

## Design neuartiger, nichtpeptidischer Thrombin-Inhibitoren und Struktur eines Thrombin-Inhibitor-Komplexes\*\*

Ulrike Obst, Volker Gramlich, François Diederich\*, Lutz Weber\* und David W. Banner

*Professor Albert Eschenmoser zum 70. Geburtstag gewidmet*

Bei unseren Arbeiten über Wirt-Gast-Wechselwirkungen haben wir zu einer Reihe von Substraten Rezeptoren entworfen und synthetisiert<sup>[1]</sup>. Inzwischen wurden an Enzymen Röntgenstrukturanalysen mit hoher Auflösung durchgeführt, so daß nun mit Hilfe von Molecular-Modeling-Methoden der umgekehrte Prozeß möglich ist und Inhibitoren für diese Enzyme rational konstruiert werden können. Dabei sollte nicht, wie früher üblich, das Substrat des Enzyms als Modell dienen, sondern es sollte ein kleines, zum aktiven Zentrum des Enzyms im Hinblick auf ionische, Wasserstoffbrückenbindungs- und Dispersionswechselwirkungen komplementäres Molekül de novo entworfen werden. Für ein solches Vorgehen sind die Enzyme am besten geeignet, deren aktives Zentrum klar definierte und fixierte Bindungstaschen aufweist. Diese Bedingung erfüllt zum Beispiel Thrombin, eine dem Trypsin ähnliche Serin-Protease<sup>[2]</sup>, die bei der Blutgerinnung eine zentrale Rolle spielt<sup>[3]</sup>. Substrat des Thrombins ist das im Blutplasma gelöst vorliegende Fibrinogen. Es wird selektiv an den Peptidbindungen nach Arginin gespalten, wodurch polymerisierbares Fibrin entsteht. Thrombin aktiviert eine Reihe für die Blutgerinnung wichtiger Faktoren und ist zudem ein Hauptaktivator der Plättchenaggregation. Eine selektive Hemmung von Thrombin könnte helfen, lebensgefährlichen thrombotischen Prozessen vorzubeugen. Es standen mehrere röntgenographisch ermittelte Strukturen von Thrombin-Inhibitor-Komplexen zur Verfügung<sup>[4]</sup>, die geeignet waren, wichtige und für die Inhibitorkwirkung notwendige Wechselwirkungen zu studieren. Im aktiven Zentrum von Thrombin gibt es drei Bindungstaschen (siehe Abb. 1). Die Erkennungstasche S1 mit der Carboxylatgruppe von Asp189<sup>[5]</sup> am Boden dient zur Bindung der Guanidinium- und Ammonium-Gruppen von Arginin bzw. Lysin. Eine große hydrophobe Tasche (D-Tasche; D steht für distal, d.h. entfernt vom katalytisch aktiven Zentrum<sup>[4b]</sup>) wird bevorzugt durch Arenringe besetzt, die eine (CH-π)-Aren-Aren-Wechselwirkung mit dem sich dort befindenden Indolring von Trp215 eingehen. Das natürliche Thrombin-Substrat Fibrinogen bindet in dieser Tasche mit der Benzylgruppe eines Phenylalanins. Eine zusätzliche, kleinere hydrophobe Tasche befindet sich in der Nähe des katalytisch aktiven Zentrums („proximal“, P-Tasche<sup>[4b]</sup>). Diese Tasche wird im Thrombin-Fibrinogen-Komplex durch Valin besetzt. Unser Ziel war es, ein nichtpeptidisches, cyclisches Templat zu entwickeln, an dem in passender räumlicher Anordnung drei

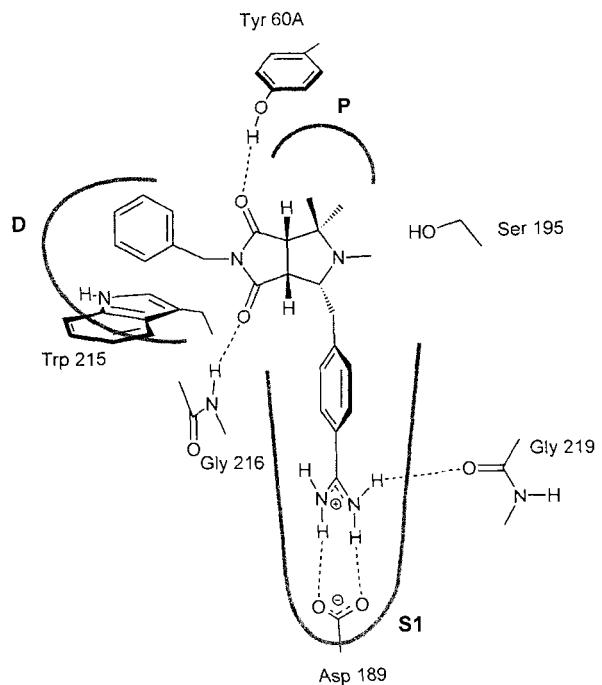


Abb. 1. Schematische Darstellung des im aktiven Zentrum von Thrombin Energie-minimierten Inhibitors I.

