

wegen der tetraedrischen Struktur des Phosphors von vornherein eine strukturell günstige Position für einen Angriff ihrer endständigen CH_2 -Gruppe an C-4 des Heterocyclus einnimmt. Die Umlagerung des (3b) entsprechenden 1-Propargyloxy-1-methyl-2,4,6-triphenylphosphorins erfordert etwas höhere Temperatur (ca. 140°C , Xylol). Erste Versuche deuten auf einen der Allylumlagerung ähnlichen Verlauf hin.

Eingegangen am 13. Dezember 1974 [Z 134 c]

[1] M. Constenla u. K. Dimroth, Chem. Ber. 107, 3501 (1974).

[2] O. Schaffer u. K. Dimroth, Angew. Chem. 84, 1146 (1972); Angew. Chem. internat. Edit. 11, 1091 (1972).

[3] P. Kieselack u. K. Dimroth, Angew. Chem. 86, 129 (1974); Angew. Chem. internat. Edit. 13, 148 (1974).

[4] K. Dimroth u. H. Weber, unveröffentlicht.

Zur Propargylamin-Hemmung der Monoamin-Oxidase: Struktur des Inhibitor-Komplexes^[1]

Von Bernd Gärtner und Peter Hemmerich^[*]

Die mitochondriale Monoamin-Oxidase (MAO) ist ein Schlüssel-Enzym im Stoffwechsel der biogenen Amine^[2]. Sie enthält Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD) als Coenzym und unterscheidet sich charakteristisch von den normalen Flavoenzymen dadurch, daß das FAD kovalent mit dem Protein verknüpft ist. Die Struktur dieser Verknüpfung (über C-8 α des Flavins an einen Cystein-Schwefel) wurde von Singer et al. durch enzymatischen Abbau^[3] und von Ghisla und Hemmerich^[4] durch Synthese des modifizierten Coenzyms sichergestellt.

MAO wird durch Derivate des Propargylamins (2), z. B. Pargylin[®] [(2), $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, $\text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{H}$], irreversibel gehemmt^[5]. Chuang et al.^[6] haben erstmalig eine spektral reine, solubilisierete Präparation des membran-fixierten Flavoproteins beschrieben und damit auch das sehr charakteristische Elektronenspektrum des Pargylin-Enzym-Komplexes erhalten. Dieses Spektrum fanden wir^[7] übereinstimmend mit demjenigen des Produktes einer Flavin-Photoreduktion mit Pargylin. Wir haben die Struktur des Produkts aufgeklärt^[1] und gefunden, daß es sich durch eine neuartige Photoaddition an N-5 des Flavinkerns (1) bildet. Es entsteht ein Trimethincyanin-Chromophor (3), dessen Enden von der (nunmehr reduzierten) Flavingruppe und der Aminogruppe des Photosubstrats gebildet werden.

Die „Flavocyanine“ (3) liegen in neutraler Lösung als Betaine vor, wobei die positive Ladung im Cyanin-Teil, die negative

im Pyrimidin-Teilkern des Flavins lokalisiert ist. Die Protonierung erfolgt mit $\text{pK} = 4$ bis 5 an N-1, wodurch das Absorptionsspektrum nicht stark beeinflußt wird (ca. 15 nm hypsochrome Verschiebung). Die so gebildeten Kationen sind hydrolysebeständig, während die Einwirkung von Basen auf (3) zur Solvolyse des Cyanin-Systems führt. Dabei läßt sich intermediär ein Aldehyd der Form $\text{HFI}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{O}$ fassen. Weitere Einwirkung, besonders schnell im Falle sekundärer Aminbasen, setzt das Flavin quantitativ als unverändertes Flavochinon (1) frei. Diese chemische Reversibilität der Adduktbildung mit Bezug auf das Flavin scheint im enzymatischen System nicht verifizierbar zu sein.

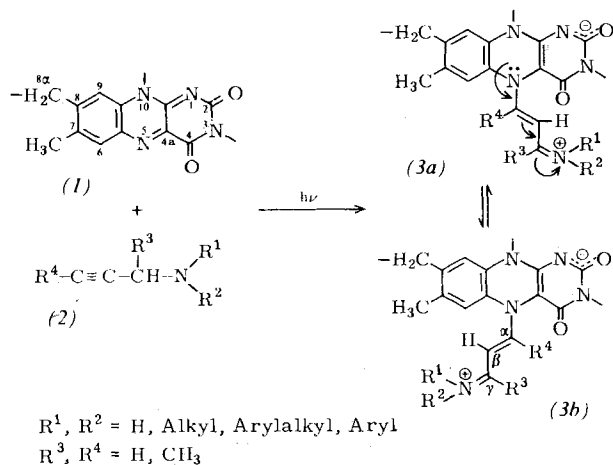
Wie zu erwarten^[8], sind die Trimethinketten stets *trans*-konfiguriert ($^1\text{H-NMR}$, $J_{\text{CH}-\text{CH}_{\text{trans}}} = 11.5-12.0\text{ Hz}$), so daß sich im Falle $\text{R}^1 = \text{R}^2$ nur zwei ungleich populierte (5)N-C(α)-Rotamere (3a, b) direkt nachweisen lassen ($^1\text{H-NMR}$, für jede rotamere Spezies (3a), (3b) separate $\alpha, \beta, \gamma, 6, 9$ -Protonensignale, vgl. experimentellen Teil). Die Populationsunterschiede sind lösungsmittelabhängig, die Gleichgewichtseinstellung (3a) \rightleftharpoons (3b) erfolgt beim Umlösen bei Raumtemperatur in weniger als 5 min. Der Cyanin-Chromophor ist zur Flavin-Endgruppe nicht völlig planar (Kalotte; hohe Halbwertsbreiten^[9] der längstwelligen Banden). Daraus folgt zusätzlich Molekülasymmetrie, die im Fall starker sterischer Behinderung, z. B. $\text{R}^4 = \text{CH}_3$, durch $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Nichtäquivalenz prochiraler Methylenprotonen ($\text{R}^1 = \text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$, ABX_3) evident wird. Der Übergang bei 400 nm wird dem längstwelligen $\pi-\pi^*$ -Übergang des Cyaninchromophors zugeschrieben (Oszillatorenstärken^[10] $f = 0.4-0.6$), wobei ausgeprägt negative Solvatochromie zu beobachten ist (ca. -25 nm beim Wechsel von CHCl_3 zu CH_3OH). Somit ist sichergestellt, daß die 4a,5-Azomethinuntergruppe des Flavocoenzyms das reaktive Zentrum im dehydrierenden Flavoenzym ist und daß kovalente Flavin-Substrat-Wechselwirkungen molekularpharmakologisch und vermutlich auch rein enzymologisch relevant sind.

Das neue Syntheseprinzip läßt sich auf π -Mangel-Azaheterocyclen allgemein ausdehnen.

Experimentelles:

Beispiel: $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{CH}_3$, $\text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{H}$: 1.50 g (5.5 mmol) 3-Methylumiflavin^[11] und 4.6 g (55.0 mmol) *N,N*-Dimethylpropargylamin in 600 ml 0.1 M Phosphatpuffer, pH 7.7, werden unter Argon und Rühren 30 h mit einer 170 W-Quecksilber-Hochdrucklampe (HERAEUS, Hanau; Kühlmantel aus Pyrex-Glas!) bestrahlt. Der braune Niederschlag wird abgesaugt, mit 50 ml Wasser gewaschen, getrocknet und dreimal mit je 50 ml heißem Benzol ausgezogen. Der Rückstand wird aus 25 ml heißem Chloroform mit 60 ml heißem Benzol umgefällt, in 30 ml heißem Methanol aufgenommen und sofort mit 120 ml Äther gefällt. Nach 15 h ist der Niederschlag durchkristallisiert. Ausbeute: 600 mg (28%) 5-(γ -Dimethyliminio-propenyl)-3-methyl-1,5-dihydrolumiflavin-betain, gelbe Nadeln, $\text{Fp} = 226-227^\circ\text{C}$ (Zers.). UV: λ_{max} (ϵ) in Benzol 430 nm (29650), in Chloroform 427 nm (22700), in Methanol 402 nm (25500), in H_2O , pH 7.0, 391 nm (25500). $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz; TMS intern): δ [ppm] in $[\text{D}_6]-\text{DMSO}$: Rotamer (3a) (82%) $\alpha\text{-H}$ 7.85, $\beta\text{-H}$ 5.10, $\gamma\text{-H}$ 7.77; (3b) (18%) 8.10, 5.80, 8.01; $J_{\alpha\beta} = J_{\beta\gamma} = 12.0\text{ Hz}$; in CF_3COOH : Rotamer (3a) (73%) 7.68, 5.34, 7.77; (3b) (27%) 8.00, 6.12, 7.90; $J_{\alpha\beta} = J_{\beta\gamma} = 12.0\text{ Hz}$.

Eingegangen am 23. Dezember 1974 [Z 135]



[*] Prof. Dr. P. Hemmerich und Dr. B. Gärtner
 Fachbereich Biologie der Universität
 775 Konstanz, Postfach 7733

[1] Auszug aus der Dissertation B. Gärtner, Universität Konstanz 1974.

