

# Erstmalige Verwendung eines anorganischen Flüssigkristalls für die Messung der Rest-Dipol-Dipol-Kopplung eines nichtmarkierten Biomoleküls\*

Hervé Desvaux,\* Jean-Christophe P. Gabriel,\*  
Patrick Berthault und Franck Camerel

Professor Fred Wudl zum 60. Geburtstag gewidmet

Bei der klassischen NMR-spektroskopischen Bestimmung der Konformation eines Biomoleküls<sup>[1]</sup> werden aus der skalaren Kopplung  $^3J$  und der  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -Dipol-Dipol-Kreuzrelaxationsgeschwindigkeit, die eine  $1/r^6$ -Abhängigkeit aufweist ( $r$  = Kernabstand), Diederwinkel bzw. Abstände ermittelt. Diese Methode liefert allerdings nur Strukturinformationen über kurze Entfernungen (über wenige Bindungen bei der skalaren Kopplung und über Abstände von weniger als 5 Å bei der Relaxation). Da so nur wenige Parameter pro Kern gemessen werden können, kann die Fehlerhäufung (z. B. bei Multidomänproteinen, Oligosacchariden oder Oligonucleotiden) zu einer ungenauen Gesamtstruktur führen. Um dieses Problem zu vermeiden, wurde ein anderer Ansatz vorgeschlagen, bei dem zusätzlich Strukturdaten verwendet werden, die relativ zu einem absoluten molekularen Rahmen definiert sind.<sup>[2, 3]</sup> Besonders interessant sind Methoden, bei denen die Rest-Dipol-Dipol-Kopplung genutzt wird.<sup>[3, 4]</sup> Da diese Dipol-Dipol-Kopplungen wegen der fast isotropen Drehung (tumbling) der Lösungsmittelmoleküle im Mittel nahezu Null (einige Zehntel Hz) betragen, ist es notwendig, diese Bewegung anisotroper zu machen. Dies kann erreicht werden, indem man die wässrige Phase gegen ein anisotropes Medium austauscht, wie z. B. eine magnetisch orientierte Mesophase.<sup>[4]</sup> Dann tritt eine Kopplung  $D$  zusätzlich zur üblichen skalaren Kopplung  $J$  auf, wodurch die Signale um einige wenige Hz weiter aufgespalten werden.<sup>[5]</sup> Indem man Spinpaare mit bekannten Abständen verwendet (z. B. jede C-H- oder N-H-Bindung), kann man schließlich genauere und über größere Abstände reichende Strukturinformationen erhalten.<sup>[5]</sup>

[\*] Dr. H. Desvaux, Dr. P. Berthault  
Service de Chimie Moléculaire  
C.E.A. Saclay  
91191 Gif sur Yvette (Frankreich)  
Fax: (+33)16908-9806  
E-mail: hdesvaux@Cea.fr

Dr. J.-C. P. Gabriel, F. Camerel  
Institut des Matériaux Jean Rouxel  
Sciences Moléculaires aux Interfaces  
2, rue de la Houssinière, B.P. 32229, 44322 Nantes (Frankreich)  
Fax: (+33)24037-6434  
E-mail: jcgabriel@cnsr-immn.fr

