

CAS-Registry-Nummern:

- 1, 3739-97-7; **2** (Br), 2857-97-8; **3**, 16029-98-4; **3**, 36050-78-9; **4**, 29855-83-8; **5**, 42606-61-1; **6a**, 19-69-4; **6b**, 109-52-4; **6c**, 111-14-8; **6d**, 98-89-5; **6e**, 75-98-9; **6f**, 65-85-0; **6g**, 2785-98-0; **6h**, 118-41-2; **6i**, 610-28-6; **6j**, 88-67-5; **6k**, 56-40-6; **6l**, 56-41-7; **6m**, 4388-57-2; **7a**, 141980-83-8; **7b**, 141957-57-5; **7c**, 141957-58-6; **7d**, 141957-59-7; **7e**, 141957-60-0; **7f**, 141957-61-1; **7g**, 141957-62-2; **7h**, 141957-63-3; **7i**, 141957-64-4; **7j**, 141901-65-5; **7k**, 141957-66-6; **7l**, 141957-67-7; **7m**, 141957-69-9; **7n**, 141957-70-2; **7o**, 141957-71-3; **7p**, 141957-72-4; **7q**, 141957-73-5; **7r**, 141957-75-7; **7s**, 141957-76-8; **8a**, 16844-98-7; **8b**, 26429-16-3; **8c**, 25435-96-5; **8d**, 69435-89-8; **8e**, 37170-49-3; **8f**, 2078-12-8; **8g**, 141957-48-4; **8h**, 25432-43-3; **8i**, 141957-49-5; **8j**, 59147-01-2; **8k**, 5269-37-4; **8l**, 5269-38-5; **8m**, 85877-53-8; **8n**, 18294-04-7; **8o**, 40309-57-7; **8p**, 18105-31-2; **8q**, 56407-76-2; **8r**, 141957-77-9; **8s**, 141957-78-0; **9a**, 19753-66-3; **9b**, 41693-11-2; **9c**, 41692-90-4; **9d**, 17615-02-0; **9e**, 26487-93-4; **9f**, 859-65-4; **9g**, 141957-50-8; **9h**, 122682-77-3; **9i**, 141957-51-9; **9j**, 141957-52-0; **9k**, 141957-53-1; **9l**, 141957-54-2; **9m**, 141957-55-3; **10**, 107-46-0; **11n**, 144-62-7; **11o**, 110-15-6; **11p**, 124-04-9; **11q**, 598-10-7; **11r**, 73875-01-1; **11s**, 482-05-3; **12n**, 56849-14-0; **12o**, 101305-47-9; **12p**, 41726-56-1; **12q**, 141957-45-1; **12r**, 141957-46-2; **12s**, 141957-47-3; **13**, 24424-99-5; **14**, 100-52-7; **15**, 142035-21-0; **16**, 141757-43-9; **17**, 513-81-5; **18**, 141957-44-0; P(OPh)₃, 101-02-0.

- [1] H. Schmidbaur, H. Stühler, W. Vornberger, *Chem. Ber.* **1972**, *105*, 1084–1086.
[2] H. J. Bestmann, A. Bomhard, R. Dostalek, R. Pichl, R. Riemer, R. Zimmermann, *Synthesis*, im Druck.
[3] H. J. Bestmann, O. Vostrowsky, W. Stransky, *Chem. Ber.* **1976**, *109*, 1694–1700.
[4] A. Ricci, M. Fiorenza, A. Degl'Innocenti, G. Seconi, P. Dembech, K. Witzgall, H. J. Bestmann, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 1068–1069; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 1068.
[5] H. J. Bestmann, B. Arnason, *Chem. Ber.* **1962**, *95*, 1513–1527; H. J. Bestmann, *Angew. Chem.* **1965**, *77*, 651–666; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1965**, *4*, 645; H. J. Bestmann, R. Zimmermann, *Fortschr. Chem. Forsch.* **1971**, *20*, 28–40.
[6] H. J. Bestmann, N. Sommer, H. A. Staab, *Angew. Chem.* **1962**, *74*, 293.
[7] Wir danken Herrn Prof. Dr. E. Vogel, Köln, für die Überlassung der Cycloheptatrien-1,6-dicarbonsäure.
[8] J. P. Wolf, H. Pfander, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1498–1504.
[9] J. P. Wolf, H. Pfander, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 918–926, zit. Lit.
[10] C. W. Jefford, G. Barchietto, *Tetrahedron Lett.* **1977**, *51*, 4531–4534.
[11] **16**: gelbe Kristalle, Fp = 112 °C; ¹H-NMR: δ = 1.60 (s, 4 H), 7.41 (s, 2 H); ¹³C-NMR: δ = 17.77, 31.25, 148.40, 201.74; IR: ν [cm⁻¹] = 1705 (C=O); MS: m/z 122 (M⁺).
[12] **18**: K_p_{0.005} = 82–85 °C (Kugelrohr), ¹³C-NMR: δ = 19.00, 25.34, 37.84, 46.34, 125.95, 215.11; IR: ν [cm⁻¹] = 1710 (C=O); MS: m/z 204 (M⁺).
[13] Vgl. dazu R. Noyori, M. Suzuki, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 854–882; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 847.

