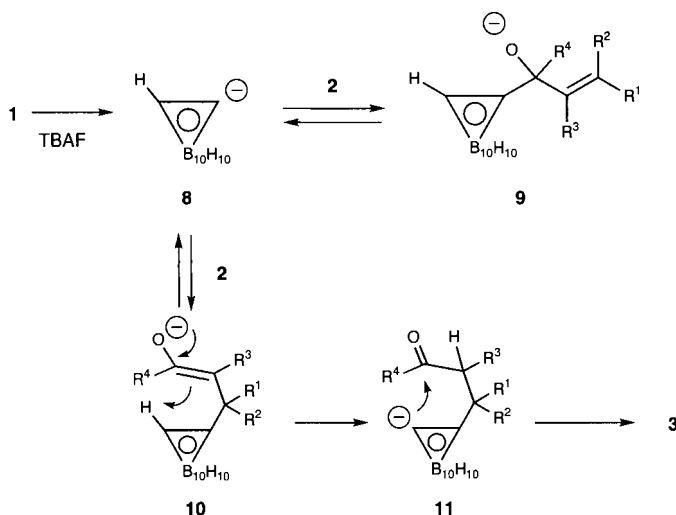


Ausbeute. Ein möglicher Mechanismus für diese beispiellose Anellierung ist in Schema 2 wiedergegeben. Das aus **1** mit TBAF gebildete anionische Intermediat **8** reagiert demnach in einer 1,2- und in einer 1,4-Addition mit **2** zum 1,2-Addukt **9** bzw. zum 1,4-Addukt **10**, die miteinander im Gleichgewicht



Schema 2. Mechanismus der [2+3]-Anellierung von **1** und **2**.

stehen sollten. Die Bildung von **9** ist nach den in Abbildung 2 gezeigten Ergebnissen ein kinetisch kontrollierter Prozeß. Aus dem thermodynamisch stabileren Addukt **10** entsteht durch Protonenaustausch das 1,2-Carboran-Anion **11**, das zu **3** cyclisiert.^[10] Im Fall von Cyclohexanon könnte das durch 1,4-Addition erhaltene Enolat zwar ein Proton vom Carborankäfig abspalten, aber die Annäherung der Carbonylgruppe an das so entstandene Carboran-Anion ist aus geometrischen Gründen nicht möglich, so daß mit **2i** keine Anellierung eintritt.

Derzeit untersuchen wir die Anwendungsbreite und die Grenzen dieser neuen Anellierung, insbesondere im Hinblick auf die Herstellung biologisch aktiver Carborane, die sich für die Bor-Neutroneneinfang-Therapie^[11] eignen.

Eingegangen am 6. August 1996 [Z9428]

Stichworte: Aldehyde · Anellierungen · Carborane · Ketone

[1] Übersichtsartikel: *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 5 (Hrsg.: B. M. Trost), Pergamon, Oxford, **1991**, S. 240–314.

[2] a) Allylübergangsmetallkomplexe: A. Cutler, D. Ehntholt, W. P. Giering, P. Lennon, S. Raghu, A. Rosan, M. Rosenblum, J. Tancredi, D. Wells, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 3495; M. Calligaris, G. Carturan, G. Nardin, A. Scrivanti, A. Wojcicki, *Organometallics* **1983**, *2*, 865; H. Kurosawa, A. Urabe, K. Miki, N. Kasai, *ibid.* **1986**, *5*, 2002; b) Allylsilane: R. L. Danheiser, D. J. Carini, A. Basak, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 1604; c) Trimethylenmethan: B. M. Trost, D. M. T. Chan, *ibid.* **1979**, *101*, 6432; B. M. Trost, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 1; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 1; d) Cyclopropenonacetale: D. L. Boger, C. E. Brotherton, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 805; e) Nitron: R. L. Funk, G. L. Bolton, J. U. Daggett, M. M. Hansen, L. H. M. Horcher, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3479; W. Oppolzer, S. Siles, R. L. Snowden, B. H. Bakker, M.

Petrzlika, *ibid.* **1985**, *41*, 3497; A. Padwa, D. N. Kline, K. F. Koehler, M. Matzinger, M. K. Venkatraman, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3909; D. P. Curran, C. J. Fenk, *Tetrahedron. Lett.* **1986**, *27*, 4865.

[3] Über die Reaktion von 1,2-dikationischen C₂⁺ mit 1,3-dianionischen C₃⁻-Synthesebausteinen wurde berichtet: G. A. Molander, D. C. Shubert, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4683.

[4] A. Misumi, K. Iwanaga, K. Furuta, H. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3343; K. Furuta, A. Misumi, A. Mori, N. Ikeda, H. Yamamoto, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 669; A. Misumi, K. Furuta, H. Yamamoto, *ibid.* **1984**, *25*, 671.

[5] T. Ibuka, T. Aoyagi, F. Yoneda, Y. Yamamoto, *J. Organomet. Chem.* **1985**, *287*, C18.

[6] Synthese von **1**: Zu einer Lösung von 1,2-Dicarbadodecaboran (0.72 g, 5 mmol) in wasserfreiem THF (50 mL) wurde bei –78 °C tropfenweise und unter Rühren *n*BuLi in Hexan (1.6 M, 3.13 mL, 5 mmol) gegeben. Die Mischung wurde 30 min bei –78 °C gerührt, worauf man Trimethylsilylchlorid (0.67 mL, 5.28 mmol) tropfenweise zugab. Die Lösung wurde 1 h gerührt, dann auf Raumtemperatur erwärmt und die Reaktion durch Zugabe von Wasser abgebrochen. Man extrahierte die Reaktionslösung mit Diethylether und trocknete den Extrakt über wasserfreiem Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wurde verdampft und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Silicagel, Hexan), wobei **1** als weißer Feststoff in 86 % Ausbeute (0.93 g, 4.3 mmol) erhalten wurde. In diesem Fall wurde kein Bis(trimethylsilyl)-substituiertes Carboran erhalten; die Verwendung einer verdünnten Lösung von Lithiocarboran ist zur selektiven Herstellung des monosilylierten Carborans wesentlich.

[7] Bei der palladiumkatalysierten Addition eines Carboranyltributylstannans an Zimtaldehyd wurde nur das 1,2-Addukt erhalten: H. Nakamura, N. Sadayori, M. Sekido, Y. Yamamoto, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 2581.

[8] Die durch TBAF beschleunigte Addition von **1** an aromatische und aliphatische Aldehyde lieferte 1,2-Addukte in guten bis sehr guten Ausbeuten: J. Cai, H. Nemoto, H. Nakamura, B. Singaram, Y. Yamamoto, *Chem. Lett.* **1996**, 791.

[9] Der Silylether **6** wurde durch 1,2-Addition von 1-Lithio-1,2-dicarba-closo-dodecaboran(12) an Crotonaldehyd in THF hergestellt.

[10] Der Mechanismus dieser Reaktion, der eine Sequenz aus 1,4-Addition, Protonaustausch und Addition enthält, ähnelt dem der Reaktion von 2,3-Bis(phenylsulfonyl)-1,3-butadien mit aktivierten Methylenen: A. Padwa, S. S. Murphree, Z. Ni, S. H. Watterson, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3829.

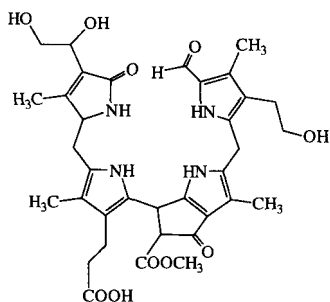
[11] Übersichtsartikel: M. F. Hawthorne, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 997; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 950.

Dem Chlorophyllabbau in Pflanzen auf der Spur – Konstitutionsaufklärung eines „fluoreszierenden“ Chlorophyllkataboliten

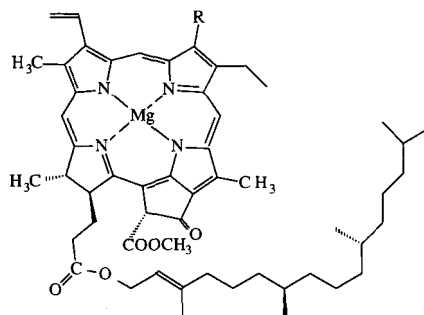
Walter Mühlecker, Karl-Hans Ongania, Bernhard Kräutler,* Philippe Matile und Stefan Hörtensteiner

