

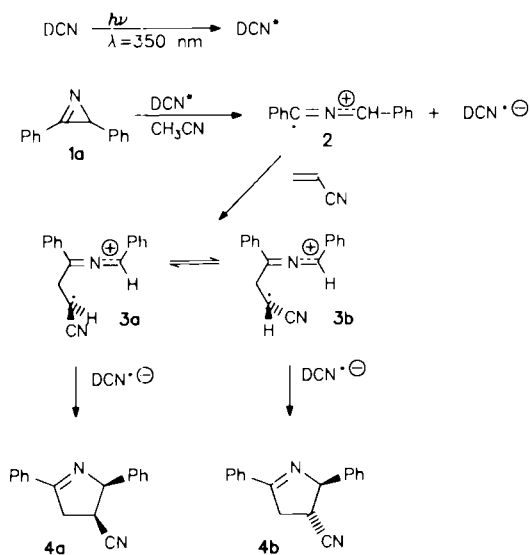
# [3 + 2]-Cycloadditionen mit Azirin-Radikalkationen: Eine neue Synthese *N*-substituierter Imidazole\*\*

Von Felix Müller und Jochen Mattay\*

Professor Kurt Schaffner zum 60. Geburtstag gewidmet

Die Untersuchung von Reaktionen, die durch photoinduzierten Elektronentransfer (PET) gesteuert werden, ist ein aktuelles Thema in der Organischen Photochemie. Besonders die PET-katalysierte Öffnung gespannter Ringe findet derzeit steigendes Interesse<sup>[1]</sup>. Wir berichten, wie die in der 1,3-Dipolaren Cycloaddition vielfach eingesetzten Azirine<sup>[2]</sup> unter den Elektronentransferbedingungen reagieren. Bei Bestrahlung von Substanzen findet üblicherweise ein Energietransfer statt, wobei die Edukte direkt oder über einen Triplettensensibilisator angeregt werden. Beim PET hingegen wird ein Elektronenakzeptor angeregt (PET-oxidativer Weg), wofür sich Cyanarene wie 1,4-Naphthalindicarbonitril (DCN) besonders eignen.

Bei der Bestrahlung mit Licht von 350 nm Wellenlänge wird bei Vorhandensein von DCN und Azirinen ausschließlich DCN angeregt, da der  $n\text{-}\pi^*$ -Übergang von Azirinen wie **1a** erst bei 280 nm erfolgt<sup>[2]</sup>. Das angeregte DCN\* fungiert als Elektronenakzeptor und analog zur direkten Bestrahlung<sup>[2]</sup> wird auch hier die C-C-Bindung des Azirins gespalten<sup>[3]</sup>. Als

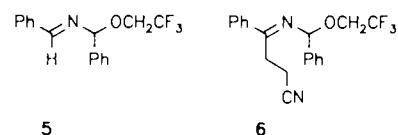


Schema 1. Die Produkte **4a**, **b** entstehen im Verhältnis 50:50.

Zwischenstufe nehmen wir das 2-Azaallenyl-Radikalkation **2** an, das mit Olefinen unter Ringschluß und Rückelektro-nentransfer zum Fünfring **4** reagiert. Die Addition erfolgt nach einem zweistufigen Mechanismus. Bei der 1,3-Dipolaren Cycloaddition unter direkter Einstrahlung von UV-Licht

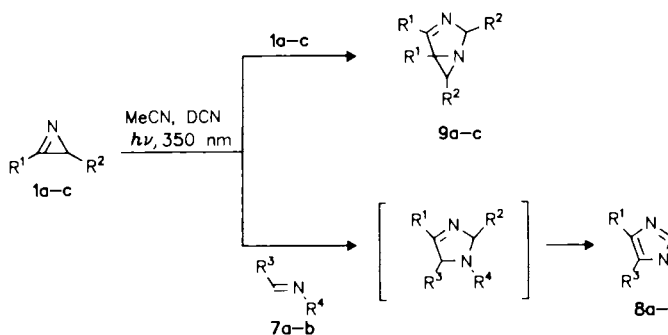
beobachteten Padwa et al.<sup>[4]</sup> eine hohe Diastereoselektivität: **4b** entstand zu 90 %, während die Ausbeute an **4a** bei 10 % lag. Bei der hier vorgestellten Reaktion unter DCN-Katalyse war das Verhältnis der Produkte 50:50.

Der Abfangversuch der Zwischenstufen mit 2,2,2-Tri-fluorethanol ergab **5** und **6**<sup>[5]</sup>. **5** ist das Abfangprodukt des 2-Azaallenyl-Radikalkations **2**. Die Bildung von **6** ist nur durch Abfangen von **3a/3b** zu erklären, das durch Reaktion von **2** mit Acrylnitril gebildet wird. Somit können die Di-



hydropyrrole **4** nicht durch eine konzertierte [3 + 2]-Cycload-dition entstanden sein. Ohne die Zugabe von DCN läuft die Reaktion bei Bestrahlung ( $\lambda = 350$  nm) nicht ab, auch nicht bei Zugabe eines Triplettensensibilisators (Benzophenon). Bei einem Vergleich der Reaktivität von **2** mit den durch direkte Bestrahlung erzeugten Nitril-Yliden stellen wir bei beiden Systemen die Tendenz zur Reaktion mit elektronenarmen Olefinen fest. So führt beispielsweise die Umsetzung mit Vi-nylethern nicht zur Bildung von Fünfringen. Wenn kein ge-nügend elektronenarmer Reaktionspartner vorhanden ist, dimerisieren die Azirine in einer [3 + 2]-Cycloaddition<sup>[4, 6]</sup> zu **9**. Mit Carbonylverbindungen reagieren Nitril-Ylide und 2-Azaallenyl-Radikationen zu 3-Dihydrooxazolen<sup>[6]</sup>.

Das Radikalkation **2** kann auch die C-N-Doppelbindung in Iminen intermolekular angreifen. Dies ist bei der photo-chemischen 1,3-Dipolaren Cycloaddition nicht möglich<sup>[6]</sup>. So entstehen bei der Umsetzung der Azirine mit den Iminen die *N*-substituierten Imidazole **8**. Der Reaktionsverlauf kann folgendermaßen erklärt werden: Das Radikalkation **2** ist in der Lage, sich an das Imin zu addieren und den Fünfring



Schema 2. **1a**:  $R^1 = R^2 = \text{Phenyl}$ ; **1b**:  $R^1 = \text{Phenyl}$ ,  $R^2 = \text{H}$ ; **1c**:  $R^1 = n\text{-Bu-tyl}$ ,  $R^2 = \text{H}$ ; **7a**:  $R^3 = \text{Phenyl}$ ,  $R^4 = n\text{-Propyl}$ ; **7b**:  $R^3 = R^4 = n\text{-Propyl}$ .

zum Dihydroimidazol zu schließen. Dieses ist unter den Re-aktionsbedingungen nicht stabil und reagiert zum aromati-schen Imidazol, so daß schon im Rohprodukt kein Dihydro-imidazol nachgewiesen werden kann. Huisgen et al.<sup>[7]</sup> fanden bei einer vergleichbaren Reaktion ebenfalls kein Dihydro-imidazol. Durch die Reaktion von Azirinen mit Iminen sind *N*-substituierte Imidazole mit einer großen Viel-falt an Substituenten direkt synthetisierbar.

Da die C-N-Doppelbindung des Imins mit der des Azirins konkurriert, ergeben sich sehr unterschiedliche Ausbeuten

[\*] Prof. Dr. J. Mattay, Dipl.-Chem. F. Müller  
Organisch-chemisches Institut der Universität  
Orléansring 23, W-4400 Münster

[\*\*] Radikationen und photochemisch-induzierte Ladungstransfer-Phänomene (Serie A), 31. Mitteilung und Cycloadditionen (Serie B), 35. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemischen Industrie und dem Land Nordrhein-Westfalen ge-fördert. Für Chemikalienspenden danken wir der Bayer AG. F. M. dankt der Studienstiftung des Deutschen Volkes für ein Promotionsstipendium.  
- Serie A, 30. Mitteilung: J. Mattay, M. Vondenhof, *Top. Curr. Chem.* 159 (1991) 219. Serie B, 34. Mitteilung: M. Conrads, J. Mattay, *Chem. Ber.* 124 (1991) 1425.

an Imidazolen (Tabelle 1). Der zu 100 % fehlende Anteil entspricht jeweils dem Anteil an Azirindimeren 9.

Im Vergleich zu klassischen Methoden der Direktsynthese N-substituierter Imidazole<sup>[8]</sup> sind die Ausbeuten relativ

Tabelle 1. Übersicht der hergestellten Imidazole.

Verb.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Ausbeute
<b>8a</b>	Phenyl	Phenyl	Phenyl	<i>n</i> -Propyl	87 % [8] [a]
<b>8b</b>	Phenyl	H	Phenyl	<i>n</i> -Propyl	12 % [b]
<b>8c</b>	<i>n</i> -Butyl	H	Phenyl	<i>n</i> -Propyl	3 % [c]
<b>8d</b>	Phenyl	Phenyl	<i>n</i> -Propyl	<i>n</i> -Propyl	25 % [d]
<b>8e</b>	Phenyl	H	<i>n</i> -Propyl	<i>n</i> -Propyl	35 % [e]
<b>8f</b>	<i>n</i> -Butyl	H	<i>n</i> -Propyl	<i>n</i> -Propyl	40 % [f]

[a] **9a**: 12%; [b] **9b**: 85%; [c] **9c**: 95%; [d] **9a**: 74%; [e] **9b**: 60%; [f] **9c**: 57%.

hoch. Durch die darüber hinaus einfache Zugänglichkeit der Edukte ergeben sich neue, vielseitige Synthesemöglichkeiten.

### Arbeitsvorschrift

Die Azirine 1 werden nach [9], die Imine 7 nach [10] hergestellt. Für die Synthese von DCN siehe [11].

In ein Bestrahlungsrohr aus Pyrex-Glas wird eine Lösung von 0.3 mmol Azirin und 1.0 mmol Imin in 10 mL Acetonitril gegeben. 0.1 mmol Naphthalindicarbonitril (18 mg) werden hinzugefügt, das Rohr mit Argon entlüftet und verschlossen. In einem Rayonet-Photoreaktor wird mit 350 nm-Strahlungsröhren 6–10 Stunden bestrahlt. Das Lösungsmittel wird entfernt, der Rückstand mit Diethylether an Aluminiumoxid (Merck Neutral Akt. 1) chromatographiert. Alle neuen Verbindungen lieferten korrekte <sup>1</sup>H-NMR-, <sup>13</sup>C-NMR- und massenspektrometrische und elementaranalytische Daten, die mit den vorgeschlagenen Strukturen und den Daten vergleichbarer Substanzen in Einklang stehen [12].

Eingegangen am 15. März 1991 [Z 4501]

- [1] J. Mattay, *Synthesis* 1989, 233; H. Tomioka, D. Kobayashi, A. Hashimoto, S. Murata, *Tetrahedron Lett.* 30 (1989) 4685; P. Clawson, P. M. Lunn, D. A. Whiting, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1990, 153; *ibid.* 1990, 159; E. Palomino, A. P. Schaap, M. J. Heeg, *Tetrahedron Lett.* 31 (1990) 6861; K. Gollnick, M. Weber, *ibid.* 31 (1990) 4585; N. Ichimose, K. Mizuno, T. Tamai, Y. Otsuji, *J. Org. Chem.* 55 (1990) 4079; M. Kamata, H. Furukawa, T. Miyashi, *Tetrahedron Lett.* 31 (1990) 681.
- [2] R. Huisgen in A. Padwa (Hrsg.): *1,3-Dipolar Chemistry, Vol. 1*, Wiley, New York 1984, S. 1; A. Padwa in W. Horspool (Hrsg.): *Synthetic Organic Photochemistry*, Plenum, New York 1984, S. 313; H. Heimgartner, *Angew. Chem.* 103 (1991) 271; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30 (1991) 238.
- [3] Als ersten Schritt nehmen wir die Oxidation des Azirins zum Azirin-Radikalkation an, da die nach der Weller-Gleichung (D. Rehm, A. Weller, *Isr. J. Chem.* 8 (1970) 259) abgeschätzte Energie für den Elektronentransfer negativ ist, der Prozeß also thermodynamisch erlaubt ist.
- [4] A. Padwa, J. Smolanoff, *J. Am. Chem. Soc.* 93 (1971) 548; A. Padwa, M. Dharan, J. Smolanoff, S. I. Wetmore, Jr., *ibid.* 95 (1973) 1945; *ibid.* 95 (1973) 1954; A. Padwa, J. Smolanoff, A. Tremper, *ibid.* 97 (1975) 4682.
- [5] Abfangreaktion durch Zugabe von 1 mL 2,2,2-Trifluorethanol zur üblichen Reaktionsmischung (siehe Arbeitsvorschrift). 5 und 6 wurden mit 8 bzw. 7 % Anteil isoliert. Bei Direkteinstrahlung wird nur 5 gebildet. Bei Zugabe von nucleophileren Alkoholen läßt sich keine zu 6 analoge Verbindung isolieren.
- [6] H. Giezendanner, M. Märky, B. Jackson, H.-J. Hansen, H. Schmid, *Helv. Chim. Acta* 55 (1972) 745; H. Giezendanner, H. Heimgartner, B. Jackson, T. Winkler, H. Schmid, *ibid.* 56 (1973) 2611; U. Gerber, H. Heimgartner, H. Schmid, H.-J. Hansen, *Heterocycles* 6 (1977) 143.
- [7] R. Huisgen, H. Gotthardt, B. O. Bayer, *Chem. Ber.* 103 (1970) 2370; K. Bünge, R. Huisgen, R. Raab, H. J. Sturm, *ibid.* 105 (1972) 1307.
- [8] V. Stoeck, W. Schunack, *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)* 307 (1974) 922; *ibid.* 309 (1976) 421.
- [9] G. Smolinsky, *J. Org. Chem.* 27 (1962) 3557; F. W. Fowler, A. Hassner, L. A. Levy, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 2077.
- [10] L. F. Tietze, T. Eicher: *Reaktionen und Synthesen*, Thieme, Stuttgart 1981, S. 69.
- [11] A. Albini, D. R. Arnold, *Can. J. Chem.* 56 (1978) 2985.
- [12] H. J. Sattler, V. Stoeck, W. Schunack, *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)* 308 (1975) 795; *ibid.* 311 (1978) 736.

## Herbizidresistenz in transgenen Pflanzen durch Abbau des Phytotoxins zu Harnstoff\*\*

Von Ursula H. Maier-Greiner, Christian B. A. Klaus, Lydia M. Estermaier und Guido R. Hartmann\*

Herbizidresistenz in transgenen Pflanzen wurde bisher auf drei Wegen erreicht<sup>[1]</sup>: 1. Überproduktion des betroffenen Proteins; 2. Expression eines Mutantenproteins, das gegen die herbizide Wirkung resistent ist; 3. Expression eines Enzyms, welches das Herbizid durch Modifikation inaktiviert. In jedem Fall verbleiben Reste des Phytotoxins oder seiner Modifikationen in einer Pflanze mit möglichen Rückwirkungen auf ihre Nutzbarkeit als Nahrungsmittel. Wir beschreiben hier eine neue Methode, die Resistenz durch Umwandlung des Herbizids in eine unschädliche, physiologische Verbindung zu bewirken. Das Herbizid ist Cyanamid, das zu Harnstoff in transgenen Tabakpflanzen umgewandelt wird.

Im Bodenpilz *Myrothecium verrucaria* wurde ein induzierbares Enzym entdeckt, welches das Herbizid Cyanamid (Handelsbezeichnung Alzodef\*) quantitativ in Harnstoff umwandelt<sup>[2,3]</sup>. Diese Cyanamid-Hydratase (EC 4.2.1.69) wird vom 732 Basenpaare langen *cah*-Gen codiert, das sich auf einem 900 Basenpaare langen *Eco*RI-Fragment befindet, das aus einer cDNA-Bank von *Myrothecium verrucaria* isoliert wurde<sup>[3]</sup>.

Zur Expression in Pflanzen wurde eine Genkassette konstruiert, in der dieses *Eco*RI-Fragment zwischen den 35S-Promotor des Cauliflower-Mosaic-Virus und das PolyA-Signal des Nopalin-Synthetasegens gesetzt wurde. Hierfür kann man den Plasmidvektor pRT101<sup>[4]</sup> verwenden. Zwei Genkonstrukte wurden erhalten. Eines enthielt das Gen in der korrekten Orientierung bezüglich des Promotors (bezeichnet als *cah*<sup>+</sup>), das andere mit dem Gen in der entgegengesetzten Orientierung (*cah*<sup>-</sup>). Die Übertragung in die Pflanzen wurde unter Verwendung der üblichen binären Vektorsysteme erreicht, z. B. mit dem Plasmid pBin19<sup>[5]</sup>, welches die *cah*<sup>+</sup>- oder *cah*<sup>-</sup>-Genkassette enthält, und mit *Agrobacterium tumefaciens* Stamm LBA4404<sup>[6]</sup> (Clontech Laboratories, Palo Alto, CA, USA). Triparentale Kreuzung, Transformation und Regeneration der Pflanzen wurden wie beschrieben<sup>[7,8]</sup> durchgeführt. Die sich entwickelnden Sprosse wurden auf 100 µg mL<sup>-1</sup> Kanamycin selektioniert.

Fünfzehn Kanamycin-resistente Pflanzen wurden auf Cyanamid-Hydratase-Aktivität getestet. In allen Pflanzen wurde Enzymaktivität gefunden, wobei der Spiegel der Expression von 0.03 bis 0.79 Enzymeinheiten pro mg Protein im Zell-extrakt reichte. Der höchste Wert entspricht etwa einem Fünftel der spezifischen Aktivität, die in Extrakten aus induziertem *Myrothecium verrucaria* gefunden wird. Obgleich die spezifische Aktivität in den Wurzeln am höchsten war, war die Gesamtaktivität des Enzyms pro Gramm Frischgewicht in den Blättern deutlich höher als in den anderen Teilen der Pflanzen (Tabelle 1). Keine Aktivität wurde in Pflanzen gefunden, die für *cah*<sup>-</sup> transgen waren.

Die Wurzelbildung von Wildtyp oder *cah*<sup>-</sup>-transgenen Tabakspalten wird durch 1.2 mM Cyanamid im Medium vollkommen verhindert. Im Gegensatz hierzu wurde Wurzelbildung bei *cah*<sup>+</sup>-transgenen axillaren Sprossen selbst in Gegenwart von 12 mM Cyanamid im Wachstumsmedium beobachtet. Die Toleranz für Cyanamid, bezogen auf die Wurzel-

[\*] Prof. Dr. G. R. Hartmann, Dr. U. H. Maier-Greiner, Dipl.-Chem. C. B. A. Klaus, Dipl.-Chem. L. M. Estermaier Institut für Biochemie der Universität Karlstraße 23, W-8000 München 2

[\*\*] Wir danken Dr. Reinhard Töpfer, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln, für den Plasmidvektor pRT101. Diese Arbeit wurde von der SKW Trostberg und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert.