurde mehr als 100mal verwendet, ohne

daß ein Aktivitätsverlust und/oder ein Ausbluten des Antikörpers festzustellen gewesen wären. Des weiteren bietet der Umstand, daß nicht auf eine stark denaturierende Pufferlösung zur Elution der Verbindungen umgeschaltet werden muß, praktische Vorteile bei der Massenspektrometrie. Die Elektrospray-massenspektrometrische Detektion muß nur auf ein statt auf zwei oder mehr Puffersysteme hin optimiert werden.

Diese neue Technik kann also zur Beschleunigung des Screenings von Substanzbibliotheken eingesetzt werden. In Gemischen enthaltene aktive Komponenten können anhand eines einzigen Chromatogramms sowohl identifiziert als auch hinsichtlich ihrer K_d -Werte klassifiziert werden. Ein weiterer, wichtiger Vorteil dieser Methode im Vergleich zu herkömmlichen Inhibierungsexperimenten ist, daß das Molekulargewicht der aktiven Komponenten bestimmt werden kann, wodurch falsch-positive Resultate infolge von Nebenprodukten oder Verunreinigungen ausgeschlossen werden können. Dieser Ansatz erfordert lediglich die Biotinylierung des untersuchten Rezeptors und sollte auf eine Vielzahl anderer Systeme übertragbar sein. Die Gegenwart isobarer Verbindungen und/oder die Unterscheidung von Substanzen bei der Bildung von Ionen in der Gasphase^[11] begrenzen allerdings den Umfang der mit dieser Methode untersuchbaren Bibliotheken.

Experimentelles

Affinitäts gereinigte Antikörper^[10] (0.5 mg) wurden mit einem Biotin-Reagens mit langem Spacer umgesetzt (NHS-LC-Biotin, Pierce). Der Grad der Biotinaufnahme wurde durch matrixassistierte Laserdesorptions/Ionisations(MALDI)-Massenspektrometrie kontrolliert, und die Umsetzung wurde bei 14 Biotineinheiten pro Immunoglobulin G (Mittelwert) abgebrochen.^[12] Der biotinierte Antikörper wurde mit 25 μ L Ultralink-immobilisiertem Avidin (Pierce, Kat.-Nr 53119) in Bicarbonatpuffer (pH 8.5) 1 h inkubiert. Die Harzkügelchen wurden gründlich gewaschen. Eine UV-Bestimmung ergab eine Immobilisierung von ca. 45 μ g Antikörper auf 25 μ L Kügelchen.

Alle Lösungen wurden gleichzeitig mit einer für mehrere Spritzen ausgelegten Spritzenpumpe (PHD 2000, Harvard Apparatus) mit einem Fluß von 8 μ L min⁻¹ pro Spritze (1-mL-Spritzen) zudosiert. Zur Flußumschaltung wurde ein Rheodyne-Ventil (Modell 9725) eingesetzt. Das Säuleneluat wurde im T-Stück mit einem NH₄OAc-Puffer (10 Vol.-% in Acetonitril) vermischt, und der Gesamtstrom von 16 μ L min⁻¹ wurde einem im Positiv-Ionen-Modus betriebenen 1100-MSD-Electrospray-Single-Quadrupole-Massenspektrometer (Hewlett-Packard) zugeführt. Alle 2.5 s wurde ein Scan im Bereich m/z 100–1500 durchgeführt; die Daten wurden im Standard-Peakmaximum-Modus gespeichert. Die Kammerspannung betrug –4000 V, und die Elektrospray-Nadel war geerdet. Der Stickstoff-Trocknungsstrom lag bei 4 L min⁻¹, und der Stickstoff-Vernebelungsdruck betrug 480 mbar. Die Durchbruchvolumina wurden als Halbwertsvolumina in den jeweiligen Ionenchromatogrammen bei den jeweiligen m/z -Werten bestimmt.

Eingegangen am 1. Juli 1998 [Z12085]

Stichwörter: Affinitätschromatographie • Kohlenhydrate • Kombinatorische Chemie • Massenspektrometrie

- [1] K. S. Lam, *Anti-Cancer Drug Des.* **1997**, *12*, 145–167.
[2] P. M. Sweetnam, C. H. Price, J. W. Ferkany in *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery* (Hrsg.: M. E. Wolff), Wiley, New York, **1995**, S. 697–731.