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom französischen Ministerium für Erziehung (Stipendium an F.C.), von der Région Pays de Loire und vom GDR-CNRS 690 FORMES ( $\text{D}_2\text{O}$ ) gefördert. Wir danken Dr. Patrick Davidson für hilfreiche Diskussionen, Stéphane Grolleau für die TGA-Messungen und Prof. Pierre Sinaÿ sowie Dr. Yongmin Zhang, Paris, für die Überlassung des Pentasaccharides.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Es gibt derzeit vier Arten organisch/biologischer Flüssigkristalle (LC), die erfolgreich für diesen Zweck verwendet werden: Bicellen auf Tensidbasis,<sup>[4, 6, 7]</sup> purpurfarbene Membranen,<sup>[8]</sup> Phagen<sup>[9]</sup> und Cellulosemikrokristalle.<sup>[10]</sup> Im Folgenden verwenden wir anorganische Flüssigkristalle (mineral liquid crystals, MLCs),<sup>[11]</sup> um ein anisotropes Medium zu erhalten. Diese haben zahlreiche grundlegende Vorteile: 1) Einige MLCs können durch Anlegen eines Magnetfelds gut orientiert werden,<sup>[12]</sup> wobei nur kleine Mengen des anorganischen Materials benötigt werden (1–3 Gew.-%, gegenüber 5–30 Gew.-% bei Bicellen, 10 Gew.-% bei purpurfarbenen Membranen, 5 Gew.-% bei Phagen und 8 Gew.-% bei Cellulose). 2) Diese MLCs, die sich bisweilen in polaren Lösungsmitteln außer Wasser bilden, geben nematische Phasen, die über lange Zeit (einige Jahre) und über einen großen Temperaturbereich (Existenzbereich des flüssigen Lösungsmittels) stabil sind. Hierin unterscheiden sie sich wesentlich von organischen LC-Systemen, deren Stabilität oft ein experimentelles Problem für die genannte NMR-Methode ist.<sup>[15]</sup> 3) Das gelöste Biomolekül kann nach dem Experiment sehr einfach nach Fällung des Mineralkolloids zurückgewonnen werden. 4) Schließlich ist eine Isotopenmarkierung des zu untersuchenden Moleküls überflüssig, da das Medium keine  $^1\text{H}$ - oder  $^{13}\text{C}$ -Kerne enthält, während bei organischen Flüssigkristallen das NMR-Spektrum wegen des hohen Verhältnisses von LC- zu Biomolekülen von den Signalen ersterer dominiert wird. Dies ist sichtlich ein großer Vorteil, besonders für Systeme wie Oligosaccharide oder Oligonucleotide, deren chemische Markierung präparativ schwierig und darüber hinaus teuer ist. Im Folgenden wird das Potential solcher MLCs für die NMR-spektroskopische strukturelle Charakterisierung aufgezeigt. Wir berichten über die Bestimmung der Rest-Dipol-Dipol-C-H-Kopplung an einem unmarkierten, das Lewis<sup>x</sup>-Motiv enthaltenden Pentasaccharid (siehe Abbildung 1) in einer einfach herzustellenden und leicht handhabbaren wässrigen Suspension von Vanadiumpentoxid ( $\text{V}_2\text{O}_5$ ).

In ihren Untersuchungen des Verhaltens von wässrigen Suspensionen von  $\text{V}_2\text{O}_5$  im magnetischen Feld, haben Davidson und Mitarbeiter gezeigt, dass das Phasendiagramm einer  $\text{V}_2\text{O}_5$ -Suspension in Wasser eine Konzentrationsdomäne aufweist ( $0.13 < c < 0.2 \text{ M}$ ), in welcher die nematische Phase fließt und leicht durch das magnetische Feld ausgerichtet werden kann.<sup>[14, 16]</sup> Wir entschlossen uns deshalb, mit einer  $\text{V}_2\text{O}_5$ -Konzentration etwas oberhalb von 0.13 M und bei pH 2.5 zu arbeiten. Die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Verschiebungen eines in einer wässrigen  $\text{V}_2\text{O}_5$ -Suspension gelösten Pentasaccharides waren identisch mit denen in reinem  $\text{D}_2\text{O}$ . Die dynamischen Eigenschaften des Zuckers im nematischen Medium werden in der erwarteten Weise beeinflusst. Die Erhöhung der lokalen Korrelationszeiten, die aus Off-Resonance- $^1\text{H}$ -Dipol-Dipol-Kreuzrelaxationsgeschwindigkeiten abgeleitet wurden,<sup>[17]</sup> wird durch die höhere Viskosität der Lösung verursacht. Dies führt zur erwarteten Erhöhung der longitudinalen und der transversalen Selbstrelaxationsgeschwindigkeiten der Protonen und weist darauf hin, dass paramagnetische Verunreinigungen in  $\text{V}_2\text{O}_5$  ( $\text{V}^{IV}$ ) kaum einen Einfluss haben. Der Unterschied zwischen den  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -Aufspaltungen ( $J + D$ ) des in MLC gelösten Pentasaccharids und den

entsprechenden  $J$ -Werten in reinem  $D_2O$  bei gleichem pH-Wert sind in Abbildung 1 gezeigt und liegen zwischen  $-4.4$  und  $15.7$  Hz.<sup>[18]</sup> Die  $D$ -Werte sind viel größer als die experimentellen Ungenauigkeiten der Messungen;<sup>[19]</sup> sie können nicht durch einen Relaxationsmechanismus erklärt werden,