Beim Chlorophyllabbau in Pflanzen, bis vor kurzem noch ein großes biologisches Rätsel,^[1] werden die grünen Pigmente in seneszenten Blättern^[2] unerwartet rasch zu farblosen, „nicht-fluoreszierenden“ linearen Tetrapyrrolen abgebaut.^[3–7] Ein erstes und allen früheren Erwartungen^[1] widersprechendes Struktur-Leitmotiv beim Chlorophyllabbau wurde vor etwa fünf Jahren durch die Aufklärung der Struktur des Secophytopyrrolinats *Hv*-NCC-1 **1** aus seneszenten Primärblättern von Gerste (*Hordeum vulgare* cv. Gerbel) ermittelt.^[4] Inzwischen sind aus vergilbenden Blättern verschiedener Pflanzenarten weitere farblose („nichtfluoreszierende“) Chlorophyllkataboliten isoliert worden,^[5–7] die alle den in **1** festgestellten Strukturtyp

[*] Prof. Dr. B. Kräutler, Mag. W. Mühlecker, Univ.-Doz. Dr. K.-H. Ongania
Institut für Organische Chemie der Universität
Innrain 52a, A-6020 Innsbruck (Österreich)
Telefax: Int. + 512/507-2892
E-mail: Bernhard.Kraeutler@uibk.ac.at
Prof. Dr. P. Matile, Dr. S. Hörtensteiner
Institut für Pflanzenbiologie, Universität Zürich (Schweiz)



Hv-NCC-1 1



R = CH₃ :Chlorophyll a
R = CHO :Chlorophyll b

eines 4,5-Seco-4,5-dioxophytoporphyrinats aufweisen. Diese Grundstruktur ist ein Hinweis auf einen (strukturell) einheitlichen Abbauweg in Pflanzen, dessen Schlüsselschritt eine enzymatische, oxidative Ringöffnung von Phäophorbid a **2** ist.^[8] Aus HPLC-Analysen seneszenten Pflanzenmaterialien liegen seit einiger Zeit Indizien für intermediäre, bislang nicht faßbare „fluoreszierende“ Chlorophyllkataboliten vor,^[9] deren Struktur Aufschluß über die kritischen „frühen“ Abbauschritte geben könnte.

Wir beschreiben hier die Struktur eines derartigen „fluoreszierenden“ Chlorophyllkataboliten, dem *Bn*-FCC-2 **3**, der enzymatisch *in vitro* aus Phäophorbid a **2** erhalten wurde. Aus Phäophorbid a **2** wurde **3** durch ein Enzympräparat aus Chloroplasten seneszenten Kotyledonen von *Brassica napus*^[8] hergestellt, das mit Glucose-6-phosphat, Dihydronicotinamidadeninucleotidphosphat (NADPH), Ferredoxin und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase versetzt worden war. Nach zweimaliger HPL-chromatographischer Reinigung, Entsalzen und Lyophilisieren des Eluats konnte einheitliches **3** als hellgelbes Pulver isoliert werden.

Die Konstitution von **3**, einem 1-Formyl-19-oxobilan, konnte spektroskopisch abgeleitet werden:^[10] Die Summenformel von **3** wurde durch hochauflösende FAB/MS im Kationenmodus anhand des Quasi-Molekülions bei m/z 629.3011 \pm 0.004 (C₃₅H₄₁N₄O₇ ber. 629.2975) zu C₃₅H₄₀N₄O₇ bestimmt: Das UV/Vis-Spektrum von **3** wies Absorptionsmaxima bei 321 und 361 nm auf (Abb. 1). Das Absorptionsmaximum bei 361 nm sowie die Photolumineszenz von **3** bei 450 nm sind auf ein konjugiertes π -System zurückzuführen,^[11] das sich über die Ringe C und D erstreckt (Schema 1).

Im 500-MHz-¹H-NMR-Spektrum traten Signale aller 36 an Kohlenstoffatome gebundenen Protonen auf (H/D-Austausch führte zum allmählichen Verschwinden des Singulets von

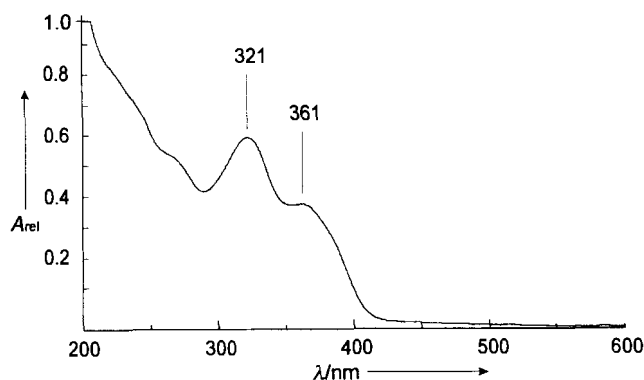
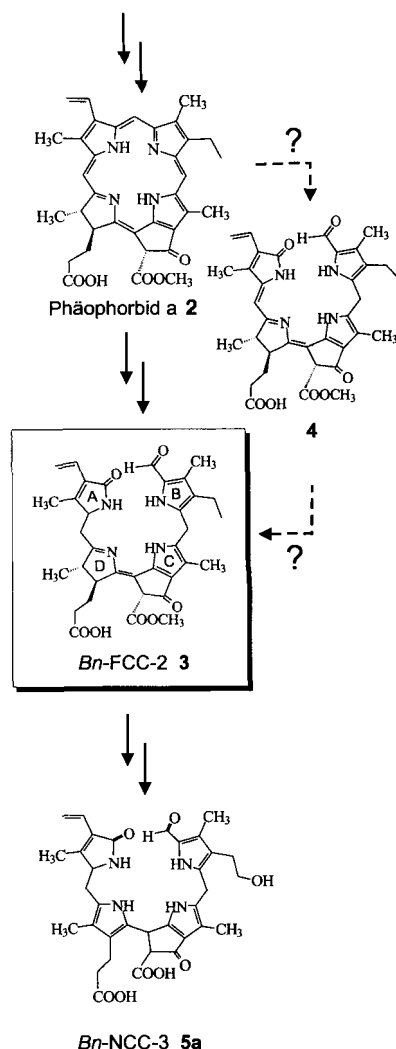


Abb. 1. UV/Vis-Spektrum einer Lösung von *Bn*-FCC-2 **3** in Wasser.

Chlorophyll a



Schema 1. Postulierter Chlorophyll-a-Abbauweg.

HC(13²) bei δ = 4.62): unter anderem Signale einer Vinyl- und einer Ethylgruppe, ein Singulett bei δ = 9.33 von einer Formylgruppe sowie vier Singuletts von Methylgruppen, davon eines von einer Ester-Methylgruppe. Eine fünfte Methylgruppe führte zu einem Dublett bei δ = 1.13. Homonucleare 2D-Experimente (DQF-COSY, TOCSY)^[12] ergaben für **3** ein Spektrum mit sechs Spinsystemen (Abb. 2). Die ¹³C-chemische Verschiebung der Signale von Protonen-tragenden Kohlenstoffatomen erhielt man aus HMQC-Spektren.^[12] Durch ROESY-Spektren^[12] konnte die Abfolge der Substituenten am Tetrapyrrol-Grundgerüst und damit auch die Position der oxidativen Ringöffnung eindeutig festgelegt werden.

Aus den spektroskopischen Daten kann für **3** die Struktur eines 3¹,3²-Didehydro-13²-methoxycarbonyl-4,5-seco-4,5-dioxo-1,4,5,10,17,18,20-(22*H*)-octahydrophytoporphyrinats abgeleitet werden.^[13] Dieses optisch aktive 1-Formyl-19-oxobilan weist vier einheitlich konfigurierte stereogene Zentren auf, drei davon (13², 17 und 18) nach den ROESY-Spektren mit derselben relativen Konfiguration wie im Phäophorbid a **2**. In **3** sollte deshalb auch die absolute Konfiguration der drei Zentren dieselbe sein wie in **2**.

Das hier charakterisierte, fluoreszierende Secophytoporphyrinat **3** weist HPL-chromatographisch,^[14] UV/Vis- und Lumi-

- 507.1 (22), 506.1 (7); UV/Vis (H₂O): λ_{\max} (rel. ϵ) = 361 (0.70), 321 (1.0), 264 nm (sh, 1.06); CD(H₂O) $\lambda_{\max/\min}$ (rel. $\Delta\epsilon$) = 360 (sh, 0.60), 328 (1.00), 282 (-0.50), 238 (-0.67), 205 nm (-1.65).
- [11] H. Falk, *The Chemistry of Linear Oligopyrroles and Bile Pigments*, Springer, Wien, 1989.
- [12] a) H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 507–554; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 490–537; b) A. Bax, M. F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2093–2094.
- [13] G. P. Moss, *Pure Appl. Chem.* **1987**, *59*, 779–832.
- [14] Zur Anreicherung des in vergilbenden Raps-Kotyledonen nur in Spuren auftretenden *Bn*-FCC-2 wurden partikelfreie wäßrige Extrakte auf SepPak-Kartuschen aufgetragen und mit wenig MeOH/H₂O 9/1 eluiert: *Bn*-FCC-2 aus Raps-Kotyledonen wurde mit **3** durch analytische HPLC [9a], UV/Vis-spektroskopisch und anhand seiner Lumineszenz identifiziert.
- [15] Versuche von Eschenmoser und Mitarbeitern gaben Hinweise auf die günstige Thermodynamik der Bildung von Pyrroleinheiten in Tautomerisierungen an (metallfreien) Hydroporphyrinen (A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 5–40; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 5–40); über die Tautomerisierbarkeit eines Gemisches von zu **3** verwandten 4,5-Seco-4,5-dioxooctahydrophytoporphyrinaten zu linearen Tetrapyrrolen des Strukturtyps von **1** wurde kürzlich von Engel et al. berichtet: N. Engel, C. Curty, A. Gossauer, *Plant Physiol. Biochem.* **1996**, *34*, 77–83.
- [16] In *Hv*-NCC-1 **1** [4] und in einigen anderen pflanzlichen NCCs [6, 7] ist die Methoxycarbonylgruppe an der 13²-Position (wie in *Bn*-FCC-2 **3**) intakt; im pflanzlichen Chlorophyllabbau ist eine „frühe“ Hydrolyse dieser Estergruppe also nicht angezeigt, entgegen eines kürzlichen Vorschlags von Gossauer und Engel [17b].
- [17] a) J. Iturraspe, N. Engel, A. Gossauer, *Phytochemistry* **1994**, *35*, 1387–1390; b) A. Gossauer, N. Engel, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **1996**, *32*, 141–151.
- [18] C. Curty, N. Engel, A. Gossauer, *FEBS Lett.* **1995**, *364*, 41–44.

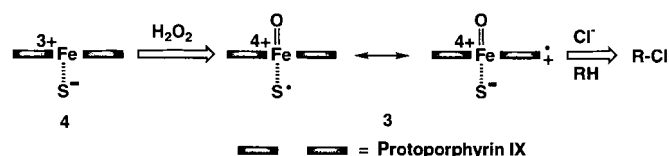
Neue Enzymmodelle für die Chlorperoxidase – Synthesen und katalytische Reaktionen**

Hans-Achim Wagenknecht und
Wolf-Dietrich Woggon*

Die zu den Häm-Thiolat-Proteinen gehörenden Enzyme Cytochrom P450,^[1] NO-Synthase^[2] und Chlorperoxidase (CPO)^[3] spielen eine bedeutende Rolle beim Metabolismus endogener und exogener Verbindungen. Die inhärente Reaktivität dieser Enzyme beruht auf der Anwesenheit eines Eisenprotoporphyrin-IX-Komplexes im aktiven Zentrum, der über Wasserstoffbrückenbindungen beider Propionatseitenketten, über hydrophobe Wechselwirkungen und durch einen Thiolatliganden an das Protein gebunden ist. Letzterer stammt von einem Cysteinrest, der einer konservierten Proteinregion angehört und an das Metall in dem Halbraum des Porphyrins koordiniert ist, der der Substrat- und Sauerstoffbindungsstelle gegenüberliegt. Der Thiolatligand beeinflusst maßgeblich die chemische Reaktivität^[4] und das Redoxpotential^[5] des Eisenprotoporphyrins. Ferner ergaben die Röntgenstrukturanalysen verschiedener Formen von Cytochrom P450_{cam}^[6] und CPO^[7], daß der Thiolatligand nicht nur an Eisen, sondern zusätzlich über Wasserstoffbrücken an zwei Aminosäuren des Peptidrückgrates gebunden ist.

CPO, die zuerst aus dem Pilz *Caldariomyces fumago* isoliert wurde,^[8] ist das vielseitigste der Häm-Thiolat-Proteine: Sie katalysiert nicht nur die Halogenierung aktivierter C-H-Bindungen, sondern auch Reaktionen, die von der Peroxidase, der Ka-

talase und von Cytochrom P450 bekannt^[1] und deren Mechanismen abgesehen von einigen Details gut untersucht sind.^[9] Die Halogenierung aktivierter C-H-Bindungen wird von CPO in Gegenwart von H₂O₂ und Cl⁻ bei pH = 3 katalysiert. Als Substrate dienen 1,3-Diketone wie Monochlordimedon **1**, das zu 2,2-Dichlordimedon **2** umgesetzt wird. Es wurde vorgeschlagen,^[10] daß die Halogenierung über **3** verläuft, einem Zwischenprodukt, das durch die Reaktion des Ruhezustands **4** von CPO mit H₂O₂ gebildet wird (Schema 1). Darüber hinaus wurde



Schema 1. Reaktion von H₂O₂ mit dem Ruhezustand **4** von Chlorperoxidase zum Oxoisen(IV)-intermediat **3** des Katalysezyklus.

vermutet,^[10] daß **3** zunächst mit Cl⁻ reagiert und anschließend in Abhängigkeit von der Cl⁻-Konzentration entweder Cl₂ oder HOCl freisetzt, das dann geeignete Substrate RH in Lösung halogeniert.

Die Annahme, daß die Halogenierung nicht am aktiven Zentrum, sondern durch „freies“ HOCl in Lösung erfolgt, stützt sich im wesentlichen auf die Tatsache, daß apolare, kleine Substrate oft nichtstereospezifisch chloriert werden.^[11] Allerdings wurde berichtet, daß die CPO-katalysierte Addition von HOBr (KBr/H₂O₂, pH = 3) an peracetylierte Glycale stereospezifisch verläuft.^[12] Demnach ist der Mechanismus der enzymatischen Chlorierung trotz zahlreicher Untersuchungen unklar,^[13] insbesondere wurden reaktive Zwischenprodukte bisher nicht eindeutig nachgewiesen.

Wir berichten hier über das Design, die Synthese und die katalytischen Reaktionen neuer Enzymmodellverbindungen für CPO und diskutieren ihre Bedeutung für die enzymatische Reaktion. Am besten eignet sich für solche Untersuchungen ein Eisenprotoporphyrin, dessen Koordinationssphäre den Häm-Thiolat-Proteinen möglichst nahekommt, das unter günstigen Reaktionsbedingungen ⁻OCl oder HOCl bindet und in Gegenwart von Substraten als Cl⁻-Donor fungiert. Ein geeignetes Zielmolekül ist demzufolge das Eisen(III)-diphenylporphyrin **5** (Schema 2), das durch Überbrückung einerseits und durch zwei Pivaloylsubstituenten^[14] andererseits sowohl gegen μ -Oxidimerbildung als auch gegen π -Stacking geschützt ist. Die Brücke enthält einen Thiophenolatligand, dessen Koordination mit dem Metall durch die starre Verknüpfung mit dem Porphyrinchromophor gewährleistet ist und der aus sterischen Gründen nicht dekomplexieren kann.^[4]

Die Synthese des Porphyrinliganden wurde durch Kondensation des geschützten Aldehyds **6**^[15] mit dem Dipyrromethan **7**^[16] unter Säurekatalyse durchgeführt (Schema 2).^[17] Die Produktmischung, die noch Chloride enthält, wurde zur vollständigen Oxidation mit *o*-Chloranil umgesetzt und nach Insertion von Zink(II) chromatographisch gereinigt. Die anschließende Spaltung der Phenylmethylether^[18] ergab das Porphyrin **8** als nichttrennbare Mischung der α,α - und α,β -Atropisomere (in Schema 2 ist nur α,α -**8** dargestellt), die unter isomerisierenden Bedingungen mit dem Dimesylat **9**^[16] kondensiert wurden.^[4] Die Abspaltung der Schutzgruppe am Thiophenol führte zu **10** und die anschließende Eiseninsertion zu **5**.

Der Komplex **5** ist ein High-spin-Eisen(III)-porphyrin ($g = 6.393$ und 2.073) mit einer Soret-Bande bei 408 nm. Der wasserfreie Komplex weist eine λ_{\max} von 400 nm auf, die der Soret-

[*] Prof. Dr. W.-D. Woggon, Dipl.-Chem. H.-A. Wagenknecht
Institut für Organische Chemie der Universität
St. Johannis-Ring 19, CH-4056 Basel (Schweiz)
Telefax: Int. + 61/267-1102

[**] Das Forschungsprojekt wurde finanziell vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt.