

- [1] a) P. J. Green, T. Tamatani, T. Watanabe, M. Miyasaka, A. Hasegawa, M. Kiso, C. T. Yuen, M. S. Stoll, T. Feizi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *188*, 244; b) M. L. Phillips, E. Nudelman, F. C. A. Gaeta, M. Perez, A. K. Singhal, S. I. Hakomori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, *250*, 1130; c) G. Walz, A. Aruffo, W. Kolanus, M. Bevilacqua, B. Seed, *ibid.* **1990**, *250*, 1132; d) J. B. Lowe, L. M. Stoolman, R. P. Nair, R. D. Larsen, T. L. Berhend, R. M. Marks, *Cell* **1990**, *63*, 475; e) C. R. Bertozzi, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 703; f) L. A. Lasky, *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 113.
- [2] E. Larsen, *Cell Adhesion*, 1. Aufl., CRC Press, Boca Raton, FL, **1995**, S. 203.
- [3] a) T. Murohara, J. Margiotta, L. M. Phillips, J. C. Paulson, S. DeFrees, S. Zalipsky, L. S. S. Guo, A. M. Lefer, *Cardiovasc. Res.* **1995**, *30*, 965; b) M. Buerke, A. S. Weyrich, Z. Zheng, F. C. A. Gaeta, M. J. Forrest, A. M. Lefer, *J. Clin. Invest.* **1994**, 1140.
- [4] Y. Ichikawa, Y.-C. Lin, D. P. Dumas, G.-J. Shen, E. Garcia-Junceda, M. A. Williams, R. Bayer, C. Ketcham, L. E. Walker, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9283.
- [5] B. J. Graves, R. L. Crowther, C. Chandran, J. M. Rumberger, S. Li, K.-S. Huang, D. H. Presky, P. C. Familietti, B. A. Wolitzky, D. K. Burns, *Nature* **1994**, *367*, 532.
- [6] a) A. Giannis, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 188; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 178; b) J. Y. Ramphal, Z.-L. Zheng, C. Perez, L. E. Walker, S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3459; b) B. K. Brandley, M. Kiso, S. Abbas, P. Nikrad, O. Srivastava, C. Foxall, Y. Oda, A. Hasegawa, *Glycobiology* **1993**, *3*, 633; d) S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, Y.-C. Lin, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *37*, 3459; e) C. T. Yuen, A. M. Lawson, W. Chai, M. Larkin, M. S. Stoll, A. C. Stuart, F. X. Sullivan, T. J. Ahern, T. Feizi, *Biochemistry* **1992**, *31*, 9126.
- [7] a) K. Scheffler, B. Ernst, A. Katopodis, J. L. Magnani, W. T. Wang, R. Weismann, T. Peters, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2034; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1841; b) Y. Ichikawa, Y.-C. Lin, D. P. Dumas, G.-J. Shen, E. Garcia-Junceda, M. A. Williams, R. Bayer, C. Ketcham, L. E. Walker, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9283; c) G. E. Ball, R. A. O'Neill, J. E. Schultz, J. B. Lowe, J. B. W. Weston, J. O. Nagy, E. G. Brown, C. J. Hobbs, M. D. Bednarski, *ibid.* **1992**, *114*, 5449.
- [8] Neuere repräsentative Beispiele für SLe^x-Mimetica: a) A. A. Birkbeck, S. V. Ley, J. C. Prodrer, *Bior. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2637; b) T. Uchiyama, V. P. Vassilev, T. Kajimoto, W. Wong, H. Huang, C.-C. Lin, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5395; c) S. Hanessian, H. Prabhanjan, *Synlett* **1994**, 868; d) S.-H. Wu, M. Shimazaki, C.-C. Lin, L. Qiao, W. J. Moree, G. Weitz-Schmidt, C.-H. Wong, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 106; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 88; e) T. P. Kogan, B. Dupre, K. M. Keller, I. L. Scott, H. Bui, R. V. Market, P. J. Beck, J. A. Voytus, B. M. Bevelle, D. Scott, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4976; f) T. Eisele, A. Toeper, G. Kretzschmar, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1389; g) G. Thoma, F. Schwarzenback, R. O. Duthaler, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 154; h) H. Ohmoto, K. Nakamura, T. Inoue, N. Kondo, Y. Inoue, K. Yoshimasa, H. Kondo, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasagawa, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1339; i) M. J. Bamford, M. Bird, P. M. Gore, D. S. Holmes, R. Priest, J. C. Prodrer, V. Saez, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 239; j) C. R. Bertozzi, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 703; k) U. Sprengard, M. Schudok, W. Schmidt, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 359; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 321.
- [9] J. A. May, A. C. Sartorelli, *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 971.
- [10] V. P. Vassilev, T. Uchiyama, T. Kajimoto, C.-H. Wong, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4081.
- [11] a) T. T. Otani, M. Winitz, *Arch. Biochem. Biophys.* **1960**, *90*, 254; b) Y. Nakamura, A. Ito, C.-G. Shin, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 2151.
- [12] a) G. F. Hennion, F. P. Kupecki, *J. Org. Chem.* **1953**, *18*, 1601; b) G. Krüger in *Houben-Weyl: Methoden der Organischen Chemie*, Bd. E5 (Hrsg.: J. Falbe), Thieme, Stuttgart, **1995**, S. 504.
- [13] G. Weitz-Schmidt, D. Stokmaier, G. Scheel, N. E. Nifant'ev, A. B. Tuzikov, N. V. Bovin, *Anal. Biochem.* **1996**, *238*, 184.

Eine praktikable Synthese von N-Acetyl-D-lactosamin mit Galactose-Oxidase und β-Galactosidase**

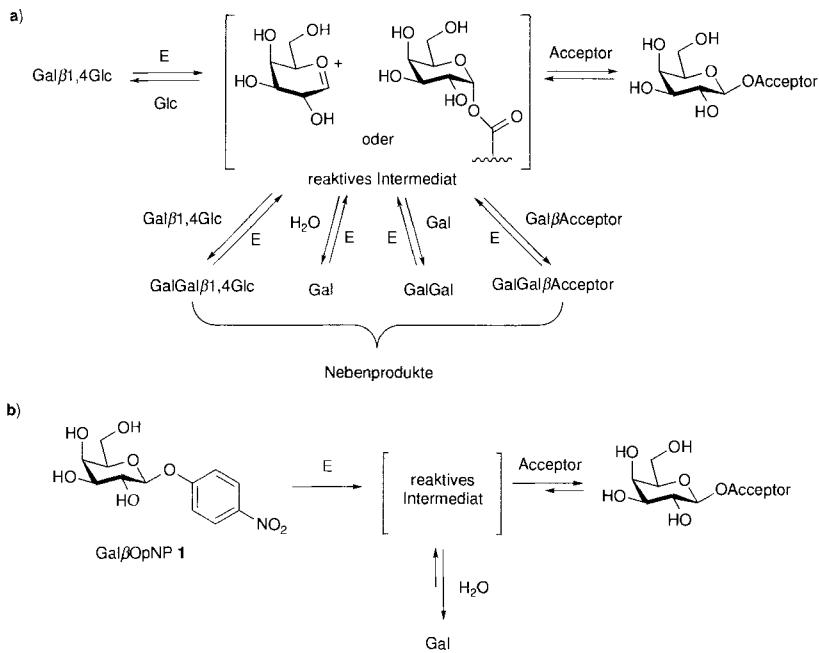
Teiji Kimura, Shuichi Takayama, Hongmei Huang und Chi-Huey Wong*

Mit unserem wachsenden Verständnis der biologischen Rolle von Glykogenkonjugaten^[1] steigt auch das Bedürfnis für einen preiswerten Zugang zu synthetischen Oligosacchariden in größeren Mengen. N-Acetyl-D-lactosamin (Galβ1,4GlcNAc, LacNAc) und dessen Derivate sind besonders nützlich für das Studium von biologischen Erkennungsprozessen^[2] und waren das Ziel zahlreicher Synthese-Anstrengungen unter Einsatz von klassisch-chemischen^[3] sowie von enzymatischen Methoden^[4]. Chemische Synthesen sind zwar bekannt, doch sind sie meist mehrstufig und komplex. Eine β-1,4-Galactosyl-Transferase-katalysierte, hoch regioselektive und effiziente Reaktion mit In-situ-Regenerierung von UDP-Galactose ist für die Synthese von LacNAc in großem Maßstab entwickelt worden^[5]. Allerdings behindern die begrenzte Verfügbarkeit der Enzyme sowie deren hoher Preis und Instabilität den Einsatz dieser Methode^[6]. Die β-D-Galactosidase von *Bacillus circulans* ist ebenfalls zur Galβ1,4-Verknüpfung durch umgekehrte Hydrolyse und Transglycosylierung eingesetzt worden^[7]. Die Vorteile dieser Reaktion sind der geringe Preis des Enzyms, dessen hohe Stabilität und die einfachen Reaktionsbedingungen (Zuckernucleotide müssen nicht verwendet werden)^[8]. Die Nachteile bestehen darin, daß wegen der hydrolysierenden Wirkung des Enzyms die bisher erhaltenen Ausbeuten niedrig sind und die Zielverbindung nur schwer aus dem Reaktionsgemisch isoliert werden kann, das weitere, sehr ähnliche Verbindungen enthält^[7-9]. Hier berichten wir, daß das p-Nitrophenylglycosid von 6-Oxo-D-galactose (in der die primäre OH-Gruppe der Galactose zur Aldehydfunktion oxidiert wurde) in der β-Galactosidase-katalysierten Reaktion als Donor verwendet werden kann und daß unter diesen Bedingungen die Transglycosylierung gegenüber der Hydrolyse kinetisch bevorzugt ist.

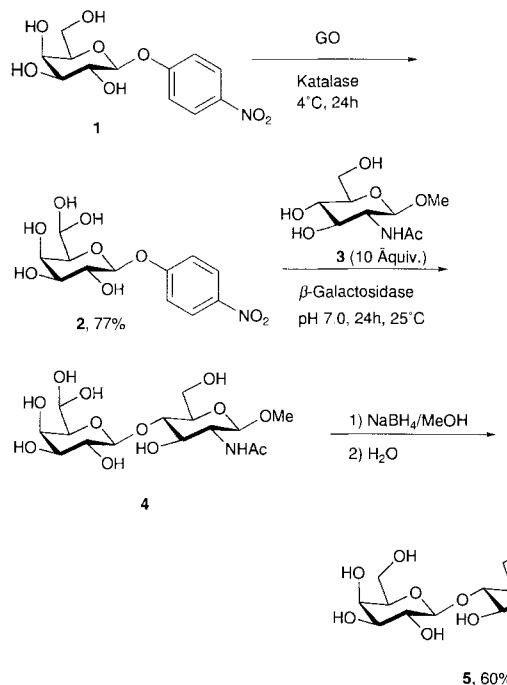
Schema 1 zeigt die durch β-Galactosidase katalysierte Reaktion. Bekanntermaßen^[10] werden mit Glycosyldonoren, die schlechte Abgangsgruppen aufweisen (z. B. Lactose), oft komplexe Produktgemische aus Mono-, Di- und Trisacchariden erhalten. Substrate mit guten Abgangsgruppen (z. B. p-Nitrophenylgalactosid) reagieren mit Glycosylacceptoren im Überschuß irreversibel, wobei die Sekundärhydrolyse und die weitere Glycosylierung des Transglycosylierungs- sowie des Hydrolyseproduktes und des Donors zurückgedrängt wird. Um herauszufinden, welcher Schritt der kinetisch kontrollierte ist, wurde der Einfluß des Acceptors auf die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion, v_0 , untersucht (Schema 2, Tabelle 1). Im Fall von p-Nitrophenylgalactosid, GalβOpNP 1, erhöhte sich die anhand des freigesetzten p-Nitrophenols gemessene Anfangsreaktionsgeschwindigkeit durch den Zusatz von Acceptor nicht (Nr. 1-3), obwohl die Transglycosylierungsausbeute von 14 auf 30 % stieg. Dies legt nahe, daß der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes ist und daß das Verhältnis von Transglycosylierung zu Hydrolyse hauptsächlich

[*] Prof. Dr. C.-H. Wong, Dr. T. Kimura, Dipl.-Chem. S. Takayama, Dr. H. Huang
Chemistry Department, The Scripps Research Institute
10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA (USA)
Telefax: Int. + 619/784-2409

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health gefördert (GM44154). Wir danken Daiwa Kasei KK, Osaka (Japan), für Spenden an β-Galactosidase aus *Bacillus circulans*.



Schema 1. β -Galactosidase-katalysierte Transglycosylierung und Hydrolyse. a) Substrat mit schlechter Abgangsgruppe (z. B. Gal β 1,4Glc); b) Substrat mit guter Abgangsgruppe (z. B. Gal β OpNP, 1). E = β -Galactosidase.



Schema 2. Synthese von N-Acetyl-D-lactosamin mit Galactose-Oxidase (GO) und β -Galactosidase aus *B. circulans*.

von den (relativen) Konzentrationen von Acceptor und H₂O abhängt. In wäßriger Lösung ist die Hydrolyse daher der vorherrschende Reaktionsweg. Durch den Zusatz von wasserlöslichen organischen Lösungsmitteln kann die Aktivität des Wassers herabgesetzt werden, was aber oft mit Substrat- oder Produktinhibierung verbunden ist und wodurch das Enzym destabilisiert wird^[11]. Um im Wasser die Transglycosylierung zu begünstigen, ist es daher notwendig, den Verteilungsschritt kinetisch zu kontrollieren. Das 6-Oxo-Derivat von Gal β OpNP 1,

6-Oxo-Gal β OpNP 2^[12], ist ein relativ schlechtes Substrat für β -Galactosidase. Die Anfangsgeschwindigkeit und die Transglycosylierungsausbeute steigen allerdings mit zunehmender Konzentration an 3 (Nr. 4–6). Das aus 2 entstehende aktive Intermediat ist demzufolge gegenüber Wasser weniger reaktiv als gegenüber 3.

Ein weiteres Problem bei β -Galactosidase-katalysierten Reaktionen ist, daß auch das Produkt enzymatisch hydrolysiert werden kann. Die erhöhte Stabilität von 6'-Oxo-LacNAc (4, $t_{1/2} = 31$ h) verglichen mit der von 2 ($t_{1/2} = 0.4$ h) gegenüber der β -Galactosidase-katalysierten Hydrolyse trägt wahrscheinlich ebenfalls zur hohen Produktausbeute bei^[13].

Obwohl die Transglycosylierung von 2 unter den Reaktionsbedingungen glatt, mit exzellenter Regioselektivität und in guter Ausbeute verläuft, kann die Verwendung des Acceptors im Überschuß die Produktreinigung erschweren. Der entstandene Aldehyd kann allerdings mit NaBH₄ in nichtwässriger Lösung zum entsprechenden Borkomplex reduziert werden, der durch Zugabe von Wasser zum gewünschten Alkohol zersetzt wird. Um die Anwendbarkeit dieses Ansatzes zu testen, wurde ein enzymatisch erhaltenes Gemisch aus 3 und 4 mit NaBH₄ in MeOH reduziert. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Produktgemisch an Kieselgel getrennt, wobei zunächst 3 mit einem nichtwässrigen Lösungsmittelgemisch (CHCl₃/MeOH, 1/1) in 77% Ausbeute und dann 5 mit einem wasserhaltigen Lösungsmittelgemisch (CHCl₃/MeOH/H₂O, 5/5/1) in 60% Ausbeute eluiert wurde. Signale anderer Regioisomere konnten im ¹H-NMR-Spektrum des Rohprodukts nicht festgestellt werden. Die zurückgewonnene Verbindung 3 konnte im nächsten Reaktionsszyklus ohne weitere Reinigung wiederverwendet werden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch mit dem zu 3 analogen Allyl-, Phenyl- und Thiophenylglycosid als Acceptor erhalten.

Tabelle 1. Vergleich der β -Galactosidase-katalysierten Reaktionen mit Galactopyranose- (Gal β OpNP, 1) und Galactohexodialdosedonoren (6-Oxo-Gal β OpNP, 2).

| Nr. | Donor | c(Acceptor) [M] | Ausb.(LacNAc) [%] [a] | v_0 [nm min ⁻¹] [b] |
|-----|-------|-----------------|-----------------------|-----------------------------------|
| 1 | 1 | 0 | – | 5.69 ± 0.11 |
| 2 | 1 | 0.05 | 14 | 4.68 ± 0.08 |
| 3 | 1 | 0.5 | 30 | 4.16 ± 0.23 |
| 4 | 2 | 0 | – | 0.074 ± 0.008 |
| 5 | 2 | 0.05 | 29 [c] | 0.137 ± 0.006 |
| 6 | 2 | 0.5 | 60 [c] | 0.393 ± 0.013 |

[a] Das Reaktionsgemisch aus 0.05 M Donor und Methyl-N-acetyl-D-glucosamin in 0.05 M Kaliumphosphatpuffer (pH = 7.0) wurde in Gegenwart des Enzyms (140 U pro mmol Donor) 24 h bei Raumtemperatur gerührt. [b] Das Reaktionsgemisch (Zusammensetzung wie unter [a] beschrieben) wurde unter Schütteln 5–10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Absorption wurde bei 420 nm gemessen. [c] Methyl- β -N-acetyl-D-lactosamin 5 wurde mit NaBH₄ reduziert und wie beschrieben isoliert.

Diese neue Methode zur Synthese von β -Galactosiden mit *Bacillus*-Galactosidase und 6-Oxo-Gal β OpNP als Donor kann also in wäßriger Lösung ohne organische Lösungsmittel durchgeführt werden und liefert das Transglycosylierungsprodukt in hoher Ausbeute und mit hoher Stereoselektivität.

Experimentelles

2: Zu einer Lösung von **1** (306 mg, 1.02 mmol) in 50 mM Kaliumphosphatpuffer (pH = 7.0, 15 mL) wurden Galactose-Oxidase (135 U) und Katalase (1 mg) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 24 h bei 4 °C unter Sauerstoff gerührt. Nach Zugabe von MeOH zur Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch gereinigt (Kieselgel; CHCl₃, dann CHCl₃/MeOH, 1/1). Ausbeute: 250 mg (77%). ¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ = 3.64 (d, J = 7.4 Hz, 1H; H-5), 3.79 (dd, J = 9.9, 3.3 Hz, 1H; H-3), 3.88 (dd, J = 9.9, 7.7 Hz, 1H; H-2), 4.17 (d, J = 3.3 Hz, 1H; H-4), 5.13 (d, J = 7.4 Hz, 1H; H-6), 5.19 (d, J = 7.7 Hz, 1H; H-1), 7.26 (d, J = 9.3 Hz, 2H; ArH), 8.27 (d, J = 9.3 Hz, 2H; ArH).

Um eine authentische Probe von **4** zu erhalten, wurde **5** unter den für **2** angegebenen Bedingungen oxidiert, nur daß CuSO₄ (0.5 mM) zugesetzt und das Produkt an Biogel P-2 gereinigt wurde.

4: ¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ = 2.02 (s, 3H; CH₃CO), 3.45 (d, J = 7.5 Hz, 1H; H-5'), 3.50 (s, 3H; OCH₃), 3.55 (dd, J = 10.0, 8.0 Hz, 1H; H-2), 3.57–3.63 (m, 1H; H-5), 3.66 (dd, J = 10.0, 3.5 Hz, 1H; H-3'), 3.67–3.74 (m, 3H; H-3, H-4, H-2'), 3.82 (dd, J = 12.5, 5.5 Hz, 1H; H-6), 3.98 (d, J = 12.5, 1.5 Hz, 1H; H-6), 4.07 (d, J = 3.5 Hz, 1H; H-4'), 4.45 (d, J = 8.0 Hz, 1H; H-1 oder H-1'), 4.47 (d, J = 8.0 Hz, 1H; H-1 oder H-1'). 5.12 (d, J = 7.5 Hz, 1H; H-6'); HR-MS: ber. für C₁₅H₂₂NO₁₁Na (*M* + Na⁺, Aldehydform) 418.1325, gef. 418.1310.

5: Zu einer Lösung von **3** (181 mg, 770 pmol) und β-Galactosidase (11 U) aus *Bacillus circulans* in 50 mM Kaliumphosphatpuffer (pH = 7.0, 1.54 mL) wurde **2** (24.4 mg, 77.0 pmol) gegeben und das Reaktionsgemisch 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von MeOH (1 mL) zur Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum vollständig entfernt, der Rückstand in MeOH (5 mL) gelöst und bei 0 °C NaBH₄ (29 mg) zugesetzt. Nach 1 h Röhren bei 0 °C füllt man die Lösung über 10 h auf Raumtemperatur erwärmen. Das Gemisch wurde an Kieselgel getrennt: Zunächst wurde **3** mit 500 mL CHCl₃/MeOH (1/1) eluiert (140.1 mg, 77% der eingesetzten Menge), danach **5** (18.2 mg, 60%) mit CHCl₃/MeOH/H₂O (5/5/1).

Eingegangen am 3. Mai 1996 [Z9096]

Stichworte: Oxidasen · β-Galactosidase · Lactosamin

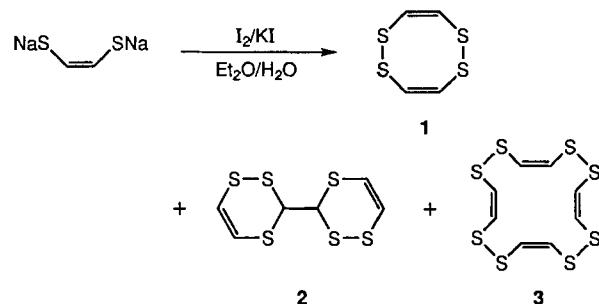
- [1] a) J. B. Lowe, L. M. Stoolman, R. P. Nair, R. D. Larsen, T. L. Berhend, R. M. Marks, *Cell* **1990**, *63*, 475–484; b) T. Feizi, *Trends Biochem. Sci.* **1991**, *16*, 84–86.
- [2] a) T. Feizi, J. C. Solomon, C.-T. Yuen, K. C. G. Jeng, L. G. Frigeri, D. K. Hsu, F.-T. Liu, *Biochemistry* **1994**, *33*, 6342–6349; b) F.-T. Liu, *Immunol. Today* **1993**, *14*, 486–490; c) C. P. Sparrow, H. Leffler, S. H. Barondes, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 7383–7390.
- [3] a) K. Toshima, K. Tatsuta, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1503–1531; b) R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213–236; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 212–235; c) H. Paulsen, *ibid.* **1982**, *94*, 184–201 bzw. **1982**, *21*, 155–173; d) P. Sinay, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 519–528; e) H. Paulsen, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 851–867; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 823–839.
- [4] a) C.-H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 453–474; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 412–432; b) *ibid.* **1995**, *107*, 569–593 bzw. **1995**, *34*, 521–546; c) E. J. Toone, E. S. Simon, M. D. Bednarski, G. M. Whitesides, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 5365–5422.
- [5] a) Y. Ichikawa, Y.-C. Lin, D. P. Dumas, G.-J. Shen, E. Garcia-Junceda, M. A. Williams, R. Bayer, C. Ketcham, L. E. Walker, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9283–9298; b) A. Zervosen, L. Elling, *ibid.* **1996**, *118*, 1836–1840.
- [6] C. Augé, R. Fernandez-Fernandez, C. Gautheron, *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 257–268.
- [7] a) T. Usui, S. Kubota, H. Ohi, *Carbohydr. Res.* **1993**, *244*, 315–323; b) G. F. Herrmann, U. Kragl, C. Wandrey, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1399–1400; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1342–1343; c) G. F. Herrmann, Y. Ichikawa, C. Wandrey, F. C. A. Gaeta, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 3091–3094. Beispiele für andere Glycosidase-katalysierte Synthesen: K. G. I. Nilsson, *Trends Biotechnol.* **1988**, *6*, 256–264; D. H. G. Crout, D. A. MacManus, J.-M. Ricca, S. Singh, P. Critchley, W. T. Gibson, *Pure Appl. Chem.* **1992**, *64*, 1079–1084; J. Lehmann, E. Schröter, *Carbohydr. Res.* **1979**, *71*, 65–73; H.-J. Gais, A. Zeissler, P. Maidonis, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5743–5744; B. Sauerbrei, J. Thiem, *ibid.* **1992**, *33*, 201–204; S. Kobayashi, K. Kashiwa, T. Kawasaki, S.-I. Shoda, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3079–3084; R. López, A. Fernández-Mayoralas, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 737–745; J.-M. Petit, F. Paquet, J.-M. Beau, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6125–6128.
- [8] a) S. David, *Chemtracts Org. Chem.* **1994**, *7*, 92–95; b) S. Takayama, M. Shimazaki, L. Qiao, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1123–1126.
- [9] K. Ajisaka, H. Fujimoto, M. Isomura, *Carbohydr. Res.* **1994**, *259*, 103–115.
- [10] L. Hedbys, E. Johansson, K. Mosbach, P.-O. Larsson, *Carbohydr. Res.* **1989**, *186*, 217–223.

- [11] A. P. G. Kieboom, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1988**, *107*, 347–348.
- [12] H. Bretting, G. Jacobs, *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, *913*, 342–348.
- [13] Die Halbwertzeiten von **2** und **4** wurden durch Analyse der Kinetik pseudo-erster Ordnung der β-Galactosidase-katalysierten Hydrolyse bestimmt: **2**: Eine Lösung von **2** (5 mM) und β-Galactosidase (140 U pro mmol **2**) in 0.5 mL Kaliumphosphatpuffer (50 mM, pH = 7.0) wurde in einer Durchflussmeßzelle mit 1 cm Lichtdurchgang bei 420 nm gegen eine Kontrolllösung ohne Enzym gemessen. **4**: Eine Lösung von **4** (5 mM) und Enzym (140 U mmol⁻¹) in D₂O wurde in ein NMR-Röhrchen gegeben und das Verhältnis von freigesetztem **3** zu nichtumgesetztem **4** regelmäßig anhand der Integration des H-6-Signals von **4** (δ = 3.98) und des H-6-Signals von **3** (δ = 3.88) bestimmt.

Strukturen und Eigenschaften cyclischer Polyene mit Disulfideinheiten**

Toshio Shimizu, Kazuko Iwata und Nobumasa Kamigata*

Cycloocta-1,5-dien ist als Ligand für Organometallkomplexe und wegen seines konformativen Verhaltens^[1] von großem Interesse. Auch die Cycloocta-1,5-dienderivate, deren sp³-hybridisierte Kohlenstoffatome durch Heteroatome ersetzt sind, sind hinsichtlich ihrer Konformationen und Reaktivitäten von Bedeutung, doch wurden nur wenige monocyclische Verbindungen beschrieben. 3,4,7,8-Tetrakis(trifluormethyl)-1,2,5,6-tetrathia-cycloocta-3,7-dien^[2] und das analoge Tetraselenaderivat^[3], die Trifluormethylgruppen an den sp²-hybridisierten Kohlenstoffatomen aufweisen, sind bekannt, allerdings wurden die Eigenschaften und Reaktivitäten dieser Diene kaum untersucht. Wir konnten 1,2,5,6-Tetrathiacycloocta-3,7-dien **1** (1,2,5,6-Tetrathiocin, siehe Schema 1) synthetisieren und seine Struktur



Schema 1.

im Kristall röntgenographisch ermitteln. Ein größeres cyclisches System (**3**) konnte ebenfalls erhalten und durch Röntgenstrukturanalyse charakterisiert werden. Tetrathiocin **1** ist sowohl in polaren Lösungsmitteln als auch unter Bestrahlung (sogar bei Tageslicht) sehr reaktiv.

Durch Oxidation von *cis*-Dinatrium-ethen-1,2-dithiolat mit Iod/Kaliumiodid in verdünnter, heterogener Lösung bei –10 °C konnte **1** in 14% Ausbeute erhalten werden. Daneben

[*] Prof. Dr. N. Kamigata, Dr. T. Shimizu, K. Iwata
Department of Chemistry, Faculty of Science
Tokyo Metropolitan University
Minami-ohsawa, Hachioji, Tokyo 192-03 (Japan)
Telefax: Int. + 426/77-2525
E-mail: kamigata-nobumasa@c.metro-u.ac.jp

[**] Teilweise präsentiert am 31. Juli 1995 auf der 4th International Conference on Heteroatom Chemistry, Seoul, Korea.