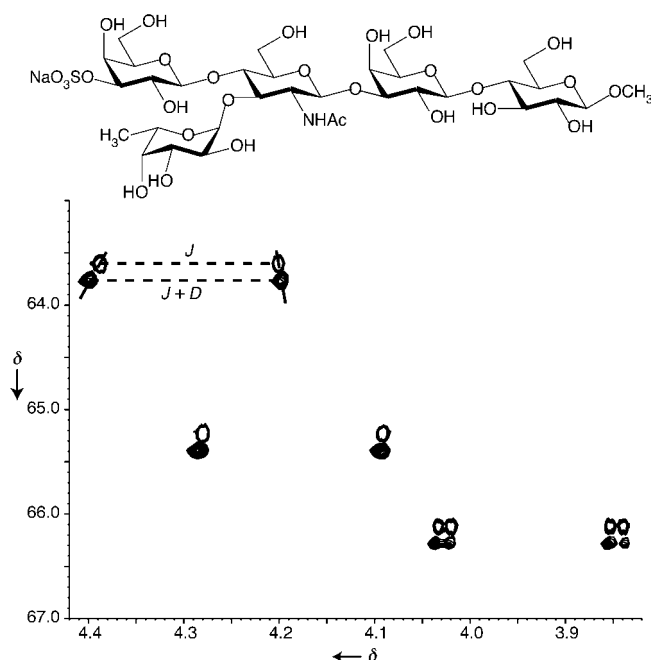


Abbildung 1. Überlagerung einer Region der  $^{13}C$ - $^1H$ -Korrelationsdiagramme des Pentasaccharids gemessen in reinem  $D_2O$  (helle Kreuzpeaks; der Klarheit halber wurde dieses Spektrum um  $0.15$  ppm entlang der  $^{13}C$ -Dimension verschoben) und im MLC-Medium (dunkle Kreuzpeaks). Da keine Entkopplung während der Messung angewendet wurde, können die  $D$ -Werte bestimmt werden. Für die drei gezeigten C-H-Paare, die dem C-4 der sulfatierten Galactoseeinheit, dem C-4 der Galactoseeinheit und dem C-3 der Fucoseeinheit entsprechen (von links oben nach rechts unten), erhält man  $D = 8.3, 2.0$  bzw.  $-0.4$  Hz.

da dieser auch die natürliche Linienbreite der Peaks in mindestens der gleichen Größenordnung beeinflussen müsste.<sup>[20, 21]</sup> Wir können deshalb mit Sicherheit diese zusätzlichen Aufspaltungen auf Rest-Dipol-Dipol-Kopplungen zurückführen. Diese Interpretation wird dadurch bestätigt, dass die  $D$ -Werte für alle axialen C-H-Bindungen jeder Pyranosideinheit ähnlich groß sind.<sup>[18, 22]</sup>

Bemerkenswert ist, dass bei solch niedriger MLC-Konzentration ( $< 2.4$  Gew.-%) sowohl im  $^1H$ - als auch im  $^{13}C$ -NMR-Spektrum relativ große Unterschiede in den Signalaufspaltungen für ein so kleines Molekül auftreten. Demgegenüber verwendeten Bolon und Prestegard<sup>[23a]</sup> sowie Martin-Pastor und Bush<sup>[23b]</sup> etwa 20 Gew.-% DHPC/DMPC (DHPC, DMPC = 1,2-Dihexanoyl- bzw. 1,2-Ditetradecanoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin) in Wasser, um die Ausrichtung von Oligosacchariden ähnlicher Größe zu messen. Hierbei wurde die Orientierung des Biomoleküls durch einen Ausschlussvolumen-Effekt erreicht;<sup>[24]</sup> da die Anisotropie des Biomoleküls gewöhnlich klein ist, bedarf es eines großen Volumenanteils an Bicellen, um es teilweise zu orientieren.<sup>[24, 25]</sup> Für  $V_2O_5$  nimmt man an, dass der Mechanismus der Orientierung mehr dem bei purpurfarbenen Membranen ähnelt, bei dem das