- [3] R. H. Griffey, M. J. Greig, C. Guinoss, A. Kawasaki, H. Gaus, H. An, P. D. Cook in *Proceedings of the 45th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Palm Springs, CA, **1997**, S. 400.
[4] L. Fang, M. Dreyer, Y. Chen, M. Plunkett, M. Hocker in *Proceedings of the 45th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Palm Springs, CA, **1997**, S. 401.
[5] Siehe z. B.: a) Y.-H. Chu, Y. M. Dunayevskiy, D. P. Kirby, P. Vouros, B. L. Karger, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7827–7835; b) Y.-Z. Zhao, R. B. van Breemen, D. Nikolic, C.-R. Huang, C. P. Woodbury, A. Schilling, D. L. Venton, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 4006–4012. c) Y. F. Hsieh, N. Gordon, F. Regnier, N. Afeyan, S. A. Martin, G. J. Vella, *Mol. Div.* **1996**, *2*, 189–196.
[6] Siehe z. B.: a) R. W. Nelson, J. R. Krone, A. L. Bieber, P. Williams, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1153–1158; b) D. C. Schriemer, L. Li, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 3382–3387; c) R. Wieboldt, J. Zweigenbaum, J. Henion, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 1683–1691; d) R. B. van Breemen, C.-R. Huang, D. Nikolic, C. P. Woodbury, Y.-Z. Zhao, D. L. Venton, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2159–2164.
[7] K.-I. Kasai, Y. J. Oda, *Chromatogr.* **1986**, *376*, 33–47.
[8] Siehe z. B.: a) H. Ibrahim, A. F. Aubry, *Anal. Biochem.* **1995**, *229*, 272–277; b) J. Renard, C. Vidal Madjar, C. Lapresle, *J. Colloid Interface Sci.* **1995**, *174*, 61–67; c) M. Bjorklund, M. T. W. Hearn, *J. Chromatogr. A* **1996**, *145*–162; d) S. Lin, L. R. Drake, G. D. Rayson, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 4087–4093, zit. Lit.
[9] D. R. Bundle, E. Eichler, M. A. J. Gidney, M. Meldal, A. Ragauskas, B. W. Sigurskjold, B. Sinnott, D. C. Watson, M. Yaguchi, N. M. Young, *Biochemistry* **1994**, *33*, 5172–5182.
[10] E. Altman, D. R. Bundle, *Meth. Enzymol.* **1994**, *242*, 243–253.
[11] U. Bahr, A. Pfenniger, M. Karas, B. Stahl, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 4530–4535.
[12] D. C. Schriemer, L. Li, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 3382–3387.

Hohlraumverkleinerung in permethylierten Cyclodextrinen durch Inversion, Drehen und Kippen der Glucosebausteine**

Thomas Steiner* und Wolfram Saenger*

Professor Bernt Krebs zum 60. Geburtstag gewidmet

Cyclodextrine (CD) oder Cycloamylosen (CA) sind makrocyclische Oligosaccharide, die durch enzymatischen Abbau von Amylose gewonnen werden; sie enthalten bis zu 100 und mehr α (1-4)-verknüpfte Glucosebausteine^[1, 2]. Die kleinsten und bekanntesten mit 6–8 Glucoseresten sind α -, β - und γ -Cyclodextrin. Sie haben die Gestalt gekappter Hohlkegel, deren enge Seite von primären O6-Hydroxygruppen besetzt ist, während die weite Öffnung von sekundären O2- und O3-Hydroxygruppen umgeben ist. Da alle Glycosidbindungen der ausschließlich in der 4 C₁-Sesselkonformation vorliegenden Glucoseeinheiten syn-orientiert sind, liegen alle O2- und O3-Hydroxygruppen auf einer Seite und stabilisieren die

[*] Prof. Dr. W. Saenger, Dr. T. Steiner
Institut für Kristallographie der Freien Universität
Takustraße 6, D-14195 Berlin
Fax: (+49) 30-838-6702
E-mail: saenger@chemie.fu-berlin.de

[**] Topographie der Cyclodextrin-Einschlüssebindungen, 43. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SA 196/25-1) und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. – 42. Mitteilung: T. Aree, J. Jacob, W. Saenger, H. Moier, *Carbohydr. Res.* **1998**, *307*, 191–197.