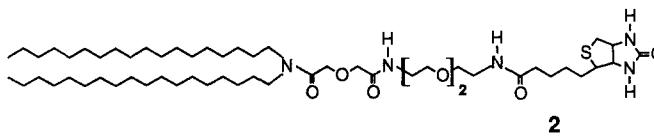
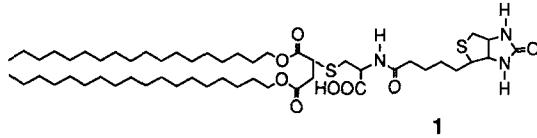
Spezifische Bindung einer funktionellen Proteinschicht an eine trägerfixierte Streptavidinmatrix

Von Hiroshi Ebato, James N. Herron, Wolfgang Müller, Yoshio Okahata, Helmut Ringsdorf* und Peter Suci

Die spezifische Wechselwirkung von Streptavidin^[1] mit biotinylierten Lipiden an der Luft-Wasser-Grenzfläche führt zur Bildung von optisch anisotropen, zweidimensionalen Streptavidinkristallen^[2–4]. Diese perfekt geordnete Proteinkomplexmatrix, an der pro Streptavidinmolekül noch zwei der ursprünglich vier Biotinbindungsstellen frei sind, kann auf mehrere Arten mit biotinylierten Molekülen funktionalisiert werden^[2]. Ward et al. konnten zeigen, daß es möglich ist, das Andocken von biotinylierten Molekülen an unspezifisch auf

Goldoberflächen adsorbierte Avidin- und Streptavidinschichten mit einer Quarzmikrowaage zu detektieren^[5]. Wir haben nun untersucht, ob spezifisch über Biotin an einen festen Träger gebundenes Streptavidin als Matrix für das Andocken einer zweiten funktionellen Proteinschicht verwendet werden kann. Zur Messung wurde eine Quarzmikrowaage (QCM, quartz-crystal microbalance) verwendet^[6], um zum einen die Wechselwirkung von Streptavidin mit Biotinlipidmembranen und zum anderen das Andocken eines biotinylierten Antifluorescein-Antikörper-Fragments (Fab-Fragments)^[7] zu untersuchen.

Frühere Monoschichtuntersuchungen mit Biotinlipiden an der Luft-Wasser-Grenzfläche ergaben, daß für eine feste Bindung des Liganden eine hinreichende Beweglichkeit und freie Zugänglichkeit der Biotinkopfgruppen gewährleistet sein muß^[3, 4]. Da auf einem festen Träger Beweglichkeit und Zugänglichkeit der Kopfgruppen noch kritischer sind, wurden Biotinlipide mit einem kurzen (**1**) und einem langen hydrophilen Spacer (**2**) verglichen. Für alle Messungen wurden



drei Monoschichten der mit L-α-Dipalmitoylphosphatidylethanolamin (L-α-DPPE) gemischten Biotinlipide mittels Langmuir-Blodgett(LB)-Technik auf die Goldelektrode eines Quarzkristalls übertragen. Alle Messungen mit der Quarzmikrowaage wurden in Pufferlösung (50 mmol Phosphat, pH = 7.5) durchgeführt.

