

Die Cyclopropylgruppe in Untersuchungen über Mechanismus und Hemmung von Enzymen

Von Colin J. Suckling*

Die Cyclopropylgruppe – besonders in Verbindungen wie Cyclopropylmethanol, Phenylcyclopropylamin und Cyclopropanonhydrat – hat sich beim Studium von Enzymreaktionen vielfach bewährt. Ob sich der Cyclopropanring unter Radikalbildung öffnet oder intakt bleibt, läßt weitreichende Schlüsse auf die Vorgänge im aktiven Zentrum zu.

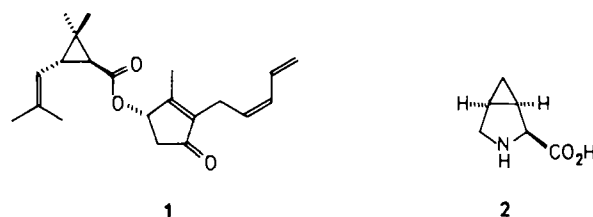
1. Einleitung

Eine der bedeutendsten Entwicklungen der letzten zehn Jahre in der Bioorganischen Chemie war die Symbiose mechanistischer Untersuchungen an Enzymen und gezielter Konstruktionen von Enzym-Inhibitoren^[1, 2]. Die steigende Nachfrage nach spezifischen Arzneimitteln förderte die systematische Entwicklung neuer Arzneimittelstrukturen auf der Basis mechanistischer Argumente; als besonders attraktiv erwiesen sich enzymaktivierbare Inhibitoren. Die hochspezifische Wirkung am Ort des Zielenzyms ist im Prinzip bereits gesichert, wenn das Arzneimittel erst durch das Zielenzym aktiviert wird und dadurch seinerseits das Zielenzym hemmt. Um biologisch aktive Verbindungen dieser Art zu gewinnen, muß zuerst eine kleine, inerte Gruppe gewählt werden, die in eine reaktive Spezies überführt werden kann, indem sie entweder direkt oder durch Reaktionen an einer benachbarten Gruppe umgewandelt wird. So hat man Halogenvinylgruppen in Phenylethylamine eingeführt, um Inhibitoren der Amin-Oxidase zu erzeugen; einige dieser Verbindungen gelten als vielversprechende Arzneimittel für die Behandlung der Parkinsonschen Krankheit^[2a]. Ähnlich können Halogenmethylgruppen zu potenten und selektiven Enzym-Inhibitoren mit antibakterieller Wirkung führen^[2b]. Die vorliegende Übersicht behandelt eine weitere Gruppe mit dieser Fähigkeit: die Cyclopropylgruppe. Cyclopropan-Derivate interessieren seit vielen Jahren in der Grundlagenforschung; dagegen wird die Bioorganische Chemie der Cyclopropane erst seit relativ kurzer Zeit intensiv untersucht. Im folgenden wird zunächst die Bedeutung von Cyclopropan und verwandten kleinen Ringen in der Naturstoff- und Enzymchemie diskutiert; danach werden chemische Eigenschaften von Cyclopropanen abgehandelt, die für Hemmstudien und mechanistische Untersuchungen wichtig sind. Der letzte Teil dieser Übersicht befaßt sich mit den Wechselwirkungen zwischen Enzymen und Cyclopropanen.

1.1. Cyclopropane in Naturstoffen

Die Spannung des Cyclopropanringes steht seinem Vorkommen in weitverbreiteten Naturstoffen nicht entgegen. In vielen Fällen sind diese Ringe stabil und treten als Teilstrukturen von Verbindungen am Ende von Biosynthesewegen auf. Beispielsweise sind viele Fettsäuren, Terpene

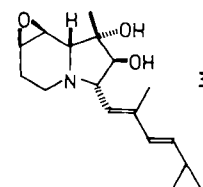
und Steroide Alkylcyclopropane. Ein bemerkenswertes Beispiel ist Pyrethrin **1**, die Basis bedeutender Insektizide^[3]. Es gibt jedoch ähnlich wichtige Beispiele, bei denen die Reaktivität des Cyclopropanes für eine spezielle biosynthetische Transformation wesentlich ist. Die Umwandlung von Farnesylpyrophosphat über Präqualen zu Squalen läßt sich als Umlagerung eines Cyclopropylalkyl-Kations auffassen^[4]. Man kennt eine Reihe Cyclopropylaminosäuren, von denen einige toxisch wirken^[5]; die Toxizität kann oft mit einer Enzymhemmung in Verbindung gebracht werden (siehe Abschnitt 4). Dagegen ist 1-Aminocyclopropan-carbonsäure als biosynthetischer Vorläufer von Ethylen bekannt, einem Hormon, das an der Fruchtreifung beteiligt ist und aus vielen Organismen isoliert wurde. Die ste-



reochemischen Einzelheiten vieler seiner biosynthetischen Umwandlungen sind aufgeklärt worden^[6], und es gibt Hinweise, daß die Ringöffnung von Cyclopropylammonium-Radikalkationen eine Rolle bei der Biosynthese spielt^[7a]. In der Natur wird die Ethylenbiosynthese durch eine raffinierte Folge von Reaktionsschritten – darunter der Ringöffnung von Cyclopropylalkyl-Radikalen – gehemmt, wie Pirrung et al. gezeigt haben (siehe Abschnitt 4)^[7b]. Die bicyclische Aminosäure Methanoprolin **2** inhibiert die Prolinbiosynthese in Pflanzen und kann bei Pollen Sterilität hervorrufen – eine Eigenschaft, die zur Erhaltung echter Zuchtsorten von F1-Hybriden^[8] angewendet wird.

1.2. Verbindungen mit unreaktiven Cyclopropylgruppen

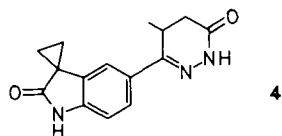
Es gibt mehrere nicht-natürliche Cyclopropan-Derivate, in denen der kleine Ring inert ist, aber dafür sorgt, daß die Verbindung und ihr Rezeptor räumlich gut zusammenpassen. Bei Pyrethroiden weist z.B. nichts darauf hin, daß



[*] Prof. Dr. C. J. Suckling
Department of Pure and Applied Chemistry
University of Strathclyde
25, Cathedral Street, Glasgow G1 1XL (Großbritannien)

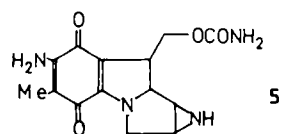
eine chemische Reaktion des Cyclopropanrings für ihre insektizide Wirkung erforderlich ist^[3]. Fettsäureester von Cyclopropancarbonsäuren haben sich als Akarizide erwiesen^[9], wiederum ohne augenscheinliche Reaktivität des Ringes. Auch beim Antibioticum Cyclizidin **3** wird die Aktivität dem Indolizidinsystem, nicht aber der Cyclopropylgruppe zugeschrieben^[10]. O'Leary et al. fanden, daß 1-Hydroxycyclopropancarbonsäurephosphat ein reversibler Inhibitor für Enzyme ist, die auf Pyruvatenolphosphat wirken^[11]. Vermutlich präsentiert sich der Inhibitor in diesem Fall den Enzymen mit einer sehr ähnlichen Struktur wie das Substrat. Daß kleine Gruppen wie Cyclopropan für die Konformation von Molekülen wichtig sind, kann auch durch ihre Verwendung für Untersuchungen der konformationellen Anforderungen des hochflexiblen Neurotransmitters GABA (γ -Aminobuttersäure) illustriert werden^[12]. Derartige Untersuchungen sind offensichtlich für die Entwicklung selektiver Arzneimittel relevant; viele Cyclopropan-Derivate haben sich als biologisch aktiv erwiesen. In einigen Fällen scheint der kleine Ring die Aufgabe zu haben, als kleine, starre Alkylgruppe für günstige bindende Wechselwirkungen zu sorgen^[13-15]; dies könnte auch bei einigen Verbindungen mit dokumentierter ZNS-Aktivität zutreffen^[16]. Diese Verbindungen enthalten Cyclopropylpyridine und Cyclopropylketone, d.h. Strukturen, die mit Enzymen reagieren sollten (siehe Abschnitt 5). Dasselbe gilt für mehrere andere Arzneimittel^[17, 18] einschließlich der Antimineralocorticoide^[19] und Antiandrogene^[20].

Nach wie vor werden Cyclopropan-Derivate mit starker biologischer Aktivität entdeckt. Beispielsweise ist die Spiroverbindung **4** ein kompetitiver Inhibitor der cAMP-Phosphodiesterase^[133].



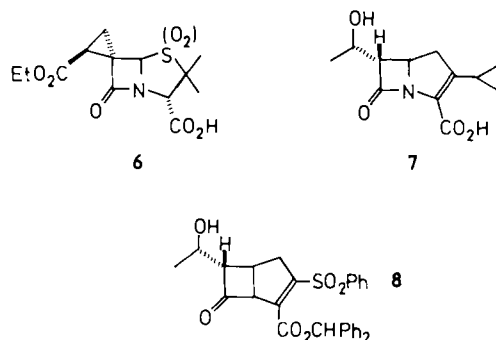
1.3. Cyclopropan und andere kleine Ringe

Die Reaktivität von Cyclopropan-Derivaten als Grundlage ihrer biologischen Aktivität läßt sich am besten erörtern, wenn kleine Heterocyclen zum Vergleich herangezogen werden. In diesen Verbindungen kommt zur Ringspannung die durch die Heteroatome verursachte Bindungspolarisation hinzu, was in vielen Fällen zu extrem hoher Reaktivität und Toxizität führt. So werden z. B. Aziridine aus Bis(β -halogenethyl)aminen gebildet, den in vielen Arzneimitteln enthaltenen Stickstofflost-Derivaten, die in der Krebsschemotherapie verwendet werden^[21]. Das natürlich vorkommende Antitumormittel Mitomycin **5** enthält eine



Aziridin-Einheit, auf die die Cytotoxizität zurückgeführt wurde^[22]. Aminosäuren mit Aziridingruppen sind ebenfalls bekannt; eine enzymhemmende Wirkung von Peptiden mit

diesen Aminosäuren ist jedoch nicht beschrieben worden^[23]. Wie sich zunächst beim Senfgas (Lost) gezeigt hat, sind auch Thiirane („Epithio-Derivate“) biologisch hoch aktiv^[24]; später wurde angenommen, daß auch die Mutagenität von 1,2-Dihalogenethanen durch ihre Reaktion mit Glutathionen zu Thiiranen bewirkt wird^[25]. Epoxide können ebenfalls in der Krebsschemotherapie verwendet werden; man begegnet ihnen gewöhnlich in Enzym-Inhibitoren^[26, 27]. Biologische Aktivität ist jedoch nicht auf dreigliedrige Heterocyclen beschränkt. β -Propiolacton, das früher als Desinfektionsmittel benutzt wurde, hat wegen seiner Mutagenität nur noch begrenzten Wert. Die am umfassendsten untersuchten kleinen Heterocyclen mit biologischer Aktivität sind natürlich die β -Lactam-Antibiotica. Früher nahm man an, daß die Ringspannung entscheidend zur biologischen Aktivität beiträgt. Heute wird dagegen generell akzeptiert, daß die Fähigkeit eines β -Lactams, sein Zielenzym zu acylieren, im Prinzip eine Funktion der Eigenschaften der Abgangsaminogruppe ist^[28]; mit anderen Worten: elektronenziehende Gruppen im fünfgliedrigen Ring fördern die Aktivität. Interessanterweise wurde über einige β -Lactame mit Cyclopropylsubstituenten berichtet, z. B. **6** und **7**, ohne daß eine den Cyclopropylgruppen



zuzuschreibende biologische Aktivität erwähnt wurde^[29]. Man hat auch versucht, antibakterielle β -Lactam-Analoga herzustellen, die als reaktive Gruppe Cyclobutanone enthalten^[30]. Der Vergleich mit Cyclopropanonen (siehe Abschnitt 2.2 und 2.4) ist interessant. Das Thienamycin-Analogon **8** war jedoch das einzige Derivat mit antibakterieller Wirksamkeit^[30e].

2. Chemische Reaktivität von Cyclopropanen

2.1. Reaktivität des Cyclopropanrings

Die spitzen Winkel des dreigliedrigen Cyclopropanrings sind offensichtliche Verursacher der Ringspannung, und zusätzlich sind alle Kohlenstoff-Wasserstoff-Bindungen ekliptisch angeordnet. Gemeinsam tragen diese Faktoren zu einer Spannungsenergie von $117.6 \text{ kJ mol}^{-1}$ bei^[31, 32]. Aus thermodynamischer Sicht ist das Bestreben zur Ringöffnung somit groß. Viele der gängigen Cyclopropanreaktionen sind analog zu denen der Alkene Additionsreaktionen; z. B. erhält man durch Addition von Halogen 1,3-Dihalogenide und durch katalytische Hydrierung Alkane^[32]. Wie die meisten Vinyl- und Aryl-C-H-Bindungen sind die C-H-Bindungen der Cyclopropane stark, was das Fehlen von Radikalreaktionen, die über Wasserstoffabstraktionen

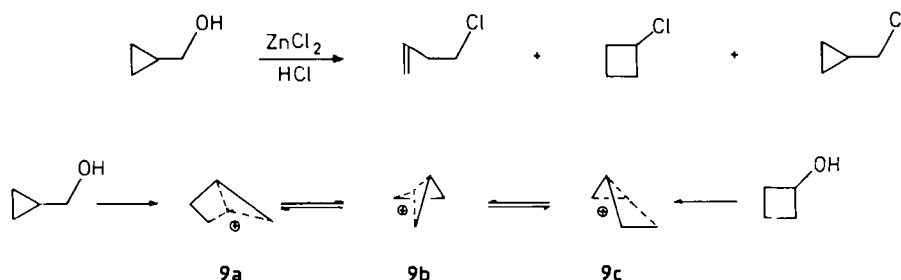


Abb. 1. Kationische Umlagerungen von Cyclopropylmethyl-Derivaten über die Kationen **9a-c**.

verlaufen, erklärt. Wie Reaktionen mit Elektrophilen führen Radikalreaktionen im allgemeinen zur Addition an den Cyclopropanring.

Die Betrachtung von Cyclopropanen als Homoalkene, die der von Epoxiden als Homocarbonylgruppen entspricht, hat zu vielen Beschreibungen der Cyclopropanbindung geführt. Beispielsweise entwirft die Valenzbindungstheorie ein Bild mit sogenannten „gebogenen Bindungen“ oder „Bananenbindungen“, die aufgrund der Natur der Orbitalüberlappung π -Bindungsanteile haben^[33]. Alternativ dazu kommt nach einer Beschreibung von *Walsh*^[34] der π -Charakter durch die Überlappung zentralgerichteter p-Orbitale zustande.

2.2. Cyclopropanone

Wie später in Abschnitt 4 und 5.1 näher erläutert wird, haben Cyclopropanone und ihre Imino-Derivate bei Untersuchungen über die Enzym-Inhibition eine bedeutende Rolle gespielt. Dies läßt sich auf eine spezielle chemische Eigenschaft zurückführen, und zwar die im Vergleich zu den meisten anderen Ketonhydraten hohe Stabilität des Cyclopropanonhydrats^[35]. Man hat argumentiert, daß Cyclopropanon noch stärker gespannt als Cyclopropan ist, weil der bevorzugte Bindungswinkel der Carbonylgruppe (120°) stärker vom erzwungenen Bindungswinkel ($\approx 60^\circ$) abweicht als der Tetraederwinkel ($109^\circ 28'$) in Cyclopropan^[6]. Wegen des raschen Ligandenaustausches besteht jedoch ein dynamisches Gleichgewicht zwischen dem Hydrat und dem Keton; diese Reaktion wird als Ausgangspunkt für die Hemmung von Dehydrogenasen und einigen Oxidasen durch Cyclopropane und deren Äquivalente aufgefaßt.