Seitenarme angebracht werden können, mit denen die drei Bindungstaschen des Enzyms zu erreichen sind (je ein hydrophober Seitenarm für die P- und die D-Tasche und ein aromatischer Rest mit einer basischen Gruppe für die Erkennungstasche S1 des Enzyms). Das Templat sollte konformativ möglichst stark sein, um zum einen einen hydrophoben Zusammenbruch<sup>[6]</sup> der Seitenarme zu verhindern und zum anderen bei der Bindung an das Enzym möglichst wenige Freiheitsgrade zu verlieren. Weiterhin sollte das Templat eine H-Brücken-Acceptor-Funktion (z.B. eine Carbonylgruppe) enthalten, um eine in allen bekannten Thrombin-Inhibitor-Komplexen vorhandene Wasserstoffbrückenbindung zum Amid-NH von Gly216 bilden zu können. Darüber hinaus sollte die Synthese des Templat einfach und kurz sein und eine Variation der Seitenketten erlauben, um bei Folgearbeiten eine weitere Optimierung bezüglich Affinität und Selektivität durch kombinatorische Synthese an einer Festphase zu ermöglichen. Das Design des Zielmoleküls wurde mit den Programmen Insight II und Discover<sup>[7]</sup> durchgeführt, wobei das CVFF-Kraftfeld verwendet wurde. Ein Resultat des Modellings war zunächst das Molekül 1, das weder zum natürlichen Thrombin-Substrat Fibrinogen noch zu bisher bekannten synthetischen Thrombin-Inhibitoren strukturell ähnlich ist. Dieses Molekül kann eine Reihe von Wechselwirkungen mit dem Enzym eingehen (Abb. 1): 1) eine Salzbrücke zwischen der Amidium-Gruppe des Inhibitors und der Carboxylatgruppe von Asp189 in der Erkennungstasche S1 des Enzyms, 2) zwei Wasserstoffbrückenbindungen vom Gly216-NH und vom Tyr60A-OH zu den Carbonylgruppen des Succinimids, 3) T-förmige Wechselwirkungen zwischen dem Indolring von Trp215 in der D-Tasche des Enzyms und der Benzylgruppe des Inhibitors, die außerdem von den hydrophoben Resten von Ile174 und Leu99 flankiert wird (in Abb. 1 nicht dargestellt), und 4) Kontakte zwischen zwei Methylgruppen des Inhibitors und der hydrophoben P-Tasche von Thrombin.

Die Synthese von 1 (Schema 1) begann mit einer 1,3-Dipolaren Cycloadditionsreaktion (Dreikomponentenreaktion) zwischen einem in situ aus 4-Bromphenylalanin **2** und Aceton **3**

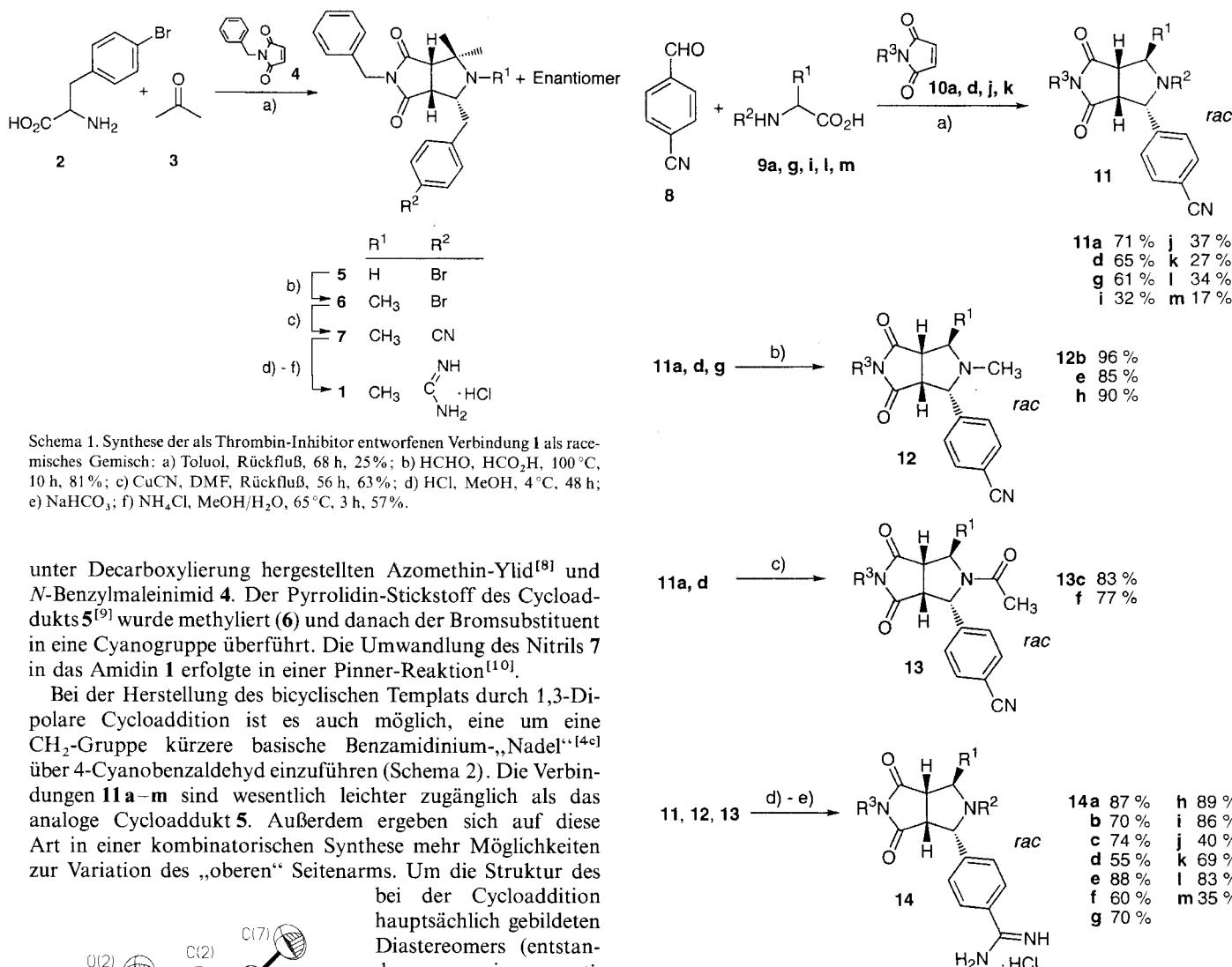
[\*] Prof. F. Diederich, Dipl.-Chem. U. Obst  
Laboratorium für Organische Chemie, ETH-Zentrum  
Universitätstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)

Telefax: Int. +1/632-1109  
E-mail: Diederich@org.chem.ethz.ch

Dr. L. Weber, Dr. D. W. Banner  
Pharma Division, Praktische Forschung  
F. Hoffmann-La Roche AG  
CH-4002 Basel (Schweiz)

Dr. V. Gramlich  
Institut für Kristallographie und Petrographie  
ETH-Zentrum  
Sonnenstrasse 5, CH-8092 Zürich (Schweiz)

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der F. Hoffmann-La Roche AG, Basel, unterstützt.  
U.O. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie, Deutschland, für ein Kekulé-Stipendium.



Schema 1. Synthese der als Thrombin-Inhibitor entworfenen Verbindung 1 als racemisches Gemisch: a) Toluol, Rückfluß, 68 h, 25%; b) HCHO, HCO<sub>2</sub>H, 100°C, 10 h, 81%; c) CuCN, DMF, Rückfluß, 56 h, 63%; d) HCl, MeOH, 4°C, 48 h; e) NaHCO<sub>3</sub>; f) NH<sub>4</sub>Cl, MeOH/H<sub>2</sub>O, 65°C, 3 h, 57%.

unter Decarboxylierung hergestellten Azomethin-Ylid<sup>[8]</sup> und N-Benzylmaleinimid 4. Der Pyrrolidin-Stickstoff des Cycloaddukts 5<sup>[9]</sup> wurde methyliert (6) und danach der Bromsubstituent in eine Cyanogruppe überführt. Die Umwandlung des Nitrils 7 in das Amidin 1 erfolgte in einer Pinner-Reaktion<sup>[10]</sup>.

Bei der Herstellung des bicyclischen Templaats durch 1,3-Dipolare Cycloaddition ist es auch möglich, eine um eine CH<sub>2</sub>-Gruppe kürzere basische Benzamidinium-, „Nadel“<sup>[4c]</sup> über 4-Cyanobenzaldehyd einzuführen (Schema 2). Die Verbindungen 11a-m sind wesentlich leichter zugänglich als das analoge Cycloaddukt 5. Außerdem ergeben sich auf diese Art in einer kombinatorischen Synthese mehr Möglichkeiten zur Variation des „oberen“ Seitenarms. Um die Struktur des

bei der Cycloaddition hauptsächlich gebildeten Diastereomers (entstanden aus einem *anti*-Ylid, *endo*-Übergangszustand<sup>[11]</sup>) zu bestimmen, wurde eine Vorstufe, das Nitril 12b, röntgenographisch analysiert<sup>[12]</sup> (Abb. 2). Diese Verbindung hat im Kristall eine andere Konformation als für die Bindung des entsprechenden Endprodukts 14b an Thrombin notwendig ist. So erkennt man intramolekulare (CH-π)-Aren-Aren-Wechselwirkungen und eine „falsche“ Konformation

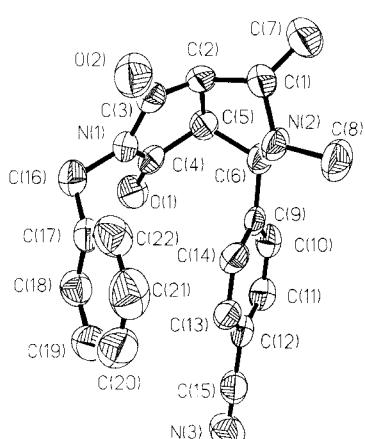


Abb. 2. Struktur von 12b im Kristall.

des Pyrrolidinrings. Allerdings lassen sich aus der Struktur des Nitrils 12b im Kristall keine Aussagen über die Konformation des Amidins 14b in Lösung oder im aktiven Zentrum von Thrombin ableiten.

Die ursprünglich vorgeschlagene Verbindung 1 hatte als racemisches Gemisch gegenüber Thrombin einen  $K_i$ -Wert von 18 μM<sup>[14]</sup> (zum Vergleich: für Benzamidin beträgt der  $K_i$ -Wert 300 μM<sup>[4c]</sup>). Die Verbindungen 14a-m mit der um eine CH<sub>2</sub>-Gruppe kürzeren Benzamidinium-, „Nadel“ sind insgesamt wesentlich aktiver (Tabelle 1). Durch das starre Grundgerüst und

Schema 2. Synthese der Benzamidiniumchloride 14a-m als Analoga zu 1: a) DMF, 80°C, 5 h; b) HCHO, HCO<sub>2</sub>H, 100°C, 10 h; c) Ac<sub>2</sub>O, Pyridin, 0°C - Raumtemperatur, 2 h; d) HCl, MeOH, 4°C, 48 h; e) NH<sub>3</sub>, MeOH, 65°C, 3 h. Für die Reste R<sup>1</sup>-R<sup>3</sup> siehe Tabelle 1. Auf allen Stufen entstehen racemische Gemische.

Tabelle 1. Aktivitäten der Thrombin-Inhibitoren 14a-m und ihre Selektivitäten bezüglich der Bindung an Trypsin.

Verb.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	$K_i$ [μM]	Selektivität [a]
14a	Me	H	Bn	1.1	4.6
14b	Me	Me	Bn	0.67	7.3
14c	Me	Ac	Bn	170	2.5
14d	Me	H	Bu	11	1.3
14e	Me	Me	Bu	2.9	7.6
14f	Me	Ac	Bu	160	2.3
14g	iBu	H	Bn	1.5	3.4
14h	iBu	Me	Bn	1.0	2.8
14i	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -		Bn	0.22	12
14j	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -		Piperonyl [b]	0.09	7.8
14k	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -		Cyclohexylmethyl	0.35	15
14l	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -		Bn	10	0.6
14m	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -SCH <sub>2</sub> -		Piperonyl [b]	0.44	20

[a]  $K_i$  (Trypsin)/ $K_i$  (Thrombin). [b] Piperonyl =

die ebenfalls starre Aufhängung der „Nadel“ sind diese Moleküle konformativ stärker eingeschränkt als **1** und eignen sich deshalb gut für Struktur-Aktivitäts-Betrachtungen. Von ihnen kann erwartet werden, daß sie alle dem gleichen Bindungsmodus folgen.

Am „rechten“ Pyrrolidin-Stickstoff wurden drei Modifikationen erprobt. Dabei zeigte sich, daß methylierte Verbindungen (**14b, e, h**) aktiver als nicht-methylierte (**14a, d, g**) sind, während eine Acetylierung (**14c, f**) eine drastische Abnahme der Aktivität zur Folge hat. Dafür sind zwei Erklärungen denkbar: 1. Durch die Acetylierung erfolgt eine Konformationsänderung des Ringsystems, 2. der Pyrrolidinrest bindet bevorzugt im protonierten Zustand und verliert durch die Acetylierung die Fähigkeit, in diesem Zustand vorzuliegen. Die besten Affinitäten zu Thrombin (niedrigste  $K_i$ -Werte) werden erzielt, wenn auf der rechten Seite noch ein Fünfring angeschlossen wird (**14i–k**). Bei einem Sechsring (**14l**) nimmt die Aktivität wieder ab, da diese größere hydrophobe Gruppe wahrscheinlich im Thrombin ein in der Nähe des katalytisch aktiven Ser195 vorhandenes Wassermolekül verdrängt. Auch ein Thiazolidinring (**14m**) ist wahrscheinlich schon zu groß. Die am Succinimid-Stickstoff angebrachten Substituenten für die „Aryl-Bindungstasche“ (D-Tasche) haben einen etwas geringeren Einfluß auf die Aktivität. Butyl, Benzyl und Cyclohexylmethyl als Substituenten führen zu keinen großen Unterschieden; die beste Aktivität wurde bis jetzt mit einem Benzodioxol-5-ylmethyl(=Piperonyl)-Substituenten (**14j**,  $K_i = 90 \text{ nM}$ ) erzielt.

Der Bindungsmodus dieser bis jetzt aktivsten Verbindung wurde mit Hilfe einer Röntgenstrukturanalyse<sup>[15]</sup> am Komplex mit Thrombin aufgeklärt. Der Inhibitor befindet sich in der erwarteten Weise im aktiven Zentrum von Thrombin (Abb. 3 und 4). Wie aufgrund der Starrheit des Moleküls und der

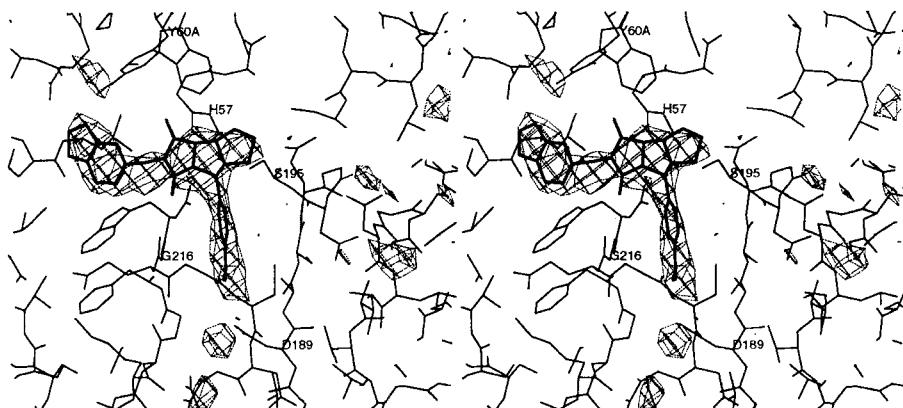


Abb. 4. Stereodarstellung der Differenzelektronendichten von **14j** (gestrichelt), Thrombin (dünne Linien) und einem Modell des Inhibitors (dicke Linien), erhalten wie in Lit. [15] beschrieben. Die sehr kleinen Peaks stellen Wassermoleküle oder kleine Veränderungen des Proteins gegenüber dem (unverfeinerten) Modell dar. Vergleichsrechnungen zeigten, daß die Elektronendichte der Carbonylgruppen wegen der endlichen Fourier-Reihen bei dieser Auflösung schwach ist.

Ergebnisse des Modelings zu erwarten war, wird nur das (3aS,4R,8aS,8bR)-Enantiomer des racemischen Gemisches im Kristall gefunden.

Die Benzamidinium-Seitenkette bindet gut in der Erkennungstasche S1 des Enzyms, sie geht dort Wasserstoffbrückenbindungen mit der Carboxylatgruppe von Asp189, mit der Carbonylgruppe von Gly219 und mit einem am Boden der Tasche vorhandenen Wassermolekül ein. Eine Carbonylgruppe des Inhibitors fungiert als H-Brücken-Acceptor für das Gly216-NH, die andere befindet sich in der P-Tasche des Enzyms. Bei der Überführung dieser Carbonylgruppe aus der wäßrigen Lösung in die kleine hydrophobe P-Tasche muß zunächst Energie aufgewendet werden, um sie zu desolvatisieren. Bei der Bindung des Inhibitors an Trypsin dagegen ist eine solche Desolvatisierung nicht nötig, da bei diesem Enzym die Schleife fehlt, aus der bei Thrombin die P-Tasche gebildet wird. Diese Annahme erklärt die relativ geringe Selektivität (maximal Faktor 20) der gesamten Klasse von Inhibitoren für Thrombin gegenüber Trypsin (siehe Tabelle 1). Eine weitere Wasserstoffbrückenbindung wird zwischen Tyr60A und einem Sauerstoff der Piperonylgruppe gebildet, während sich der aromatische Teil der Piperonylgruppe in der D-Tasche des Enzyms befindet und die erwartete CH- $\pi$ -Wechselwirkung mit dem sich dort befindenden Trp215 eingehet.

Dieser Inhibitor ist, insbesondere im Hinblick auf seine Selektivität, noch nicht optimal. Trotzdem zeigen unsere Ergebnisse, daß es mit einem rationalen Ansatz, wie dem von uns verfolgten, möglich ist, in relativ kurzer Zeit neue Leitstrukturen für Enzym-Inhibitoren zu entwickeln.

Die Synthese mit Hilfe einer 1,3-Dipolaren Cycloaddition birgt ein großes Potential für strukturelle Variationen. Als Reagenzien zur Erzeugung eines Azomethin-Ylids<sup>[11]</sup> sind nahezu alle  $\alpha$ -Aminosäuren, viele Carbonylverbindungen und als Dipolarophile die meisten elektronenarmen Olefine oder Acetylene denkbar. Untersuchungen zur 1,3-Dipolaren Cycloaddition mit Azomethin-Yliden an Festphasen sind gegenwärtig im Gange, um mit Hilfe kombinatorischer Methoden am Harz Thrombin-Inhibitoren mit besserer Aktivität und Selektivität sowie guten pharmakologischen Eigenschaften zu finden.

#### Experimentelles

**11j:** Ein Gemisch aus Prolin **9f** (1.15 g, 10 mmol), **8** (1.31 g, 10 mmol) und *N*-Piperonylmaleimid **10j** (2.31 g, 10 mmol) wurde in DMF (10 mL) 5 h auf 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Hochvakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch über Kieselgel getrennt (Hexan/AcOEt/NEt<sub>3</sub>, 49.5/49.5/1). Ausbeute 37%; Farblose Nadeln; Schmp. 176–179 °C (aus Methanol).

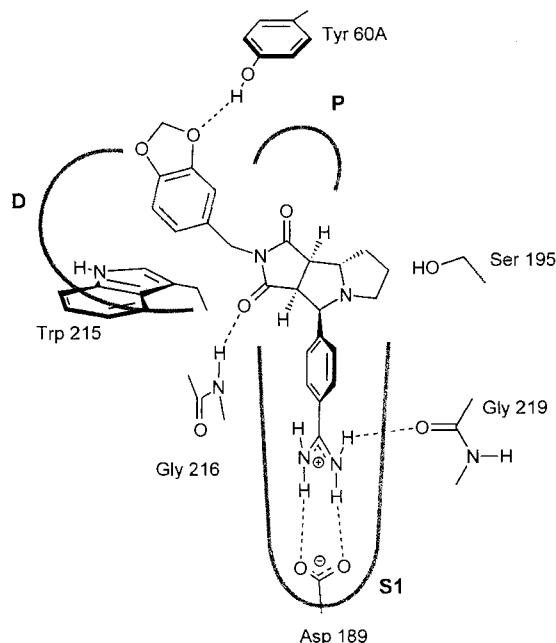


Abb. 3. Schematische Darstellung der Wechselwirkungen von **14j** mit Thrombin laut Röntgenstrukturanalyse.

**14j:** In eine Lösung von **11j** (831 mg, 2 mmol) in wasserfreiem  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  5/1 (6 mL) wurde bei  $0^\circ\text{C}$  10 min trockenes HCl eingeleitet. Danach wurde das Reaktionsgemisch 2 Tage bei  $4^\circ\text{C}$  stehen gelassen. Der nach Zugabe von  $\text{Et}_2\text{O}$  ausfallende Feststoff wurde getrocknet und mit 5proz.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (8 mL) und  $\text{CHCl}_3$  (20 mL) versetzt. Es wurde schnell ausgeschüttelt und die wäßrige Phase noch zweimal mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und die Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde in  $\text{MeOH}$  (7 mL) gelöst,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (150 mg) in  $\text{H}_2\text{O}$  (1.5 mL) zugegeben und das Gemisch 3.5 h bei  $65^\circ\text{C}$  gerührt. Nach dem Abkühlen wurden die Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand chromatographisch getrennt (RP18-Kieselgel, Gradient von  $\text{H}_2\text{O}$  in  $\text{MeOH}$ ). Ausbeute 40%; farbloses Pulver; Schmp.  $177\text{--}181^\circ\text{C}$ ; IR (KBr);  $\tilde{\nu}$  = 1701 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1678 ( $\text{C}=\text{N}$ )  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.68 (m, 2 H), 1.98 (m, 2 H), 2.45 (m, 1 H), 2.77 (m, 1 H), 3.47 (d,  $J=7.8$  Hz, 1 H), 3.56 (m, 1 H), 3.76 (t,  $J=8.3$  Hz, 1 H), 4.22 (d,  $J=8.5$  Hz, 1 H), 4.33 (s, 2 H), 6.02 (s, 2 H), 6.67, 6.88 (AB,  $J=7.8$  Hz, 2 H), 6.70 (s, 1 H), 7.44, 7.71 (AB,  $J=8.2$  Hz, 4 H), 9.08 (s, 2 H), 9.38 (s, 2 H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (62.5 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 23.0, 29.0, 41.2, 48.6, 50.3, 67.4, 67.5, 101.0, 108.1, 108.2, 121.2, 126.5, 127.5, 128.7, 145.6, 146.6, 147.2, 165.4, 175.4, 178.1; ESI(Elektrospray)-MS:  $m/z$ : 433.4 ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 100%); befriedigende C,H,N,Cl-Analyse.

Eingegangen am 12. April 1995 [Z 7884]

**Stichworte:** Azomethin-Ylide · Cycloadditionen · Enzym-Inhibitoren · Thrombin

- [1] a) B. R. Peterson, F. Diederich, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1688–1690; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1625–1628; b) V. Alcazar, F. Diederich, *ibid.* **1992**, *104*, 1503–1505 bzw. **1992**, *31*, 1521–1523; c) F. Diederich, *Cyclophanes*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1991**.
- [2] I. V. Kurinov, R. W. Harrison, *Struct. Biol.* **1994**, *1*, 735–743.
- [3] M. C. E. van Dam-Mieras, A. D. Muller in *Blood Coagulation* (Hrsg.: R. F. A. Zwaal, H. C. Hemker), Elsevier, Amsterdam, **1986**, S. 1–11.
- [4] a) W. Bode, I. Mayr, U. Baumann, R. Huber, S. R. Stone, J. Hofsteenge, *EMBO J.* **1989**, *8*, 3467–3475; b) D. W. Banner, P. Hadváry, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 20085–20093; c) K. Hilpert, J. Ackermann, D. W. Banner, A. Gast, K. Gubernator, P. Hadváry, L. Labler, K. Müller, G. Schmid, T. B. Tschopp, H. van de Waterbeemd, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3889–3901.
- [5] Chymotrypsinogen-Numerierung [4a].
- [6] a) D. H. Rich in *Perspectives in Medicinal Chemistry* (Hrsg.: B. Testa, W. Fuhrer, E. Kyburz, R. Giger), Verlag Helvetica Chimica Acta, Basel, VCH, Weinheim, **1993**, S. 15–25; b) R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoors, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12550–12568; c) P. Y. S. Lam, P. K. Jadhav, C. J. Eyermann, C. N. Hodge, Y. Ru, L. T. Bacherel, J. L. Meek, M. J. Otto, M. M. Rayner, Y. N. Wong, C.-H. Chang, P. C. Weber, D. A. Jackson, T. R. Sharpe, S. Erickson-Vitanen, *Science* **1994**, *263*, 380–384.
- [7] Insight II, Version 2.3.0: San Diego, Biosym Technologies, **1993**; Discover, Version 2.9.5: San Diego, Biosym Technologies, **1994**; Vorgehensweise beim Modeling: Das als Inhibitor vorgesehene Molekül wird Geometrie-optimiert und an der für den Enzym-Inhibitor-Komplex in etwa erwarteten Position in das Enzym eingepaßt. Die Enzymkoordinaten wurden fixiert und der Inhibitor anschließend im Enzym Energie-minimiert.
- [8] a) O. Tsuge, S. Kanemasa, M. Ohe, S. Takenaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 4079–4089; b) R. Grigg, S. Thianpatanagul, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 180–181; c) R. Grigg, S. Surendrakumar, S. Thianpatanagul, D. Vipond, *ibid.* **1987**, *47*–49.
- [9] Alle neuen Verbindungen ergaben befriedigende analytische Ergebnisse.
- [10] G. Wagner, I. Wunderlich, *Pharmazie* **1977**, *32*, 76–79.
- [11] Übersicht zu Azomethin-Yliden: O. Tsuge, S. Kanemasa, *Adv. Heterocycl. Chem.* **1989**, *45*, 231–347.
- [12] 12b:  $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2$ : farblose Plättchen, Kristalldimensionen  $0.4 \times 0.4 \times 0.3$  mm;  $M_r = 359.43$ ; triklin, Raumgruppe  $\overline{P}\bar{1}$ ,  $a = 9.352(8)$ ,  $b = 10.004(7)$ ,  $c = 10.882(9)$  Å,  $\alpha = 95.55(6)$ ,  $\beta = 94.39(7)$ ,  $\gamma = 110.73(7)^\circ$ ,  $V = 941.0(13)$  Å $^3$ ,  $Z = 2$ ,  $\rho_{\text{ber.}} = 1.269$  g cm $^{-3}$ , Syntex-P3/V-Diffraktometer (Mo $K_\alpha$ -Strahlung,  $\lambda = 0.71073$  Å, Graphitmonochromator,  $T = 293$  K), 1885 Reflexe gemessen, davon 1763 unabhängig und 1365 mit  $F > 4.0 \sigma(F)$ ; Lösung mit Direkten Methoden [13], Verfeinerung mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate (Schweratome anisotrop, H-Atome isotrop mit auf stereochemischen Kriterien beruhenden Atompositionen),  $R = 0.0471$ ,  $wR = 0.0422$ . Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Direktor des Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, GB-Cambridge CB21EZ unter Angabe des vollständigen Literaturzitats angefordert werden.
- [13] Siemens SHELXTL PLUS (VMS), Siemens Analytical Instruments, Madison, USA, **1986**.
- [14] Die Aktivitäten der Thrombin-Inhibitoren wurden nach R. Lottenberg, J. A. Hall, J. W. Fenton, G. M. Jackson, *Thromb. Res.* **1982**, *28*, 313, bestimmt (chromogenes Substrat S-2238).

[15] Die Daten (75% vollständig bis zu einer Auflösung von 3.16 Å) wurden gemessen und verarbeitet wie in Lit. [4b] und [4c] beschrieben. Zur Berechnung der Differenzelektronendichte (Abb. 4) wurden als Koordinaten für Protein und Wasser die von menschlichem Thrombin verwendet (verfeinert bei einer Auflösung von 2.6 Å, siehe Abb. 4 von Lit. [4c]). Trotz der nur mäßigen Qualität der Daten konnte der Bindungsmodus des Inhibitors eindeutig bestimmt werden. Nach der Verfeinerung von Protein und Inhibitor war der kristallographische  $R$ -Wert bei akzeptabler Geometrie 0.129 für 7043 Reflexe mit  $F > \sigma$  (Standardabweichung für die Bindungsängste 0.012 Å, für die Bindungswinkel 2.0°). Die Atome des Inhibitors haben einen durchschnittlichen  $B$ -Wert von 50 Å $^2$ , ein wesentlich höherer Wert als bei den Atomen des Proteins. Entweder sind die Inhibitorpositionen nicht voll besetzt oder er tritt in mehreren ähnlichen Konformationen auf. Wir haben dieses Resultat kürzlich bei höherer Auflösung (1.9 Å) in einer anderen Kristallform (C2) bestätigt. Details dieser besser bestimmten Struktur werden an anderer Stelle ausführlich veröffentlicht werden.

## Rhodium-katalysierte Hydroformylierung innerer Alkine zu $\alpha,\beta$ -ungesättigten Aldehyden\*\*

John R. Johnson, Gregory D. Cuny und Stephen L. Buchwald\*

Während die Hydroformylierung von Alkenen ein intensiv untersuchter und industriell wichtiger Prozeß ist<sup>[1]</sup>, wurde der Hydroformylierung von Alkinen bislang wenig Interesse entgegengebracht. Erste Versuche zur Alkin-Hydroformylierung mit Cobalt- und Rhodiumkatalysatoren führten zur Bildung von gesättigten Aldehyden<sup>[2, 3]</sup>. Diese können entweder, wie bei inneren Alkinen<sup>[3, 4]</sup>, durch Hydrierung der intermediär entstehenden ungesättigten Aldehyde gebildet werden, oder wie im Fall der terminalen Alkine<sup>[3, 5]</sup>, durch die Hydroformylierung eines Alkens aus einer vorgeschalteten Alkin-Hydrierung entstehen.

Nur sehr wenige Arbeiten beschäftigen sich mit der selektiven Hydroformylierung von Alkinen zu ungesättigten Aldehyden. Konjugierte Enine lassen sich in geringen Ausbeuten mit einem Rhodiumkatalysator zu Formylbutadienen hydroformylieren<sup>[6]</sup>. Auch Diphenylacetylen kann unter Hydroformylierungsbedingungen (30 atm CO/H<sub>2</sub>, 80 °C) in geringen bis mäßigen Ausbeuten zu 2,3-Diphenylpropenal umgesetzt werden<sup>[6a, c]</sup>. Jedoch waren Versuche, diesen Reaktionstyp auf andere Alkine zu übertragen, nur wenig erfolgreich<sup>[6c]</sup>. Aus  $\beta$ -Alkinylaminen entstehen in Rhodium-katalysierten Hydroformylierungen substituierte Pyrrole<sup>[7]</sup>, wobei  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Aldehyde als Zwischenstufen postuliert werden. Ähnliche Carbonylierungsreaktionen von Alkinen sind bekannt: Die Hydrocarboxylierung und die Hydrocarbalkoxylierung von Alkinen gelingt unter Palladiumkatalyse und führt zu (*E*)-konfigurierten ungesättigten Carbonsäuren<sup>[8]</sup> bzw. ungesättigten (*E*)-Carbonsäureestern<sup>[9]</sup>. Mit Rhodiumkatalysatoren wurden Alkine in Gegenwart von Trialkylsilan und CO zu  $\beta$ -Silyl-2-enalen silylformyliert<sup>[10]</sup>, wobei ein hohes Maß an Regioselektivität bei der Umsetzung von terminalen Alkinen erreicht wurde. Disubstituierte Alkine hingegen wurden mit nur geringer Selektivität silylformyliert<sup>[10]</sup>.

[\*] Prof. Dr. S. L. Buchwald, Dr. J. R. Johnson, Dr. G. D. Cuny  
Department of Chemistry, Massachusetts Institute of Technology  
Cambridge, MA 02139 (USA)  
Telefax: Int. + 617/253-3297  
E-mail: sbuchwal@mit.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde von Union Carbide gefördert. G. D. C. dankt der National Science Foundation für ein Doktorandenstipendium, S. L. B. der Alfred P. Sloan Foundation (Fellow) und der Camille and Henry Dreyfus Foundation für ein Teacher-Scholar.