Wie erwartet spielt die Spacelänge eine entscheidende Rolle bei der Bindung von Streptavidin an Biotinlipide auf festen Trägern (Abb. 1). Die Frequenzänderung bei Verwen-

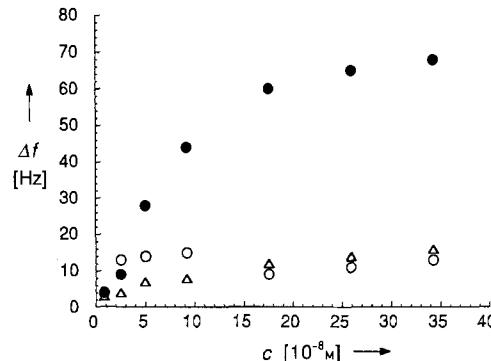


Abb. 1. Wechselwirkung von Streptavidin mit unterschiedlichen Lipidmembranen, gemessen über die Resonanzfrequenzänderung Δf einer Quarzmikrowaage in Abhängigkeit von der Streptavidinkonzentration c . o reines DPPE, △ DPPE mit 5 Mol-% Biotinlipid **1**, ● DPPE mit 5 Mol-% Biotinlipid **2**.

dung von 5 Mol-% des Lipids **2** mit dem langen Spacer in DPPE^[8] ist stark von der Proteinkonzentration abhängig. Eine Sättigung der Membran mit Protein wird zwischen 2.5×10^{-7} und 3.5×10^{-7} M Streptavidin in der Pufferlösung erreicht. Die resultierende Sättigungs-Frequenzänderung von 65 Hz ist in Einklang mit der Frequenzänderung, die für eine Monoschicht aus Streptavidin mit der Sauerbrey-Glei-

[*] Prof. Dr. H. Ringsdorf, Dipl.-Chem. W. Müller, Dr. P. Suci
Institut für Organische Chemie der Universität
J.-J.-Becherweg 18–20, W-6500 Mainz 1

Dr. J. N. Herron
Department of Pharmaceutics, University of Utah
421 Wakara Way, Salt Lake City, UT 84101 (USA)

Dipl.-Chem. H. Ebato, Prof. Dr. Y. Okahata
Department of Polymer Chemistry, Tokyo Institute of Technology
2-12-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152 (Japan)

chung (in Luft) ermittelt wird^[19]. Im Gegensatz dazu ist die maximale Frequenzänderung für die biotinfreie Membran (reines DPPE) und für die Membran mit 5 Mol-% des kurzen Spacerlipids 1 nur 15 Hz. Bei der reinen DPPE-Membran ist eine spezifische Streptavidin-Biotin-Wechselwirkung nicht möglich. Deshalb kann auch die mit 1 eintretende Frequenzänderung nur aus einer unspezifischen Wechselwirkung von Streptavidin mit der Membranoberfläche resultieren. Diese Ergebnisse zeigen, daß ein hinreichend langer hydrophiler Spacer zwischen der Biotinkopfgruppe und den membranbildenden Alkylketten der Biotinlipide notwendig ist, um die reduzierte Beweglichkeit der Kopfgruppen zu kompensieren und eine gute Bindung der Streptavidinschicht zu ermöglichen.

Zur Bestimmung des Gehalts an Biotinlipid 2, der notwendig ist, um eine vollständige Bedeckung der DPPE/2-Membran mit Streptavidin zu erreichen, wurde der Anteil an 2 systematisch variiert. Es konnte gezeigt werden (Abb 2), daß

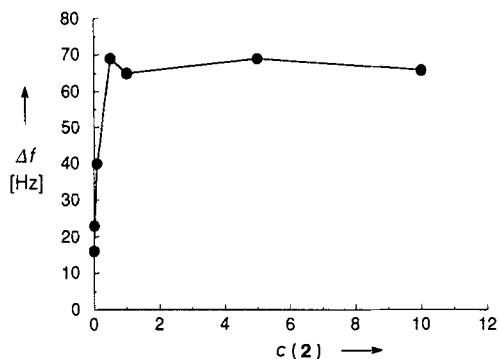


Abb. 2. Abhängigkeit der Resonanzfrequenzänderung vom Gehalt (c in Mol-%) an Biotinlipid 2 in der Membran.

bereits mit 1 Mol-% 2 in der DPPE-Matrix die Sättigungsfrequenz von 65 Hz erreicht wird und daß sich die Frequenz auch bei einer Erhöhung des Gehalts an 2 bis auf 10 Mol-% nicht mehr ändert. Dies zeigt, daß unter den gewählten Bedingungen nach Sättigung der Membran kein weiteres Streptavidin an der Oberfläche adsorbiert wird.

Das Protein, das für das Andocken einer zweiten Schicht an die Streptavidinmatrix verwendet wurde, ist das Fab-Fragment eines monoklonalen Antifluorescein-Antikörpers (Klon 4-4-20)^[7]. Es wurden zwei unterschiedliche Biotinylierungsverfahren für das Fab-Fragment verwendet. Die Er-

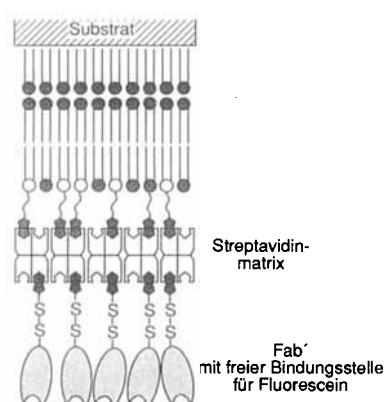


Abb. 3. Schematische Darstellung der Bindung eines spezifisch in der Hinge-Region biotinierten Fab-Fragments (Fab') an eine zweidimensionale Streptavidinschicht. Die resultierende, mit Fab' functionalisierte Streptavidinschicht kann als Matrix zur weiteren Bindung von fluoresceinhaltigen Molekülen dienen.

gebnisse in Abbildung 4 wurden mit einem Fab-Fragment erhalten, das mit einem aminogruppenreaktiven Reagens unselektiv biotiniert wurde (siehe Experimentelles), die in Abbildung 5 dagegen mit einem Fab-Fragment, das selektiv in der Hinge-Region über eine Disulfidbrücke monobiotiniert wurde (Fab'). Dies führt zu einer Schichtstruktur, bei der die Antigen-Bindungsstellen für Fluorescein der Subphase zugewandt sind (Abb. 3).

Abbildung 4 zeigt den zeitlichen Verlauf der Wechselwirkung von Streptavidin mit einer biotinhaltigen Membran

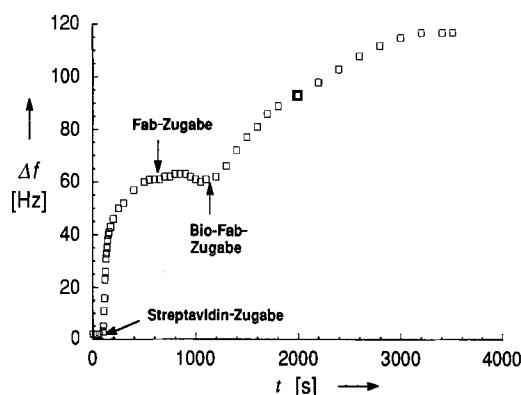


Abb. 4. Zeitlicher Verlauf der Bindung von Streptavidin an eine Lipidmembran mit 5 Mol-% 2 und die Wechselwirkung der entstandenen Streptavidinmatrix mit nichtbiotiniertem und biotiniertem Fab-Fragment.

(5 Mol-% 2 in DPPE) und der resultierenden Streptavidinschicht mit nicht biotinierten und mit biotiniertem Fab-Fragment. Die Sättigung der Membran mit Streptavidin (5×10^{-7} M) ist sehr schnell, und die bereits diskutierte Sättigungs-Frequenzänderung von 65 Hz ist schon nach sechs Minuten erreicht. Die mit Streptavidin bedeckte Membran wurde mit Pufferlösung gewaschen, in eine neue Pufferlösung überführt und ein zweites Mal mit Streptavidin inkubiert. Dies führte zu keiner Frequenzänderung, was zeigt, daß die Streptavidinschicht fest an die Membranoberfläche gebunden ist. Um zu überprüfen, ob eine zweite Proteinschicht unspezifisch gebunden wird, wurde ein nicht biotiniertes Fab-Fragment injiziert ($1,8 \times 10^{-7}$ M). Das Fehlen einer Frequenzänderung (siehe Abb. 4) beweist, daß keine signifikante unspezifische Wechselwirkung zwischen Streptavidin und dem Fab-Fragment auftritt. Anschließend wurden $3,5 \times 10^{-8}$ M des Bio-Fab-Fragments in die Pufferlösung injiziert. Die jetzt sofort einsetzende langsame, aber signifikante Frequenzänderung erreicht einen Sättigungswert bei 55 Hz relativ zur ursprünglichen Sättigungs-Frequenzänderung (Abb. 4), was auf eine dichte Packung der Bio-Fab-Moleküle an der Streptavidinschicht hinweist. Dieses Ergebnis konnte durch Ellipsometrie-Untersuchungen mit den gleichen Proteinen an der Luft-Wasser-Grenzfläche bestätigt werden^[10].

Für den Aufbau von definierten Proteinmultischichten war es von Interesse, ob mit dem selektiv monobiotinierten Fab-Fragment ebenfalls eine dichtgepackte zweite Proteinschicht erhalten werden kann. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in Abbildung 5 als Bindungskurve dargestellt. Die spezifische Wechselwirkung zwischen Fab' und Streptavidinmatrix führt zu einer mit steigender Konzentration an Fab' zunehmenden Frequenzänderung, bis wieder ein Sättigungswert von etwa 50 Hz für eine Fab'-Konzentration von 1×10^{-7} M erreicht wird. Dies deutet auf die Bildung einer zweiten dichtgepackten Proteinschicht (Fab-

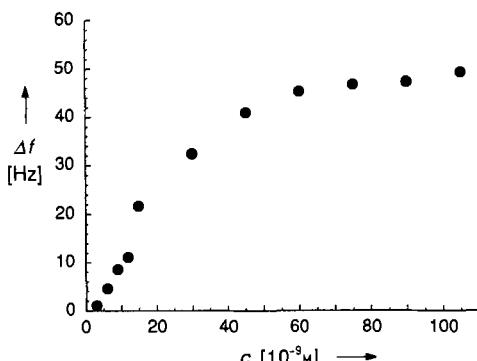


Abb. 5. Bindung eines spezifisch monobiotinylierten Fab-Fragments an eine Streptavidinmatrix (Bindungskurve); jeder Punkt entspricht dem Mittelwert aus drei unabhängigen Messungen.

Fragment) mit freien Bindungsstellen für Fluorescein hin (siehe Abb. 3). Wiederum ergab das Kontrollexperiment mit nicht biotinyliertem Fab-Fragment keine detektierbare Frequenzänderung (nicht gezeigt).

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß Messungen mit der Quarzmikrowaage es ermöglichen, zwischen spezifischer Bindung und unspezifischer Adsorption von Streptavidin an Biotinlipidmembranen zu unterscheiden. Mit der gebildeten Streptavidinschicht als Matrix wurde das Andocken von monoklonalen Fab-Fragmenten mit der Quarzmikrowaage verfolgt. Ganz allgemein kann mit dieser Methode der Aufbau von oberflächengebundenen, hochorganisierten Proteinmatrices, die eine breite Vielfalt von Bindungsspezifitäten aufweisen, untersucht werden.

Experimentelles

Die Resonanzfrequenz des Piezokristalls einer Quarzmikrowaage reagiert empfindlich auf Massenänderungen an der Oberfläche der aufgedampften Goldelektrode. In Flüssigkeiten kann die Beziehung zwischen adsorbiertem Massen und Frequenzänderung allerdings sehr komplex sein [11]. In Luft wird die Frequenzänderung, die aus einer bestimmten adsorbierten Menge resultiert, durch die Sauerbrey-Gleichung beschrieben [9]. Daher kann mit der QCM-Technik im Prinzip der Prozeß der Bindung von Proteinen an Membranen quantifiziert werden. Darüber hinaus kann der zeitliche Verlauf der Wechselwirkung verfolgt werden. Der von uns verwendete experimentelle Aufbau, ist bereits früher beschrieben worden [6]. Die verwendeten Kristalle haben eine Resonanzfrequenz von 9 MHz.

Die LB-Übertragung der Lipidmembranen wurde mit einer Geschwindigkeit von 1 cm min^{-1} bei einem Oberflächendruck von 40 mN m^{-1} ($T = 22^\circ\text{C}$) aus der festen Phasen der Lipidschicht heraus durchgeführt. Dies resultiert in einer dichten Packung und geringen lateralen Mobilität der Lipide auf den festen Trägern. Für die gemischten Membranen aus DPPE und Biotinlipid wurden Chloroformlösungen der Lipide vor dem Spreizen gemischt. Die Messungen wurden in Pufferlösung durchgeführt (50 mmol Phosphatpuffer, pH 7.5). Der Nullwert f_0 und die Änderung in der Resonanzfrequenz des Quarzes $\Delta f = f_0 - f(t)$ wurden als Funktion der Proteinkonzentration in der Pufferlösung aufgezeichnet.

Die unselектив Biotinylierung des Fab-Fragments wurde mit 6-[β -Biotinylamino]hexanoyleamino]hexansäuresuccinimidester (B-1606 Molecular Probes, Inc., Eugene, OR 97402, USA) durchgeführt, die selektive Biotinylierung in der Hinge-Region mit *N*-[β -Biotinylamino]hexyl]-3-(2-pyridylthio)propionamid (21341 Pierce, Rockford, IL 61105, USA). 1 wurde wie schon beschrieben [12] synthetisiert, 2 folgendermaßen erhalten: 4 g (6.3 mmol) *N,N*-Dioctadecylglycolsäuremonoamid [13] wurde mit 1.1 g (6.8 mmol) Carbonyldimidazol in 30 mL wasserfreiem THF 2 h unter Rückfluß erhitzt, um den entsprechenden Imidazolaktivester zu erhalten. Die resultierende Lösung wurde unter Rühren zu einer Lösung von 8 g (54 mmol) 1,8-Diamino-3,6-dioxaoctan in 50 mL wasserfreiem THF getropft. Nach Beendigung der dünnenschichtchromatographisch (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 5/1) verfolgten Reaktion (20 min) wurde das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit Wasser extrahiert, um den Überschuß an Diamin zu entfernen, und durch Chromatographie gereinigt. Es wurden 2.8 g *N,N*-Dioctadecyl-14-amino-5-oxo-3,9, 12-trioxa-6-azatetradecausäureamid (DODA-EO₂-NH₂) erhalten. 300 mg (0.39 mmol) DODA-EO₂-NH₂ und 133 mg (0.39 mmol) *N*-Hydroxysuccinimidobiotin wurden in 10 mL wasserfreiem Dimethylformamid gelöst und bei Raumtemperatur umgesetzt, bis dünnenschichtchromatographisch kein DODA-EO₂-NH₂ mehr nachgewiesen werden konnte (Laufmittel $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 10/1). Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgezogen und der Rück-

stand mit Chloroform aufgenommen. Nach chromatographischer Reinigung konnten 220 mg des Biotinlipids 2 rein erhalten werden. Seine Struktur wurde durch Elementaranalyse und ¹H-NMR-Spektroskopie (400 MHz) bestätigt.

Eingegangen am 27. Dezember 1991,
gekürzte Fassung am 20. Februar 1992 [Z 5096]

