

Zur Strukturaufklärung des BN_2 -Ringsystems wurde außer der CH-Elementaranalyse eine kryoskopische Molmassenbestimmung in Cyclohexan ($M_r = 432$) durchgeführt; auch in Lösung kann also ein Dimer, ein B_2N_4 -Ringsystem^[10], ausgeschlossen werden. Da es bisher nicht gelang, geeignete Einkristalle für eine Röntgen-Strukturuntersuchung zu isolieren, stützen sich Aussagen über die Konfiguration dieses BN_2 -Rings auf NMR-Daten. Die ^{11}B -NMR-Verschiebung ($\delta = 27.2$) tritt im Bereich des sp^2 -hybridisierten Bors auf. Ebenso ist der Stickstoff – wohl zum Teil wegen der gebundenen Silylgruppen – sp^2 -hybridisiert; die ^{14}N -NMR-Verschiebung wird bei $\delta = -329$ (rel. CH_3NO_2) beobachtet. Die scharfen ^1H - und ^{13}C -NMR-Signale zeigen äquivalente Substituenten in der Ringebene an. Die ^{29}Si -NMR-Signale liegen im zu erwartenden Bereich.

Somit unterscheiden sich die NMR-Befunde dieses silyl- und silylaminsubstituierten Dreirings von denen eines ebenfalls kürzlich synthetisierten BN_2 -Rings, der am Stickstoff Isopropylgruppen trägt^[11].

Arbeitsvorschrift

0.05 mol **1** in 200 mL *n*-Hexan werden auf -30°C gekühlt und unter Rühren innerhalb von 4 h mit 0.05 mol **2** in 150 mL *n*-Hexan versetzt. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wird durch Abzentrifugieren vom ausgefallenen LiF getrennt. Das Lösungsmittel wird im Ölpumpenvakuum abgezogen und anschließend das bereits ausgefallene **3** durch Aufnahme in wenig *n*-Hexan bei Raumtemperatur und Ausfällen bei -30°C gereinigt. Ausbeute: 10.5 g (85%); $\text{Fp} = 69^\circ\text{C}$; MS (70 eV): m/z 429 (15) M^+ (mit theoretischer B-Isotopenverteilung), 414 (5) ($M^+ - \text{CH}_3$), 372 (100) ($M^+ - \text{C}_4\text{H}_9$); ^1H -NMR (CH_2Cl_2 , TMS int.): $\delta = 0.10$ (SiMe_2), 0.26 (SiMe_3), 0.97 (CMe_3); ^{11}B -NMR ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{C}_6\text{D}_6$, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ext.): $\delta = 27.2$; ^{13}C -NMR ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{C}_6\text{D}_6$, TMS int.): $\delta = -3.34$ (SiMe_2), 3.24 (SiMe_3), 19.72 (SiCMe_3), 27.26 [$\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$]; ^{14}N -NMR (CDCl_3 , CH_3NO_2 ext.): $\delta = -329$; ^{29}Si -NMR ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{C}_6\text{D}_6$, TMS int.): $\delta = 7.25$ ($\text{SiMe}_2\text{CMe}_3$), 12.88 (SiMe_3).

Eingegangen am 26. Juni,
ergänzt am 24. Juli 1984 [Z 901]