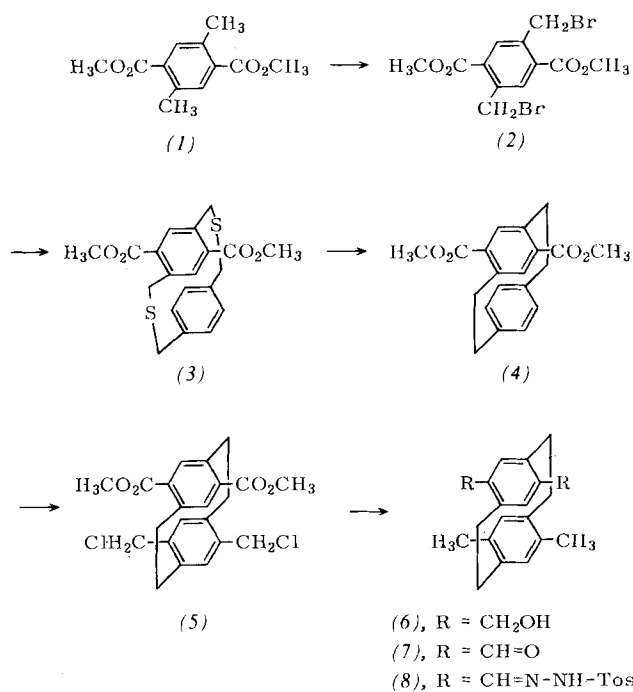
[2] R. Kapeller-Adler: Amine Oxidases and Methods for Their Study. Wiley-Interscience, New York 1970, S. 28.

- [3] E. B. Kearney, J. I. Salach, W. H. Walker, R. Seng u. T. P. Singer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 42, 490 (1971).
- [4] S. Ghisla u. P. Hemmerich, *FEBS Lett.* 16, 229 (1971).
- [5] E. A. Zeller, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 107, 811 (1963); L. R. Swett, W. B. Martin, J. D. Taylor, G. M. Everett, A. A. Wykes u. Y. C. Gladish, *ibid.* 107, 891 (1963).
- [6] H. Y. K. Chuang, D. R. Patek u. L. Hellerman, *J. Biol. Chem.* 249, 2381 (1974); vgl. auch: L. Orland, H. Kinemuchi u. B. Y. Yoo, *Life Sci.* 13, 1533 (1973).
- [7] E. A. Zeller, B. Gärtner u. P. Hemmerich, *Z. Naturforsch.* 27b, 1050 (1972). Die damals zunächst vermutete cyclische Addukt-Struktur ist zugunsten der isomeren Cyanin-Struktur (3) zu korrigieren. Nach Abschluß dieser Arbeit [1] (als Dissertation angenommen am 18. 11. 1974) teilte uns am 26. 11. 1974 Dr. Maycock, Brandeis University, mit, daß er mit von uns zu enzymologischen Vergleichszwecken überlassener Substanz [(3), $R^1 = R^3 = CH_3$, $R^2 = R^4 = H$] die Cyaninstruktur unabhängig verifiziert habe.
- [8] G. Scheibe, W. Seiffert, G. Hohlneicher, C. Jutz u. H. J. Springer, *Tetrahedron Lett.* 1966, 5053.
- [9] E. Daltrozzo, persönliche Mitteilung.
- [10] G. Scheibe, H. J. Friedrich u. G. Hohlneicher, *Angew. Chem.* 73, 383 (1961).
- [11] P. Hemmerich, *Helv. Chim. Acta* 47, 464 (1964).

[2.2.2.2](1,2,4,5)Cyclophane^[***]

Von Richard Gray und V. Boekelheide^[*]

Mehrfach überbrückte Cyclophane, die drei oder mehr Atome in jeder Brücke enthalten, sind bekannt^[1]; vor kurzem wurden



[*] R. Gray und Prof. Dr. V. Boekelheide ^[**]
 Department of Chemistry, University of Oregon
 Eugene, Oregon 97403 (USA)

[**] Z. Zt. Institut für Organische Chemie der Universität
 75 Karlsruhe, Richard-Willstätter-Allee
 V.B. dankt der Alexander-von-Humboldt-Stiftung für einen Studienaufenthalt im Rahmen des „Sonderprogramms“.

