

Zusammenfassung

der Dissertation von

Marion K. Müller

aus Mainz

Supramolekulare Multivalenz

Diskotische Monomere assemblieren schon bei geringen Konzentrationen in Wasser reversibel zu säulenartigen Polymeren. Mit den entsprechenden Liganden ausgestattet, können diese Supramoleküle gezielt Kohlenhydrat-Rezeptor-Wechselwirkungen beeinflussen und Proteine spezifisch binden. Die Ligandendichte des Polymers kann dabei durch den reversiblen Austausch einzelner Monomere gesteuert werden. Dieses supramolekulare Polymer bindet an Bakterien und dient als Plattform zur Steuerung von Protein-Aggregationen.

Die diskotischen Moleküle wurden durch Verlinkung von drei *N*-monoacylierten 2,2'-Bipyridin-3,3'-diamin-Flügeln zu einer zentralen 1,3,5-Benzoltricarbonyl-Einheit aufgebaut. Durch selektiv eingeführte Azid- oder Amin-Funktionalitäten dienten die diskotischen Grundgerüste als flexible Plattform zur Modifikation mit biologisch aktiven Liganden im letzten Schritt der Synthese. Der konvergente Aufbau der Monomere führte zu diskotischen Molekülen, die je mit sechs inerten Ethylenglycol- Monomethylether-Seitenketten und mit drei Azid- oder Amin-funktionalisierten Seitenketten ausgestattet waren.

Des Weiteren wurden die diskotischen Monomere mit unterschiedlichen Liganden dekoriert. Propargyl-Derivate von Mannose, Glucose und Gallactose wurden mittels Huisgen-[2+3]-Zykloaddition an das diskotische Grundgerüst angebracht. Die Zykloaddition beanspruchte ungewöhnlich lange Reaktionszeiten, was durch die hohe Ligandendichte, die sich um die supramolekularen Säulen generierte, erklärt wurde. Nach vier Wochen ermöglichte der dynamische, reversible Austausch der Monomere die volle

Umsetzung zum trifunktionalisierten diskotischen Molekül. Die Acylierung des Grundgerüsts mit Texas Red-, Biotin- und Cystein-Derivaten benötigte Reaktionszeiten zwischen vier Stunden und drei Tagen.

Die Eigenschaft der Mannose-modifizierten Diskoten, der inerten Diskoten und Mischungen beider an Bakterien zu binden, wurde durch mikroskopische Studien mit dem *E. coli* BL 21 α Stamm verifiziert. Hierbei wurde die starke Fluoreszenz des diskotischen Kerns zur Autodetektion der Supramoleküle genutzt. Die Experimente ergaben, dass die supramolekularen Diskoten selektiv über die Interaktion von Mannose an den FimH-Rezeptoren binden und zeigen, dass keine unspezifische Wechselwirkung vorliegt. Die Durchführung eines Konkurrenz Experiments zwischen dem Mannose-modifizierten Diskoten und Mannose bezüglich ihrer Bindungsstärke zu den Bakterien zeigte, dass die multivalenten Diskoten hocheffizient an Bakterien binden. Selbst bei einem 10⁶-fachen Überschuss, wurden die Diskoten nicht von der freien Mannose verdrängt. Des Weiteren scheinen die supramolekularen Strukturen groß genug zu sein, um die Distanzen zwischen den Mannose funktionalisierten Monomeren zu überbrücken und die Bakterien zu verlinken. Die supramolekularen Eigenschaften des Moleküls ermöglichen offensichtlich eine unkomplizierte Adaption und Optimierung der Zusammensetzung aus Monomeren.

Enzym-gekoppelte Lektin Studien (enzyme linked lectin assay, ELLA) ergaben, dass die relative valenzkorrigierte Bindungsstärke des Mannose-modifizierten Diskoten 8.3 fach höher war als die der Referenzverbindung. Aufgrund seiner polymeren Eigenschaften, ist der Mannose-modifizierte Diskot scheinbar in der Lage, die Distanz zwischen den verschiedenen Bindungsstellen des Concanavalin A zu überbrücken und multivalent zu binden.

Mischungen des Texas-Red-modifizierten Diskoten und des Biotin-modifizierten Diskoten wurden eingesetzt, um Zugang zu heterovalenten Verbindungen, die mehr als eine Art Ligand tragen, zu erhalten. Die Evaluierung dieser diskotischen Mischungen zeigte, dass Texas-Red-modifizierte-Diskoten in Anwesenheit von Biotin-modifizierten Diskoten auf der Oberfläche von Straptavidin-beschichteten Kugeln lokalisiert werden können. Offensichtlich integrieren die Biotin-

modifizierten Diskoten die Texas-Red-modifizierten Diskoten in ihre Säulen und halten so die Texas-Red-modifizierten Diskoten in der supramolekularen Struktur, wenn Biotin an Streptavidin bindet. Diese Resultate zeigen, dass die supramolekularen Diskoten einen unkomplizierten Zugang zu heterovalenten Grundgerüsten durch einfaches Mischen von funktionalisierten Diskoten ermöglichen.

Zusätzlich zu Ihrer Fähigkeit multivalente Interaktionen mit bakteriellen Aggregaten zu kontrollieren, wurden die Diskoten als Plattform für Protein-Zusammenlagerungen verwendet. Biotin Diskoten wurden verwendet, um die Zusammenlagerung zweier unterschiedlicher Proteine zu untersuchen. Diese Experimente zur supramolekularen Steuerung von Protein-Interaktionen wurden mit Alexa-Fluor-633-markiertem Streptavidin (SA-AF633) und mit Texas-Red-markiertem Streptavidin (SA-TR) durchgeführt. Dabei wurde die Überlappung des Fluoreszenzsignals von TR und AF633 genutzt. Die Ergebnisse zeigen, dass der Biotin-modifizierte Diskot beide Proteine bindet und die Zusammenlagerung der beiden Streptavidine von SA-AF633 und SA-TR bewirkt. Dies kann durch die resultierende FRET-Interaktion belegt werden. Diese Experimente mit SA-TR/SA-AF633 und Studien mit einem weiteren FRET-Paar SA-AF514/SA-TR zeigen, dass die Anwesenheit des Biotin-modifizierten Diskoten die Zusammenlagerung von zwei verschiedenen Proteinen auslöst.

Supramolekulare Polymere stellen ideale Grundgerüste zur Generierung polyvalenter Strukturen dar, die zur Bindung und Modulierung biologischer Interaktionen genutzt werden können. Die Eigenschaft der Monomere durch eigenständige Aggregation reversible, supramolekulare Polymere zu bilden, ermöglicht es, Kontrolle über die Ligandendichte, die Reaktion auf äußere Einflüsse und den polymeren Aufbau zu erhalten. Die Eigenschaft der selbst-Aggregation zu polymeren Säulen ermöglicht die reversible Ausstattung mit Liganden und die dynamische Anpassung des Systems an den Interaktionspartner. Nicht zuletzt erlaubt es die supramolekulare Natur des Systems, bislang noch nicht zugängliche Topologien mit neuen Eigenschaften zu generieren.