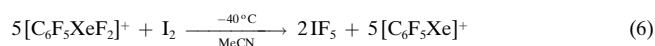
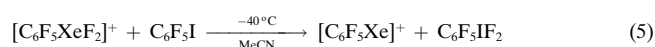
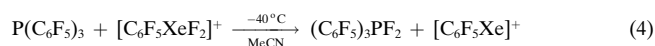


und  $\text{CD}_3\text{CN}$  bei  $-40^\circ\text{C}$  zeigt Signale mit den entsprechenden Integrationsverhältnissen bei  $-29.54$  ( $\text{XeF}_2$ ),  $-125.51$  ( $o\text{-F}$ ),  $-134.97$  ( $p\text{-F}$ )  $-153.44$  ( $m\text{-F}$ ) und  $-149.01$  ( $[\text{BF}_4]^-$ ). Beim Signal des  $\text{XeF}_2$ -Fragmentes treten Satelliten für eine  $^1\text{J}$ -Kopplung zu  $^{129}\text{Xe}$  (26.44 % natürliche Häufigkeit;  $I = 1/2$ ) mit  $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{129}\text{Xe}) = 3893$  Hz auf. Dieser  $^1\text{J}$ -Wert ist von gleicher Größenordnung wie der in **2** ( $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{129}\text{Xe}) = 3908$  Hz (MeCN,  $-40^\circ\text{C}$ )), jedoch ist das F-Zentrum in **1** stärker abgeschirmt als das in **2** ( $\delta = -19.08$ ). Das  $^{129}\text{Xe}$ -NMR-Spektrum von **1** zeigt bei  $\delta = -1706.5$  ein Triplett ( $^1\text{J}(^{129}\text{Xe}, ^{19}\text{F}) = 3892$  Hz). Dieses Signal ist gegenüber dem von **2** signifikant abgeschirmt ( $\delta = 316.9$ ,  $^1\text{J}(^{129}\text{Xe}, ^{19}\text{F}) = 3895$  Hz (MeCN,  $24^\circ\text{C}$ )).<sup>[11]</sup> Die Relation ähnelt der zwischen  $[\text{C}_6\text{F}_5\text{Xe}]^+$  ( $\delta = -3807.8$ ) und  $\text{XeF}_2$  ( $\delta = -1784.5$ ). Die gleiche Lösung von **1** zeigt bei  $-40^\circ\text{C}$  im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum Signale bei  $\delta = 121.86$  (C-1),  $143.28$  (C-2,6),  $138.25$  (C-3,5) und  $148.54$  (C-4) und im  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektrum ein Singulett bei  $\delta = -1.21$ .

Erste Untersuchungen zur Reaktivität des  $[\text{C}_6\text{F}_5\text{XeF}_2]^+$ -Ions in Salz **1** wurden durchgeführt. Dabei wird die oxidativ-fluorierende Wirkung des  $\text{XeF}_2$ -Fragmentes aufgezeigt und anhand des Produktes  $[\text{C}_6\text{F}_5\text{Xe}]^+$  der Nachweis für die Xe-C-Bindung in **1** geführt.

Das Phosphan  $\text{P}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$  lässt sich mit  $[\text{C}_6\text{F}_5\text{XeF}_2]^+$  zum Phosphoran  $(\text{C}_6\text{F}_5)_3\text{PF}_2$  oxidieren [Gl. (4)]. Für die Oxidation des Iodatoms in  $\text{C}_6\text{F}_5\text{I}$  braucht man starke Oxidationsmittel wie  $\text{F}_2$ ,<sup>[12]</sup>  $\text{XeF}_2$ ,<sup>[13]</sup>  $\text{ClF}$ ,  $\text{ClOFCF}_3$ ,  $\text{Cl}_2\text{O}$ <sup>[14]</sup> oder  $\text{HNO}_3$ / $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ .<sup>[15]</sup>  $\text{C}_6\text{F}_5\text{I}$  lässt sich mit **1** in MeCN zu  $\text{C}_6\text{F}_5\text{IF}_2$  umsetzen [Gl. (5)].