[***] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation unterstützt.

auch die dreifach überbrückten Verbindungen [2.2.2](1,3,5)- und [2.2.2](1,2,4)Cyclophan dargestellt^[2]. Die starke transannulare Wechselwirkung der aromatischen π -Elektronenwolken dieser Moleküle, die aus ihren spektralen und chemischen Eigenschaften hervorgeht, legt es nahe, Cyclophane mit einer noch höheren Zahl von Brücken zu untersuchen. Wir berichten hier über die Synthese von [2.2.2.2](1,2,4,5)Cyclophan (9). Die Behandlung von Dimethyl-2,5-dimethylterephthalat (1)^[3] mit N-Bromsuccinimid ergab (2) (farblose Nadeln, Fp = 169–171 °C; Vorsicht! (2) ist ein starkes Allergen)^[4]. Bei der Kuppelung von (2) mit 1,4-Benzolbis(methanthiol) entstand (3) in 59% Ausbeute (farblose Prismen, Fp = 158.5–159.5 °C). Durch Bestrahlung einer Lösung von (3) in Trimethylphosphit nach der üblichen Prozedur zur Entfernung des Schwefels aus dem Molekül^[5] erhielten wir (4) in 69% Ausbeute (farblose Schuppen, Fp = 144–145 °C). Aus den Arbeiten von Reich und Cram^[6] ist bekannt, daß Carbonylgruppen, die sich an einem Benzolring eines [2.2]Paracyclophan befinden, einen neuen Substituenten bei der elektrophilen Substitution in die pseudogeminale Position des anderen Benzolrings lenken. Wie erwartet führte die Chlormethylierung von (4) mit Chlormethyl-methyläther und Aluminiumchlorid zu (5) in 72% Ausbeute (farblose Schuppen, Fp = 189–192 °C). Die Reduktion von (5) mit Diisobutylaluminiumhydrid ergab (6) in 98% Ausbeute (farbloses Pulver, Fp > 200 °C (Zers.)). Durch Oxidation von (6) mit aktiviertem Mangandioxid^[7] erhielten wir den Dialdehyd (7) in 85% Ausbeute (feine gelbe Nadeln, Fp > 240 °C (Zers.)).

Transannulare Carbenoid-Einschiebungsreaktionen an [2.2]Paracyclophanen wurden bereits von Cram beobachtet; sie eignen sich vorzüglich zur Einführung von Brücken, die aus zwei Kohlenstoffatomen bestehen^[8]. Die Umsetzung von (7) zum Bis(tosylhydrazon) (8) und dessen Behandlung mit Natriummethanolat in THF und anschließende Bestrahlung mit einer Tageslichtlampe ergaben den gewünschten Kohlenwasserstoff (9) in 49% Ausbeute.

[2.2.2.2](1,2,4,5)Cyclophan (9) sublimiert schnell bei 250 °C zu farblosen Plättchen vom Fp = 350 °C; ¹H-NMR (CDCl₃): ein Singulett bei $\tau = 4.04$ (4H), ein A₂B₂-System bei 6.50–7.40 (16H); λ_{max} (Cyclohexan) = 248 ($\epsilon = 3610$), 294 (Schulter, 660), 303 nm (1050). Die Signale der aromatischen Wasserstoffatome von (9) treten bei tieferem Feld auf als diejenigen des symmetrischen [2.2.2](1,3,5)Cyclophan ($\tau = 4.27$); dies legt nahe, daß die Benzolringe von (9) bootförmig verzerrt sind, so daß die CH-Gruppierungen nach außen hervorstehen können.

Eingegangen am 26. November 1974 [Z 131]

[1] A. J. Hubert, *J. Chem. Soc.* 1965, 3160; *J. Chem. Soc. C* 1967, 6, 11, 13; R. D. Stephens, *J. Org. Chem.* 38, 2260 (1973).

[2] V. Boekelheide u. R. A. Hollins, *J. Amer. Chem. Soc.* 95, 3201 (1973); E. A. Truesdale u. D. J. Cram, *ibid.* 95, 5825 (1973).

[3] M. Cachia u. H. Wahl, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1958, 1418.

[4] Von allen neuen Verbindungen wurden korrekte Elementaranalysen erhalten. Ferner sind die UV-, IR-, NMR- und Massenspektren im Einklang mit den angegebenen Strukturen.

[5] V. Boekelheide, I. D. Reingold u. M. Tuttle, *J. C. S. Chem. Comm.* 1973, 406; J. Brushin u. W. Jenny, *Tetrahedron Lett.* 1973, 1215.

[6] H. J. Reich u. D. J. Cram, *J. Amer. Chem. Soc.* 91, 3505, 3517, 3527 (1969).

[7] J. Attenburrow, A. F. B. Cameron, J. H. Chapman, R. M. Evans, B. A. Hems, A. B. A. Jansen u. T. Walker, *J. Chem. Soc.* 1952, 1094.

[8] D. J. Cram, R. B. Hornsby, E. A. Truesdale, H. J. Reich, M. H. Delton u. J. M. Cram, *Tetrahedron* 30, 1757 (1974).