Biomolekül hauptsächlich durch elektrostatische Wechselwirkungen zur stark geladenen Oberfläche sowie durch zahlreiche mögliche Wasserstoffbrückenbindungen orientiert wird. Die Orientierungstensen des Biomoleküls in diesen beiden Medien ( $V_2O_5$  und Bicellen) sind daher erwartungsgemäß verschieden, was ein weiterer Grund für die Entwicklung neuer anisotroper Medien in Hinblick auf noch genauere Strukturaufklärungen ist.<sup>[7]</sup>

Wir haben hier gezeigt, dass die Verwendung von MLCs in leicht handhabbarer, niedriger Konzentration (2–3 Gew.-%) neue Wege für die Messung der Rest-Dipol-Dipol-Kopplung eines Biomoleküls eröffnet, ohne dass eine Isotopenmarkierung erforderlich ist. Unseres Wissens ist dies die erste Anwendung der mesogenen Eigenschaften eines MLC. Da  $V_2O_5$ -Bänder nur im pH-Bereich von 1 bis 3 stabil sind, ist es schließlich wichtig, MLCs zu finden, die bei höheren pH-Werten verwendet werden können. Untersuchungen hierzu sind im Gange. Darüber hinaus untersuchen wir derzeit weitere bekannte MLCs wie Montmorillonit (Smektit)-Tone,<sup>[26]</sup> Imogolit-Nanoröhrchen (Aluminosilicate),<sup>[27]</sup> Böhmit-Stäbe ( $\gamma$ - $Al(OH)_3$ )<sup>[28]</sup> und Gibbsit-Scheiben ( $Al(OH)_3$ )<sup>[29]</sup> in ihrer reinen Form sowie dotiert mit paramagnetischen Metallen, die die Ausrichtung im Magnetfeld fördern.

### Experimentelles

**Synthese:** Die verschiedenen Möglichkeiten zur Synthese wässriger  $V_2O_5$ -Suspensionen wurden kürzlich beschrieben.<sup>[30]</sup> Für unsere NMR-Messungen, in denen wir nichtaustauschbare Protonen untersuchten, war es notwendig, deuteriertes Wasser ( $D_2O > 95\%$ ) zu verwenden. Um mit möglichst geringen  $D_2O$ -Mengen auszukommen, haben wir die Synthese an Ionenaustauschern in kleinem Maßstab durchgeführt.<sup>[30, 31]</sup> In einem typischen Ansatz wurden  $6.5$  mL Natriummetavanadat in reinem  $D_2O$  (99.90 % D, Euriso-Top) gelöst ( $[NaVO_3] = 1.0$  M), die Lösung wurde auf eine mit Protonen-Ionenaustauscherharz (Dowex 50 W-X2, 50–100 mesh,  $6.15$  g) gefüllte Säule (Innendurchmesser  $1.1$  cm, Höhe  $19.5$  cm) gegeben und diese mit ca.  $40$  mL reinem  $D_2O$  eluiert. Der Austauscher war vorher mit folgenden Lösungsmitteln gewaschen worden: 1) wässrige NaOH-Lösung ( $1.0$  M,  $10$  mL); 2) reines  $H_2O$  (Millipore ( $18.2$  M $\Omega$  cm), ca.  $100$  mL), bis pH 7 erreicht wurde; 3) wässrige HCl-Lösung ( $1.0$  M,  $10$  mL) und 4) reines  $H_2O$  (ca.  $100$  mL), bis wieder pH 7 erreicht wurde. Diese Waschprozedur wurde dreimal wiederholt, wobei im letzten Waschvorgang reines  $D_2O$  (ca.  $100$  mL) verwendet wurde.