Die oxidativ-fluorierende Wirkung von  $[\text{C}_6\text{F}_5\text{XeF}_2]^+$  ist unter moderaten Bedingungen (koordinierendes Solvens MeCN) noch so groß, dass  $\text{I}_2$  zu  $\text{IF}_5$  oxidiert wird [Gl. (6)].

### Experimentelles

Alle Arbeiten wurden unter sorgfältigem Ausschluss von Feuchtigkeit (Argonatmosphäre) in FEP-Fallen (FEP = Tetrafluorethylen-Hexafluorpropylen-Copolymer) durchgeführt.

Eine  $-78^\circ\text{C}$  kalte Lösung von **3** (140  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (400  $\mu\text{L}$ ) wurde zu einer  $-78^\circ\text{C}$  kalten Suspension von **2** (117  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (400  $\mu\text{L}$ ) gegeben. Unter Rühren wurde der Ansatz auf  $-55^\circ\text{C}$  aufgewärmt. Dabei resultierte ein gelber Feststoff. Nach 45 min bei  $-55^\circ\text{C}$  wurde die Mutterlauge abgetrennt und der Feststoff in  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CD}_3\text{CN}$  (1/1; 400  $\mu\text{L}$ ;  $-45^\circ\text{C}$ ) gelöst (Tabelle 1).

Umsetzungen von **1**: Gelbe MeCN-Lösungen von **1** (ca. 30  $\mu\text{mol}$ ) wurden bei  $-40^\circ\text{C}$  mit überstöchiometrischen Mengen Reagens ( $\text{P}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$  als MeCN-Lösung,  $\text{C}_6\text{F}_5\text{I}$  als Flüssigkeit und  $\text{I}_2$  als Feststoff) umgesetzt. Der Reaktionsverlauf wurde  $^{19}\text{F}$ -NMR-spektroskopisch verfolgt.  $\text{IF}_5$  als Hauptprodukt der  $\text{I}_2$ -Umsetzung lieferte ein Dublett ( $\text{I}(\text{F}_{\text{aq}})_4$ ) bei  $\delta = 4.10$  und ein Quintett ( $\text{IF}_{\text{ax}}$ ) bei  $\delta = 52.80$  mit einer Kopplungskonstanten  $^3\text{J}(\text{F}-\text{F})$  von 83.5 Hz.

Im Reaktionsansatz mit  $\text{C}_6\text{F}_5\text{I}$  wurden neben dem  $\text{C}_6\text{F}_5\text{I}$ -Überschuss äquimolare Mengen an  $\text{C}_6\text{F}_5\text{IF}_2$  und  $[\text{C}_6\text{F}_5\text{Xe}]^+$  (Tabelle 1) gefunden.

Bei der Reaktion mit Phosphan wurde das Lösungsmittel bei  $-30^\circ\text{C}$  im Vakuum abdestilliert, die organischen Molekülverbindungen wurden mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei  $-30^\circ\text{C}$  extrahiert und der feste Rückstand wurde in MeCN

gelöst (Hauptprodukt:  $[\text{C}_6\text{F}_5\text{Xe}][\text{BF}_4]$  (Tabelle 1)). Der Extrakt der Phosphanumsetzung wurde  $^{19}\text{F}$ -NMR-spektroskopisch und massenspektrometrisch charakterisiert:  $\delta = 1.32$  (dhept.,  $^1\text{J}(\text{F}-\text{P}) = 694.5$ ,  $^4\text{J}(\text{F}-\text{F}) = 16.3$  Hz, 2 F;  $\text{PF}_2$ ),  $-132.73$  (6 F,  $o\text{-F}$ ),  $-146.50$  (3 F,  $p\text{-F}$ ),  $-159.48$  (6 F,  $m\text{-F}$ ); GC-MS (70 eV):  $m/z$  (%): 570 (5)  $[\text{M}^+]$ , 551 (3)  $[\text{M}^+ - \text{F}]$ , 403 (100)  $[\text{M}^+ - \text{C}_6\text{F}_5]$ .