- [1] M. Baudler, A. Marx, J. Hahn, *Z. Naturforsch. B* 33 (1978) 355.
- [2] M. Baudler, A. Marx, *Z. Anorg. Allg. Chem.* 474 (1981) 18.
- [3] M. Feher, R. Fröhlich, K. F. Tebbe, *Z. Anorg. Allg. Chem.* 474 (1981) 31.
- [4] H. Klusik, A. Berndt, *Angew. Chem.* 95 (1983) 895; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 877.
- [5] C. Habben, A. Meller, IMEBORON V: 5. *Int. Symp. Boron Chem., Abstr. CA4* (1983) 9.
- [6] C. Poes, A. Berndt, *Angew. Chem.* 96 (1984) 306; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 313.
- [7] B. Maouche, J. Gayoso, *Int. J. Quantum Chem.* 1983, 891.
- [8] J. Haiduc: *The Chemistry of Inorganic Ring Systems*, Wiley-Interscience, London 1970.
- [9] J. Hluchy, U. Klingebiel, *Angew. Chem.* 94 (1982) 292; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 301; *Angew. Chem. Suppl.* 1982, 750.
- [10] K. Barlos, H. Nöth, *Z. Naturforsch. B* 35 (1980) 407, 125; H. Nöth, W. Winterstein, *Chem. Ber.* 111 (1978) 2469.
- [11] F. Dirschl, H. Nöth, W. Wagner, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, im Druck.

Asymmetrische mikrosomale Epoxidierung einfacher prochiraler Olefine**

Von Volker Schurig* und Dorothee Wistuba

Enzyme können als hochstereoselektive Katalysatoren sowohl zwischen enantiotopen Gruppen und Halbräumen prochiraler Moleküle (*Produkt-Enantioselektivität*) als auch zwischen Enantiomeren racemischer Gemische (*Substrat-Enantioselektivität*) unterscheiden^[1].

[*] Prof. Dr. V. Schurig, Dipl.-Chem. D. Wistuba
Institut für Organische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, D-7400 Tübingen 1

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Wir danken Prof. Dr. A. Wendel, Tübingen, für die Mikrosomen.

Bei der Metabolisierung von Xenobiotica mit aromatischen und olefinischen Doppelbindungen im endoplasmatischen Reticulum der Leberzelle werden reaktive Oxirane (Epoxide) enantioselektiv gebildet. So epoxidieren Cytochrom-P-450-abhängige Monooxygenasen mit hoher Enantioselektivität aromatische polycyclische Kohlenwasserstoffe^[2]. Die asymmetrische Epoxidierung prochiraler Olefine (Styrol, 1-Octen) ist ebenfalls bekannt^[3]. Die gebildeten reaktiven Oxirane weisen oft ein hohes mutagenes und carcinogenes Potential auf, das häufig von der Enantiomerenzusammensetzung und der absoluten Konfiguration abhängt^[4]. Die bisher für die Untersuchung der Enantioselektivität verwendeten Methoden zur Bestimmung der Enantiomerenreinheit^[5] sind aufwendig und ungenau.

Wir fanden, daß Monooxygenasen bei der mikrosomalen Epoxidierung kleiner, aliphatischer, unfunktionalisierter, prochiraler Olefine **1** zwischen den enantiotopen Halbräumen der Doppelbindung unterscheiden können; dabei hängt das Ausmaß der Produkt-Enantioselektivität kritisch von der Struktur der Olefine ab. Zur schnellen und präzisen Bestimmung von Enantiomerenüberschuß und absoluter Konfiguration der gebildeten Oxirane **2** wurde die Komplexierungsgaschromatographie^[6] angewendet. Mit dieser Methode lassen sich auch hochflüchtige, schwer isolierbare Oxirane derivatisierungsfrei im Nanogramm-Maßstab durch Dampfphaseanalyse über den Inkubationsansätzen zuverlässig analysieren. Dabei gelingt es auch, die enantioselektive Umwandlung kontinuierlich ohne Reaktionsabbruch zu verfolgen; dies ist zur Unterscheidung zwischen Produkt- und Substrat-Enantioselektivität erforderlich.

Wir untersuchten die Produkt-Enantioselektivität der enzymkatalysierten aeroben Epoxidierung prochiraler Olefine **1** zu Oxiranen **2** mit Lebermikrosomen männlicher, Phenobarbital-induzierter Wistar-Ratten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt^[7]. Ein repräsentatives Komplexierungsgaschromatogramm zeigt Abbildung 1.