Die farbigen Eluate wurden in  $2.0$ -mL-Fractionen gesammelt. Nach 24 h Alterung waren die Fractionen 5 und 6 homogene, viskose, doppelbrechende, dunkelrote Gele der Zusammensetzung  $V_2O_5 \cdot 128 D_2O$  ( $6.64$  Gew.-%,  $0.43$  M) bzw.  $V_2O_5 \cdot 320 D_2O$  ( $2.77$  Gew.-%,  $0.17$  M); die Zusammensetzung wurde durch thermogravimetrische Analyse (TGA) bis  $180^\circ C$  bestimmt. Die NMR-Probe wurde durch Verdünnen dieser beiden Fractionen mit  $D_2O$  erhalten, bis die Zusammensetzung  $V_2O_5 \cdot 380 D_2O$  ( $2.34$  Gew.-%,  $0.15$  M) erreicht war, was sehr nahe an der Grenze zum Zweiphasengebiet ( $2.22$  Gew.-%,  $0.13$  M) ist.<sup>[16]</sup> Laut  $^1H$ -NMR betrug die Anreicherung ca.  $95$ – $96\%$   $D_2O$ . Da  $V_2O_5$ -Suspensionen etwa zwei Wochen zur Reifung brauchen,<sup>[30]</sup> ließen wir sie vor dem NMR-Experiment etwa einen Monat altern. Die infolge der Orientierung des MLC auftretende  $^2H$ -Aufspaltung des vorhandenen Wassers betrug  $91$  Hz, in Übereinstimmung mit den Angaben in Lit. [14a].

Die NMR-Messungen wurden bei  $293$  K an einem Bruker-DRX-Spektrometer durchgeführt ( $18.6$  T;  $800$  MHz für  $^1H$ ), wobei ein inverser 5-mm-Triple-Resonanz-Messkopf verwendet wurde. Zwei Proben, die jeweils  $0.31$  mg Pentasaccharid<sup>[32]</sup> enthielten, wurden verwendet, eine gelöst in  $400$   $\mu L$   $D_2O$  und die andere in  $400$   $\mu L$  des MLC-Mediums ( $0.8$  mm). Die  $^1H$ - $^{13}C$ -2D-Konturdiagramme wurden mit der HSQC-Sequenz mit Empfindlichkeitssteigerung und Gradientenselektion gemessen.<sup>[34]</sup> Während der  $0.95$  s Messzeit (Auflösung  $0.53$  Hz) wurde nicht entkoppelt. Die Genauigkeit der  $^1H$ - $^{13}C$ -Dipol-Dipol-Aufspaltung  $D$  betrug etwa  $1$  Hz.

Das Biomolekül kann leicht aus dem MLC zurückgewonnen werden, da die meisten MLCs Suspensionen geladener Kolloide sind. Wie von der DLVO-Theorie vorausgesagt,<sup>[35]</sup> können sie durch Erhöhung der Ionenstärke ausgefällt werden.<sup>[36]</sup> Das Koagulat kann durch Zentrifugieren oder Filtrieren entfernt werden und das Biomolekül kann dann aus dem Überstand durch verschiedene Methoden, wie Chromatographie, Dialyse oder Extraktion mit organischen Lösungsmitteln, isoliert werden.

Eingegangen am 24. Juli 2000 [Z15512]

- [1] K. Wüthrich, *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley-Interscience, New York, 1986.
- [2] N. Tjandra, D. S. Garrett, A. M. Gronenborn, A. Bax, G. M. Clore, *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 443–449.
- [3] N. Tjandra, J. G. Omichinski, A. M. Gronenborn, G. M. Clore, A. Bax, *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 732–738.
- [4] N. Tjandra, A. Bax, *Science* **1997**, *278*, 1111–1114.
- [5] Die Rest-Dipol-Dipol-Kopplung  $D$  hängt ab vom Kernabstand und von den Polarwinkeln  $\theta$  und  $\phi$  zwischen dem Kernverbindungsvektor und den Hauptachsen des Tensors der molekularen Orientierung [Gl. (1)], wobei  $A_a$  und  $A_r$  die axiale bzw. rhombische Komponente sowie  $\gamma_i$  und  $\gamma_j$  die gyromagnetischen Verhältnisse der beiden betreffenden Spins sind. Diese Näherung ist, da die nichtverschwindenden dipolaren Beiträge klein gehalten werden (der Ordnungsparameter  $S$  des Biomoleküls sollte in der Größenordnung von  $10^{-3}$  liegen), mit Flüssigkeits-NMR-Methoden vereinbar.
 
$$D_{ij} = S \frac{\gamma_i \gamma_j \hbar}{r_{ij}^3} \left[ A_a \left( \frac{3}{2} \cos^2 \theta - \frac{1}{2} \right) + A_r \frac{3}{4} \sin^2 \theta \cos^2 \phi \right] \quad (1)$$
- [6] a) H. Wang, M. Eberstadt, E. T. Olejniczak, R. P. Meadows, S. W. Fesik, *J. Biomol. NMR* **1998**, *12*, 443–446; b) R. S. Prosser, J. A. Losoncz, I. V. Shiyonovskaya, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11010–11011; c) S. Cavagnero, H. J. Dyson, P. E. Wright, *J. Biomol. NMR* **1999**, *13*, 387–391.
- [7] B. E. Ramirez, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9106–9107.
- [8] B. W. Koenig, J.-S. Hu, M. Ottiger, S. Bose, R. W. Hendler, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1385–1386.
- [9] a) G. M. Clore, M. R. Starich, A. M. Gronenborn, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10571–10572; b) M. R. Hansen, M. Rance, A. Pardi, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11210–11211.
- [10] K. Fleming, D. Gray, S. Prasanna, S. Matthews, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5224–5225.
- [11] a) J.-C. P. Gabriel, P. Davidson, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 9–20; b) P. Davidson, P. Batail, J.-C. P. Gabriel, J. Livage, C. Sanchez, C. Bourgaux, *Prog. Polym. Sci.* **1997**, *22*, 913–936.
- [12] Im Fall der für diese Zwecke verwendeten organischen Systeme liegt der beste von einem magnetischen Feld induzierte nematische Ordnungsparameter in der Größenordnung von 0.5,<sup>[13]</sup> während er für MLCs 0.8 erreichen kann.<sup>[14]</sup>
- [13] C. R. Sanders II, B. J. Hare, K. P. Howard, J. H. Prestegard, *Prog. NMR Spectrosc.* **1994**, *26*, 421–444.
- [14] a) O. Pelletier, P. Sotta, P. Davidson, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 5427–5433; b) X. Commehes, P. Davidson, C. Bourgaux, J. Livage, *Adv. Mater.* **1997**, *9*, 900–903.
- [15] J. A. Losoncz, J. H. Prestegard, *J. Biomol. NMR* **1998**, *12*, 447–451.
- [16] Für  $V_2O_5$  in  $H_2O$  ist die Lösung bei einer Konzentration  $c < 0.09$  M isotrop. Im Konzentrationsbereich  $0.09 < c < 0.13$  M ist die Suspension zweiphasig (isotrope und nematische Phase). Höher konzentrierte Lösungen sind nematisch. Die nematische Phase bildet oberhalb von ca. 0.2 M infolge eines Sol-Gel-Übergangs zwei Domänen.<sup>[14]</sup> In der Gel-Domäne wird eine Orientierung durch die erheblich erhöhte Viskosität verhindert.
- [17] H. Desvaux, P. Berthault, *Prog. NMR Spectrosc.* **1999**, *35*, 295–340.
- [18] Die  $D$ -Werte sind in den Hintergrundinformationen zu finden.
- [19] Günstigerweise weichen die  $J+D$ -Werte nicht wesentlich von den üblicherweise gemessenen  $J$ -Werten ab, sodass die verwendeten Evolutionsverzögerungen von  $1/4J$  in der HSQC-Sequenz (HSQC = heteronuclear single quantum correlation) noch gültig sind. Die dipolaren Wechselwirkungen zwischen nicht direkt aneinander gebundenen Atomen bleiben darüber hinaus klein.
- [20] Die Beiträge der Kreuzkorrelation zur Relaxation können zu leicht feststellbaren dynamischen Verschiebungen (d. h. zu Aufspaltungen) führen, besonders wenn paramagnetische Spezies beteiligt sind,<sup>[21]</sup> sollten aber auch die natürliche Linienbreite in mindestens gleicher Größenordnung beeinflussen. Demgegenüber beträgt die gemessene natürliche  $^1H$ -NMR-Linienbreite in MLCs etwa 6 Hz.