Eingegangen am 26. August 1999 [Z13929]

- [1] J. H. Holloway, E. G. Hope, *Adv. Inorg. Chem.* **1999**, 46, 51–100, zit. Lit.
- [2] a) D. Naumann, W. Tyrre, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 47–50; b) H.-J. Frohn, S. Jakobs, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 625–627.
- [3] a) H.-J. Frohn, V. V. Bardin, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1072–1074; b) H.-J. Frohn, V. V. Bardin, *Chem. Commun.* **1999**, 919–920.
- [4] V. V. Zhdankin, P. J. Stang, N. S. Zefirov, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 578–579.
- [5] H.-J. Frohn, T. Schroer, G. Henkel, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 2751–2753; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2554–2556.
- [6] D. Naumann, W. Tyrre, R. Gnann, D. Pfolk, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 2651–2653.
- [7] H.-J. Frohn, St. Jakobs, G. Henkel, *Angew. Chem.* **1989**, 101, 1534–1536; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 1506–1507.
- [8] H.-J. Frohn, H. Franke, P. Fritzen, V. V. Bardin, *J. Organomet. Chem.*, im Druck.
- [9] H.-J. Frohn, *J. Fluorine Chem.* **1998**, 89, 59–63.
- [10] H.-J. Frohn, W. Breuer, *J. Fluorine Chem.* **1990**, 47, 301–315.
- [11] K. O. Christe, E. C. Curtis, D. A. Dixon, H. P. Mercier, J. C. P. Sanders, G. J. Schrobilgen, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 3351–3361.
- [12] M. Schmeißer, K. Dahmen, P. Sartori, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 307–311.
- [13] L. M. Yagupol'skii, V. V. Lyalin, V. V. Orda, L. A. Alekseeva, *Zh. Org. Khim.* **1970**, 6, 329–332; englische Übersetzung: *J. Org. Chem. (USSR)* **1970**, 6, 317–319.
- [14] H.-J. Frohn, J. Helber, *J. Fluorine Chem.* **1980**, 16, 568.
- [15] M. Schmeißer, K. Dahmen, P. Sartori, *Chem. Ber.* **1967**, 100, 1633–1637.

## Enzymatische Synthese von Neoglycopeptid-Bausteinen\*\*

Delphine Ramos, Patrick Rollin und Werner Klaffke\*

Glycosylierte Strukturen sind von ambivalenter Bedeutung, denn einerseits sind sie für die korrekte interzelluläre Kommunikation unerlässlich, andererseits können sie als Anker für pathogene Organismen dienen. Beide Eigenschaften sind von Bedeutung für biomedizinische Anwendungen, die wiederum einen präparativ einfachen Zugriff auf eine Bibliothek an Glycoproteinen erfordern. Idealerweise sollten

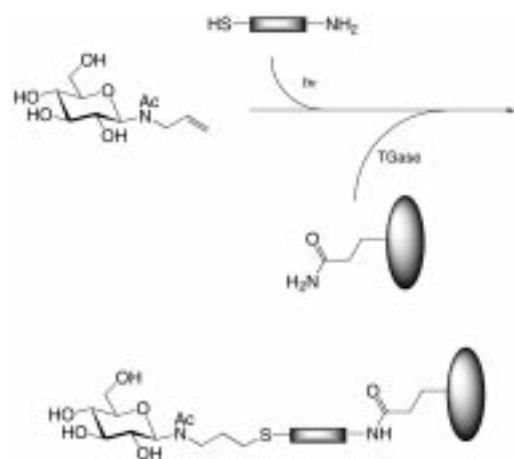
[\*] Prof. Dr. W. Klaffke  
Organisch-Chemisches Institut der Universität  
48149 Münster (Deutschland)  
Fax: (+49) 251-83-36501  
E-mail: werner.klaffke@uni-muenster.de  
Dipl.-Chem. D. Ramos  
Unilever Research Vlaardingen  
3133 AT Vlaardingen (Niederlande)  
Prof. Dr. P. Rollin  
ICOA/Université d'Orléans B.P. 6759  
45067 Orléans Cedex 2 (Frankreich)

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch die großzügige finanzielle Unterstützung von Unilever Research Vlaardingen, Niederlande, ermöglicht. Das Enzym Transglutaminase (EC 2.3.2.13) wurde uns freundlicherweise von Ajinomoto Co. Europe, Hamburg, zur Verfügung gestellt.

in einer ökonomisch sinnvollen Synthese beide Komponenten, also Saccharid und Peptid, weitgehend parallel synthetisiert werden.

Transglutaminase (Protein-Glutamin- $\gamma$ -Glutamyltransferase, EC 2.3.2.13) ist eine Acyltransferase, die primäre Amine mit dem  $\gamma$ -Carboxamidrest des Glutamins verknüpft. Der Stand der Forschung wird durch eine Reihe von Patenten und Veröffentlichungen demonstriert, in denen das Enzym zur Herstellung hochmolekularer Emulgatoren dient<sup>[1]</sup> oder zur Proteinimmobilisierung,<sup>[2]</sup> zur Quervernetzung von Trypsin und  $\alpha$ -Amylase nach vorhergender Absorption an Diethylaminoethyl(DEAE)-Ionentauscherharze,<sup>[3]</sup> zur Herstellung von Hapten-Protein-Konjugaten für ELISAs (enzyme-linked immunosorbent assays)<sup>[4]</sup> sowie zur Synthese hochmolekularer Peptidoglucane.<sup>[5]</sup>

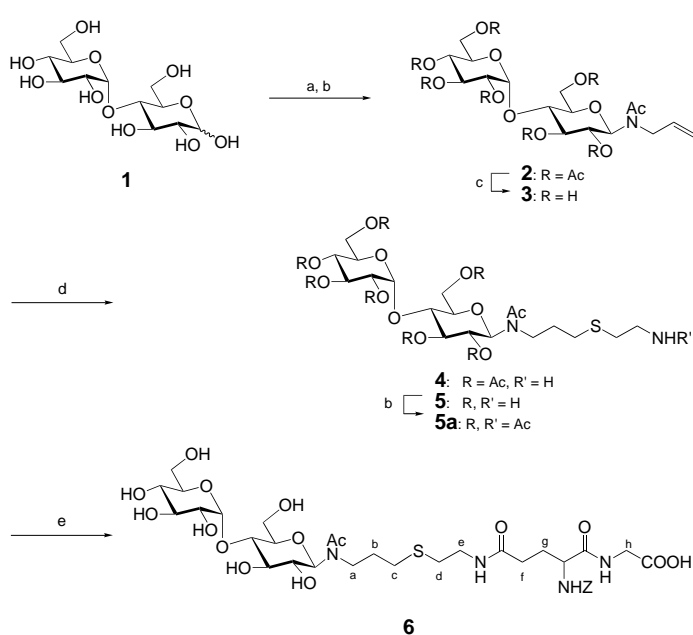
Wir berichten hier über ein regioselektives Verfahren zur Synthese N-verknüpfter Neoglycopeptide, bei denen der innere, reduzierende Zucker in seiner Konformation intakt bleibt. Die Aminofunktionalisierung wird gemäß Schema 1 durchgeführt, wobei zunächst nach N-Glycosylierung mit Allylamin Cysteamin photochemisch an die Doppelbindung addiert wird.



Schema 1. Schematische Darstellung der Transglutaminase-katalysierten Umsetzung mit Spacer-modifizierten Sacchariden.

Während in der überwiegenden Zahl der biotechnologischen Anwendungen die Transglutaminase-vermittelte Quervernetzung über die  $\epsilon$ -Aminogruppen des Lysinrests erfolgt, sollte hier geklärt werden, ob die Aminogruppe auch über einen Spacer mit einem Saccharid ohne drastische Einbußen an Enzymaktivität verknüpft werden kann. Für eine universelle chemoenzymatische Methode sollte das Verfahren 1) in wässrigem Medium durchführbar sein, 2) eine genügend hohe Substrattoleranz aufweisen, 3) nicht Cofaktor-abhängig sein (wie die In-vivo-Route über die entsprechenden Dolichylphosphate) und in den präparativen Maßstab übertragen werden können.