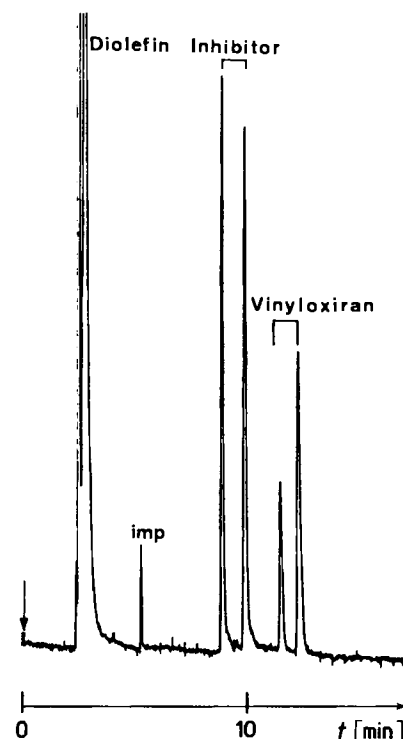


Abb. 1. Nachweis der enantioselektiven mikrosomalen Epoxidierung von 1,3-Butadien (= „Diiolefin“) **1c** zu Vinyloxiran **2c**. Erstes Enantiomerenpaar: 2-(Trichlormethyl)oxiran (Inhibitor). Zweites Enantiomerenpaar: Vinyloxiran (e.e.: 40% (S)). imp = Verunreinigung. Säule: 40 m \times 0.25 mm desaktivierte Glaskapillare belegt mit 0.125 m Nickel-bis(3-heptafluorbutyryl-1(R)-campherat) [6] in OV 101. 70°C , 2 bar N_2 .

Tabelle 1. Mikrosomale enantioselektive Epoxidierung einfacher Olefine [7]. Die Formel bezieht sich auf die Enantiomere mit (2*R*)-Konfiguration (2*e*: (3*R*)-Konfiguration).

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Enantiomeren- verhältnis [a]	e.e. [%] [b]
a	H	H	Me	H	30 (<i>R</i>) : 70 (<i>S</i>)	40 ± 1.4 [c]
b	H	H	Et	H	30 (<i>R</i>) : 70 (<i>S</i>)	40 ± 1.0
c	H	H	HC=CH ₂	H	30 (<i>R</i>) : 70 (<i>S</i>)	40 ± 1.4
d	H	Me	Me	H	43 (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>) : 57 (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)	14 ± 1.0
e	H	Me	Me	Me	0 : 0	0 ± 1.0
f	H	H	Et	Me	39 (<i>R</i>) : 61 (<i>S</i>)	22 ± 4.0
g	H	Me	Et	H	48 (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>) : 52 (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)	4 ± 1.2
h	Me	H	Et	H	48 (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>) : 52 (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)	4 ± 1.1

[a] Die absolute Konfiguration wurde durch Coinjektion von Oxiranen bekannter Chiralität (K. Hintzer, Dissertation, Universität Tübingen 1983) bestimmt. Die absolute Konfiguration von Vinyloxiran 2*c* wurde nach der „Quadrantenregel“ [6] zugeordnet. [b] Die Fehlerangaben beziehen sich auf die Reproduzierbarkeit von mindestens sieben Inkubationen mit einer Mikrosomenpräparation. [c] Wurden mit 2-(Trichlormethyl)oxiran inhibierte mikrosomale Ansätze mit racemischem Methyloxiran 2*a* inkubiert, so änderte sich e.e. = 0 ± 1% in der Dampfphase nicht. Damit wird sichergestellt, daß die komplexierungsgaschromatographisch bestimmten e.e.-Werte nicht durch enantioselektive Assoziationen im Inkubationsmedium (z. B. mit chiralen Zellmembranen) verfälscht werden.

Die höchste Enantioselektivität der Cytochrom-P-450-abhängigen Monooxygenasen wurde bei der Epoxidierung von Olefinen mit terminaler Doppelbindung (1*a*–*c*, *f*) beobachtet. Verlängerung der Kohlenstoffkette und Änderung des Hybridisierungsgrades der Seitenkette haben keinen Einfluß auf die Enantiomerenzusammensetzung. Dagegen wird die Enantioselektivität des Enzymsystems stark durch den Substitutionsgrad der olefinischen Doppelbindung beeinflusst. So nimmt der Enantiomerenüberschuß deutlich in der Reihenfolge Methyloxiran 2*a* > *trans*-2,3-Dimethyloxiran 2*d* > Trimethyloxiran 2*e* (= Null) ab. Bevorzugt wird stets das (*S*)-Enantiomer gebildet. Die Molekülgeometrie des Olefins 1 wirkt sich ebenfalls auf das enantioselektive Verhalten der Monooxygenasen aus. Beim Vergleich der mikrosomalen Epoxidierung isomerer Pentene beobachtet man für das 2,2-disubstituierte Oxiran 2*f* einen höheren Enantiomerenüberschuß als für die *cis*/*trans*-2,3-disubstituierten Verbindungen 2*h* und 2*g*. Diese *cis*/*trans*-Oxirane weisen nur einen geringen (gleichen) Enantiomerenüberschuß auf.

Die Oxirane 2 treten in „steady-state“-Konzentrationen auf, da sie durch die in der Mikrosomenfraktion vorhandene Epoxid-Hydrolase zu Diolen hydrolysiert werden. Die kontinuierliche Bestimmung der Enantiomerenzusammensetzung der Oxirane zeigte, daß auch diese Folgereaktion asymmetrisch abläuft („kinetische Racematspaltung“). Bei 2 wird das (*S*)-Enantiomer schneller als das (*R*)-Enantiomer abgebaut^[6]. Aussagekräftige Daten bezüglich der Produkt-Enantioselektivität der Oxiranbildung können deshalb nur durch effektive Inhibition der Epoxid-Hydrolase erhalten werden^[9]. Als Inhibitor diente 2-(Trichlormethyl)oxiran. Im Komplextierungsgaschromatogramm eluieren die Enantiomere des Inhibitors vor den Oxiranen 2 (vgl. auch Abb. 1). Bestimmt man komplexierungsgaschromatographisch die Enantiomerenzusammensetzung der gebildeten Oxirane in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer, so findet man konstante Werte (enantioselektive Bildungsreaktion), solange der Inhibitor im Überschuß vorhanden ist; danach beginnt die Hydrolyse (enantioselektiver Abbau) der Oxirane. Diese Befunde un-

terstreichen die Notwendigkeit der kontinuierlichen Bestimmung des Enantiomerenüberschusses und der Konzentration des Oxirans während der Inkubation. Die dabei erstmals angewendete Methode der Komplextierungsgaschromatographie erweist sich als zuverlässiges Instrument zur Untersuchung asymmetrischer enzymatischer Reaktionen.

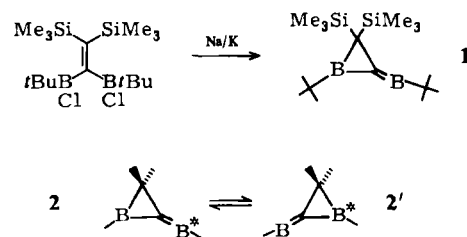
Eingegangen am 11. Mai 1984 [Z 830]

- [1] Ein bemerkenswertes Beispiel ist die enantioselektive Biosynthese von nur einem Lanosterin-Enantiomer aus prochiralem Squalen über 2,3-Squalenepoxid.
- [2] P. J. van Bladeren, R. N. Armstrong, D. Cobb, D. R. Thakker, D. E. Ryan, P. E. Thomas, N. D. Sharma, D. R. Boyd, W. Levin, D. M. Jerina, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 106 (1982) 602, zit. Lit.
- [3] T. Watabe, N. Ozawa, A. Hiratsuka, *Biochem. Pharmacol.* 32 (1983) 777; L. P. C. Delbressine, P. J. van Bladeren, F. L. M. Smeets, F. Seutter-Berlage, *Xenobiotica* 11 (1981) 589; P. R. Ortiz de Montellano, B. L. K. Mangold, C. Wheeler, K. L. Kunze, N. O. Reich, *J. Biol. Chem.* 258 (1983) 4208.
- [4] W. Levin, R. L. Chang, A. W. Wood, H. Yagi, D. R. Thakker, D. M. Jerina, A. H. Conney, *Cancer Res.* 44 (1984) 929, zit. Lit.
- [5] Die Enantiomerenreinheit wird als Enantiomerenüberschuß („enantiomeric excess“, e.e.) angegeben. e.e. = 100 ([*S*] – [*R*]) / ([*S*] + [*R*]).
- [6] V. Schurig, W. Bürkle, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 7573; V. Schurig in J. D. Morrison: *Asymmetric Synthesis*, Vol. 1, Academic Press, New York 1983, S. 59.
- [7] Der Inkubationsansatz mit 0.5 mL Gesamtvolumen enthält: Mikrosomen (1.5 mg Protein/mL), 0.15 M Phosphatpuffer pH 7.4, NADP⁺ (10^{–3} M), Isocitrat-Hydrogenase (0.1 I.U.), (±)-Isocitrat (8 · 10^{–3} M), 2-(Trichlormethyl)oxiran (4 · 10^{–3}–9 · 10^{–3} M), MgCl₂ (5 · 10^{–3} M) und Olefin 1 (3–13 µmol). Temperatur: 37 °C. Inkubationsdauer: 30 min.
- [8] Die racemischen Oxirane werden mit Mikrosomen (1.5 mg Protein/mL) in 0.15 M Phosphatpuffer (pH 7.4) bei 37 °C inkubiert; die enzymatische Hydrolyse wird komplexierungsgaschromatographisch untersucht. Die Inkubationsdauer (maximal 2 h) ist substratabhängig.
- [9] Unterläßt man die Inhibition der Epoxid-Hydrolase, so wird bei der mikrosomalen Epoxidation von z. B. 1,3-Butadien zu Vinyloxiran ein racemisches Produkt vorgetäuscht, da sowohl die Bildung als auch der Abbau des (*S*)-Enantiomers bevorzugt ist; H. M. Bolt, G. Schmiedel, J. G. Filser, H. P. Rolzhäuser, K. Lieser, D. Wistuba, V. Schurig, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 106 (1983) 112.

Diboramethylencyclopropan, theoretische Studien zur Struktur und zum Mechanismus der Topomerisierung**

Von Peter H. M. Budzelaar, Paul von Ragué Schleyer* und Karsten Krogh-Jespersen*

Verbindungen mit BC-Doppelbindungen waren unbekannt, bis vor kurzem Berndt et al. das erste Diboramethylencyclopropan 1 synthetisierten^[1]. Bei Raumtemperatur topomerisiert 1 entsprechend dem Gleichgewicht 2 ⇌ 2' schnell (Aktivierungsenergie: 11.4 kcal/mol)^[1].



[*] Prof. Dr. P. von R. Schleyer, Dr. P. H. M. Budzelaar
Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg
Henkestraße 42, D-8520 Erlangen
Prof. Dr. K. Krogh-Jespersen
Department of Chemistry, Rutgers,
The State University of New Jersey
New Brunswick, NJ 08903 (USA)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. P. H. M. B. dankt der Niederländischen Organisation zur Förderung der Grundlagenforschung (Z.W.O.) für ein Stipendium. Wir danken Dr. T. Clark für vorläufige Rechnungen an 2 und 6 sowie für Diskussionsbeiträge.