- [21] H. Desvaux, M. Gochin, *Mol. Phys.* **1999**, *96*, 1317–1333.
- [22] In der Sesselkonformation sind die axialen C-H-Bindungen einer Pyranosideinheit fast parallel. Damit sind sie auch bezüglich des Orientierungstensors nahezu identisch ausgerichtet.
- [23] a) P. J. Bolon, J. H. Prestegard, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9366–9367; b) M. Martin-Pastor, C. A. Bush, *Carbohydr. Res.* **2000**, *323*, 147–155.
- [24] M. Zweckstetter, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3791–3792.
- [25] L. Onsager, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1949**, *51*, 627–659.
- [26] a) J.-C. P. Gabriel, C. Sanchez, P. Davidson, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 11139–11143; b) A. Mourchid, P. Levitz, *Phys. Rev. E* **1998**, *57*, R4887–R4890.
- [27] a) K. Kajiwar, N. Donkai, Y. Hiragi, H. Inagaki, *Makromol. Chem.* **1986**, *187*, 2883–2893; b) K. Kajiwar, N. Donkai, Y. Fujiyoshi, H. Inagaki, *Makromol. Chem.* **1986**, *187*, 2895–2906; c) N. Donkai, K. Kajiwar, M. Schmidt, T. Miyamoto, *Makromol. Chem. Rapid Comm.* **1993**, *14*, 611–617.
- [28] a) H. Zocher, C. Torök, *Kolloid Z.* **1960**, *170*, 140–144; b) H. Zocher, C. Torök, *Kolloid Z.* **1960**, *173*, 1–7; c) H. Zocher, C. Torök, *Kolloid Z.* **1962**, *180*, 41–51; d) P. A. Buining, H. N. W. Lekkerkerker, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 11510–11516.
- [29] F. Van der Kooy, H. N. W. Lekkerkerker, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 7829–7832.
- [30] O. Pelletier, P. Davidson, C. Bourgaux, C. Coulon, S. Regnault, J. Livage, *Langmuir* **2000**, *16*, 5295–5303.
- [31] J. Livage, *Chem. Mater.* **1991**, *3*, 578–593.
- [32] Dieses Pentasaccharid wurde von P. Sinaÿ und Mitarbeitern synthetisiert (Département de Chimie, Ecole Normale Supérieure, Paris, Frankreich). Die wichtigsten Synthesestufen ähneln denen, die in Lit. [33] beschrieben wurden. Die vollständige Synthese wird an anderer Stelle beschrieben werden.
- [33] B. Henry, H. Desvaux, M. Pristchepa, P. Berthault, Y.-M. Zhang, J.-M. Mallet, J. Esnault, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1999**, *315*, 48–62.
- [34] L. E. Kay, P. Keifer, T. Saarinen, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10663–10665.
- [35] a) B. V. Deryagin, L. Landau, *Acta Physicochim. URSS* **1941**, *333*, 55; b) E. J. W. Verwey, J. T. G. Overbeek, *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*, Elsevier, Amsterdam, **1948**.
- [36] Die DLVO-Theorie (benannt nach B. V. Deryagin, L. Landau, E. J. W. Verwey und J. T. G. Overbeek) beschreibt kolloidale Stabilität als Wechselspiel zwischen abstoßenden elektrostatischen und anziehenden van-der-Waals-Wechselwirkungen. Bei niedriger Ionenstärke überwiegt die elektrostatische Abstoßung, sodass sich die Phasenstabilität im Wesentlichen mit dem Onsager-Modell beschreiben lässt.<sup>[25]</sup> Bei hoher Ionenstärke ist die elektrostatische Abstoßung abgeschirmt und van-der-Waals-Anziehungen kommen ins Spiel, was schließlich zur Ausfällung des Kolloids führt.