Das von uns gewählte Modells substrat Maltose **1** wurde mit Allylamin umgesetzt<sup>[6]</sup> und unverzüglich in das stabile, peracetylierte **2** überführt (Schema 2). Der Thioether **4** konnte nach photochemischer Umsetzung bei 254 nm mit Cysteaminhydrochlorid in Methanol<sup>[7–10]</sup> in 80 % Ausbeute

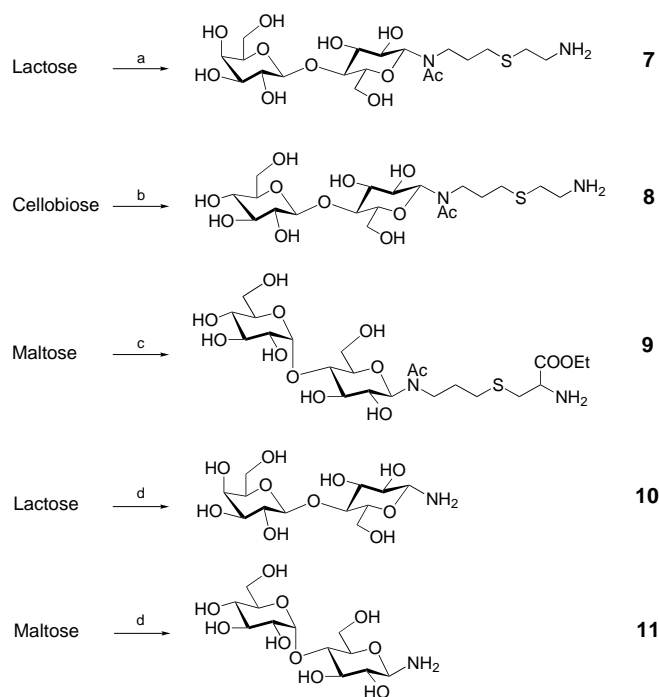


Schema 2. Chemoenzymatische Synthese des Neoglycopeptids **6**. a)  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{NH}_2$ , RT, 72 h; b)  $\text{Ac}_2\text{O}$ /Pyridin (1:2), DMAP (85 % Ausb. bezogen auf Maltose); c)  $\text{MeONa}/\text{MeOH}$ , pH 10 (90 %); d) Cysteaminhydrochlorid (5 Äquiv.),  $\text{MeOH}$ ,  $h\nu$  (254 nm), Argon, 8 h (80 %); e) **5** (30 mM), Z-Gln-Gly (30 mM), TGase (20  $\text{g L}^{-1}$ ), Phosphat-Puffer ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.2 M, pH 6), 50 °C, einige Stunden schütteln (60 %). DMAP = 4-Dimethylaminopyridin, Z-Gln-Gly = Benzyloxycarbonyl-Glutamin-Glycin, TGase = Transglutaminase.

isoliert werden. Wegen der beobachteten Transacetylierung der primären Aminogruppe von **4** wurde **2** zunächst an den O-Atomen desacetyliert, sodass nach der photochemischen Kupplung das ungeschützte, stabile Disaccharid **5** erhalten wurde.

Die Anforderungen an den Spacer wurden durch Vergleich der relativen Aktivitäten der Verbindungen **4**, **5** und **7–11** gegen Hydroxylamin als Standard (=100 %) abgeschätzt (Schema 3). Dabei stellte sich heraus, dass N-Acetyl-4-O-( $\alpha$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3-thio-(2-aminoethyl)-aminopropan **5** vom Enzym mit 21-prozentiger relativer Aktivität als Substrat erkannt wurde (Tabelle 1), wohingegen die per-O-acetylierte Verbindung **4** erwartungsgemäß nicht umgesetzt wurde. Die analogen Derivate von Lactose und Cellobiose (**7** und **8**) konnten ebenfalls als Substrate mit vergleichbarer Aktivität vermessen werden (19 und 18 %). Offensichtlich kann die fehlende Aktivität des Derivats **9** mit der sterischen und elektronischen Situation am Amin-N-Atom erklärt werden. Die mangelnde Stabilität bei pH 6 sowie der fehlende Spacer dürften beim Lactosamin **10** und beim Maltosamin **11**<sup>[12, 13]</sup> für die ausbleibende enzymatische Umsetzung verantwortlich sein. Wie sich aus den geschilderten Fällen ergibt, ist die Länge und Art des Spacers und weniger das Saccharid selbst für die Erkennung durch die Transglutaminase verantwortlich, weshalb die Methode für eine größere Zahl von Sacchariden geeignet ist.

Für die präparative Transacylierung wurde das Maltosylamininderivat **5** mit Transglutaminase<sup>[14]</sup> und Z-Gln-Gly bei pH 6 und 50 °C inkubiert<sup>[15, 16]</sup>, wobei die spektroskopischen Daten die kovalente Bindung zwischen Peptid und Zucker im Produkt **6** zweifelsfrei belegen (Tabelle 2).



Schema 3. Synthese weiterer Substratanaloga der TGase. a) 4 Stufen, 79 % bezogen auf Lactose; b) 4 Stufen, 78 % bezogen auf Cellobiose; c) 4 Stufen, 65 % bezogen auf Maltose; d)  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (gesättigte Lösung),  $40^\circ\text{C}$ , 4 d.

Tabelle 1. Optimierung der Spacergeometrien.<sup>[a]</sup>

Verbindung	Relative Aktivität [%]
$\text{NH}_2\text{OH}$	100
<b>4</b>	1
<b>5</b>	21
<b>7</b>	19
<b>8</b>	18
<b>9</b>	0
<b>10</b>	0
<b>11</b>	0

[a] Die relativen Aktivitäten ( $V_0^{\text{Obs}}/V_0^{\text{NH}_2\text{OH}}$ ) der Verbindungen **4**, **5** und **11** wurden gegen Hydroxylamin als Standard (=100%) ermittelt. Freigesetztes  $\text{NH}_3$  wurde nach Lit.[11] detektiert [Glutamatdehydrogenase (GLDH)/NADPH-Assay].

Wir haben hiermit eine Methode zur Synthese neuartiger Glycopeptid-Mimetika entwickelt. Durch Kombination von photochemischer Kupplung mit enzymatischem Acyltransfer erfolgt die doppelte regiochemische Kontrolle, zum einen beim Kohlenhydrat und zum anderen beim Peptid. Damit ist die Methode zur Synthese multivalenter Kohlenhydratligenanden an Glutamin-reichen, peptidischen Strukturen geeignet.

Eingegangen am 9. August 1999 [Z13846]

Tabelle 2. Ausgewählte Daten der Verbindungen **2**, **5**, **5a** und **6**.

<b>2</b> : $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ = 5.86 (d, H-1), 5.74 (dddd, $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.36 (d, H-1'), 5.34 (dd ~ t, H-3), 5.34 (dd, H-3'), 5.10 (d, $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.01 (dd ~ t, H-4'), 4.87 (dd ~ t, H-2), 4.82 (dd, H-2'), 4.40 (dd, H-6'a), 4.20 (dd, H-6'b), 4.15 (dd, H-6a), 4.03 (dd, H-6b), 3.92 ( $m_c$ , H-4, H-5'), 3.75 ( $m_c$ , H-5, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ); $J_{1,2}$ = 9.5, $J_{2,3}$ = 9, $J_{3,4}$ = 9, $J_{5,6a}$ = 4, $J_{5,6b}$ = 2.5, $J_{6a,6b}$ = 12.4, $J_{1',2'}$ = 4, $J_{2',3'}$ = 10.4, $J_{3',4'}$ = 9.6, $J_{4',5'}$ = 10, $J_{5',6'a}$ = 2.5, $J_{5',6'b}$ = 4, $J_{6'a,6'b}$ = 12.3 Hz. $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ = 171.00–170.00 ( $8 \times \text{C}=\text{O}$ ), 135.17 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.43 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 96.00 (C-1'), 80.34 (C-1), 76.27 (C-3), 74.98 (C-5), 73.04 (C-4), 71.32 (C-2), 70.49 (C-2'), 69.80 (C-3'), 69.03 (C-4'), 68.55 (C-5'), 62.99 (C-6), 61.95 (C-6'), 24.87 ( $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 22.00–21.00 ( $8 \times \text{COCH}_3$ ); MS (ESI): $m/z$ : 740 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$
<b>5</b> : Weißer feststoff (80 %); MS (ESI): $m/z$ : 523 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ , 501 [ $M+\text{H}$ ] $^+$ . Für analytische Zwecke wurde <b>5</b> peracetyliert ( $\rightarrow$ <b>5a</b> )
<b>5a</b> : $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ = 5.39 (d, H-1'), 5.30 ( $m_c$ , H-2 + H-3 + H-3'), 5.00 (t, H-1 + H-4'), 4.80 (H-2'), 4.48 (dd, H-6b), 4.19 (dd, H-6'b), 4.16 (dd, H-6a), 4.02 (dd, H-6'a), 3.98 (dd, H-4), 3.90 ( $m_c$ , H-5'), 3.72 ( $m_c$ , H-5), 3.35 ( $m_c$ , $\text{CH}_2(e)$ ), 2.59 ( $m_c$ , $\text{CH}_2(d)$ ), 2.42 ( $m_c$ , $\text{CH}_2(a)$ ), 2.15–1.88 ( $m$ , $9 \times \text{COCH}_3$ ), 1.83 ( $m_c$ , 1 H, $\text{CH}_2(c)$ ), 1.71 ( $m_c$ , [1 H, $\text{CH}_2(c)$ ] + [2 H, $\text{CH}_2(b)$ ]); $J_{1,2}$ = 9.7, $J_{3,4}$ = 9.1, $J_{4,5}$ = 9.1, $J_{5,6a}$ = 4, $J_{6a,6b}$ = 12.5, $J_{1',2'}$ = 4, $J_{2',3'}$ = 10.5, $J_{3',4'}$ = 9.7, $J_{4',5'}$ = 9.7, $J_{5',6'a}$ = 2.5, $J_{5',6'b}$ = 4.1, $J_{6'a,6'b}$ = 12.1 Hz. $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ = 171.60–169.30 ( $9 \times \text{COCH}_3$ ), 95.49 (C-1'), 85.26 (C-1), 75.91, 75.67 (C-2 + C-3), 74.63 (C-5), 69.95 (C-2'), 69.37 (C-4'), 69.14 (C-3'), 68.54 (C-5'), 62.45 (C-4), 62.40 (C-6), 61.33 (C-6'), 38.43 ( $\text{CH}_2(e)$ ), 31.72 ( $\text{CH}_2(d)$ ), 30.31 ( $\text{CH}_2(c)$ ), 29.17 ( $\text{CH}_2(a)$ ), 28.43 ( $\text{CH}_2(b)$ ), 23.10–20.43 ( $9 \times \text{COCH}_3$ ); MS (ESI): $m/z$ : 859 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ , 837 [ $M+\text{H}$ ] $^+$
<b>6</b> : $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ): $\delta$ = 7.41 ( $m_c$ , 5 H, arom.), 5.38 (d, H-1'), 5.15, 5.07 (2 $\times$ d, 1 H, $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.98 (d, H-1), 4.12 ( $m_c$ , $\text{CH}$ (Gln)), 3.90–3.45 ( $m$ , 5 $\text{CH}_2$ : H-6, H-6', H-f, H-g, H-h; 7 $\text{CH}$ : H-2, H-2', H-3, H-3', H-4', H-5, H-5'), 3.40 (dd, H-4), 3.31 ( $m_c$ , $\text{CH}_2(e)$ ), 2.64 ( $m_c$ , $\text{CH}_2(d)$ ), 2.52 ( $m_c$ , $\text{CH}_2(a)$ ), 2.34 ( $m_c$ , $\text{CH}_2(c)$ ), 1.87 ( $m_c$ , $\text{CH}_2(b)$ ); $J_{1,2}$ = 8.5, $J_{3,4}$ oder $J_{3',4'}$ = 9.5, $J_{4,5}$ = 9.5, $J_{6a,6b}$ oder $J_{6'a,6'b}$ = 12.0 Hz. $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ): $\delta$ = 175.16–175.53 ( $5 \times \text{C}=\text{O}$ ), 136.12 (C arom.), 128.70–127.69 ( $5 \times \text{CH}$ , arom.), 99.57 (C-1'), 86.73 (C-1), 77.19–69.20 (8 $\text{CH}$ : 2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5'; 2 $\times \text{CH}_2$ ), 67.17 ( $\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 60.73, 60.36 (C-6 + C-6'), 43.33 ( $\text{CH}_2$ ) 38.42 ( $\text{CH}_2(e)$ ), 31.87 ( $\text{CH}_2(c)$ ), 29.10 ( $\text{CH}_2(d)$ ), 27.85 ( $\text{CH}_2(a)$ ), 27.12 ( $\text{CH}_2(b)$ ); MS (ESI): $m/z$ : 865 [ $M - \text{Na} + 2\text{Na}$ ] $^+$ (Tochter-Ion 757 [ $(M - \text{OCH}_2\text{Ph}) + 2\text{Na}$ ] $^+$ ), 859 [ $M+\text{K}$ ] $^+$ (Tochter-Ion 751 [ $(M - \text{OCH}_2\text{Ph}) + \text{K}$ ] $^+$ ), 843 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ (Tochter-Ion 735 [ $(M - \text{OCH}_2\text{Ph}) + \text{Na}$ ] $^+$ ), 819 [ $M - \text{H}$ ] $^-$ (Tochter-Ion 711 [ $(M - \text{OCH}_2\text{Ph}) - \text{H}$ ] $^-$ )

- [6] W. Spevak, F. Dasgupta, C. J. Hobbs, J. O. Nagy, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 3417–3422.  
 [7] R. T. Lee, Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1974**, 37, 193–201.  
 [8] R. Roy, C. A. Laferriere, A. Gamian, H. J. Jennings, *J. Carbohydr. Chem.* **1987**, 6(1), 161–165.  
 [9] R. Roy, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1058–1060.  
 [10] C. Kieburg, M. Dubber, T. K. Lindhorst, *Synlett* **1997**, 1447–1449.  
 [11] Sigma Diagnostics, Ammoniak-Nachweis-Kit [No 171-A].  
 [12] L. M. Likhoshtev, O. S. Novikova, V. A. Derevitsskaja, N. K. Kotchetkov, *Carbohydr. Res.* **1986**, 146, C1–C5.  
 [13] L. Urge, E. Kollat, M. Hollosi, I. Laczko, K. Wroblewski, J. Thurin, L. Otvos, Jr., *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3445–3448.  
 [14] Die im Handel erhältliche Transglutaminase, hergestellt durch Fermentation und stabilisiert in Maltodextrin (Protein/Kohlenhydrat-Verhältnis nicht angegeben) wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt. Das mikrobielle Enzym gilt als  $\text{Ca}^{2+}$ -unabhängig.  
 [15] F. Lipmann, L. C. Tuttle, *J. Biol. Chem.* **1945**, 21–28.  
 [16] J. E. Folk, P. W. Cole, *J. Biol. Chem.* **1965**, 240(7), 2951–2960; J. E. Folk, P. W. Cole, *J. Biol. Chem.* **1966**, 241(23), 5518–5525.

- [1] A. Kato, T. Wada, K. Kobayashi, K. Seguro, M. Motoki, *Agric. Biol. Chem.* **1991**, 55, 1027–1027.  
 [2] M. Motoki, H. Aso, K. Seguro, N. Nio, *Agric. Biol. Chem.* **1987**, 51, 997–1002.  
 [3] Y. Kanata, E. Ishikawa, M. Motoki, *Agric. Biol. Chem.* **1992**, 56, 1323–1324.  
 [4] A. Josten, M. Mensel, F. Spener, *Anal. Biochem.* **1998**, 258, 202–208.  
 [5] S.-c. B. Yan, F. Wold, *Biochemistry* **1984**, 23, 3759–3765.