- [1] *Methods in Enzymology*, Vol. 184 (Hrsg.: E. A. Bayer, M. Wilchek), Academic Press, San Diego, 1990, S. 5.
- [2] S. A. Darst, M. Ahlers, P. Meller, E. W. Kubalek, R. Blankenburg, H. O. Ribi, H. Ringsdorf, R. D. Kornberg, *Biophys. J.* **1990**, 59, 387.
- [3] M. Ahlers, W. Müller, A. Reichert, H. Ringsdorf, J. Venzmer, *Angew. Chem.* **1990**, 29, 1310; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 1269.
- [4] a) M. Ahlers, M. Hoffmann, H. Ringsdorf, A. M. Rourke, E. Rump, *Makromol. Chem. Makromol. Symp.* **1991**, 46, 307; b) M. Ahlers, R. Blankenburg, H. Haas, D. Möbius, H. Möhwald, W. Müller, H. Ringsdorf, H.-U. Siegmund, *Adv. Mater.* **1991**, 3, 39.
- [5] R. C. Ebersole, J. A. Miller, J. R. Moran, M. D. Ward, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 3239.
- [6] Y. Okahata, H. Ebato, *Anal. Chem.* **1991**, 63, 203.
- [7] J. N. Herron, X.-M. He, L. Mason, E. W. Voss, Jr., A. B. Edmundson, *Proteins* **1989**, 5, 271.
- [8] Da die LB-Übertragung der homogenen Lipidmischung im festen Phasen Zustand der Monoschicht bei 40 mN m^{-1} durchgeführt wurde, beträgt der Flächenbedarf für ein Lipidmolekül ungefähr 40 Å^2 . 5 Mol-% Biotinlipid entsprechen ungefähr sieben Biotinlipidmolekülen auf einer Fläche, die von zwei Streptavidinmolekülen bedeckt wird (5000 Å^2).
- [9] G. Sauerbrey, *Z. Phys.* **1959**, 155, 206. Entsprechend der Sauerbrey-Gleichung ist die Änderung der Resonanzfrequenz eines Piezokeramikkristalls proportional zur Massenänderung auf seiner Elektrodenoberfläche. Für die verwendeten Kristalle ergab die Kalibrierung, daß eine Frequenzänderung von 1 Hz einer Massenzunahme von $1.05 \pm 0.01 \text{ ng}$ entspricht. Die Goldelektrode bedeckt eine Fläche von 15.9 mm^2 . Die Bedeckung der Elektrode mit einer Monoschicht Streptavidin (2500 Å^2 pro Molekül) sollte demnach eine Frequenzabnahme von 63 Hz bewirken. Bedingt durch die rauhe Goldoberfläche der Elektrode kann das aber nur eine ungefähre Abschätzung sein.
- [10] J. N. Herron, W. Müller, M. Paudler, H. Riegler, H. Ringsdorf, P. Suci, *Langmuir* **1992**, 8, 1413.
- [11] a) P. W. Walton, M. E. Butler, M. R. O'Flaherty, *Biochem. Soc. Trans.* **1990**, 19, 44; b) M. Thompson, U. J. Krull, *Anal. Chem.* **1991**, 63, 393 A; c) K. K. Kanazawa, J. G. Gordon II, *Anal. Chim. Acta* **1985**, 175, 99; d) R. Schumacher, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 347; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 329; e) R. C. Ebersole, M. D. Ward, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 8623.
- [12] R. Blankenburg, P. Meller, H. Ringsdorf, C. Salesse, *Biochemistry* **1989**, 28, 8214.
- [13] M. Ahlers, Dissertation, Universität, Mainz, 1990.

Ein metallorganisches Analogon der Criss-cross-Cycloaddition**

Von Colleen Kelley, Lisa A. Mercando, Michael R. Terry, Noël Loran, Gregory L. Geoffroy*, Zhengtian Xu und Arnold L. Rheingold

Der seit 1917^[1] bekannte Aufbau von 1,5-Diazabicyclo[3.3.0]octan-Derivaten [Gl. (a)] durch aufeinanderfolgende [3+2]-Cycloadditionen von Azinen an 1,3-Dipolarophile wird allgemein als Criss-cross-Reaktion bezeichnet^[2]. Elektronenreiche Azine reagieren normalerweise mit elektronenarmen Alkenen, häufig jedoch erst bei erhöhter Temperatur und verlängerter Reaktionszeit. Dagegen reagieren Azine

[*] Prof. G. L. Geoffroy, Dr. C. Kelley, L. A. Mercando, M. R. Terry
Department of Chemistry, The Pennsylvania State University
University Park, PA 16802 (USA)

Dr. N. Loran
Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS, Toulouse (Frankreich)
Z. Xu, Prof. A. L. Rheingold
Department of Chemistry, University of Delaware, Newark, DE (USA)

[**] Diese Arbeit wurde vom Office of Basic Energy Sciences des U.S. Department of Energy und durch ein NATO-Cooperative-Research-Stipendium gefördert.