2.3. Durch elektronenziehende Substituenten aktivierte Cyclopropane

Diese Verbindungsklasse kann in zwei Gruppen eingeteilt werden: Cyclopropylcarbonyl- (z. B. Cyclopropan-carbaldehyde, Cyclopropylketone, Cyclopropan-carbonsäureester) und Cyclopropylmethyl-Derivate (z. B. Cyclopropylmethylhalogenide, Cyclopropylmethanole, Cyclopropylmethylester). Charakteristisch für diese Verbindungen ist der nucleophile Angriff am Cyclopropanring, der zur Ringöffnung führt. Bei Cyclopropylcarbonyl-Derivaten ist der Ring gegenüber der Addition von Protonensäuren stabiler, eine Eigenschaft, die die Synthese komplizierter Verbindungen mit Cyclopropan-Einheiten erheblich erleichtert.

Die Biosynthese von Squalen aus Präqualen ist auf der Grundlage der Reaktivität eines Cyclopropylmethyl-esters^[4] und insbesondere durch dessen Neigung zur Umlagerung erklärt worden. Der Prototyp dieser Umlagerung ist seit langem^[37] als „Cyclopropylcarbiny-Umlagerung“ bekannt (Abb. 1). Die Solvolyse von Cyclopropylmethylhalogeniden und -toluolsulfonaten führt zu einem Produktgemisch, in welchem der Ring je nach Reaktionspartnern und Reaktionsbedingungen erhalten bleibt oder geöffnet oder vergrößert wird^[38]. An isotope-markierten Verbindungen^[39] wurde gezeigt, daß die Konnektivität der markierten Kohlenstoffatome auch in denjenigen Produkten verändert war, in denen der dreigliedrige Ring erhalten geblieben war. Offensichtlich steht dem intermediär auftretenden Kation eine Fülle von Reaktionswegen ähnlicher Energie zum Ring offen. Der wohl beste Hinweis auf die Struktur des Kations stammt aus Experimenten im supersauren Medium von *Olah* et al.^[40]. Sie interpretierten ^{13}C -NMR-Spektren des Kations dahingehend, daß ein Gleichgewicht zwischen drei Spezies **9a-c** besteht (Abb. 1), wobei Cyclopropylmethanol oder Cyclobutanol als Edukt jeweils dasselbe Gleichgewicht ergeben. Wichtig im Hinblick auf die Biosynthese von Squalen ist, daß es solche Reaktionen einem apicalen Kohlenstoffatom des Rings ermöglichen, das Kohlenstoffatom des Substituenten zu binden, das die Abgangsgruppe trägt. Bei dieser biosynthetischen Reaktion wie auch bei Transformationen carbocyclischer Systeme wird auf eine Inversion der Konfiguration an der Methylengruppe des Cyclopropan geschlossen, an der die neue Bindung gebildet wird^[41]. Eine potentielle Bedeutung der Struktur solcher umlagernder Kationen in Hinblick auf eine Enzymhemmung liegt in der guten Angriffsmöglichkeit, die sie Nucleophilen am aktiven Zentrum eines Enzyms bieten. Es sind aber bisher keine Hemmreaktionen beschrieben worden, die auf einem derartigen Mechanismus beruhen. Dies ist damit zu erklären, daß solche Solvolysereaktionen bei $30-40^\circ\text{C}$ mit typischen Geschwindigkeitskonstanten im Bereich von 10^{-3} s^{-1} verlaufen, also relativ langsam sind^[42]. Nichtsdestoweniger hat der Cyclopropanring einen starken elektronenliefernden Effekt, der sich nicht nur bei Solvolysereaktionen, sondern auch bei der elektrophilen aromatischen Substitution zeigt^[42].

Einige der oben erwähnten Reaktionen (z. B. **10** \rightarrow **11**) führen zu offenkettigen Produkten; in mehreren Fällen entstehen die Alkene unter guter stereochemischer Kontrolle. *Julia* et al.^[43a] waren die ersten, die über eine derartige Reaktion berichteten (Abb. 2); die Arbeiten wurden von *Johnson* et al. fortgesetzt^[43b]. Der stereochemische Verlauf der Reaktionen ist dadurch erklärt worden, daß Cyclopropanring und Abgangsgruppe wie in **12a** und **12b** an-

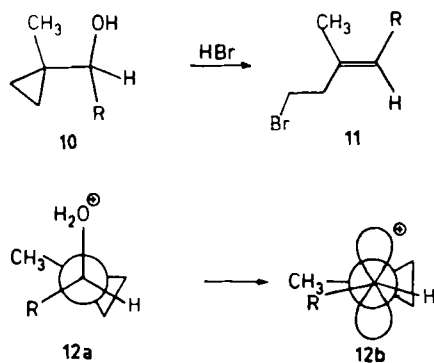


Abb. 2. Bildung von Alkenen **11** aus Cyclopropylmethanolen **10** über Kationen **12a** und **12b**.

geordnet sind. Aus stereoelektronischen Gründen ist es erforderlich, daß eine Cyclopropanbindung mit der Bindung zur Abgangsgruppe überlappt. Die Torsionswechselwirkungen sind in der Konformation **12a** minimiert; sie führt zu den beobachteten Produkten mit *E*-Konfiguration. Es bestehen Parallelen zwischen diesen Reaktionen und der Hemmung einiger Dehydrogenasen, auf die in Abschnitt 6.1 und 6.2 näher eingegangen wird.

Cyclopropylcarbonylverbindungen können aufgrund der Polarisation der Carbonylgruppe als enge Verwandte der obigen kationischen Systeme betrachtet werden. Bei vielen Reaktionen mit Nucleophilen findet ausschließlich eine Addition an den Carbonylsubstituenten (ohne Spaltung des Dreiringes) statt. Auf diese Weise können Cyclopropylmethylketone mit NaBH_4 in Methanol zu sekundären Alkoholen reduziert werden, und Cyclopropancarbonsäureester reagieren mit LiAlH_4 zu den entsprechenden primären Alkoholen^[44]. Wenn jedoch die Polarisation der Carbonylgruppe durch Lewis-Säuren vergrößert wird, kann der Ring geöffnet werden (vgl. **13** → **14** in Abb. 3);

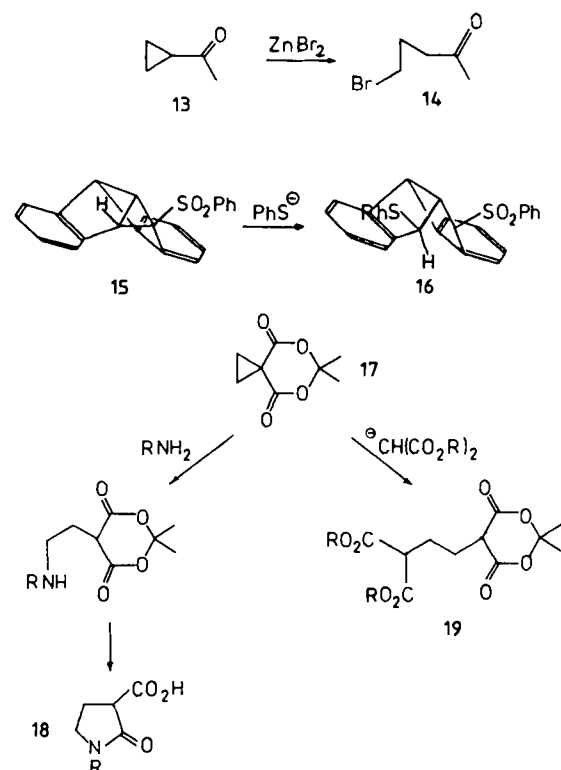


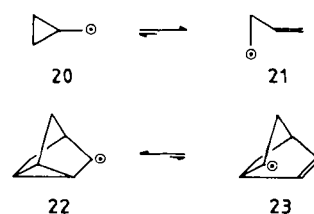
Abb. 3. Nucleophile Substitution unter Ringöffnung an den Cyclopropanen **13**, **15** und **17** mit elektronenanziehenden Gruppen.

dies ist ein brauchbarer Syntheseweg zu Homoallylhalogeniden^[45]. Wie in Abschnitt 6 gezeigt wird, ist die Koordination von Cyclopropylcarbonylgruppen an Metall-Ionen für die Hemmung von Metalloenzymen von Bedeutung. Unter verschärften Bedingungen gelingt die nucleophile Ringöffnung substituierter Cyclopropane auch ohne saure Katalyse durch Metall-Ionen oder Protonen. In einem besonders interessanten Beispiel zeigten *Cristol et al.*^[46], daß ein Angriff von Thiophenolat auf den Cyclopropanring des anellierten Ringsystems **15** unter Inversion der Konfiguration zu **16** führt. Soweit der stereochemische Verlauf untersucht worden ist, verlaufen nucleophile Ringöffnungsreaktionen aktivierter Cyclopropane unter Inversion der Konfiguration am angegriffenen Kohlenstoffatom.

Die Anwesenheit zweier elektronenziehender Gruppen ermöglicht die nucleophile Spaltung des Ringes ohne spezielle Aktivierung. Zum Beispiel lassen sich relativ schwache Nucleophile an das Spirocyclopropan **17** addieren (Abb. 3). Die Säure- bzw. Estergruppen in den Produkten **18** und **19** erschließen weitere Reaktionswege, die für die Synthese von Nutzen sein können. Diese Reaktionen werden durch die relativ starre Anordnung des Cyclopropanringes erleichtert, welche die zu spaltende C—C-Bindung in eine zur elektronenanziehenden Carbonylgruppe günstige Position zwingt^[47]. Enzym-Inhibitoren mit doppelt aktivierten Cyclopropanringen sind daher möglicherweise unselektiv.

2.4. Cyclopropylalkyl-Radikale

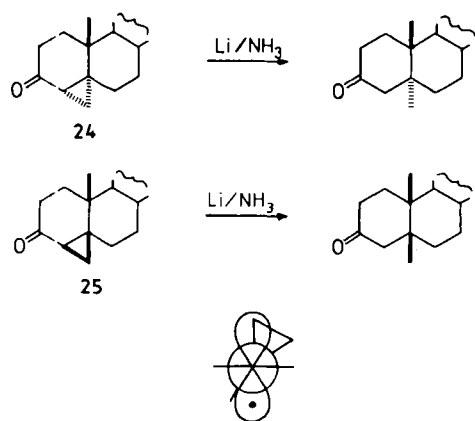
Seit *Ingold et al.* berichtet hatten, daß die Geschwindigkeitskonstante der Ringöffnung zum Homoallyl-Radikal **21** bei 25 °C 10^8 s^{-1} beträgt^[48], nimmt das Cyclopropylmethyl-Radikal **20** einen herausragenden Platz in Chemie



und Bioorganischer Chemie der Cyclopropane ein. Man vermutete fast sofort, daß diese sehr schnelle Reaktion sich zum Nachweis intermediär auftretender Radikale eignen könnte. Reaktionen dieser Art wurden früher schon vielfach angewendet, um Mechanismen enzymkatalysierter Reaktionen aufzuklären und um Inhibitoren zu erzeugen. Die Ringöffnungsgeschwindigkeit von Alkylcyclopropylaminyl-Radikalen, die große Bedeutung bei vielen Hemmreaktionen hat, ist nach *Ingold et al.* allerdings zu hoch, um durch kinetische ESR-Spektroskopie gemessen zu werden, hängt aber nicht vom Alkylsubstituenten ab^[49a]. Erst kürzlich wurde gezeigt, daß die Ringöffnung des Cyclopropylamin-Radikals in Übereinstimmung mit vielen für die Enzymhemmung vorgeschlagenen Mechanismen über ein γ -Iminium-Radikalkation^[49b] verläuft.

Entscheidend für Erfolg oder Mißerfolg der Enzymversuche mit Cyclopropanen ist jedoch ein gutes Verständnis der Chemie dieser Ringöffnungsreaktion. Dabei müssen

mehrere Faktoren berücksichtigt werden. Erstens wurde nachgewiesen, daß es sich um eine Gleichgewichtsreaktion handelt^[50]; für eine monocyclische Verbindung wurde die Gleichgewichtskonstante bei 25 °C zu 10^{-5} zugunsten des offenkettigen Radikals (vgl. 21) bestimmt. Die Lage dieses Gleichgewichts wird aber wesentlich durch das Kohlenstoffgerüst beeinflusst, in welches das Cyclopropan eingebaut ist. Das Nortricyclyl-Radikal 22 z. B. mit intaktem Cyclopropanring ist bei Raumtemperatur stabil^[51]. Zweitens sind nur wenige Enzymsubstrate oder -inhibitoren einfache Cycloalkane, so daß der Substituenteneinfluß auf die Geschwindigkeit der Ringöffnungsreaktionen berücksichtigt werden muß. Daß Cyclopropylalkoxyl-Radikale bereitwillig den Ring öffnen, weiß man seit nahezu zwanzig Jahren durch Arbeiten von Dauben et al.^[52], nach denen die 3-Oxosteroid-Derivate 24 und 25 mit anelliertem Cyclopropanring bei Behandlung mit Lithium in Ammoniak den Ring öffnen. Diese Reaktion tritt recht allgemein auf^[53]; sie lenkte interessanterweise die Aufmerksamkeit auf die stereoelektronischen Anforderungen der Ringöffnung. Daubens Befunde zeigten, daß diejenige Cyclopropan-C—C-Bindung, die mit dem einfach besetzten Orbital des Radikals besser überlappt, gespalten wird^[52]. Keines dieser Ergebnisse lieferte jedoch ein Maß für die Geschwindigkeit der Ringöffnung von Cyclopropylalkoxyl-Radikalen.



pan-C—C-Bindung, die mit dem einfach besetzten Orbital des Radikals besser überlappt, gespalten wird^[52]. Keines dieser Ergebnisse lieferte jedoch ein Maß für die Geschwindigkeit der Ringöffnung von Cyclopropylalkoxyl-Radikalen.

Da die Kenntnis derartiger Geschwindigkeiten für unsere Arbeiten entscheidend war, haben wir einige Anstrengungen unternommen, um relevante Werte zu erhalten (Tabelle 1)^[44, 54]. ESR-spektroskopische Untersuchungen erga-

Tabelle 1. Durch temperaturabhängige ESR-Spektroskopie bestimmte Stabilität substituerter Cyclopropylmethyl-Radikale und/oder Alkenyl-Radikale.

R ¹	R ²	R ³	R ⁴	k [s ⁻¹]	
H	H	H	H	2.2×10^8	
Me	OSiMe ₃	H	H	2.4×10^7	
H	OSiMe ₃	Me	H	bis -153 °C	{ nur offenkettiges Radikal beobachtet
H	OSiMe ₃	Me	Me	bis -173 °C	
H	CO ₂ Me	H	H	bis 7 °C	{ keine Ringöffnung beobachtet
OSiMe ₃	CO ₂ Me	H	H	bis 110 °C	
OSiMe ₃	CN	H	H	bis 110 °C	

ben, daß die Ringöffnungsgeschwindigkeit eines einfachen Cyclopropylalkyl-Radikals durch Substitution mit Sauerstoff um etwa den Faktor 10 herabgesetzt wird. Alkylgruppen am Cyclopropanring, die wahrscheinlich die Spannung erhöhen, beschleunigen dagegen die Ringöffnung um einen ähnlichen Faktor. Höchst bemerkenswert verhalten sich disubstituierte Radikale, in denen eine Donoralkoxygruppe mit einer Acceptorcarbonyl- oder -cyangruppe gepaart ist. Hier war es in keinem Fall möglich, das offenkettige Radikal unter uns zugänglichen Bedingungen zu beobachten. Das Ergebnis kann als eines der deutlichsten Beispiele für die „capto-dative“ Stabilisierung von Radikalen interpretiert werden^[55]. Alle diese Beobachtungen zeigen, daß einige Kriterien erfüllt sein müssen, damit die Ringöffnung rasch verläuft und als mechanistische Sonde für das intermediäre Auftreten von Radikalen verwendbar ist, und zwar: 1. darf am radikalischen Zentrum keine wesentliche Stabilisierung durch Delokalisation auftreten, 2. muß eine Konformation möglich sein, in der eine C—C-Bindung des Rings mit dem einfach besetzten Orbital überlappt, und 3. darf die Struktur der Verbindung nicht so „komprimiert“ sein, daß ein Ringschluß entropisch begünstigt ist. Wie sich diese Faktoren auf enzymkatalysierte Reaktionen auswirken, wird in Abschnitt 6 erläutert.

Ringöffnungsgeschwindigkeiten von substituierten Cyclopropylalkyl-Radikalen wurden bisher immer an photochemisch erzeugten Radikalen bei tiefer Temperatur gemessen^[44, 45, 54]. Kürzlich hat man nun die Temperaturabhängigkeit der Ringöffnungsgeschwindigkeit im Bereich von 30–89 °C geprüft, und zwar an Cyclopropylmethyl-Radikalen, die durch thermische Zersetzung von Diazoverbindungen erhalten worden waren. Dabei ergab sich, daß sich die Aktivierungsparameter signifikant von denen im Bereich von -120 bis -145 °C unterscheiden^[134].

2.5. Cyclopropylalkyl-Anionen und verwandte Verbindungen

Obwohl die π -Bindungseigenschaften von Cyclopropan-Einheiten nahelegen, daß sie benachbarte Carbanionen stabilisieren könnten, haben Experimente gezeigt, daß Cyclopropane sehr schlechte Acceptoren sind. Die Geschwindigkeit des Wasserstoff/Deuterium-Austausches in benzyl-substituierten Cyclopropanen weist auf eine sehr geringe Stabilisierung des Anions durch die Cyclopropylgruppe hin^[56]; dies ist in Einklang mit Untersuchungen von Gasphasenaciditäten^[57]. Dessen ungeachtet werden Cyclopropyl-Anionen vielfältig in der präparativen Chemie verwendet^[58]. Interessanterweise stellte man fest, daß sich der Ring des Cyclopropoxid-Ions langsam öffnet^[59] und daß die Reaktionsgeschwindigkeit wesentlich zunimmt, wenn das resultierende Carbanion delokalisiert ist. Es bleibt also festzuhalten, daß Cyclopropylmethyl-Anionen, -Kationen und -Radikale sämtlich eine Ringöffnung eingehen können, wobei das Radikal deutlich am schnellsten ist.

3. Enzymchemie von Cyclopropan und nichtaktivierten Alkylcyclopropanen

Die meisten in der Enzymchemie verwendeten Cyclopropan-Derivate enthalten potentiell reaktive Substituen-

ten. Mit einigen einfachen Alkylcyclopropanen wurde die Reaktivität oxidierender Enzyme charakterisiert. Das erste Beispiel derartiger Untersuchungen mit einem gereinigten Enzympräparat stammt von *Golding, Dalton et al.*^[60], die nachwiesen, daß die Monooxygenase aus *Methylococcus capsulatus* imstande ist, Cyclopropan zu Cyclopropanol und Methylcyclopropan zu Cyclopropylmethanol zu oxidieren. Interessanterweise war But-3-en-1-ol, ein offenkettiges Oxidationsprodukt eines Cyclopropylmethyl-Radikals, nicht nachzuweisen. Zusammen mit anderen Beobachtungen legt dieses Ergebnis nach Meinung der Autoren nahe, daß die Oxidase aus *M. capsulatus* über eine metallgebundene Sauerstoffspezies wirkt, die sich in eine C–H-Bindung einschließen kann, und daß weder Radikale noch kationische Zwischenprodukte beteiligt sind.

Manche einfachen Cyclopropan-Derivate werden von Enzymen gespalten. Cyclopropan selbst wird durch *Mycobacterium spp.* zu Propanal oxidiert^[61]. Haloperoxidase reagiert mit Cyclopropan, als wenn es ein typisches Alken wäre, und liefert unter Addition 3-Brompropanol^[61, 62]; die Orientierung bei ähnlichen Reaktionen mit Alkenen als Substrat legt nahe, daß in diesem Fall ein kationisches Zwischenprodukt durchlaufen wird. Haloperoxidase ist ein Häm enthaltendes Enzym, das nach einem anderen Mechanismus als Cytochrom P-450 wirken dürfte. Bei Cytochrom P-450 wurden Anhaltspunkte für den Reaktionsmechanismus durch Modellreaktionen erhalten^[63], bei denen Cyclopropane als Substrate dienen. *Groves et al.*^[64] fanden heraus, daß Bicyclo[4.1.0]heptan in Gegenwart von Iodosylbenzol durch Mangan(III)-tetraphenylporphyrinat zu einem Produktgemisch oxidiert wird, das zu 32% aus Ringöffnungsprodukten (Homoallylalkoholen oder -halogeniden) besteht. Beim größeren Teil der Produkte (42%) bleibt der Cyclopropanring erhalten. Diese Ergebnisse sind mit einem Radikalmechanismus in Einklang, der als „Sauerstoffrückprall-Mechanismus“ bekannt geworden ist und als Grundlage für mechanistische Diskussionen über Cytochrom P-450 und verwandte Enzyme diente (Abb. 4)^[63]. Der Anteil an offenkettigen Produkten bei ei-

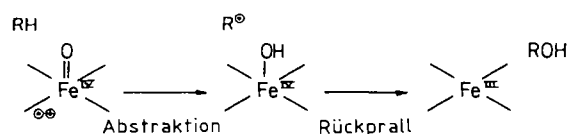
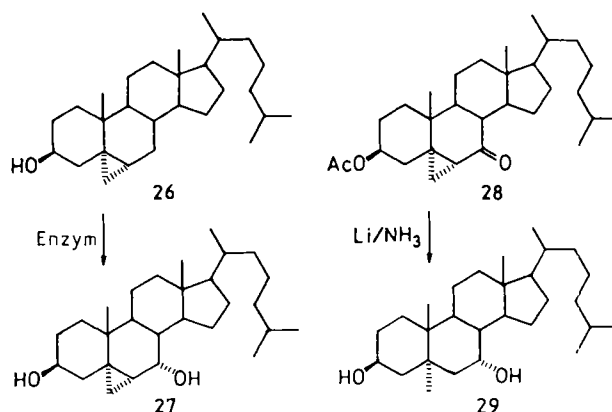


Abb. 4. Hydroxylierung von Alkanen durch Cytochrom P-450 und verwandte Enzyme – der „Sauerstoffrückprall-Mechanismus“.

ner Reaktion, die mit einem Alkylcyclopropan als mechanistischer Sonde untersucht wird, hängt selbstverständlich von den relativen Geschwindigkeiten der Ringöffnung und des Radikalabgangs ab. Im eben besprochenen Fall^[64] sind die beiden Geschwindigkeiten vergleichbar.

Obwohl sich das Ergebnis vieler Enzymversuche mit dem „Sauerstoffrückprall-Mechanismus“ erklären ließ (siehe Abschnitt 5), besonders im Hinblick auf intermediär entstehende Radikale, liefern nichtaktivierte Cyclopropane als Substrate keinen Beweis für das intermediäre Auftreten von Radikalen, wie man es nach Modellreaktionen erwarten könnte. Bei Untersuchungen über den Steroidmetabolismus^[65] oxidierten wir 5 α ,6 α -Methanocholest-3 β -ol **26**

mit einem gereinigten Cholesterin-7 α -Hydroxylase-Präparat. Dieses cyclopropanellierte Steroid **26** erwies sich in



bezug auf Cholesterin als kompetitives Substrat und wurde ohne Anzeichen einer Ringöffnung zum 7-Hydroxy-Derivat **27** oxidiert. Wir haben nachgewiesen, daß die Ringöffnung eines 7-Radikals aus chemischer Sicht nicht gehindert ist, indem wir das 7-Oxo-5 α ,6 α -methanosteroid **28** nach *Dauben et al.*^[52] mit Lithium in Ether/flüssigem Ammoniak reduzierten; dabei entstand unter Ringöffnung das Diol **29**. Es ist unwahrscheinlich, daß Cholesterin-7 α -Hydroxylase, ansonsten ein typisches Cytochrom-P-450-Enzym, hier nach einem völlig anderen Oxidationsmechanismus als verwandte Enzyme agiert. Das Enzym ist allerdings im Hinblick auf das Substrat besonders selektiv; sogar der Verlust einer Methylgruppe in der Seitenkette vermindert die Aktivität bei der Oxidation beträchtlich^[66]. Sofern das Enzym das Substrat fest binden kann, läßt sich dennoch ein Radikalmechanismus mit den Beobachtungen in Einklang bringen, falls der Sauerstoffrückprallschritt schneller als der Ringöffnungsschritt ist, wenn auch ein alternativer Mechanismus anhand dieses Versuchs nicht ausgeschlossen werden kann. Es wurde ferner gezeigt, daß das Cytochrom P-450, das die Seitenkettenspaltung von Cholesterin im Verlauf der Steroidhormon-Biosynthese bewirkt, ein Analogon mit Cyclopropanring ebenfalls ohne dessen Spaltung oxidiert^[67]. Vor kurzem rundeten *Ortiz de Montelano et al.* diese Untersuchungen ab, indem sie nachwiesen, daß das gespannte Bicyclo[2.1.0]pentan bei der Oxidation mit Cytochrom P-450 teilweise, Methylcyclopropan dagegen nicht geöffnet wird^[68]. Diese Ergebnisse besagen, daß die Geschwindigkeitskonstante für die Rekombination des Radikalpaars im Rückprallmechanismus mehr als 10⁹ s⁻¹ beträgt.

4. Enzymhemmung durch Cyclopropylaminosäuren und Cyclopropanon-Derivate

Zwei der ersten beschriebenen Enzym-Inhibitoren mit Cyclopropan-Einheiten (Abb. 5) waren toxische Aminosäure-Derivate: Coprin **30**^[69] und Hypoglycin A **31**^[70]. Coprin ist ein Addukt von Cyclopropanon und Glutamin. Bei Hypoglycin läßt sich nicht unmittelbar erkennen, welche biologische Wirkung es hat. *Abeles*^[71a] hielt es für möglich, daß sich durch Desaminierung und Decarboxylierung ein vinyloges Cyclopropanon-System als Thiolester **32** bildet; diese Verbindung wird als Substrat einer allgemeinen

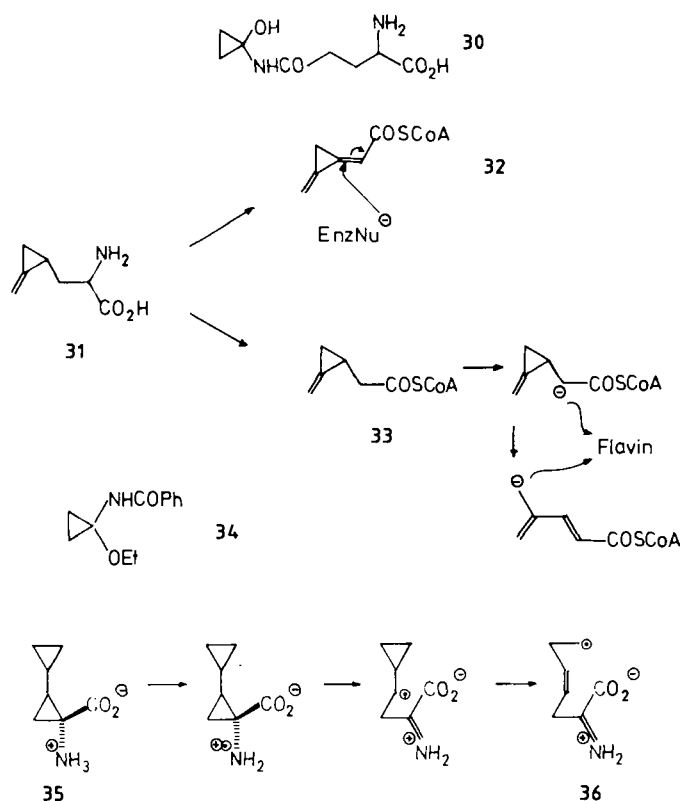


Abb. 5. Enzymhemmung durch Cyclopropylaminosäuren. EnzNu^- bedeutet nucleophile Gruppe eines Enzyms.

Acyl-CoA-abhängigen Dehydrogenase angesehen, die durch nucleophile Addition desaktiviert wird. Im Gegensatz dazu vertritt Ghisla^[71b,c] die Meinung, daß Desaminierung und Decarboxylierung zu **33**, einem gesättigten Analogon von **32**, führen; das bereitwillig gebildete Carbanion dieser Verbindung addiert sich dann an den Flavin-Cofaktor, analog zu Alkinen, die die Lactat-Oxidase hemmen^[72]. Über die Hemmung der Glutaryl-CoA-Dehydrogenase durch Methylcyclopropanessigsäure und deren Coenzym-A-Ester wurde zwar berichtet^[73], doch ist der genaue Mechanismus für keinen der beiden Fälle nachgewiesen worden. Coprin, ein Inhaltsstoff des Faltentintlings (*Coprinus atramentarius*), gab den Anstoß zur Entwicklung einiger Enzym-Inhibitoren. Kürzlich wurde Methylcyclopropanecarbonsäure-CoA-ester synthetisiert; er erwies sich als Inhibitor einer allgemeinen Acyl-CoA-Dehydrogenase aus Schweinenieren^[135]. Coprin ist ein Proinhibitor für die Aldehyd-Dehydrogenase^[74], und seine Fähigkeit, das Enzym aus der Leber zu hemmen, legte seine Verwendung zur Behandlung des Alkoholismus nahe. Wegen ihrer Toxizität können jedoch weder Coprin **30** noch einfache synthetische Analoga wie **34**^[74] klinisch genutzt werden. Bei Untersuchungen über die Ethylenbiosynthese schlossen Pirrung et al.^[7], daß die cyclopropylsubstituierte 1-Aminocyclopropanecarbonsäure **35** durch die Ringöffnungsreaktion zu **36** ein Inhibitor des Enzyms sein sollte. In Mungobohnen-Hypocotylsegmenten ließ sich eine zeitabhängige Hemmung der Ethylensynthese nachweisen, und es wurde Substratschutz beobachtet. Das Bicyclopropan-Derivat **35**, ein ungewöhnliches Beispiel eines Inhibitors pflanzlicher Enzyme, unterstreicht die Bedeutung der Ringöffnung von Cyclopropylaminium-Radikalkationen in der Ethylenbiosynthese.

