

Durch ein sehr einfaches Design kann eine durch Antikörper katalysierte Hydrolyse nichtaktivierter Ketale ermöglicht werden. Die elektrostatische Komplementarität zum Übergangszustand löst die Katalyse aus, die Wirkung der räumlichen Komplementarität ist verhältnismäßig gering. Da die Hydrolyse nichtaktivierter Ketale mechanistisch eng mit der Spaltung der glycosidischen Bindung verwandt ist, wird durch diese Untersuchung die Hypothese experimentell gestützt, daß Glycosidasen zuerst als „elektrostatische“ Katalysatoren entstanden sind. Die räumliche Komplementarität und die allgemeine Säurekatalyse, auf denen die katalytische Wirkungsweise heutiger Glycosidasen beruht^[13], sind demnach erst im späteren Verlauf der Evolution aufgetreten.

Eingegangen am 20. Juni 1996 [Z 9247]

Stichworte: Enzymmodelle · Katalytische Antikörper · Ketale

- [1] P. G. Schultz, R. A. Lerner, *Science* **1995**, 269, 1835.
- [2] P. A. Patten, N. S. Gray, P. L. Yang, C. B. Marks, G. J. Wedemayer, J. J. Boniface, R. C. Stevens, P. G. Schultz, *Science* **1996**, 271, 1086.
- [3] a) A. J. Kirby, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1987**, 22, 283; b) M. L. Sinnott, *Chem. Rev.* **1990**, 90, 1171; c) P. Deslongchamps, *Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry (Organic Chemistry Series, Vol. 1 (Hrsg.: J. E. Baldwin))*, Pergamon, Oxford, **1989**.
- [4] Die Bindung an das Enzym verursacht im glycosidischen Substrat eine Spannung, so daß eine Katalyse durch Carbonsäuren ermöglicht wird.
- [5] a) T. H. Fife, S. H. Jaffe, R. Natarajan, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 7646; b) T. H. Fife, E. Anderson, *ibid.* **1971**, 93, 6610.
- [6] a) J.-L. Reymond, K. D. Janda, R. A. Lerner, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 1690; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1711; b) J. Yu, L. C. Hsieh, L. Kochersperger, S. Yonkovich, J. S. Stephans, M. A. Gallop, P. G. Schultz, *ibid.* **1994**, 106, 327 bzw. **1994**, 33, 339.
- [7] E. Anderson, T. H. Fife, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 7163.
- [8] Alle Ketale wurden in einer vierstufigen Synthese aus Methyl-(4-brommethyl)benzoat hergestellt: Doppelte Umsetzung mit Divinylcuprat [hergestellt aus Vinylmagnesiumbromid (2 Äquiv.) und Kupfer(I)-iodid (1 Äquiv.) in THF bei -30°C] lieferte Methyl-(4-allyl)benzoat, Wacker-Oxidation bei Raumtemperatur mit PdCl_2 (0.1 Äquiv.) und CuCl_2 (1.5 Äquiv.) in $\text{DMF}/\text{H}_2\text{O}$ (2/1) führte zu (4-Methoxycarbonyl)phenylacetone. Dessen Ketalisierung wurde unter Rückfluß in Benzol in Gegenwart des Diols (Ethylenglycol, 1,3-Dihydroxypropan, 1,4-Dihydroxybutan) und katalytischen Mengen von *p*-Toluolsulfinsäure ausgeführt. Das Dimethylketal **10** wurde durch Reaktion des entsprechenden Ketons mit Trimethylorthoformiat und Methanol in Gegenwart von *p*-Toluolsulfinsäure erhalten. Schließlich wurde der Methylester durch Erhitzen in 2-Aminoethanol in das 2-Hydroxyethylamid überführt (100°C , 2 h).
- [9] A. Koch, J.-L. Reymond, R. A. Lerner, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 803.
- [10] Alle Reaktionen wurden bei 24°C mit 5 μM Antikörper und 50–2000 μM Substrat in einer kochsalzhaltigen Lösung durchgeführt, die mit 1,3-Bis[(hydroxymethyl)amino]propan gepuffert war (50 mM Puffer, 50 mM NaCl, pH 6.0). Das Fortschreiten der Reaktion wurde durch HPLC (Hitachi L-6200A) verfolgt; $\lambda = 254 \text{ nm}$, C18-RP-Säule (25 cm \times 2.2 mm, 5 μm), Eluens 20% Acetonitril in Wasser (Retentionszeiten in Minuten: **2**: 5.2, **1**: 9.83, **4**: 9.95, **5**: 23.06).
- [11] a) B. Ganem, G. Papandreu, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8984; b) H. Suga, N. Tanimoto, A. J. Sinskey, S. Masamune, *ibid.* **1994**, 116, 11197.
- [12] G. K. Jahangiri, J.-L. Reymond, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 11264.
- [13] Die Verbindungen **8** und **9** wurden hergestellt durch Alkylierung von Hexamethylenimin (Heptamethylenimin) mit Methyl-(4-brommethyl)benzoat und anschließende Quaternisierung mit Iodmethan sowie Verseifung mit wässriger NaOH. Die Produkte wurden durch präparative RP-HPLC (Wasser-Acetonitril-Gradient) gereinigt und als Trifluoracetat-Salze (farblose Feststoffe) erhalten. Die Konstanten der kompetitiven Inhibition von **8** und **9** wurden nach den Vorschriften für **6** und **7** gemessen [12].
- [14] a) J.-L. Reymond, G. K. Jahangiri, C. Stoudt, R. A. Lerner, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3909; b) S. C. Sinha, E. Keinan, J.-L. Reymond, *ibid.* **1993**, 115, 4893; c) D. Shabat, H. Itzaky, J.-L. Reymond, E. Keinan, *Nature* **1995**, 374, 143.
- [15] Der Antikörper 14D9 wurde kloniert. Seine Aminosäuresequenz weist fünf Aspartat- oder Glutamatreste in den CDR-Bereichen auf: J.-L. Reymond, C. F. Barbas, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [16] S. C. Sinha, E. Keinan, J.-L. Reymond, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 11910.
- [17] Die Hydrolyse von **10** wurde bei 24°C , pH 7.4, die von **11** bei 0°C , pH 7.55 durchgeführt. Beide wurden in 50 mM Phosphat und 100 mM NaCl durchgeführt.

Ein prototypisches Reagens für die Synthese substituierter Hydrazine **

Uno Mæorg, Leif Grehn und Ulf Ragnarsson*

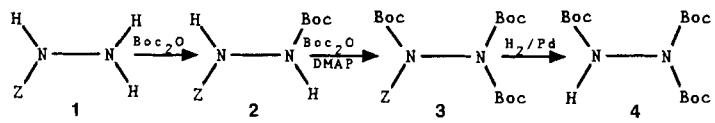
Professor Ivar Ugi zum 65. Geburtstag gewidmet

Substituierte Hydrazine sind wertvolle Vorstufen von Heterocyclen und Bestandteil vieler Pharmazeutica, Agrochemikalien, Farbstoffe und ähnlicher Produkte. Die direkte Alkylierung von Hydrazin führt gewöhnlich zu Mischungen aus mono-, di- und trisubstituierter Produkten, deren Gruppen alle am gleichen Stickstoffatom lokalisiert sind^[1], was ihre Reinigung oft schwierig macht. Zwar wurden viele andere Methoden zur Herstellung von mono- und dialkylierten Hydrazinen entwickelt^[1], doch fehlt immer noch eine einfache, allgemeine Methode. Dies bildet den Hintergrund der vorliegenden Arbeit, in der hierfür ein dreifach geschütztes prototypisches Reagens entwickelt und untersucht wurde.

Der Gedanke, acylierte Hydrazine zu alkylieren, ist nicht neu^[1], aber nur in wenigen Arbeiten wurden moderne Methoden eingesetzt^[2]. Młotkowska und Zwierzak gewannen einfache Alkylhydrazine durch Alkylierung von Diphenylphosphinsäurehydrazid mit Bromiden unter Phasentransferkatalyse (PTK) in siedendem Benzol und Entschützung in siedender HCl ^[3a]. In einer ähnlichen Methode wurde später das dreifach geschützte Derivat Aceton-*N*-(diethoxyphosphoryl)hydrazon^[3b] verwendet. Nach Einführung eines zusätzlichen Acylierungsschrittes wurde die selektive Alkylierung am zweiten Stickstoffatom mit dem ersten Reagens möglich, wodurch nach Entfernung beider Schutzgruppen *N,N*'-dialkylierte Derivate zugänglich wurden^[3c]. Analog sollten triacylierte Derivate wie **4** ähnlich alkyliert werden können wie die beiden genannten Hydrazinreagentien, wobei eine der Boc-Gruppen der Imidodicarbonatfunktion besonders säureabil ist^[4] und somit nach Entschützen die selektive Alkylierung am anderen Stickstoffatom ermöglichen sollte.

Wir haben früher die Anwendung der Boc-Schutzgruppe für Aminofunktionen erweitert^[5] und dabei eine effiziente Synthese von $\text{HN}(\text{Boc})_2$ ^[5c, e] entwickelt. Diese Verbindung wurde zur Herstellung von Aminen, darunter ^{15}N -markierten, eingesetzt. Nun haben wir das Reagens **4** aus Z-Hydrazin **1**, das aus dem Hydrochlorid^[6] freigesetzt wurde, hergestellt und mit Boc_2O in Gegenwart von 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) umgesetzt^[7]. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn die Reaktion in zwei Schritten durchgeführt wird, d. h. unter Bildung von **2**, bevor DMAP zugegeben wird (Schema 1).

Rohes **3** wurde als Öl erhalten, das nach katalytischer Hydrogenolyse direkt kristallines **4** in einer Gesamtausbeute von 82% gab. Es ist längere Zeit stabil. Mit vielen Reagentien wird **4** unter unterschiedlichen Phasentransferbedingungen in Benzol bei Raumtemperatur rasch zu **5** alkyliert. Obwohl die Reaktionsbedingungen noch nicht optimiert wurden, machen die



Schema 1. Synthese von **4**. Boc = *tert*-Butoxycarbonyl, Z = Benzyloxycarbonyl.

[*] Dr. U. Ragnarsson, Dr. U. Mæorg, Dr. L. Grehn
Department of Biochemistry, University of Uppsala, Biomedical Center
PO Box 576, S-75123 Uppsala (Schweden)
Telefax: Int. +18552139
E-mail: URBKI@BMC.UU.SE

[**] Diese Arbeit wurde vom Swedish Natural Science Research Council, von der National Agency for Higher Education, vom National Board for Industrial and Technological Development und von Astra Draco AB gefördert.

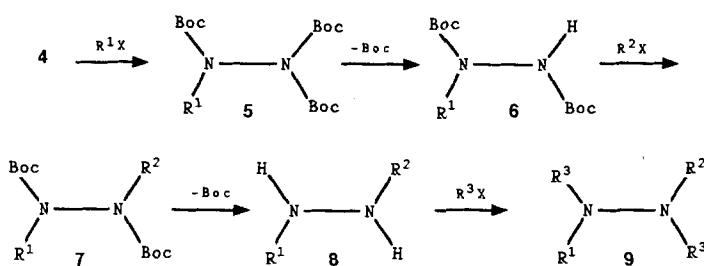
Tabelle 1. Synthese der Hydrazine 5–7 [8].

R ¹		5	Ausb. [%]	Schmp. [°C]	6	Ausb. [%]	Schmp. [°C]	R ²	7	Ausb. [%]	Schmp. [°C]
a	Me		97	[a]		–	–				
b	n-C ₆ H ₁₃		94	[a]		–	–				
c	BzL		81–100	58–59		89	102–103	Me		96	[a]
d	p-NO ₂ C ₆ H ₄ CH ₃		98	68–70		74	108.5–110	2,4-(NO ₂) ₂ C ₆ H ₃		91	66–68
e	2,4-(NO ₂) ₂ C ₆ H ₃		86–90	143–144		95	134–135				
f	Dansyl [b]		61	144.5–145.5		–	–				

[a] Fällt als Öl an. [b] Dansyl = 5-(Dimethylamino)naphthalin-1-sulfonyl.

sechs Beispiele aus Tabelle 1 doch deutlich, daß **4** zufriedenstellend reagiert.

Die Imidodicarbonatfunktion in **5** wurde mit kleinen Mengen an Trifluoressigsäure^[4] unter Bildung von **6** gespalten (Tabelle 1). Auch in Hydrazinen des Typs **5** kann also eine der beiden Boc-Gruppen des zweifach geschützten Stickstoffatoms wie postuliert selektiv abgespalten werden.



Eine zweite Alkylierung wurde bislang nur in zwei Fällen unter Bedingungen durchgeführt, die denen der Umsetzung von **4** ähneln (Tabelle 1). In den Produkten **7c** und **7d** können die Boc-Gruppen nicht selektiv abgespalten werden. Deshalb wurden diese Verbindungen mit 4 M HCl/Dioxan zu den Hydrochloriden **8c** bzw. **8d** umgesetzt (96 bzw. 87%), von denen das erste zu **9c** diacetyliert wurde^[9] ($R^3 = \text{Ac}$). Mit einem geeigneten Reduktionsmittel sollten Verbindungen dieser Art zu Tetraalkylhydrazinen reagieren.

Unsere Experimente mit **4** deuten auch darauf hin, daß mit einem analogen Reagens, das zwei Boc- und eine zu Boc orthogonale Schutzgruppe aufweist, Hydrazinderivate mit vier nicht-identischen Substituenten hergestellt werden können. Darüber hinaus könnte diese Strategie zur Derivatisierung von Diaminen geeignet sein.

Experimentelles

4: Das Hydrazin **1** (10.0 g, 60.2 mmol) wurde in einer Portion unter kräftigem Rühren zu geschmolzenem Boc₂O (43.3 g, 200 mmol) gegeben. Nach 15 min heftiger Gasentwicklung und Bestimmung des Reaktionsendes durch Dünnschichtchromatographie (DC) wurde in 10 min eine Lösung von DMAP (183 mg, 1.5 mmol) in CH₃CN (6 mL) unter kräftigem Rühren zugegeben. Nach 15 min war die Gasentwicklung beendet und die Reaktion vollständig abgelaufen (DC-Kontrolle). Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in Diethylether gelöst, die Lösung mit Zitronensäure-, NaHCO₃- und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und getrocknet (MgSO₄). Durch Verdampfung des Lösungsmittels erhielt man **3** als farbloses Öl in nahezu quantitativer Ausbeute. ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.42$ (s, 18 H, NBoc), 1.49 (s, 9 H, NHBoc), 5.26 (s, 2 H, CH₂Ph), 7.30–7.41 (br. m, 5 H, Ph). Verbindung **3** wurde gelöst in CH₃OH (500 mL) über Pd/C (5%, 1.2 g) 3 h hydriert (DC-Kontrolle). Der Katalysator wurde abfiltriert (Celite), das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand aus Petrolether umkristallisiert, wobei reines **4** in Form weißer Kristalle anfiel; Ausbeute: 16.3 g (82% ausgehend von **1**); Schmp. 104.5–105.5 °C; dünnschichtchromatographisch rein. ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃, 20 °C, TMS): $\delta = 1.48/1.51$ (zwei Signale, zusammen 27 H, Boc), 6.47/6.18 (zwei br. Signale, zusammen 1 H, NH); korrekte C,H,N-Analyse.

Eingegangen am 20. Juni 1996 [Z 9246]

Stichworte: Alkylierungen · Hydrazine · Phasentransferkatalyse · Schutzgruppen

- [1] Übersichtsartikel: U. Jensen-Korte, *Methoden Org. Chem. (Houben-Weyl)* 4th ed. 1952–, **1990**, Bd. 16a, S. 421–529.
- [2] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. Aufl., Wiley, New York, **1991**, Kap. 7.
- [3] a) B. Młotkowska, A. Zwierzak, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 4731–4734; b) S. Zawadzki, K. Osowska-Pacewiczka, A. Zwierzak, *Synthesis* **1987**, 485–487; c) M. Kluba, A. Zwierzak, *ibid.* **1981**, 537–539.
- [4] R. D. Connell, T. Rein, B. Åkermark, P. Helquist, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 3845–3849.
- [5] a) L. Grehn, U. Ragnarsson, *Angew. Chem.* **1984**, 96, 291–292; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, 23, 296–301; b) *ibid.* **1985**, 97, 519–520 bzw. **1985**, 24, 510–511; c) *Synthesis* **1987**, 275–276; d) *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1988**, 53, 2778–2786; e) F. Degerbeck, L. Grehn, U. Ragnarsson, *Acta Chem. Scand.* **1993**, 47, 896–898.
- [6] E. Wünsch, *Chem. Ber.* **1965**, 98, 797–802.
- [7] a) G. Höfle, W. Steglich, H. Vorbrüggen, *Angew. Chem.* **1978**, 90, 602–615; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, 17, 569–582; b) D. L. Flynn, R. E. Zelle, P. A. Grieco, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 2424–2426.
- [8] Alle festen Produkte **5**–**7**, für die Schmelzpunkte angegeben sind, gaben zufriedenstellende C,H,N-Analysen. Die ¹H-NMR-Spektren aller Verbindungen waren eindeutig interpretierbar und wiesen in vielen Fällen auf zwei oder mehrere Konformere hin.
- [9] T. Curtius, *J. Prakt. Chem.* **1900**, 62, 83–126.

Cyclisches [6]- und [8]Paraphenylacetylen**

Takeshi Kawase, Hossein R. Darabi und Masaji Oda*

Die π -Orbitale von konjugierten carbocyclischen Verbindungen (Annulen) stehen gewöhnlich senkrecht zur Ringebene. Neben dieser Art von Konjugation ist eine andere topologisch möglich, bei der die π -Orbitale horizontal auf einer starren Oberfläche angeordnet und gürteelförmig konjugiert sind. Seit der Entdeckung der Fullerene^[11] und der Kohlenstoff-Nanoröhren^[12] wird auf einer gekrümmten Oberfläche vollständig konjugierten Verbindungen intensive Aufmerksamkeit gewidmet^[13]. Über Versuche zur Synthese von Verbindungen mit gürteelförmiger Konjugation, wie $[n]$ Cyclokarbonstoff^[14], Cyclacen^[5], cyclischem Oligoparaphenylen^[16] und weiteren^[17], wurde berichtet. Diese Moleküle sind nicht nur vom synthetischen und theoretischen Standpunkt von Interesse, sondern auch als Wirtmoleküle, die einen starren Hohlraum mit konjugiertem π -Elektronensystem aufweisen. Eine weitere Klasse von Verbindungen mit gürteelförmiger Konjugation sind cyclische Oligomere von

[*] Prof. Dr. M. Oda, Dr. T. Kawase, H. R. Darabi
Department of Chemistry
Graduate School of Science, Osaka University
Toyonaka, Osaka 560 (Japan)
Telefax: Int. + 6/850-5387

[**] Diese Arbeit wurde durch Grants-in-Aid for Scientific Research (08454201 und 08640683) des japanischen Ministeriums für Erziehung, Wissenschaft und Kultur gefördert.