Viele Arbeitsgruppen gingen der Möglichkeit nach, Cyclopropanone umfassender einzusetzen. Zuerst wiesen Abeles et al. nach, daß Cyclopropanonhydrat, wahrscheinlich durch Ersatz einer Hydroxy- durch eine Mercapto-Gruppe, ein Inhibitor der Hefe-Aldehyd-Dehydrogenase ist^[75]. Ungefähr zur gleichen Zeit veröffentlichten Singer et al.^[76] und Silverman et al.^[77] unabhängig voneinander Untersuchungen über die Hemmung mitochondrialer Monoamin-Oxidasen (Flavoenzyme) durch Cyclopropylamine. Beide Gruppen interpretierten ihre Ergebnisse zunächst von der Cyclopropanonchemie her.

trans-2-Phenylcyclopropylamin (Tranlylcypromin) **37** war der erste Enzym-Inhibitor mit Cyclopropylgruppe, der untersucht wurde, und der erste, der nachweislich einer zeitabhängigen Kinetik folgt^[78]. Singer fand später, daß die Hemmung ohne irreversible Änderung des Flavinchromophors stattfindet^[76]. Er nahm daher an, daß die Addition einer enzymatischen Thiolgruppe an das intermediäre Cyclopropyliminium-Ion **38** als primäres Oxidationsprodukt wiederum zu einer Hemmung führt (Abb. 6); diese

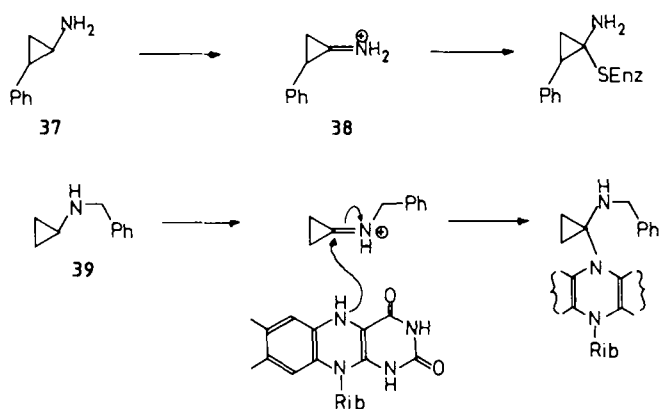
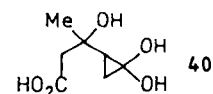


Abb. 6. Hemmung von Monoamin-Oxidase durch Cyclopropylamine via Cyclopropanon-Äquivalente: vorgeschlagene Mechanismen.

Hypothese wurde durch den Befund gestützt, daß 2-Phenylcyclopropanon den gleichen Hemmeffekt aufweist. Silverman et al.^[77] untersuchte *N*-Alkylcyclopropylamine wie *N*-Benzylcyclopropylamin **39**, die ebenfalls inhibierend wirken. Er beobachtete jedoch, daß der Flavinchromophor während der Hemmung verändert wurde und postulierte, daß sich N-5 des Flavins ebenfalls als Nucleophil an das Analogon von **38** addieren könnte (Abb. 6). Die Beteiligung von Elektronentransferreaktionen und multiplen Reaktionsschritten wurde etwas später zur Diskussion gestellt^[79] (siehe Abschnitt 5).

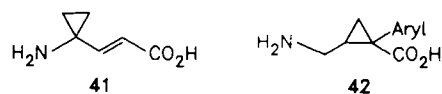
Der kleine Cyclopropanring bietet die attraktive Möglichkeit, ihn in viele Enzymsubstrate einzubauen, um sie in Inhibitoren umzuwandeln (vgl. Abschnitt 1). Abeles et al. zeigten, daß diese Strategie bei der Hydroxymethylglutaryl-CoA-Reduktase erfolgreich ist^[80]. Sie synthetisierten zwei Diastereomere der Cyclomevalonsäure **40** und wie-



sen ihre Hemmfunktion nach. Es sei noch angemerkt, daß die Addition von Nucleophilen an Carbonylgruppen bei

elektrophilen Aldehyden^[81] sowie Trifluormethylketonen und Peptiden erfolgreich war^[82, 138].

Auch bei biologisch aktiven Cyclopropylaminosäuren sind Fortschritte zu verzeichnen. Während GABA-Transaminase durch Amino-fluor-pentensäure irreversibel gehemmt wird, fungiert die Aminosäure **41** als nicht-kompetitiver Inhibitor. Möglicherweise verhindert die räumliche Struktur von **41** eine günstige Bindung am aktiven Zentrum^[136].



Eine neue Reihe potentieller Antidepressiva vom Typ **42** besteht ebenfalls aus Cyclopropylaminosäuren^[137]. Diese Verbindungen scheinen interessanterweise ein anderes pharmakologisches Profil als die tricyclischen Antidepressiva und als Tranylcypromin **37** zu haben; sie können als Analoga von GABA (γ -Aminobuttersäure) angesehen werden.

5. Enzymhemmung durch heteroatomsubstituierte Cyclopropane und ihre offenkettigen Derivate

5.1. Hämoproteine und Monoamin-Oxidasen

Bei den ersten Experimenten mit Cyclopropylaminen ist anscheinend die Möglichkeit übersehen worden, daß Radikalreaktionen eine Hemmung durch Ringöffnung bewirken könnten, bevor die Radikale abgefangen werden. Die ersten Anzeichen für einen derartigen Mechanismus ergaben sich bei Untersuchungen über die Hemmung von Cytochrom P-450 durch Cyclopropylamine. *Hanzlik et al.*^[83] wiesen nach, daß Cytochrom P-450 aus Rattenlebermikrosomen durch *N*-Benzylcyclopropylamin **39** irreversibel gehemmt wird. Dieses Ergebnis konnte durch den Additionsmechanismus erklärt werden (siehe Abschnitt 4); als sich jedoch herausstellte, daß *N*-Benzyl-1-methylcyclopropylamin **43** ebenfalls ein irreversibler Inhibitor ist, drängte

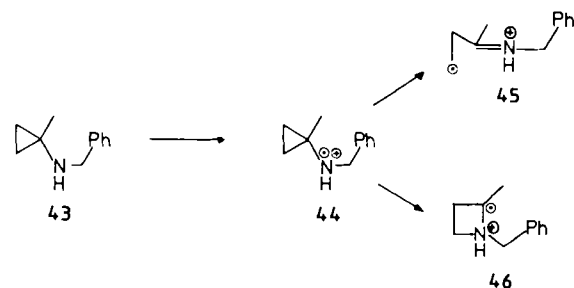


Abb. 7. Radikalbildung bei der Hemmung von Monoamin-Oxidase durch *N*-Benzyl-1-methylcyclopropylamin **43**.

sich der Gedanke an einen alternativen Mechanismus auf, weil dieser Inhibitor naturgemäß kein Cyclopropanon-äquivalent bilden kann. Man zog ein Radikalkation **44** in

Betracht und postulierte zwei Reaktionsmöglichkeiten (Abb. 7), und zwar erstens die Ringöffnung eines Cyclopropylalkylradikal-Äquivalents zu **45** und zweitens die Ringerweiterung zu einem Azetidinium-Radikalkation **46**. Für beide Reaktionstypen gibt es chemische Analoga^[135, 84]; der Reaktion über **46** wurde aber wegen der beobachteten engen Bindung markierter Inhibitoren an das Mikrosomenprotein der Vorzug gegeben.

Zur gleichen Zeit beschrieben *MacDonald, Guengerich et al.*^[85] eine weitere Alternative, bei der ein offenkettiges Radikal wie **45** den Porphyrinring des Cytochroms angreift und so das Enzym desaktiviert. Sowohl *N*-Benzylcyclopropylamin **39** als auch sein 1-Methylanalogon **43** wurden untersucht. Dabei ergab sich, daß sowohl Benzphetamin- als auch Aminopyrin-*N*-Desethylase-Aktivitäten durch diese Verbindungen gehemmt wurden, wenn auch durch Dialyse ein Teil der Aktivität wiedergewonnen werden konnte.

Diese Ergebnisse sind natürlich für den Mechanismus der Hemmung von Monoamin-Oxidase^[79] von Bedeutung, und *Silverman et al.* setzten die Untersuchungen fort. Wendet man den Radikalmechanismus auf 2-Phenylcyclopropylamin **37** als Inhibitor an, so müßte die Ringöffnung zu einem Benzylradikal **47** führen (Abb. 8). Durch Isolierung

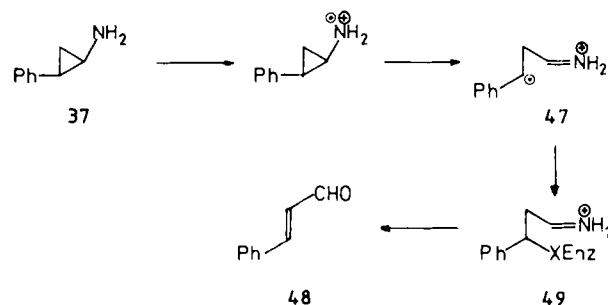


Abb. 8. Hemmung von Monoamin-Oxidase durch 2-Phenylcyclopropylamin **37**: vorgeschlagener Mechanismus. Nachgewiesen wurde Zimtaldehyd **48**.

derivatisierter Hydrolyseprodukte des gehemmten Enzyms wurde gezeigt, daß Monoamin-Oxidase nicht durch ein Cyclopropanon-Äquivalent gehemmt wird, sondern durch ein Zimtaldehyd-Äquivalent **49**^[86]. Interessanterweise wurde ein Radikalmechanismus für Monoamin-Oxidase zusätzlich durch Versuche mit 1-Amino-1-phenylcyclobutan gestützt^[87].

Um festzustellen, welche Fragmente der inhibierenden Cyclopropyl-Derivate an die Monoamin-Oxidase gebunden werden, untersuchten *Silverman et al.* markierte *N*-Benzyl-1-methylcyclopropylamine (vgl. **43**) und fanden, daß nur die Methyl- und Cyclopropylkohlenstoffatome gebunden blieben^[88]. Diese Ergebnisse wurden aus mechanistischer Sicht so interpretiert, daß ein Flavin-Radikal mit dem offenkettigen Radikal vom Typ **45** kuppelt^[49]; die Hydrolyse würde Benzylamin freisetzen und den Inhibitor als 3-Oxobutylsubstituenten an das Flavin gebunden zurücklassen. Ähnlich wurde das Verhalten von 1-Phenylcyclopropylamin durch die Beobachtung von Phenylketonen und Iminiumsalzen als Produkten erklärt^[89]. Die Bedeutung der Cyclopropan-Einheit in dieser Reaktion wurde dadurch untermauert, daß Dimethylbenzylamin das En-

zym nicht deaktiviert. Den neuesten Beitrag zum Verständnis dieser Reaktionen lieferte die Identifizierung eines Cysteinrestes, der während der Hemmung der mitochondrialen Monoamin-Oxidase ein Zwischenprodukt mit 1-Phenylcyclopropylamin bildet^[90].

Als man die Hemmung der Monoamin-Oxidase erstmals auf Elektronentransferreaktionen zurückführte, war man noch davon überzeugt, daß verwandte Cyclopropanole anders reagieren würden, da sich ein Elektron vom Sauerstoff nicht so leicht wie vom Stickstoff entfernen läßt^[83]. Anscheinend sind solche Reaktionen aber möglich, wenn das Enzym ein genügend starkes Oxidationspotential hat. Beispielsweise fanden Wiseman et al.^[91], daß Meerrettich-

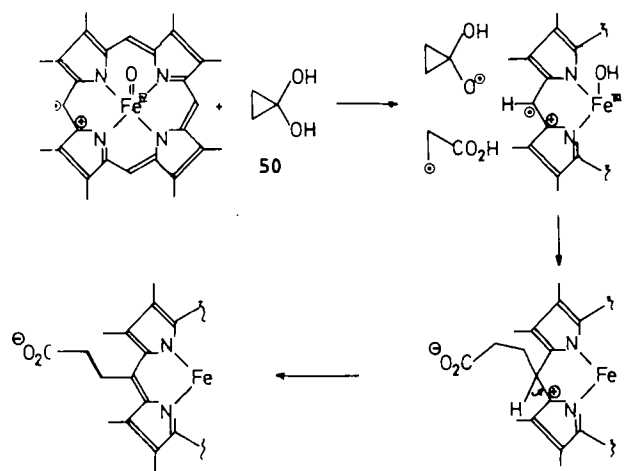
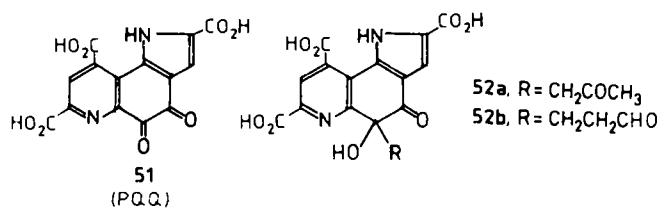


Abb. 9. Hemmung von Meerrettich-Peroxidase durch Cyclopropanonhydrat 50: vorgeschlagener Mechanismus.

Peroxidase, ein Hämoprotein, durch Cyclopropanonhydrat 50 gehemmt wird. Aus den sichtbaren Spektren des gehemmten Enzyms wurde geschlossen, daß der Porphyrinring alkyliert wird (Abb. 9); dies erinnert an die Hemmung von Cytochrom P-450.

5.2. Methanol oxidierende Enzyme

Vor einiger Zeit hat ein neu entdecktes Coenzym Aufsehen erregt: Es bewirkt die Oxidation von Methanol^[92]. Dieser Cofaktor ist ein Pyrrolochinolinchinon (PQQ) 51, auch Methoxatin genannt^[93]. Bei der Isolierung und Strukturbestimmung von PQQ bildete sich auch das Acetonaddukt 52a, das die Ansichten über den Oxidationsmecha-



nismus von Alkoholen durch PQQ-abhängige Enzyme beeinflussen^[94, 95]. Die Wirkungsweise von PQQ ist im Detail noch nicht bekannt. Versuche von Duine et al. deuten zumindest bei einigen Substraten^[95] stark auf einen Radikalmechanismus; es gibt aber auch andere Ansichten^[96]. Iso-

lierte Methanol-Dehydrogenase scheint PQQ in einer Semichinonform zu enthalten, die durch Einelektronenoxidation in die Chinonform übergeht, welche katalytisch aktiv zu sein scheint. Die Aufklärung des Mechanismus der Methanoloxidation wird unter anderem dadurch erschwert, daß mehrere Enzymtypen vorkommen, einige sind monomer, einige dimer. Ein Teil des mechanistischen Problems besteht darin, die enzymologischen Beziehungen zwischen den Enzymen zu klären, der andere betrifft den chemischen Mechanismus der Oxidation.

Nach Abeles et al.^[96] deaktiviert Cyclopropanol in Gegenwart von Phenazin-methylsulfat das Enzym von *M. methanica* ohne meßbare primäre Deuterium- oder Tritiumisotopeneffekte^[96b]. Ein basenlabiles Addukt aus PQQ und dem Inhibitor wurde isoliert und als Aldehyd 52b erkannt. Man hatte jedoch keine Vorstellung, wie 52b entstanden sein könnte, außer über die radikalische Semichinonform des Cofaktors. Duine et al. fanden ferner, daß Cyclopropanol ein Inhibitor der dimeren Methanol-Dehydrogenase und eines monomeren Enzyms aus *Pseudomonas BBI*^[97a] ist, daß aber Cyclopropylmethanol, Cyclobutanol und Cyclohexanol sämtlich Substrate des Enzyms sind. In seinen Versuchen wurden Enzyme, die PQQ in der Semichinonform enthielten, nicht deaktiviert. Ferner wurde festgestellt, daß PQQ-abhängige Dehydrogenasen, die sekundäre Alkohole oxidieren können (das *Pseudomonas*-Enzym), durch Cyclopropanonhydrat 50 und Cyclopropanonethylacetal gehemmt werden. Die mit Cyclopropanol und die mit Cyclopropanon-Derivaten modifizierten PQQs erwiesen sich als verschieden. Daraus ist zu schließen, daß Cyclopropanol bei der Reaktion nicht zu Cyclopropanon oxidiert wird. Das Addukt ist inzwischen als 52b charakte-

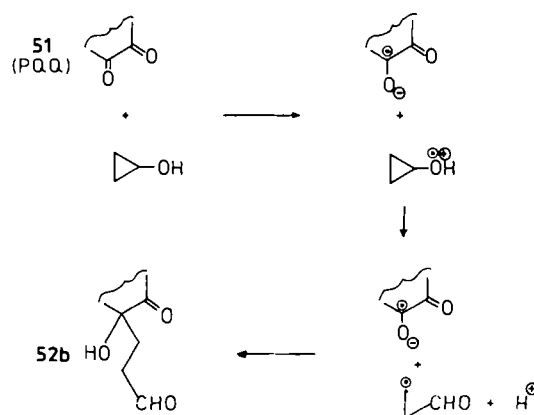


Abb. 10. Hemmung der PQQ-abhängigen Methanol-Dehydrogenase aus *Pseudomonas* durch Cyclopropanol: vorgeschlagener Mechanismus.

risiert worden^[97b]; unter Berücksichtigung dieses Ergebnisses wurde die Enzymhemmung (Abb. 10) durch eine Einelektronenoxidation des Alkohols erklärt, die ein PQQ-Radikalanion und ein Cyclopropyloxonium-Radikal liefert. Rasche Ringöffnung des Oxonium-Radikals und Rekombination mit dem PQQ-Radikal führen dann zu einem Molekül mit der von Abeles postulierte Struktur 52b.

Man kennt noch eine weitere Art methanoloxidierender Enzyme, nämlich eine Flavoprotein-Oxidase, die ebenfalls von Abeles et al. mit Cyclopropanol als Sonde untersucht wurde^[98]. Nach allgemeiner Annahme wird das Enzym von

Cyclopropanol durch Bildung eines *N*-5-Flavinadduktes gehemmt. Dabei zog man zwei mögliche Mechanismen in Betracht: einen, bei dem sich ein Cyclopropoxy-Radikal vor der Rekombination mit dem Flavin öffnet, und einen anderen, bei dem das Cyclopropoxid-Ion den Ring öffnet, bevor es sich an das oxidierte Flavin addiert. Angesichts der in Abschnitt 2.5 erwähnten sehr niedrigen Geschwindigkeit der letztgenannten Ringöffnung^[59] favorisierte *Abeles* den Radikalmechanismus. Er fand auch, daß Cyclopropylmethanol ein Substrat des Enzyms ist und nicht als Inhibitor wirkt. Dieses Ergebnis ist mit einem Radikalmechanismus in Einklang, in welchem Elektronentransfer vom Sauerstoff stattfindet; im Oxidationsprodukt befindet sich eine Methylengruppe zwischen dem Cyclopropanring und dem Sauerstoff-Radikal, so daß keine rasche Ringöffnung zu erwarten ist. Im Gegensatz dazu ist ein Mechanismus denkbar, der eine Wasserstoffabstraktion aus der Methylengruppe einschließt. Dabei könnte ein offenkettiges Produkt entstehen, falls das gebildete Radikal genügend langlebzig ist. Mit diesen Argumenten kommentierte *Abeles* unsere Ergebnisse an nicotinamidabhängigen Dehydrogenasen, die im nächsten Abschnitt gesprochen werden. Mit Recht erinnert er an die schon länger bekannte Überlegung, daß die fehlende Ringöffnung eines Cyclopropylalkyl-Radikals kein schlüssiger Beweis für radikalische Zwischenprodukte ist. Tatsächlich wird diese Überlegung durch Erfahrungen mit Cytochrom P-450 bestätigt^[65, 67, 68]. Wir haben trotzdem einige Anstrengungen unternommen, um den Gültigkeitsbereich von Rückschlüssen auf radikalische Zwischenprodukte bei nicotinamidabhängigen Alkohol-Dehydrogenasen festzulegen^[44, 45]; unsere Argumente werden im folgenden besprochen.

6. Enzymchemie von Cyclopropylmethanol und seinen Derivaten

Wir haben die Enzymchemie von Cyclopropylmethanol und seinen alkylierten und oxidierten Derivaten untersucht. Diese Verbindungen dienten dabei als Enzym-Inhibitoren sowie als mechanistische Sonden für radikalische Zwischenprodukte in enzymkatalysierten Reaktionen unter Beteiligung von NAD⁺/NADH. Beide Funktionen ließen sich getrennt untersuchen; auf beide wird hier näher eingegangen.

6.1. Mechanismus des Wasserstofftransfers durch Nicotinamid-Coenzyme

1971 wies *Hamilton*^[99a] mit Nachdruck auf die Möglichkeit hin, daß Wasserstofftransferreaktionen von Nicotinamid-Coenzymen über radikalische Zwischenprodukte verlaufen könnten; diese Anregung stimulierte zahlreiche Arbeiten, hauptsächlich unter Verwendung von Modellverbindungen^[99b]. Wir hielten es jedoch für wichtig, die bestmöglichen Informationen über die Reaktion am aktiven Zentrum eines Enzyms zu erhalten. Die rasche Ringöffnung von Cyclopropylalkyl-Radikalen ermöglichte es uns, dieser Herausforderung zu begegnen. Da die Geschwindigkeitskonstanten für den Wasserstofftransfer durch Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase zwischen 30 und 100 s⁻¹ liegen^[100], müßte ein während der Redoxreaktion gebilde-

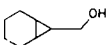
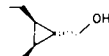
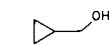
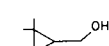
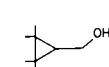
tes radikalisches Zwischenprodukt genügend Zeit haben, um den Ring zu öffnen; somit müßten sich Radikale durch die Reaktionsprodukte zu erkennen geben. In unserem ersten Versuch verwendeten wir Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase mit Bicyclo[4.1.0]heptan-7-methanol **53** und dem entsprechenden Aldehyd^[101]. Unter präparativen Bedingungen isolierten wir (unter Rückgewinnung von NAD⁺ oder NADH) Produkte und Edukte mit intakten Cyclopropanringen. Diese Versuche lieferten also keinen Hinweis auf radikalische Zwischenprodukte.

Wir erweiterten danach die Untersuchung auf Lactat-Dehydrogenase unter Verwendung von Cyclopropanglycolsäure und Cyclopropanglyoxalsäure. Wie bei der Alkohol-Dehydrogenase wurden auch hier weder bei den Oxidations- noch bei den Reduktionsreaktionen offenkettige Produkte nachgewiesen. Um diese Befunde mit denen aus Modellstudien zu korrelieren, bei denen radikalische Zwischenstufen postuliert worden waren^[102], untersuchten wir die Reduktion von Cyclopropanglyoxalsäuremethylester mit *N*-Benzyl-1,4-dihydronicotinamid in Gegenwart von Mg²⁺-Ionen. Einmal mehr beobachteten wir keine Ringöffnung^[103]. In einer parallelen Studie fanden *Pandit et al.*^[104], daß *N*-Cyclopropylmethylphenylamin vom Hantzsch-Ester (1,4-Dihydro-2,6-dimethylpyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester) ohne Ringöffnung reduziert werden. Keine dieser Untersuchungen liefert einen Hinweis auf radikalische Zwischenprodukte; es muß jedoch sichergestellt werden, daß die einleitend erwähnten strengen Bedingungen für die Anwendbarkeit des Cyclopropylalkyl-Radikals als mechanistische Sonde erfüllt worden sind.

Als einfachstes muß gezeigt werden, daß potentielle Radikalbildner am Ort der Redoxreaktion zu offenkettigen Produkten umgesetzt werden können. Dies wurde für Cyclopropanglyoxylsäureester^[103] sowie die obengenannte Schiff-Base^[104] durch Behandlung mit Zinnhydridreagentien und einem Initiator nachgewiesen. Die wichtigste Folgerung aus diesen einfachen Versuchen besteht darin, daß in den herkömmlichen Modellreaktionen höchstwahrscheinlich keine radikalischen Zwischenprodukte auftreten, da es keine konformationellen Einschränkungen gibt, die eine Ringöffnung der Sondenmoleküle verhindern könnten. Ähnliche Ergebnisse erhielt man in Übereinstimmung mit einer älteren Arbeit^[105] mit den bicyclischen Substraten (vgl. **53**)^[101]. Um die enzymkatalysierten Reaktionen auszuwerten, benötigte man daher präzisere Informationen über Substituenteneffekte auf die Ringöffnungsgeschwindigkeit von Cyclopropylalkyl-Radikalen (vgl. Tabelle 1 in Abschnitt 2.4). So verringerte ein Alkoxy substituent die Ringöffnungsgeschwindigkeit nur um einen Faktor 10, weshalb die mechanistische Sonde für Alkohol-Dehydrogenase diesen Test bestand^[44, 45, 101]. Im Gegensatz dazu war die Ringöffnungsgeschwindigkeit von Cyclopropylalkyl-Radikalen, die mit je einer Donor- und einer Acceptorgruppe substituiert waren, ESR-spektroskopisch unter uns zugänglichen Bedingungen nicht meßbar. In diesem Fall ist deshalb die unterbliebene Ringöffnung in Lactat-Dehydrogenase-katalysierten Reaktionen nicht aussagekräftig. Die Modellreaktionen zeigen dessen ungeachtet, daß das System im wesentlichen chemischen Charakter hat^[103].

In diese Versuchsreihe wurden di- und tetraalkylierte Cyclopropylmethanole einbezogen (Tabelle 2). Die Ring-

Tabelle 2. Kinetische Parameter für die Wechselwirkung von Cyclopropylmethanol und seinen Derivaten mit Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase. K_m = Michaeliskonstante für das Verhalten des Substrats; k_{ox} = Geschwindigkeitskonstante für die Oxidation; k_{in} = Geschwindigkeitskonstante für die Hemmung.

	K_m [M $\times 10^3$]	k_{ox} [s $^{-1}$]	k_{in} [s $^{-1}$ $\times 10^3$]	$\frac{k_{ox}}{k_{in}}$
53 	1.92	1.70	13.5	126
54 	6.38	4.72	5.13	920
55 	6.89	4.24	4.33	980
56 	6.3	5.64	1.33	4240
57 	15.9	19.2	0.4	48000

öffnungsgeschwindigkeit der aus Silylethern dieser Verbindungen erhaltenen Radikale war zu hoch, um mit der angewendeten ESR-Technik gemessen zu werden^[54]. Dieser Befund bot eine ausgezeichnete Gelegenheit, die aus den ersten Experimenten gezogenen Schlüsse durch Reaktionen mit Alkohol-Dehydrogenase in präparativem Maßstab zu bekräftigen. Die methylsubstituierten Sonden sind nicht nur bezüglich der Ringöffnung der entsprechenden Radikale reaktiver, sondern durch die Alkylsubstitution ist ihre Effektivität als Enzym-Inhibitor auch stark beeinträchtigt, weil ein nucleophiler Angriff auf den Cyclopropanring gehindert ist (siehe unten); Untersuchungen mit diesen Sonden konzentrieren sich daher auf den Wasserstofftransfer-schritt. Wie zuvor waren keine offenkettigen Produkte nachweisbar^[54]. Es blieb weiter zu überprüfen, ob das Enzym die Ringöffnung nicht verhindert, indem es z.B. die Bildung eineröffnungsfähigen Konformation des intermediären Radikals unterdrückt^[52, 53] oder indem es das Radikal zwingt, die Ringform beizubehalten. Der Einfluß dieses Faktors wird durch die Gleichgewichtslage des Nortricyclyl-Radikals **22** betont^[51], die seine Verwendung als Sonde für radikalische Zwischenprodukte ausschließt^[68, 106].

Die Bedeutung aller dieser Faktoren für Alkohol-Dehydrogenase wurde durch Computergraphik abgeschätzt^[107]. Unter Verwendung eines Modells des aktiven Zentrums von Alkohol-Dehydrogenase, das nach der röntgenkristallographischen Untersuchung des 4-Brombenzylalkohol-Komplexes konstruiert worden war^[108], konnten wir nachweisen, daß für Tetramethylcyclopropanmethanol **57** die für die Ringöffnung erforderliche Konformation zugänglich war (Abb. 11) und daß keine entscheidenden Einwände gegen die Ringöffnung bestanden. Diese Ergebnisse definieren somit die Grenzen, innerhalb derer die fehlende Ringöffnung von Cyclopropylalkyl-Substraten interpretiert werden kann. Für Alkohol-Dehydrogenase sind alle Kriterien für die Anwendung von Cyclopropylsonden erfüllt worden. Obwohl es Argumente für das Auftreten unbeständiger Zwischenprodukte bei der Oxidation von Alkoholen durch Alkohol-Dehydrogenase und NAD⁺ gab^[109], existiert kein Beweis für radikalische Zwischenstu-

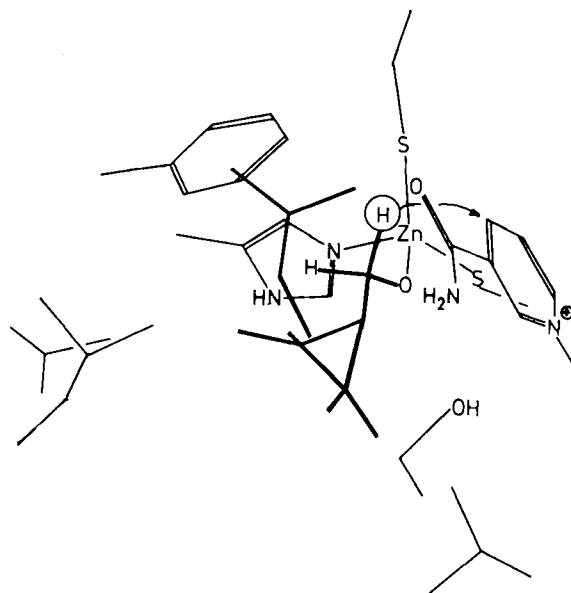


Abb. 11. Aktives Zentrum der Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase mit Tetramethylcyclopropylmethanol **57** in der für Wasserstofftransfer und Ringöffnung erforderlichen Konformation (nach Computergraphik). Das Sondenmolekül ist fett gezeichnet.

fen bei Reaktionen einfacher Alkylaldehyde und Ketone mit NAD⁺/NADH und Alkohol-Dehydrogenase. Aus anderen Untersuchungen wurde geschlossen, daß Einelektronentransfer-Mechanismen generell nur für Dihydropyridine zu erwarten sind, die mit „obligaten“ Einelektronenoxidationsmitteln wie Eisen(III) und dessen Komplexen umgesetzt werden^[110].

6.2. Enzymhemmung durch Alkylcyclopropylmethanol-Derivate

Als wir unsere Arbeit über die Hemmung von Dehydrogenasen begannen, war die Aktivierung latenter Inhibitoren durch Oxidation noch nicht bekannt. Wir^[111] und andere^[112] zeigten, daß ungesättigte Alkohole wie But-3-in-1-ol und 3-Ethylthioprop-2-en-1-ol Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase zeitabhängig hemmen. Im letztgenannten Fall^[111] erwies sich die Hemmung jedoch als reversibel; Malondialdehyd und Ethanthiol waren als Reaktionsprodukte nachweisbar. Diese Produkte stammen wahrscheinlich aus einer umgekehrten Michael-Reaktion, in der das gehemmte Enzym reaktiviert wurde; um diese formale Hydrolyse zu verhindern, wurden die Cyclopropane eingeführt. In diesem Fall wäre eine Aufhebung der Hemmung durch Ringschluß unwahrscheinlich. Die ersten untersuchten Verbindungen leiteten sich von Bicyclo[4.1.0]heptan-7-methanol **53** ab, das ursprünglich für den Nachweis des Wasserstofftransfer-Mechanismus verwendet wurde. Alle Alkohole in Tabelle 2 erwiesen sich als Inhibitoren. Die bicyclischen primären Alkohole waren am effektivsten und verursachten annähernd einmal pro 100 katalytischen Vorgängen eine Hemmung.

So wie Di- und Tetramethylcyclopropylmethanol **56** bzw. **57** weiteren Aufschluß über den Mechanismus des Wasserstofftransfers lieferten, halfen sie auch bei der Klärung des Verlaufs der Hemmreaktionen. A priori gibt es bei den inhibierenden Cyclopropylmethanol-Derivaten

zwei Stellen, die mit Nucleophilen reagieren können, und zwar das sauerstofftragende Kohlenstoffatom und die abgewandten Ecken des Cyclopropanrings. Falls die von den Alkoholen bewirkte Hemmung durch einen nucleophilen Angriff auf den Cyclopropanring erfolgen würde, müßte eine Substitution durch Methylgruppen an dieser Stelle die Hemmggeschwindigkeit herabsetzen. Es zeigte sich, daß Tetramethylcyclopropylmethanol **57**, das ebenso viele Kohlenstoffatome wie der Modellinhibitor **53** enthält, mit vergleichbarer Affinität an das Enzym bindet^[54]. Es ist jedoch ein 380fach schwächerer Inhibitor (Tabelle 2); das Dimethylanalogon **56** ist ebenfalls ein schwächerer Inhibitor als **53**. Beide Versuche deuten stark darauf hin, daß die Methylgruppen die Hemmung beeinträchtigen und die Ecken des Cyclopropanrings das Ziel für die nucleophilen Gruppen des Enzyms sind.

Die Daten von Tabelle 2 und die bekannten Affinitäten typischer Substrate der Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase wurden durch Computergraphik ausgewertet. Dadurch wird nahegelegt, daß eine nucleophile Gruppe des Enzyms an der Hemmung beteiligt sein könnte^[107, 108]. Die Inhibitoren können grundsätzlich in zwei Orientierungen an das aktive Zentrum binden, aber nur in einer (Abb. 12)

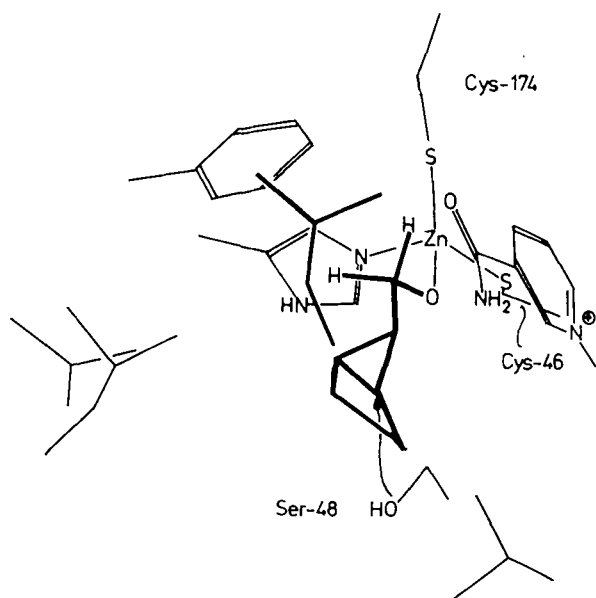


Abb. 12. Mechanismus der Hemmung der Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase durch Cyclopropylmethanol-Derivate wie **53** (nach Computergraphik). Der Inhibitor ist fett gezeichnet.

kann der *pro-R*-Wasserstoff, der normalerweise durch dieses Enzym entfernt wird, auf NAD^+ übertragen und zur gleichen Zeit ein Nucleophil so nahe an eine Ecke des Cyclopropanrings gebracht werden, daß es gebunden werden kann. Als Nucleophil fungiert die Hydroxygruppe von Ser-48. Eine vergleichbare Situation wurde bei Lactat-Dehydrogenase gefunden; in diesem Fall ist wahrscheinlich die Hydroxygruppe von Thr-246 das Nucleophil. Beide Ergebnisse sind mit dem stereochemischen Verlauf der nucleophilen Ringöffnung von Cyclopropanen (siehe Abschnitt 2) und mit den Voraussagen der Grenzorbitaltheorie in Einklang^[107].

6.3. Hemmung chemotherapeutisch bedeutender Enzyme durch Cyclopropan-Derivate

Die Beispiele der Alkohol- und Lactat-Dehydrogenase zeigen, daß Cyclopropan-Derivate wirksame Inhibitoren an aktiven Zentren sein können, die entweder Metall-Ionen als Lewis-Säuren oder protonenübertragende Gruppen enthalten. Es war daher naheliegend, das Konzept auf andere Enzyme auszuweiten, die ähnliche Aktivierungsmöglichkeiten haben, insbesondere Enzyme, die in der Chemotherapie eine Rolle spielen. Ein hochinteressanter Fall ist Dihydrofolat-Reduktase (DHFR), deren Wirkungsweise aufgrund von Röntgenkristallographie^[113] und NMR-Untersuchungen^[114] ausführlich diskutiert worden ist. Es wurde nachgewiesen, daß hemmend wirkende Diaminopyrimidine durch einen Aspartatrest am aktiven Zentrum von DHFR protoniert werden (vgl. **58**); dieser Rest ist auch in einem bestimmten Stadium der katalytischen Protonierung von N-5 des Dihydrofolats beteiligt. Den Erfolg mit Lactat-Dehydrogenase vor Augen, fragten wir uns, ob eine derartige Protonierung aus einem Analogon von Diaminopyrimidinen oder Dihydrofolat mit Cyclopropan-Einheit einen reaktiven Inhibitor erzeugen könnte (Abb. 13).

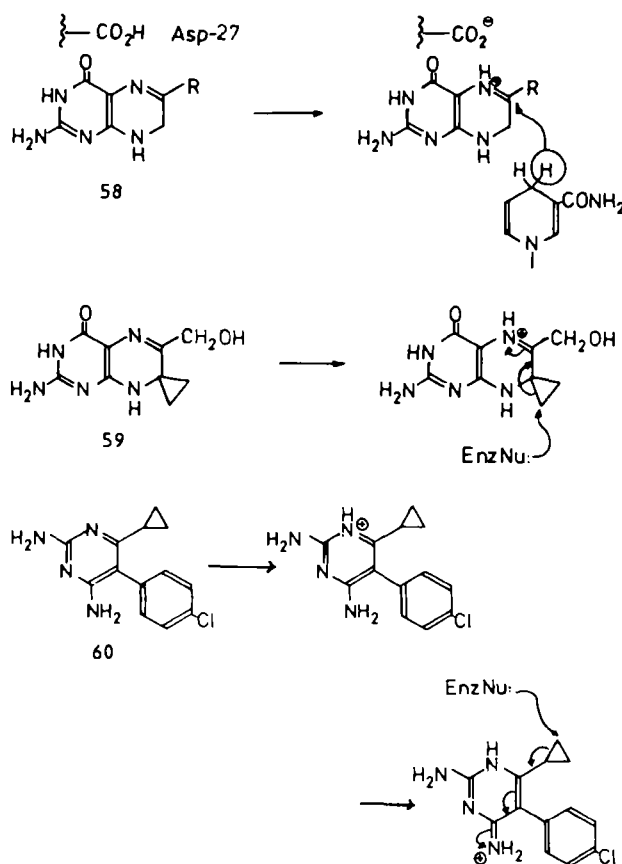
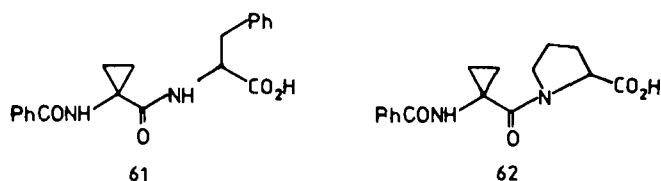


Abb. 13. Nach mechanistischen Überlegungen entwickelte Inhibitoren der Dihydrofolat-Reduktase.

Folglich synthetisierten wir das Pteridin **59** und das Pyrimidin **60**^[115]. Eine Untersuchung der Hemmeigenschaften der beiden Verbindungen ergab, daß das Pyrimidin **60** nur

ein kompetitiver Inhibitor ist, während sich das Pteridin **59** als ein klassischer, zeitabhängiger, irreversibler Inhibitor erwies. Der Grund für diesen Unterschied wird durch Synthesen und durch Molecular Modelling gesucht.

Ein weiteres Enzym, das als Prototyp für chemotherapeutische Agentien interessiert, ist Carboxypeptidase A; viele wichtige Endopeptidasen wie das Angiotensin konvertierende Enzym sind mit Carboxypeptidase A verwandt^[116]. Diese Enzyme sind Metalloenzyme mit einem Zink-Ion, das im aktiven Zentrum als Lewisäure wirkt. Es war daher interessant zu klären, ob eine Cyclopropylaminosäure auf dieselbe Weise aktiviert werden kann wie ein Cyclopropylalkohol in der Alkohol-Dehydrogenase. Wir stellten daher eine Reihe von Peptiden und Acylaminosäuren her, die sich von 1-Aminocyclopropan-carbonsäure ableiten, und verwendeten auch Cyclopropan-carbonyl als einfache Acylgruppe. Beide Verbindungstypen wurden als Bestandteile von Peptiden genannt, die als Enzym-Inhibitoren wirken^[117, 118]; Beweise für eine zeitabhängige Reaktion wurden jedoch nicht erbracht. Wir stellten fest, daß das Phenylalanylpeptid **61** ein mäßiger Inhibitor für Carb-



oxypeptidase und auch ein schlechtes Substrat ist. Im Gegensatz dazu ist das Prolylanalogon **62** ein zeitabhängiger Inhibitor ohne jede Substrateigenschaft^[119]. Wir haben als Erklärung vorgeschlagen, daß die enge Nachbarschaft von Pro in- und Cyclopropanring den nucleophilen Angriff auf die spaltbare Carbonylgruppe wirksam blockiert^[117, 119]. Eine neuere Arbeit hat gezeigt, daß die Serinprotease Elastase von Peptiden mit Cyclopropan-Einheit gehemmt wird.

Das letzte Enzym, das wir bisher durch Cyclopropane dieses Typs hemmen konnten, ist Dihydroorotat-Dehydrogenase, ein Schlüsselenzym bei der Biosynthese von Pyrimidinen^[120]. Nach der eher zufälligen Entdeckung einiger Hydantoine mit hemmender Wirkung für dieses Enzym^[121] fanden wir, daß die Spiroverbindung 5,5-Ethylenbarbitursäure ein zeitabhängiger irreversibler Inhibitor ist. Wir haben keine Informationen über den Mechanismus dieser Reaktion. Es sei jedoch angemerkt, daß es sich bei dem Enzym um ein Flavoprotein handelt und daß der Inhibitor reaktiv ist, da er einen Cyclopropanring mit zwei geminalen Carbonylsubstituenten enthält. Sowohl direkter nucleophiler Angriff als auch Radikalmechanismen sind möglich^[122].

Die Fähigkeit von Peptiden und Peptidanaloga mit Cyclopropan-Einheiten, als Peptidase-Inhibitoren zu wirken, ist kürzlich auch bei *N*-Cyclopropylamiden und den entsprechenden sekundären Alkoholen nachgewiesen worden: Sie hemmen Carboxypeptidase A. Außerdem gibt es Hinweise, daß sich Serin- und Cystein-Peptidasen durch Peptide mit Cyclopropan-Einheiten hemmen lassen^[139].

7. Aryl- und Benzylcyclopropane als Sonden für Reaktionen hydroxylierender Enzyme

Unser ursprüngliches Interesse an Cytochrom P-450 und Substraten mit Cyclopropan-Einheiten bestand darin, den Mechanismus der aromatischen Hydroxylierung zu untersuchen. Wir stellten jedoch fest, daß die Reaktion am dreigliedrigen Ring und nicht am Arenring stattfand. Als erstes Substrat untersuchten wir Cyclopropylbenzol^[123]; diese Verbindung war im Enzym aus Kaninchenleber kompetitiv zu Ethoxycumarin^[124]. Anders als bei Alkenen, die oft Cytochrom P-450 hemmen, wurde keine zeitabhängige Hemmung beobachtet, und als Hauptprodukt entstand überraschenderweise Benzoesäure. Wir gingen zunächst davon aus, daß dieses Produkt aus einer Addition von Radikalen stammt, die sich durch Homolyse eines Peroxzwischenproduktes am aktiven Zentrum bilden. Die Möglichkeit einer Peroxysäure oder ihres Äquivalents wurde ebenfalls in Betracht gezogen^[68]; angesichts der kürzlich durchgeführten Röntgenstrukturanalyse von Cytochrom P-450cam ist ein derartiges Zwischenprodukt aber weniger wahrscheinlich^[125]. Das wesentliche Merkmal des vorgeschlagenen Mechanismus ist jedoch, daß ein Diol am aktiven Zentrum gebildet werden muß; ein derartiges Zwischenprodukt kann homolytisch – mit oder ohne Einelektronentransfer – oder heterolytisch entstehen. Unter der Annahme, daß die anschließende oxidative Spaltung zu Benzoesäure ähnlich wie die 19-Desmethylierung von Steroiden^[126] verläuft, würde Acetaldehyd als zweites Produkt anfallen. Diese labile Verbindung ließ sich nicht nachweisen. Unter Verwendung von 1,2-Diphenylcyclopropan war es uns jedoch möglich, Benzoesäure und Phenylacetaldehyd als Produkte der enzymatischen Oxidation zu charakterisieren – ein Ergebnis, das den für die Bildung von Benzoesäure vorgeschlagenen Mechanismus stützt (Abb. 14). Die Chemie dieser interessanten Oxidation und potentielle biologische Anwendungen werden weiter untersucht.

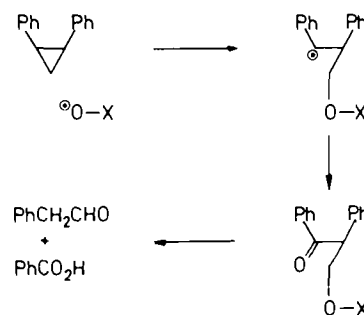


Abb. 14. Möglicher Verlauf der oxidativen Spaltung von Diphenylcyclopropan durch Cytochrom P-450. O-X repräsentiert ein enzymgebundenes Radikal.

Die fehlende Inhibition von Cytochrom P-450 durch Arylcyclopropane bedeutet nicht, daß hydroxylierende Enzyme nicht durch substituierte Cyclopropane gehemmt werden können. Fitzpatrick, Villafranca et al.^[127] haben nachgewiesen, daß Dopamin- β -Hydroxylase, ein kupferhaltiges Enzym, durch Alkene, Alkine und Substratanaloga mit Cyclopropan-Einheiten gehemmt wird. Der mutmaßliche Mechanismus ist in Abbildung 15 dargestellt;

wiederum wurde die Hemmung auf die Ringöffnung des Cyclopropylalkyl-Radikals zurückgeführt. Anders als bei der Hemmung der Monoamin-Oxidase durch Ringöffnungsreaktionen waren bei dieser Reaktion keine offenkettigen Nebenprodukte nachweisbar.

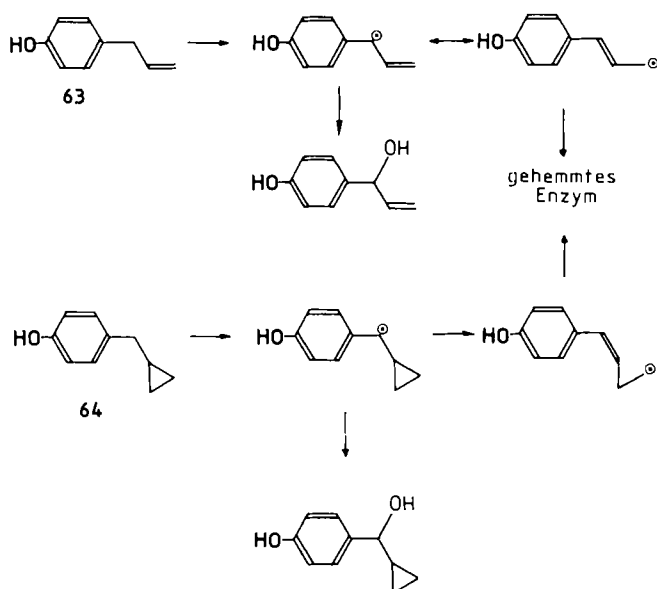


Abb. 15. Hemmung von Dopamin- β -Hydroxylase durch alkenyl- und cyclopropylsubstituierte Phenole am Beispiel von *p*-Allyl- **63** bzw. *p*-Cyclopropylmethylphenol **64**.

8. Cyclopropan-Derivate als Sonden für den Mechanismus von Umlagerungen in Gegenwart von Coenzym B_{12}

Der Mechanismus, durch den Coenzym B_{12} eine Gruppe molekularer Umlagerungen steuert, interessiert in der Bioorganischen Chemie seit mehr als zwanzig Jahren^[128]. Bei den ersten Untersuchungen bestand ein erhöhter Anreiz darin, daß es keine „chemischen“ Beispiele für 1,2-Verschiebungen von Wasserstoff und einem schweren Atom gab, wie sie bei diesen Reaktionen auftreten (Abb. 16 A). Die Labilität der Cobalt-Kohlenstoff-Bindung des Coenzym B_{12} war natürlich auch ein wichtiger Faktor. So war z. B. bekannt, daß eine homolytische Spaltung zu einem Cobalt(II)-Komplex und einem organischen Radikal möglich war; eine derartige Dissoziation war bei Enzym-Substrat-Komplexen beobachtet worden. Die Annahme einer radikalischen Wirkungsweise des Coenzym B_{12} wurde erhärtet, als man fand, daß bei der Reaktion von Hydroxyl-Radikalen mit Ethylenglycol Acetaldehyd-Radikale gebildet werden (Abb. 16 B)^[129]. Es mußten also mehrere Möglichkeiten für die Umlagerung eines einmal gebildeten Substratradikals in Betracht gezogen werden. Zwei Mechanismen schlossen einen Elektronentransfer ein; die beiden hauptsächlich umstrittenen Möglichkeiten waren aber eine Radikalumlagerung und ein Mechanismus, bei dem das Substratradikal mit Coenzym B_{12} eine Co-C-Bindung bildet. Auch π -Komplexe wurden erwogen. *Golding* et al. kamen durch Studien an Modellsystemen^[130], mit denen

Umlagerungen unter Wanderung von Kohlenstoffatomen untersucht wurden, einer Lösung am nächsten.

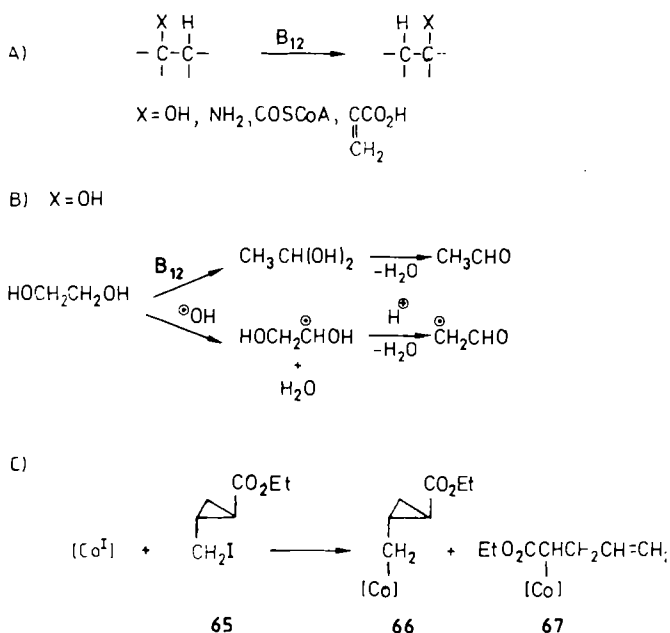


Abb. 16. A) Typ der durch Coenzym B_{12} („ B_{12} “) katalysierten Umlagerungen. B) Coenzym- B_{12} -katalysierte Umlagerung von Ethylenglycol (oben) in Gegenwart von $\cdot OH$ -Radikalen (unten). C) Modellreaktionen (siehe Text): $[Co]$ bedeutet Bis(dimethylglyoximato)pyridincobalt.

Mit Hilfe der Cyclopropanchemie läßt sich die durch α -Methylglutarat-Mutase katalysierte Umlagerung untersuchen; *Golding* et al.^[130] prüften an den Modellverbindungen **65** und **66** (Abb. 16 C), ob Cobalt während der Umlagerung (2-Methylglutarat \rightarrow 2-Methyl-3-methylsuccinat) an das organische Substrat gebunden bleibt oder ob ein cobaltfreies Radikal beteiligt ist. Als Sonde für eine Modellreaktion empfiehlt sich ein Cyclopropylcobaloxim wie **66**: Es wurde aus dem Iodid **65** und Cobaloxim(II) unter teilweiser Ringöffnung zu **67** hergestellt, was auf eine radikalische Substitution hindeutet. Das stärker gehinderte *cis*-Isomer von **66** führte ausschließlich zum offenkettigen Produkt **67** – ein Ergebnis, das mit unseren Erfahrungen bei der Ringöffnung substituierter Cyclopropylalkyl-Radikale übereinstimmt^[44]. Beide Isomere des Iodids **65** ließen sich radiolytisch bei 77 K in die offenkettige Form umwandeln, wodurch die Empfindlichkeit der gewählten Sonde gegenüber einer Bildung von Radikalen bestätigt wurde. Im Gegensatz hierzu ging das cyclopropansubstituierte Cobaloxim **66** keine Umlagerung und Ringöffnung ein. Dieses wichtige Ergebnis zeigt, daß die Cobalt-Kohlenstoff-Bindung geöffnet werden muß, damit eine Umlagerung stattfinden kann; somit ist Cobalt bei der Umlagerung kein direkter Partner. Es spielt nach *Golding*^[130] eine „betrachtende“, nicht aber eine „führende“ Rolle. Das Modellergebnis legt also nahe, daß ein Alkylcobalamin in der enzymkatalysierten Reaktion zu stabil wäre, um sich umzulagern, und weist dem gebildeten Desoxyadenosin eine Funktion zu: Es verhindert, daß das organische Substratradikal bei der Umlagerung zu einer stabilen Organocobaltspezies rekombiniert. Im Fall der α -Methylglutarat-Mutase wurde gefolgert, daß die Umlagerung über ein Cyclopropylalkyl-Radikal verläuft^[130].

9. Schlußbetrachtung

Der Wert der Cyclopropylgruppe für viele Bereiche der Chemie liegt in ihrer vielseitigen Reaktivität. Dies gilt insbesondere in der Enzymchemie, wie die Beispiele in diesem Beitrag gezeigt haben. Die Interpretationen des wahrscheinlichen Verlaufs von Enzymreaktionen stützen sich auf gesicherte chemische Präzedenzfälle; oft bleiben sie aber stärker hypothetisch als einem lieb ist, weil Informationen über die Enzymstruktur fehlen. Dennoch gibt es laufend neue Beispiele für die Verwendung von Cyclopropanen als mechanistische Sonden in der Enzymchemie, wie kürzlich wieder in einer Untersuchung über den bakteriellen Abbau von Phosphonsäureestern, die mit Nerven gasen verwandt sind^[131]. Die Verwendung von Cyclopropanol zur Erforschung der bakteriellen Alkoholoxidation ist von Duine et al. befürwortet worden^[132]. Hierbei wird die Fähigkeit dieser Verbindung genutzt, nur PQQ-abhängige Enzyme, nicht aber NAD⁺-abhängige Dehydrogenasen zu hemmen.

Der Weg von der grundlegenden mechanistischen Enzymologie über die Erarbeitung von Sonden für den Metabolismus bis hin zur Entwicklung neuer Arzneimittel ist ein Idealbild vom wissenschaftlichen Fortschritt. Bei Cyclopropanen sind die ersten beiden Stufen untersucht worden. Es ist zu hoffen, daß die dritte Stufe folgen wird. Die zukünftige Verwendung von Cyclopropan-Derivaten als mechanistische Sonden oder als Inhibitoren würde allerdings erleichtert werden, wenn die engen Wechselbeziehungen dieser vielseitigen Verbindungen mit den Enzymen im Detail erforscht wären.

Eingegangen am 19. Dezember 1986,
ergänzte Fassung am 20. Januar 1988 [A 666]
Übersetzt von Dipl.-Chem. Ulrike Quabeck, Göttingen

- [1] a) C. Walsh, *Annu. Rev. Biochem.* 47 (1978) 881; b) *ibid.* 53 (1984) 493; c) R. H. Abeles, A. L. Maycock, *Acc. Chem. Res.* 9 (1976) 313; d) R. R. Rando, *Science* (Washington, D.C.) 185 (1974) 320.
- [2] a) M. G. Palfreyman, I. A. McDonald, P. Bey, C. Danzin, M. Zreika, G. A. Lyles, J. R. Fozard, *Biochem. Soc. Trans.* 14 (1986) 410; b) C. Walsh, R. Badet, E. Daub, N. Esaki, N. Galakatos in K. W. Lambert (Hrsg.): *Medicinal Chemistry, Vol. 3*. Royal Society of Chemistry, London 1986, S. 193.
- [3] Siehe N. F. James (Hrsg.): *Recent Advances in the Chemistry of Insect Control*. Royal Society of Chemistry, London 1985, S. 26, 73, 133.
- [4] H. C. Rilling, C. D. Porter, W. W. Epstein, B. Larsen, *J. Am. Chem. Soc.* 93 (1971) 1783.
- [5] a) Y. Fujimoto, F. Irreverre, J. M. Karle, I. L. Karle, B. Witkop, *J. Am. Chem. Soc.* 93 (1971) 3471; b) L. Fowden, C. M. MacGibbon, F. A. Mellon, R. C. Sheppard, *Phytochemistry* 11 (1972) 1105; c) L. Fowden, A. Smith, D. S. Millington, R. C. Sheppard, *ibid.* 8 (1969) 437; d) A. Ichihara, K. Shiraishi, S. Sakamura, *Tetrahedron Lett.* 1977, 269; e) T. Wakajima, H. Nakamoto, T. Shiba, *ibid.* 25 (1984) 4411; f) T. Wakajima, Y. Oda, H. Fujita, T. Shiba, *ibid.* 27 (1986) 2143.
- [6] a) D. O. Adams, S. F. Young, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (1979) 170; b) K. Lursen, K. Naumann, R. Schroder, *Z. Pflanzenphysiol.* 92s (1979) 285; c) R. M. Adlington, J. E. Baldwin, B. J. Rawlings, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1983, 290; d) R. K. Hull, S. R. Prakash, R. Wiesendanger, W. Angst, B. Martinoni, D. Arigoni, H.-W. Liu, C. Walsh, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 795; e) G. D. Peiser, T.-T. Wang, N. E. Hoffman, S. F. Young, H.-W. Liu, C. Walsh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81 (1984) 3059; f) J. E. Baldwin, R. M. Adlington, G. A. Lajoie, B. J. Rawlings, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1985, 1496; g) H.-W. Liu, R. Auchus, C. Walsh, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 5335.
- [7] a) M. C. Pirrung, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 7207; b) M. C. Pirrung, G. M. McGeehan, *Angew. Chem.* 97 (1985) 1074; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 1044.
- [8] Siehe *Chem. Ber.* 22 (1986) 395.
- [9] a) G. B. Stahl, G. F. Ludvik, S. G. Nasser, C. A. Henrick, W. E. Willy, *J. Econ. Entomol.* 68 (1975) 91; b) C. A. Henrick, W. E. Willy, G. B. Stahl, G. F. Ludvik, *J. Agric. Food Chem.* 24 (1976) 1023.
- [10] A. A. Freer, D. Gardner, D. Grentbanks, J. P. Poyer, G. A. Sim, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1982, 1160.
- [11] M. H. O'Leary, W. J. de Gooyer, T. M. Dougherty, V. Anderson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 100 (1981) 1320.
- [12] P. D. Kennewell, S. S. Matharu, J. B. Taylor, R. Westwood, P. G. Sammes, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1982, 2553, 2563.
- [13] a) R. Dahlbom, J. L. G. Nilsson (Hrsg.): *Medicinal Chemistry, Vol. 1*. Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm 1985; b) P. B. M. W. M. Timmermans in [13a], S. 69; c) B. G. Main in [13a], S. 41.
- [14] P. Bonnaud, M. Briley, H. Cousse, J. P. Couzinier, P. Lenoble in [13a], S. 119.
- [15] J. Lewis in [13a], S. 123.
- [16] a) A. P. Gray, H. Kraus, Belg. Pat. 649 145 (1964) Neisler; *Chem. Abstr.* 64 (1966) 8151; b) A. P. Gray, H. Kraus, Br. Pat. 1038 729 (1966) Neisler; *Chem. Abstr.* 65 (1966) 15344.
- [17] J. L. Van Gelder, A. H. M. Raeymaekers, L. F. C. Roovers, DBP 2029 637 (1971), US-Pat. 3657 267 (1972), Janssen; *Merck Index* 1983, Nr. 2705.
- [18] J. M. Teulon, DBP 2446 317 (1975), US-Pat. 4005 103 (1977), Hexachemie; *Merck Index* 1983, Nr. 7279.
- [19] K. Nickisch, D. Bittler, J. Casals-Stenzel, H. Laurent, R. Nickolson, Y. Nishino, K. Petzold, R. Wiechert, *J. Med. Chem.* 28 (1985) 546.
- [20] R. Cunningham, D. J. Tindall, A. R. Means, *Steroids* 33 (1979) 261.
- [21] A. C. Sartorelli, E. Lazo, J. R. Bertino (Hrsg.): *Molecular Actions and Targets for Cancer Chemotherapeutic Agents*. Bristol Myers Cancer Symposium Series, Academic Press, New York 1981.
- [22] R. W. Franck, *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* 38 (1979) 1.
- [23] K. Okawa, K. Nakajima, *Biopolymers* 20 (1981) 1811.
- [24] D. E. Hathaway: *Molecular Aspects of Toxicology*. Royal Society of Chemistry, London 1984, S. 204.
- [25] D. Reichert, *Angew. Chem.* 93 (1981) 135; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 135.
- [26] I. A. Rose, E. L. O'Connell, K. J. Schray, *J. Biol. Chem.* 248 (1973) 2214.
- [27] a) S. Bantia, C. L. Bevins, R. M. Pollack, *Biochemistry* 24 (1985) 2606; b) R. M. Pollack, R. H. Kayser, C. L. Bevins, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 91 (1979) 783; c) T. M. Penning, *Biochem. J.* 226 (1985) 469.
- [28] a) M. I. Page, P. Proctor, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 3820; b) P. Proctor, N. P. Gensmantel, M. I. Page, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1982, 1185.
- [29] a) S. R. Lammert, S. Kukulja, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 5583; b) R. J. Stoodley, N. S. Watson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1974, 1632; c) D. O. Spry, *Tetrahedron Lett.* 1973, 2413; d) T. Kamiya, T. Teraji, M. Hashimoto, O. Nakaguchi, T. Oku, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 5020; e) J. E. Arrowsmith, C. W. Greengrass, M. J. Newmann, *Tetrahedron* 39 (1983) 2469; f) D. H. Shih, J. A. Fayter, B. G. Christensen, *Tetrahedron Lett.* 25 (1984) 1639.
- [30] a) E. M. Gordon, J. Pluscac, M. A. Ondetti, *Tetrahedron Lett.* 22 (1981) 1871; b) O. Meth-Cohn, A. J. Reason, S. M. Roberts, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1982, 90; c) G. Lowe, S. Swain, *ibid.* 1983, 1279; d) G. Lange, M. E. Savard, T. Viswanatha, D. I. Dmitrienko, *Tetrahedron Lett.* 26 (1985) 1791; e) A. J. Cocuzza, G. A. Boswell, *ibid.* 26 (1985) 5363.
- [31] J. F. Liebman, A. Greenberg, *Chem. Rev.* 76 (1976) 311.
- [32] A. de Meijere, *Angew. Chem.* 91 (1979) 867; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 18 (1979) 809.
- [33] C. A. Coulson, W. E. Moffitt, *J. Chem. Phys.* 15 (1947) 151.
- [34] A. D. Walsh, *Trans. Faraday Soc.* 45 (1949) 179.
- [35] R. Jorritsma, H. Steinberg, T. J. de Boer, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 100 (1981) 184, 194.
- [36] N. J. Turro, W. B. Hammond, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 1028.
- [37] N. J. Demjanov, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 40 (1907) 4961.
- [38] J. D. Roberts, R. H. Mazur, *J. Am. Chem. Soc.* 73 (1951) 2509.
- [39] R. H. Mazur, W. N. White, D. A. Semenov, C. C. Lee, M. S. Silver, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* 81 (1959) 4390.
- [40] G. A. Olah, C. L. Jerrell, D. P. Kelly, R. D. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* 94 (1972) 146.
- [41] R. Battaglia, *Dissertation Nr. 4521*, ETH Zürich, 1970.
- [42] K. B. Wiberg, A. J. Ashe, *Tetrahedron Lett.* 1965, 1153.
- [43] a) M. Julia, S. Julia, R. Guegan, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1960, 1072; b) S. F. Brady, M. I. Ilton, W. S. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* 90 (1968) 2882.
- [44] D. Laurie, E. Lucas, D. C. Nonhebel, C. J. Suckling, J. C. Walton, *Tetrahedron* 42 (1986) 1035.
- [45] J. P. McCormick, D. L. Barton, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1975, 303.
- [46] S. J. Cristol, B. B. Jarvis, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 5885.
- [47] a) S. Danishevsky, *Acc. Chem. Res.* 12 (1979) 66; b) R. V. Stevens, *Pure Appl. Chem.* 51 (1979) 1317.
- [48] B. Maillard, D. Forrest, K. U. Ingold, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 7024.
- [49] a) Y. Maeda, K. U. Ingold, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 328; b) X.-Z. Quin, F. Williams, *ibid.* 109 (1987) 595.
- [50] A. Effio, D. Griller, K. U. Ingold, A. L. J. Beckwith, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 1734.
- [51] P. C. Wong, D. Griller, *J. Org. Chem.* 46 (1981) 2327.
- [52] a) W. G. Dauben, L. Schutte, R. E. Wolf, E. J. Deviny, *J. Org. Chem.* 34 (1969) 2512; b) W. G. Dauben, R. E. Wolf, *ibid.* 35 (1970) 374.

- [53] a) A. J. Bellamy, E. A. Campbell, I. R. Hall, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1974, 1347; b) P. S. Mariano, E. Bey, *J. Org. Chem.* 45 (1980) 1765.
- [54] D. C. Nonhebel, C. J. Suckling, J. C. Walton, *Tetrahedron Lett.* 23 (1982) 4477.
- [55] H. G. Viehe, R. Merényi, L. Stella, Z. Janousek, *Angew. Chem.* 91 (1972) 982; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 18 (1979) 917.
- [56] M. J. Perkins, P. Ward, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1974, 667.
- [57] A. Streitwieser, Jr., als persönliche Mitteilung in [32] zitiert (dort [112]).
- [58] J. Fuhrhop, G. Penzlin: *Organic Synthesis*. Verlag Chemie, Weinheim 1983, S. 170, 62, 67, 270–271.
- [59] A. Thibblin, W. P. Jencks, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 4963.
- [60] H. Dalton, B. T. Golding, B. W. Waters, R. Higgins, J. A. Taylor, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1981, 482.
- [61] J. J. Perry, *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 7 (1977) 3878.
- [62] J. Geigert, S. L. Neidleman, D. J. Dalietos, *J. Biol. Chem.* 258 (1983) 2273.
- [63] a) F. P. Guengerich, T. L. MacDonald, *Acc. Chem. Res.* 17 (1984) 9; b) R. I. Murray, M. T. Fisher, P. G. Debrunner, S. G. Sligar, *Top. Mol. Struct. Biol.* 6 (1985) 157.
- [64] J. T. Groves, W. J. Kruper, Jr., R. C. Haushalter, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 6375.
- [65] a) L. Brown, W. J. S. Lyall, C. J. Suckling, K. E. Suckling, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1987, 595; b) J. D. Houghton, S. E. Beddows, K. E. Suckling, L. Brown, C. J. Suckling, *Tetrahedron Lett.* 27 (1986) 4655.
- [66] G. S. Boyd, M. J. G. Brown, N. G. Hattlesley, M. E. Lawson, K. E. Suckling, *Adv. Bile Acid Res. Bile Acid Meet. 3rd 1974* 3 (1975) 45.
- [67] R. M. Hayte, R. B. Hochberg, *J. Biol. Chem.* 254 (1979) 2278.
- [68] P. R. Ortiz de Montellano, R. A. Stearns, *J. Am. Chem. Soc.* 109 (1987) 3415.
- [69] O. Ottmar, P. Lindberg, *Acta Pharmacol. Toxicol.* 40 (1977) 476.
- [70] a) C. H. Hassall, K. Reyle, *Biochem. J.* 60 (1955) 334; b) K. Tanaka, E. M. Miller, K. J. Isselbacher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 68 (1971) 20; C. D. Billington, H. S. A. Sherratt, *Methods Enzymol.* 72 (1981) 610.
- [71] a) R. H. Abeles in N. Seiler, M. J. Jung, J. Koch-Weser (Hrsg.): *Enzyme Activated Irreversible Inhibitors*, Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam 1978, S. 1; b) U. Brodbeck (Hrsg.): *Enzyme Inhibitors*. Verlag Chemie, Weinheim 1980; c) S. Ghisla, A. Wenz, C. Thorpe in [71b], S. 43.
- [72] A. Schonbrunn, R. H. Abeles, C. T. Walsh, S. Ghisla, H. Ogata, V. Massey, *Biochemistry* 15 (1976) 1798.
- [73] a) R. H. Jackson, T. P. Singer, *J. Biol. Chem.* 258 (1983) 1857; b) D. B. Hyman, K. Tanaka, *J. Clin. Invest.* 73 (1984) 778.
- [74] B. Wickberg in [13a], Vol. 2, S. 217.
- [75] J. S. Wiseman, G. Tayrien, R. H. Abeles, *Biochemistry* 19 (1980) 4222.
- [76] C. Paech, J. L. Salach, T. P. Singer, *J. Biol. Chem.* 255 (1980) 2700.
- [77] R. B. Silverman, S. J. Hoffman, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 884.
- [78] A. R. Mass, M. J. Nimmo, *Nature (London)* 184 (1959) 547; E. A. Zeller, S. Sarker, *J. Biol. Chem.* 237 (1962) 2333.
- [79] R. B. Silverman, S. J. Hoffman, W. B. Catus II, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 7126.
- [80] P. Dowd, C. Kaufman, R. H. Abeles, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 2703.
- [81] a) D. O. Shah, K. Lai, D. G. Gorenstein, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 4272; b) M. P. Gamsick, J. P. G. Malthouse, W. U. Primrose, N. E. Mackenzie, A. S. F. Boyd, R. A. Russell, A. I. Scott, *ibid.* 105 (1983) 6324.
- [82] M. H. Gelb, J. P. Svarén, R. H. Abeles, *Biochemistry* 24 (1985) 1813; B. Imperiali, R. H. Abeles, *ibid.* 25 (1986) 3760.
- [83] R. P. Hanzlik, R. H. Tullman, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 2048.
- [84] a) H. H. Wasserman, H. W. Adickes, O. E. de Ochoa, *J. Am. Chem. Soc.* 93 (1971) 5586; b) S. E. Schaafsma, E. J. Molenaar, H. Steinberg, T. J. De Boier, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 86 (1967) 1301.
- [85] T. L. Macdonald, K. Zirvi, L. T. Burka, P. Peyman, F. P. Guengerich, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 2050.
- [86] R. B. Silverman, *J. Biol. Chem.* 258 (1983) 14766.
- [87] R. B. Silverman, P. A. Zieske, *Biochemistry* 25 (1986) 341.
- [88] R. B. Silverman, R. B. Yamasaki, *Biochemistry* 23 (1984) 1822.
- [89] R. B. Silverman, P. A. Zieske, *Biochemistry* 24 (1985) 2128.
- [90] R. B. Silverman, P. A. Zieske, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 135 (1986) 154.
- [91] J. S. Wiseman, J. S. Nichols, M. Kolpak, *J. Biol. Chem.* 257 (1982) 6328.
- [92] J. A. Duine, J. Frank Jzn., *Trends Biochem. Sci. (Pers. Ed.)* 6 (1981) 278.
- [93] S. A. Salisbury, H. S. Forrest, W. B. Cruse, O. Kennard, *Nature (London)* 280 (1979) 843.
- [94] R. H. Dekker, J. A. Duine, J. Frank Jzn., P. E. J. Verwiël, J. Westerling, *Eur. J. Biochem.* 125 (1982) 69.
- [95] R. De Beer, J. A. Duine, J. Frank Jzn., J. Westerling, *Eur. J. Biochem.* 130 (1983) 105.
- [96] a) T. Mincey, J. A. Bell, A. S. Mildvan, R. H. Abeles, *Biochemistry* 20 (1981) 7502; b) C. Parkes, R. H. Abeles, *ibid.* 23 (1984) 6355.
- [97] a) M. Dijkstra, J. Frank Jzn., J. A. Jongenjan, J. A. Duine, *Eur. J. Biochem.* 140 (1984) 369; b) D. J. Duine, persönliche Mitteilung.
- [98] B. Sherry, R. H. Abeles, *Biochemistry* 24 (1985) 2594.
- [99] a) G. A. Hamilton, *Prog. Bioorg. Chem.* 1 (1971) 113; b) M. F. Powell, T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 5834; 105 (1983) 1014.
- [100] a) B. V. Plapp, R. L. Brooks, J. D. Shore, *J. Biol. Chem.* 248 (1973) 3470; b) R. L. Brooks, R. H. Gutfreund, *ibid.* 247 (1972) 2382; c) R. L. Brooks, J. D. Shore, *Biochemistry* 10 (1971) 3855; d) K. Bush, V. J. Shiner, H. R. Mahler, *ibid.* 12 (1973) 4802.
- [101] I. MacInnes, D. C. Nonhebel, S. T. Orzulik, C. J. Suckling, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1983, 2776.
- [102] S. Yasui, A. Ohno, *Bioorg. Chem.* 14 (1986) 70; A. Ohno, H. Yamamoto, S. Oka, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 2041.
- [103] D. C. Nonhebel, S. T. Orzulik, C. J. Suckling, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1982, 1146.
- [104] a) J. C. G. van Niel, U. K. Pandit, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1983, 149; b) L. H. P. Meijer, J. C. G. van Niel, U. K. Pandit, *Tetrahedron* 40 (1984) 5185.
- [105] A. G. Davies, B. Muggleton, J.-Y. Godet, M. Pereyre, J.-C. Pommier, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1976, 1719.
- [106] S. K. Chung, S. U. Park, *J. Org. Chem.* 47 (1982) 3197.
- [107] R. J. Breckenridge, C. J. Suckling, *Tetrahedron* 42 (1986) 1035.
- [108] E. Horjales, C. I. Branden, *J. Biol. Chem.* 260 (1985) 15445.
- [109] a) J. Torrealles, M.-C. Guerin, *Biochim. Biophys. Acta* 869 (1986) 265; b) C. I. Branden, H. Eklund, *Experientia* 36 (1980) 40.
- [110] J. W. Verhoeven, W. van Gerresheim, F. M. Martens, S. M. van der Kerk, *Tetrahedron* 42 (1986) 975.
- [111] I. MacInnes, D. Schorstein, C. J. Suckling, R. Wigglesworth, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1983, 2771.
- [112] T. A. Alston, L. Mela, H. J. Bright, *Arch. Biochem. Biophys.* 197 (1979) 516.
- [113] a) D. A. Mathews, R. A. Alden, S. T. Freer, N. Xuong, J. Kraut, *J. Biol. Chem.* 254 (1979) 4144; b) J. T. Bolin, D. J. Filman, D. A. Mathews, R. C. Hamlin, *ibid.* 257 (1982) 13650; c) D. J. Filman, J. T. Bolin, D. A. Mathews, J. Kraut, *ibid.* 257 (1982) 13663.
- [114] a) G. C. K. Roberts in J. Blair (Hrsg.): *Chemistry and Biology of Pteridines*, de Gruyter, Berlin 1983, S. 197; b) H. T. A. Cheng, M. S. Searle, J. Feeney, B. Birdsall, G. C. K. Roberts, I. Kompis, S. J. Hammond, *Biochemistry* 25 (1986) 1925.
- [115] J. Haddow, C. J. Suckling, H. C. S. Wood, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1987, 480.
- [116] a) M. A. Ondetti, D. W. Cushman, *Annu. Rev. Biochem.* 51 (1982) 283; b) T. Hofmann, *Top. Mol. Struct. Biol.* 7 (1985) 1.
- [117] R. H. Andreatta, J. Rahuel, M. Wesp, P. Duker in [71b], S. 261.
- [118] Fr. Pat.-Anm. 2490632 (1982); *Chem. Abstr.* 97 (1982) P145287m.
- [119] A. Bell, S. Ner, C. J. Suckling, R. Wigglesworth, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1987, 480.
- [120] T. W. Kensler, D. A. Cooney, *Adv. Pharmacol. Chemother.* 18 (1981) 273.
- [121] I. G. Buntain, C. J. Suckling, H. C. S. Wood, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1985, 242.
- [122] I. G. Buntain, J. C. Courtney, C. J. Suckling, H. C. S. Wood, unveröffentlicht.
- [123] K. E. Suckling, C. G. Smellie, I. E. Ibrahim, D. C. Nonhebel, C. J. Suckling, *FEBS Lett.* 145 (1982) 179.
- [124] C. J. Suckling, D. C. Nonhebel, L. Brown, K. E. Suckling, S. Seilman, C. R. Wolf, *Biochem. J.* 232 (1985) 199.
- [125] T. L. Poulos, B. C. Finzel, I. C. Gunsalus, G. C. Wagner, J. Kraut, *J. Biol. Chem.* 260 (1985) 16122.
- [126] D. E. Stevenson, J. N. Wright, M. Akhtar, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1985, 1078.
- [127] a) P. F. Fitzpatrick, D. R. Flory, Jr., J. J. Villafranca, *Biochemistry* 24 (1985) 2108; b) P. F. Fitzpatrick, J. J. Villafranca, *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 5022.
- [128] R. G. Finke, D. A. Schiraldi, B. J. Mayer, *Coord. Chem. Rev.* 54 (1984) 1.
- [129] B. C. Gilbert, J. P. Larkin, R. O. C. Norman, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1972, 794.
- [130] R. M. Dixon, B. T. Golding, S. Mwesigye-Kibende, D. N. Ramakrishna Rao, *Phil. Trans. R. Soc. London Ser. B* 311 (1985) 531.
- [131] M. L. Cordeiro, D. L. Pompliano, J. W. Frost, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 332.
- [132] A. Groenewald, M. Dykstra, J. A. Duine, *FEMS Microbiol. Lett.* 25 (1984) 311.
- [133] D. W. Robertson, J. H. Krushinski, G. D. Pollock, H. Wilson, R. F. Kauffman, J. S. Hayes, *J. Med. Chem.* 30 (1987) 824.
- [134] L. Mathew, J. Warkentin, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 7981.
- [135] J. E. Baldwin, D. W. Parker, *J. Org. Chem.* 52 (1987) 1475.
- [136] R. B. Silverman, B. J. Invergo, J. Mathew, *J. Med. Chem.* 29 (1986) 1841.
- [137] B. Bonnaud, H. Cousse, G. Mouzin, M. Briley, A. Stenger, F. Fauran, J.-P. Couzinier, *J. Med. Chem.* 30 (1987) 318.
- [138] D. A. Trainor, *Trends Pharm. Sci.* 18 (1987) 303.
- [139] C. J. Suckling in P. J. Leeming (Hrsg.): *Medicinal Chemistry, Vol. 4*, RSC/SCI Medicinal Chemistry Symposium, Royal Society of Chemistry, London 1988, im Druck.